

# Udział chemokin w patogenezie chorób pęcherzowych

## Chemokines in pathogenesis of bullous diseases

Anna Erkiert-Polguj<sup>1</sup>, Agnieszka Żebrowska<sup>2</sup>, Bożena Dziańkowska-Bartkowiak<sup>1</sup>, Elżbieta Waszczykowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunodermatologii Katedry i Kliniki Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Waszczykowska

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 2: 94–98

### Streszczenie

Chemokiny to grupa niskocząsteczkowych białek wydzielanych przez leukocyty, keratynocyty, fibroblasty i komórki śródbłonna. Cytokiny te – będące chemoatraktantami dla różnego rodzaju białych krwinek – oddziałując na komórki docelowe poprzez swoiste receptory, biorą udział głównie w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej. Wyniki ostatnio prowadzonych badań wskazują na ich rolę zarówno w angiogenezie, embriogenezie, organogenezie, jak i patogenezie różnych chorób. W niniejszej pracy przedstawiono obecny stan wiedzy dotyczący budowy i funkcji wybranych chemokin oraz najnowsze badania nad ich udziałem w powstawaniu zmian skórnych w chorobach pęcherzowych.

**Słowa kluczowe:** chemokiny, pęcherzyca, pemfigoid, opryszczkowe zapalenie skóry.

### Abstract

Chemokines are small proteins produced by leukocytes, keratinocytes, fibroblasts and endothelial cells. This group of cytokines attracts leukocytes to the site of inflammation, thus taking part in the immune response. Recent research has revealed their role in angiogenesis, embriogenesis, organogenesis and in pathogenesis of many diseases. In this article current data about chemokines' structure and function and also their role in bullous skin disease pathogenesis have been discussed.

**Key words:** chemokines, pemphigus, pemphigoid, dermatitis herpetiformis.

Chemokiny to rodzina cytokin biorących udział w procesach fizjologicznych i patologicznych żywych organizmów. Ich nazwa pochodzi od zwrotu chemotaktyczna cytokina (*chemotactic, chemoattractant cytokine*). Te niskocząsteczkowe białka wydzielane są przez leukocyty, keratynocyty, komórki śródbłonna i fibroblasty [1].

Pod względem budowy chemicznej są to łańcuchy 70–130 reszt aminokwasowych (20–50% homologii w sekwencji aminokwasów), wśród których znajdują się 4 reszty cysteiny, tworzące dwa wewnątrzcząsteczkowe mostki dwusiarczkowe. W zależności od położenia dwóch pierwszych z czterech konstytutywnych reszt cysteiny, chemokiny dzieli się na 4 grupy – **CXC**, **CC**, **C**, **CX3C**. Zdecydowana większość chemokin należy do dwóch pierwszych grup [1–3].

**Grupę CXC** tworzą chemokiny, w których dwie pierwsze reszty cysteiny przedzielone są pojedynczym aminokwasem.

Dodatkowo grupę tę dzieli się na 2 podgrupy – do pierwszej należą chemokiny zawierające sekwencję aminokwasową Glu-Leu-Arg (ELR) przed pierwszą cysteiną, a do drugiej chemokiny bez tej sekwencji aminokwasowej. Obecność motywu ELR jest charakterystyczna dla chemokin reagujących z receptorami CXCR1 i CXCR2. Chemokiny CXC aktywują głównie neutrofile w ostrych stanach zapalnych organizmu.

W budowie chemokin z **grupy CC** dwie pierwsze cysteiny sąsiadują ze sobą. Chemokiny CC wpływają na liczne populacje leukocytów, takie jak monocyty, bazofile, eozynofile, komórki T, aktywując je w przewlekłych stanach zapalnych.

**Grupę C** tworzy jedna chemokina – limfotaktyna. Ma ona tylko jedną z dwóch pierwszych konserwatywnych reszt cysteiny. Limfotaktyna jest chemokiną swoistą dla limfocytów T.

**Adres do korespondencji:** lek. med. Anna Erkiert-Polguj, Zakład Immunodermatologii Katedry i Kliniki Dermatologii i Wenerologii UM w Łodzi, ul. Krzemiecka 5, 90-034 Łódź

W budowie grupy CX3C, której przedstawicielem jest fraktalkina, dwie pierwsze cysteiny przedzielone są trzema aminokwasami. W przeciwieństwie do pozostałych chemokin jest ona integralnym białkiem błonowym [1, 2].

Ze względu na sposób wydzielania można mówić o chemokinach wydzielanych konstytutywnie (tzw. limfoidalne) lub po indukcji (tzw. prozapalne), wytwarzanych w odpowiedzi na toksyny bakteryjne oraz cytokiny prozapalne typu TNF- $\alpha$ , IL-1 czy interferony.

Do chemokin prozapalnych zalicza się m.in. MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein – 1/CCL2*), RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted/CCL5*) i eotaxin/CCL11, MIG (*monokine induced by interferon gamma/CXCL9*), a do chemokin konstytutywnych m.in. SLC (*secondary lymphoid tissue chemokine/CCL27*) i BCA-1 (*B-cell activating chemokine – 1/CXCL13*). TARC (*thymus and activation-regulated chemokine/CCL17*) i MDC (*macrophage-derived chemokine/CCL22*) wydają się zaś należeć do obu podgrup [1, 3–5].

Chemokiny oddziałują na komórki docelowe przez swoiste receptory. Są to przezbłonowe siedmiohelikalne struktury związane z białkiem G. Większość receptorów rozpoznaje więcej niż jedną chemokinę, a niektóre chemokiny reagują z kilkoma receptorami. Nazewnictwo receptorów wywodzi się od nazwy grupy chemokin, której przedstawiciele są ligandami (np. CCR1–CCR9 są receptorami dla chemokin CC) [1, 2, 4]. Receptory CXCR1 i CXCR2 znajdują się na neutrofilach biorących udział głównie w odpowiedzi przeciwbakteryjnej. CCR3 znajduje się na eozynofilach i bazofilach, a CCR5 na monocytach. To różnicowanie odpowiadać może za rekrutację odpowiednich komórek w odpowiedzi na chemokiny [4].

Ekspresja receptorów chemokin jest różna na limfocytach Th1 i Th2. Receptory CCR5 i CXCR3 związane są z fenotypem Th1, natomiast CCR3, CCR4 i CCR8 z Th2. Różnice obserwowane są również w zależności od aktywacji komórek. Silną ekspresję CCR8 opisuje się tylko na aktywowanych Th2. Wydaje się, że Th1 produkują więcej chemokin niż Th2 [3]. CCL3/MIP1 $\alpha$  i CCL2/MCP-1 wydają się brać udział w różnicowaniu odpowiedzi immunologicznej w kierunku Th1 lub Th2 [6].

Niedojrzałe komórki dendrytyczne zawierają receptory dla chemokin prozapalnych (CCR1, CCR2, CCR5, CCR6, CXCR1). Dzięki nim chemokiny docierają do miejsca toczącego się procesu zapalnego, w którym dochodzi do prezentacji antygeny i dojrzewania komórek dendrytycznych. W procesie dojrzewania następuje zmniejszenie się liczby receptorów dla chemokin prozapalnych, a zwiększenie się liczby receptorów dla chemokin konstytutywnych (CCR7, CXCR4) [7].

Chemokiny – poza wiązaniem się z receptorami – mogą mieć także powinowactwo do cząstek, które nie przekazują sygnału, np. glikoaminoglikanów. Uwalnianie z tych połączeń w pełni zachowują aktywność chemotaktyczną. Wiązanie wydaje się też ważne w immobilizacji chemokin i tworzeniu ich lokalnego stężenia [1].

Początkowo chemokiny opisywano tylko jako chemoatraktanty, ale obecnie bierze się pod uwagę również ich udział w angiogenezie, embriogenezie i organogenezie [1, 3].

Wykazano, że niektóre chemokiny wiążą się z komórkami endotelium małych żyłek sieci kapilarnej naczyń, od strony światła tych naczyń, przez co może ulec zwiększeniu ich rola jako chemoatraktantów [8].

System działania chemokin opisywany bywa jako system redundacyjny, tzn. jeden receptor wiąże kilka ligandów, a jeden ligand może wiązać się z kilkoma receptorami, dlatego przy próbach terapeutycznego wykorzystania blokowania chemokin oddziaływanie na jedną chemokinę może nie przynieść zamierzonego efektu [1]. Modyfikacja N-końcowego fragmentu wiązania polipeptydowego chemokin daje cząsteczki, które wiążą się do odpowiednich receptorów, ale nie indukują odpowiedzi biologicznej. Doświadczalne badania prowadzone na zwierzętach przy użyciu modyfikowanej chemokiny CCL5 (met-RANTES) wykazują znaczną redukcję objawów chorób zapalnych [1]. Trwają również badania nad inhibitorami aktywności cytokin, którymi mogą być przeciwciała monoklonalne, rekombinowane mutanty chemokin oraz małe związki chemiczne. Bada się potencjalne zastosowanie w leczeniu anty-CXCR3 przy przeszczepach organów oraz anty-CXCR4 w zapobieganiu przerzutów nowotworowych [1].

**Tabela 1.** Wybrane ważniejsze chemokiny

Ludzka chemokina	Synonim	Źródło	Receptor
CXCL8	IL-8	monocyty, makrofagi, limfocyty T, neutrofile i inne	CXCR1, CXCR2
CXCL10	IP-10 [indukowane przez interferon białko 10kD]	limfocyty T, monocyty, śródbłonek, keratynocyty	CXCR3
CCL2	MCP-1	bazofile, monocyty, komórki NK i inne	CCR2
CCL5	RANTES	limfocyty T, płytki krwi, mezangium	CCR1, CCR3, CCR5
CCL11	eotaksyna	eozynofile, bazofile i inne	CCR1, CCR3
CCL17	TARC	komórki dendrytyczne, keratynocyty, fibroblasty i inne	CCR4

## Udział chemokin w patogenezie pemfigoidu

Pemfigoid pęcherzowy (*bullous pemphigoid* – BP) jest autoimmunologiczną, podnaskórkową chorobą pęcherzową. W powstawaniu charakterystycznych dla tej choroby pęcherzy biorą udział autoprzeciwiactwa skierowane przeciwko błonie podstawnej – prawdopodobnie aktywują one chemotaksję i związaną z nią aktywację kompleksu [9]. W nacieku zapalnym obecnym w skórze chorych na BP dominują głównie neutrofile i eozynofile, a we krwi często obserwuje się eozynofilię, podejmowane są więc badania mające na celu wyjaśnienie udziału chemokin w tworzeniu się zmian w tej chorobie.

Bornscheuer i wsp. [10] stwierdzili, że ekspresja IL-8/CXCL8 – wykazującej dużą aktywność chemotaktyczną dla neutrofilii i limfocytów T, ale także eozynofili – była porównywalna z jej ekspresją w skórze zdrowych osób. Autorzy nie wykazali również obecności RANTES ani w zdrowej skórze, ani u badanych chorych [10]. Natomiast Schmidt i wsp. [11] wykazali podwyższony poziom IL-8 w płynie pęcherzy osób chorych na BP w porównaniu ze sztucznie wykonanymi pęcherzami osób zdrowych. Poziom IL-8 w płynie z pęcherzy był wyższy niż w odpowiadających im próbkach surowicy. Autorzy zaobserwowali również podwyższony poziom IL-8 w sztucznie wytworzonych pęcherzach, w stosunku do odpowiadających im próbek krwi. Kuhns i wsp. [12] też stwierdzili podwyższony poziom IL-8 w sztucznie wytworzonych pęcherzach, a obserwując zmiany w ciągu 24 godz., zauważyli znaczący wzrost tej chemokiny po 8 godz. Podobnie w badaniach Ameglio i wsp. [13] poziom IL-8 był znacząco wyższy w płynie z pęcherzy niż w surowicy osób chorujących na BP. Określając nasilenie choroby przez liczbę zmian skórnych, wykazali oni dodatnią korelację z poziomem IL-8. Kristensen i wsp. [14], stosując metody biologii molekularnej, nie wykazali obecności mRNA dla IL-8 w naskórku pobranym z pęcherzy, co sugeruje, że źródłem IL-8 nie są prawdopodobnie komórki stacjonarne. Wysoki poziom IL-8, w przeciwieństwie do większości znanych cytokin, utrzymuje się dłużej w miejscach zmian skórnych, co wynika z oporności IL-8 na proteazy degradujące.

D'Auria i wsp. [15], badając korelację mieloperoksydazy jako produktu specyficznego dla granulocytów i tryptazy [enzymu proteolitycznego syntetyzowanego i uwalnianego przez mastocyty] a poziomem różnych cytokin w płynie pęcherzowym, zaobserwowali dodatnią korelację między poziomem tryptazy a IL-8 i RANTES (CCL5/RANTES – *regulated upon activation normal T lymphocyte expressed and secreted*), wykazującej dużą aktywność w stosunku do eozynofili.

Dodatkowym dowodem udziału chemokin w powstawaniu zmian chorobowych są badania chorych leczonych dapsonem. Dapson (4,4' -*diaminodiphenyl sulphone*) zalecany jest w leczeniu chorób związanych głównie z naciekami neutrofilowymi. Po jego zastosowaniu obserwuje się redukcję ww. nacieków. Wykazano, że chemotaksja

wywołana przez CXCL8/IL-8 w warunkach *in vitro* ulega zmniejszeniu przy stosowaniu dapsonu [16]. Schmidt i wsp. [16] stwierdzili zależną od dawki dapsonu supresję wydzielania IL-8, mediowaną przez królicze i ludzkie przeciwiactwa przeciw BP180 z hodowli keratynocytów. Dapson nie wpływał jednak na poziom mRNA, co sugeruje jego oddziaływanie na poziomie posttranslacyjnym.

W tworzeniu nacieku w chorobach alergicznych wykazano także udział CCL11/eotaksyny, będącej silnym chemoatraktantem *in vitro*. Wakugawa i wsp. [17], badając poziom eotaksyny w płynie z pęcherzy chorych, a także jej ekspresję w zmianach skórnych, wykazali podwyższony poziom eotaksyny w płynie pęcherzowym chorych na BP w porównaniu z kontrolą, którą stanowił płyn z pęcherzy oparzeniowych lub uzyskiwanych w sposób sztuczny na zdrowej skórze. Autorzy zauważyli również korelację między poziomem eotaksyny w płynie z pęcherza a liczbą eozynofili w nacieku w skórze, w przeciwieństwie do poziomu przeciwiactw w surowicy niewykazującego tej zależności. Ponadto w badaniu immunohistochemicznym ze zmian skórnych w BP wykazali oni silną ekspresję eotaksyny w cytoplazmie keratynocytów, które mogą być jej głównym źródłem w BP. Podobne wyniki uzyskali Shrikhande i wsp. [18], którzy stwierdzili znacznie podwyższone stężenie eotaksyny w płynie pobranym z pęcherzy i w surowicy osób chorych na BP w porównaniu z grupą kontrolną.

Ze względu na liczne badania dokumentujące udział CCL17/TARC (*thymus and activation-regulated chemokine*) w atopowym zapaleniu skóry, będącym chorobą z dominującą odpowiedzią typu Th2, i badania dokumentujące, że w BP biorą udział również limfocyty Th2, Kakinuma i wsp. [19] przeprowadzili badania dotyczące poziomu TARC u osób chorujących na BP. Autorzy wykazali wyższy poziom TARC w płynie z pęcherzy oraz w surowicy chorych na BP w porównaniu z grupą kontrolną osób chorujących na pęcherzycę zwykłą i osób zdrowych. Autorzy stwierdzili również obniżanie się poziomu tej chemokiny w surowicy w trakcie trwania skutecznego leczenia oraz zaobserwowali istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem TARC w surowicy a eozynofilią we krwi obwodowej. Podobnie w wycinkach skóry od osób zdrowych nie stwierdzono obecności TARC, obserwowanej w keratynocytach głównie warstwy podstawnej naskórka zarówno w obrębie zmian chorobowych, jak i skóry pozornie zdrowej u chorych na BP. Autorzy uważają, iż keratynocyty ze zmian skórnych produkują i wydzielają TARC, czego wynikiem jest jego wysoki poziom w płynie z pęcherzy. Potwierdzeniem tej hipotezy jest obecność CCR4 – receptora TARC, na komórkach poniżej pęcherza [19].

Echigo i wsp. [20] w pracy z 2006 r. zwracają uwagę, że nie tylko poziom chemokin typu Th2, ale i Th1 jest podwyższony w przebiegu pemfigoidu. Receptory CXCR3 i CCR5 ulegają ekspresji przede wszystkim na limfocytach typu Th1, a CCR3, CCR4 i CCR8 głównie na Th2 [21]. Autorzy, badając CXCL9/MIG (*monokine induced by IFN- $\gamma$* ) chemotaktyczną dla Th1, CCL17/TARC i CCL22/MDC (*macro-*

*phage derived chemokine*) chemotaktyczne dla Th2, wykazali ich zdecydowanie wyższy poziom w surowicy u osób z pemfigoidem niż w grupie kontrolnej oraz obniżanie się poziomu tych chemokin w trakcie leczenia [20].

### Udział chemokin w patogenezie *dermatitis herpetiformis*

Inną chorobą pęcherzową charakteryzującą się naciekami z neutrofilii i eozynofili w skórze jest *dermatitis herpetiformis* (DH) – przewlekła pęcherzykowo-grudkowa dermatoza, w której badanie histopatologiczne ukazuje tworzące się mikroropnie w szczytach brodawek skórnych złożonych głównie z neutrofilii i eozynofili, a w skórze nacieki limfocytów, neutrofilii i eozynofili [22].

Eozynofile odpowiadają na wiele chemoatraktantów, m.in. IL-2, IL-3, IL-8, MCP-2, MCP-3, MCP-4, RANTES i eotaksynę. Eotaksyna produkowana jest przez limfocyty T, eozynofile, monocyty, fibroblasty, komórki endotelium i komórki nabłonkowe jelit i układu oddechowego w odpowiedzi na IL-4, IL-13, TNF- $\alpha$  i interferon  $\gamma$ , wykazuje aktywność również wobec komórek typu Th2 [22]. Amerio i wsp. [22] wykazali obecność eotaksyny w skórze i mikroropniach ze zmian u chorych z DH. Ekspresji tej chemokiny nie wykazano natomiast w skórze osób zdrowych. Ze względu na to, iż Bornscheuer i wsp. [10] nie wykazali ekspresji RANTES u osób chorych na DH, być może eotaksyna jest głównym chemoatraktantem w tej chorobie [22].

Jednak nie wszyscy autorzy stwierdzili podobne zjawisko. W badaniu Caproni i wsp. [23] poziom eotaksyny w surowicy osób chorych na DH był porównywalny z wynikami uzyskiwanymi w kontroli osób zdrowych.

Graeber i wsp. [24], oznaczając IL-8 i IL-6 w warstwie podstawnej naskórka chorych na DH i w skórze osób zdrowych, stwierdzili, że poziomy tych cytokin były wyższe w skórze osób chorych na DH. Podobne obserwacje poczynili Hall i wsp. [25]. Wykazali oni podwyższone stężenie IL-8 u 40% badanych pacjentów z chorobą Duhringa. Badania ich wskazują również, że odpowiedź zapalna w jelitach osób chorych na DH jest związana również z aktywacją endotelialnych komórek skóry i krążących komórek zapalnych, co może mieć znaczenie w rozwoju zmian skórnych w DH.

Bornscheuer i wsp. [10] wykazali natomiast jednakołą dystrybucję IL-8 u osób zdrowych i chorych z DH. Zaobserwowaną różnicę tłumaczą miejscem pobierania wycinków i używaniem innych przeciwciał.

### Udział chemokin w patogenezie pęcherzycy

Pęcherzyca to przewlekła, autoimmunologiczna choroba, charakteryzująca się histologicznie występowaniem śródskórnym pęcherzy. Są one wynikiem niszczenia połączeń między keratynocytami, w wyniku łączenia się z antygenami specyficznych przeciwciał.

Do chwili obecnej istnieją pojedyncze doniesienia na temat udziału chemokin w patogenezie pęcherzycy.

Ze względu na obecność złogów IgG również w skórze zmienionej i nacieków komórkowych w okolicy zmian postuluje się udział mechanizmów komórkowej odpowiedzi immunologicznej w tworzeniu się pęcherzy [26].

Bornscheuer i wsp. [10] opisali brak różnicy w badaniach immunohistochemicznych wycinków skóry w obecności IL-8 i RANTES pomiędzy osobami chorymi a zdrowymi zarówno w pęcherzycy, jak i innych chorobach pęcherzowych. Baroni i wsp. [27] wykazali podwyższony poziom IL-8 w płynie z pęcherzy i w surowicy osób z pęcherzycą w porównaniu z grupą kontrolną.

Caproni i wsp. [26] stwierdzili natomiast silną ekspresję IL-8 wokół naczyń w skórze, a umiarkowaną w keratynocytach naskórka i przydatków skóry zarówno w wycinkach ze zmian, jak i w skórze pozornie zdrowej. U osób z grupy porównawczej wykazali umiarkowaną ekspresję tej chemokiny w naskórku i komórkach endotelium.

Podobne wyniki uzyskali Echigo i wsp. [20], badając poziom różnych chemokin w surowicy chorych na pęcherzycę zwykłą. Wykazali oni zwiększony poziom MIG/CXCL9, a także TARC i MDC, przy czym poziom ten był niższy niż u chorych na BP.

Pęcherzyca opryszczkowata – będąca rzadką odmianą pęcherzycy – jest chorobą, w której dochodzi do akantolizy podrogowej i tworzenia nacieków neutrofilowych na złączy skórno-naskórkowym, które mogą wiązać się ze zdolnością IgA1 do wiązania neutrofilii. W pęcherzycy opryszczkowej O'Toole i wsp. [28] w badaniach immunohistochemicznych zaobserwowali silną ekspresję IL-8 w górnych warstwach naskórka występującą w towarzystwie związanych *in vivo* przeciwciał IgG. Kolokalizacja przeciwciał IgG przeciwko desmogleinie 1 może wskazywać na ich rolę w rekrutacji neutrofilii przez stymulację ekspresji IL-8 na keratynocytach.

Prac badających udział chemokin w patogenezie pęcherzycy jest niewiele, a brak jednoznacznych wyników uzyskiwanych w badaniach dotyczących także ich udziału w patogenezie podnaskórkowych chorób pęcherzowych wskazuje na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

*Praca wykonana z funduszu: 503-8019-1, 502-18-521, 503-1019-1.*

### Piśmiennictwo

1. Waśniowska K. Chemokiny – perspektywy zastosowania związków blokujących ich działanie w terapii. *Post Hig Med Dośw* 2004; 58: 37-46.
2. Waśniowska K. Ludzkie receptory chemokin: budowa i funkcja. *Post Hig Med Dośw* 1999; 53: 583-600.
3. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines. A new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121-7.
4. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* 2001; 250: 91-104.

5. Saeki H, Tamaki K. Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. *J Dermatol Sci* 2006; 43: 75-84.
6. Karpus WJ, Kennedy KJ. MIP-1 $\alpha$  and MCP-1 differentially regulate acute and relapsing autoimmune encephalomyelitis as well as Th1/Th2 lymphocyte differentiation. *J Leukoc Biol* 1997; 62: 681-7.
7. Sallusto F, Schaerli P, Loetscher P, et al. Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2760-9.
8. Hub E, Rot A. Binding of RANTES, MCP-1, MCP-3, and MIP-1 $\alpha$  to cells in human skin. *Am J Pathol* 1998; 152: 749-57.
9. Kaneko F, Minagawa T, Takiguchi Y, et al. Role of cell-mediated immune reaction in blister formation of bullous pemphigoid. *Dermatology* 1992; 184: 34-9.
10. Bornscheuer E, Zillikens D, Schroder JM, Sticherling M. Lack of expression of interleukin 8 and RANTES in autoimmune bullous skin diseases. *Dermatology* 1999; 198: 118-21.
11. Schmidt E, Ambach A, Bastion B, et al. Elevated levels of interleukin-8 in blister fluid of bullous pemphigoid compared with suction blisters of healthy control subjects. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 310-2.
12. Kuhns DB, DeCarlo E, Hawk DM, et al. Dynamics of the cellular and humoral components of the inflammatory response elicited in skin blisters in humans. *J Clin Invest* 1992; 89: 1734-40.
13. Ameglio F, D'Auria L, Bonifati C, et al. Cytokine pattern in blister fluid and serum of patients with bullous pemphigoid: relationships with disease intensity. *Br J Dermatol* 1998; 138: 611-4.
14. Kristensen M, Larsen CG, Jorgensen P, Paludan K. RNA purification from epidermal suction blisters. *Acta Derm Venereol* 1991; 71: 423-6.
15. D'Auria L, Pietravallo M, Cordiali-Fei P, Ameglio F. Increased tryptase and myeloperoxidase levels in blister fluids of patients with bullous pemphigoid: correlations with cytokines, adhesion molecules and anti-basement membrane zone antibodies. *Exp Dermatol* 2000; 9: 131-7.
16. Schmidt E, Reimer S, Kruse N, et al. The IL-8 release from cultured human keratinocytes, mediated by antibodies to bullous pemphigoid antigen 180, is inhibited by dapsone. *Clin Exp Immunol* 2001; 124: 157-62.
17. Wakugawa M, Nakamura K, Hino H, et al. Elevated levels of eotaxin and interleukin-5 in blister fluid of bullous pemphigoid: correlation with tissue eosinophilia. *Br J Dermatol* 2000; 143: 112-6.
18. Shrikhande M, Hunziker T, Braathen LR, et al. Increased coexpression of eotaxin and interleukin 5 in bullous pemphigoid. *Acta Derm Venereol* 2000; 80: 277-80.
19. Kakinuma T, Wakugawa M, Nakamura K, et al. High level of thymus and activation-regulated chemokine in blister fluid and sera of patients with bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 2003; 148: 203-10.
20. Echigo T, Hasegawa M, Shimada Y, et al. Both Th1 and Th2 chemokines are elevated in sera of patients with autoimmune blistering diseases. *Arch Dermatol Res* 2006; 298: 38-45.
21. Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, et al. Flexible programs of chemokine receptors expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 187: 857-83.
22. Amerio P, Verdolini R, Giangiacomi M, et al. Expression of eotaxin, interleukin 13 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 2000; 143: 974-8.
23. Caproni M, Cardinali C, D'Agata A, et al. Serum eosinophil cationic protein, myeloperoxidase, tryptase, eotaxin and Th2-like cytokines in dermatitis herpetiformis. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 67-72.
24. Graeber M, Baker BS, Garioch JJ, et al. The role of cytokines in the generation of skin lesions in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 1993; 129: 530-2.
25. Hall RP 3rd, Takeuchi F, Benbenisty KM, Streilein RD. Cutaneous endothelial cell activation in normal skin of patients with dermatitis herpetiformis associated with increased serum levels of IL-8, sE-selectin, and TNF- $\alpha$ . *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1331-7.
26. Caproni M, Giomi B, Cardinali C, et al. Further support for a role for Th2-like cytokines in blister formation of pemphigus. *Clin Immunol* 2001; 98: 264-71.
27. Baroni A, Perfetto B, Ruocco E. Cytokine pattern in blister fluid and sera of patients with pemphigus. *Dermatology* 2002; 205: 116-21.
28. O'Toole EA, Mak LL, Guitart J, et al. Induction of keratinocyte IL-8 expression and secretion by IgG autoantibodies as a novel mechanism of epidermal neutrophil recruitment in pemphigus variant. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 217-24.