Preisverleihung 1992

STIFTUNG PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Heft Nr. 20

Frau PD Dr. med. Leena Kaarina Bruckner-Tuderman
«Molecular Pathology of the
Epidermal-Dermal Interface in Skin»

Monsieur Prof. Dr. Jürg Tschopp
«Das Phänomen der von Lymphozyten
vermittelten Zellyse»

STIFTUNG
PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Neunzehnte Preisverleihung

16. November 1992
Zürich

Heft Nr. 20 der Schriftenreihe
Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Kurhausstrasse 28, 8032 Zürich

INHALT

Vorwort des Stiftungsrates 5

Laudatio von Herrn Professor Dr. G. Burg auf die erste Preisträgerin Frau PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman 7

Urkunde für Frau PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman 11

Kurzbiographie von Frau PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman 13

Festvortrag von Frau PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman über das Thema: «Molecular Pathology of the Epidermal-Dermal Interface in Skin» 15

Laudatio von Herrn Professor Dr. J. Mauël auf den zweiten Preisträger Herrn Professor Dr. Jürg Tschopp 35

Urkunde für Herrn Professor Dr. Jürg Tschopp 39

Kurzbiographie von Herrn Professor Dr. Jürg Tschopp 41

Festvortrag von Herrn Professor Dr. Jürg Tschopp über das Thema: «Das Phänomen der von Lymphozyten vermittelten Zellyse» 43

Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta 65

Ehrentafel der Preisträger 69

VORWORT

Dr. Alfred Hartmann
Vizepräsident des Stiftungsrates

Als Dr. Antoine Cloëtta 1973 zu Ehren seines Vaters die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta gründete, beabsichtigte er, sein persönliches Vermögen der medizinischen Forschung und den damit verbundenen wissenschaftlichen Disziplinen zu widmen. Wenn er auch dabei zunächst an die Finanzierung von Forschungsprojekten in Zusammenarbeit mit Hochschulen und pharmazeutischen Unternehmen gedacht haben mag, so waren die Statuten doch so weit gefasst, dass darin auch die Sicherung des universitären Nachwuchses im Bereiche der Medizin, wie ihn sich die Stiftung seit über 10 Jahren zum Ziele gesetzt hat, Aufnahme finden konnte.

Als zu Beginn der 80er Jahre die öffentliche Hand gezwungen war, den Ausbau der Hochschulen wegen der fehlenden Mittel zu beschränken, sah unsere Stiftung in der Förderung begabter Forscher während der Wartezeit bis zur Verleihung einer Professur durch finanzielle Unterstützung eine besonders sinnvolle und nützliche Aufgabe. Heute befinden wir uns wieder in einer ähnlichen Lage, was den Stiftungsrat in einer Strategiesitzung kürzlich veranlasst hat, die Ausrichtung der Tätigkeit der Stiftung unverändert zu belassen.

Im Jahre 1991 finanzierte die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta 13 Forschungsstellen an schweizerischen Universitätskliniken und Instituten. Überdies gewährte sie zwei zeitlich beschränkte Überbrückungszahlungen in Fällen, bei denen eine Anstellung an einer Universität bereits gesichert war. Im Rahmen der von der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften ergriffenen Initiative eines Zweitstudiums für Mediziner in naturwissenschaftlicher Richtung gewährte unsere Stiftung drei Medizinern zu diesem Zwecke Beiträge. Die gesamten für die medizinische Forschung erbrachten Leistungen überstiegen Fr. 1,6 Millionen.

Seit ihrer Gründung hat die Cloëtta-Stiftung mit namhaften Beiträgen eine grössere Zahl medizinischer Forscher unterstützt und auch

durch die Verleihung des Cloëtta-Preises ausgezeichnet. Um die dabei entstandene Gemeinschaft von mit unserer Stiftung verbundenen Forschern und Medizinern zu festigen, hat sie vor zwei Jahren ein erstes Seminar unter Beteiligung von Forschern aus Medizin und andern Disziplinen durchgeführt. Eine gleiche Veranstaltung fand im vergangenen Jahr an der Zürcher Universitätsklinik statt.
Die Cloëtta-Stiftung freut sich, auch dieses Jahr wieder zwei Forscher auszeichnen zu können, welche sich mit ihren Arbeiten ausgezeichnet haben. Frau Dr. Leena K. Bruckner-Tuderman arbeitet als Dermatologin am Universitätsspital Zürich, Herr Dr. Jürg Tschopp am Biochemischen Institut in Lausanne. Beide haben in den letzten Jahren zahlreiche Publikationen veröffentlicht. Mit der Verleihung des Cloëtta-Preises sollen ihr Einsatz und ihre Leistungen anerkannt werden. Er möge gleichzeitig Ansporn für ihre weitere Forschung sein.
Eine Stiftung mit dem hohen Ziel der Förderung der medizinischen Forschung wäre kaum in der Lage, erfolgreich zu arbeiten ohne die tatkräftige Mithilfe von medizinischen Experten, die ihrerseits an der Spitze der Forschung stehen. Es ist deshalb unserer Stiftung ein Bedürfnis, den Medizinern im Stiftungsrat: den Herren Professoren Dr. Alfred Pletscher, Dr. Bernard Courvoisier, Dr. Henri Isliker und Dr. Jürgen Zapf für ihre grosse und ehrenamtlich geleistete Arbeit besonders zu danken. Unser Dank geht auch an die medizinischen Fakultäten unserer Universitäten und anderer Institute für die breite Unterstützung, die wir bei ihnen bei der Erfüllung unserer Aufgaben gefunden haben. Danken möchten wir auch den Angehörigen unseres Sekretariates für die Bewältigung der beträchtlichen administrativen Arbeit, die es jedes Jahr mit Umsicht und Sorgfalt zu erledigen gilt.

LAUDATIO FÜR FRAU PD LEENA KAARINA BRUCKNER-TUDERMAN

von Prof. Dr. G. Burg

Gerne habe ich die Aufgabe übernommen, die Laudatio für Frau Privatdozentin Leena Bruckner-Tuderman zu sprechen. Die Auszeichnung, die ihr in diesem (19.) Stiftungsjahr zuteil wird, ehrt auch die Klinik, in der Frau Bruckner-Tuderman tätig ist, sowie deren ehemaligen Direktor, der für das erforderliche Umfeld Sorge getragen hat.

Frau Privatdozentin Dr. Bruckner-Tuderman ist Score-Stipendiatin des Schweizerischen Nationalfonds und Oberärztin an der Dermatologischen Klinik unserer Universität.

Sie erhält die Auszeichnung als zweite Frau in der Ehrentafel der bisherigen Preisträger für ihre biochemischen und molekularbiologischen Arbeiten auf dem Gebiet der Bindegewebsforschung unter besonderer Berücksichtigung der epidermo-dermalen Grenzzone. Diese Untersuchungen sind von besonderer Wichtigkeit, da angeborene oder erworbene Störungen in dieser Grenzzone zwischen den oberen Strukturen unseres Hautorgans zahlreiche z.T. schwer verlaufende Krankheiten verursachen, deren wirkungsvolle Behandlung erst möglich sein wird, wenn die pathogenetischen Zusammenhänge ihrer Entstehung weiter geklärt sind.

Frau Bruckner-Tuderman ist geborene Finnin und besitzt die schweizerische und finnische Staatsbürgerschaft.

Nach Schule und Medizinstudium in Oulu/Finnland war Frau Bruckner ein Jahr als Assistentin am Institut für Medizinische Biochemie der Universität Oulu tätig und legte hier bereits die Grundlage für ihre methodologische Forschungsrichtung, die sie von 1977 bis 1980 als Postdoctoral Fellow, Instructor and Assistant Professor am Department für Biochemie der Rutgers Medical School in New Jersey fortsetzte, bevor sie dann als wissenschaftliche Assistentin in der Abteilung für Strukturbiologie am Biozentrum der Universität Basel von 1980 bis 1983 tätig wurde.

Neben den wissenschaftlichen Impulsen waren auch die persönlichen Kontakte in diesem Umfeld offenbar sehr stark, da Frau Bruckner hier ihren Mann kennenlernte.
Grundlagenforschung wird durch Einbindung und Anwendung an medizinischen Fragestellungen lebendig.
Diese Situation hat Frau Bruckner-Tuderman bewogen, ihre Fähigkeiten und Kenntnisse in einem medizinischen Umfeld zur Anwendung zu bringen.
Nach einer kurzen Gastarzttätigkeit in der Orthopädischen Klinik Basel war Frau Bruckner-Tuderman seit 1984 an der Dermatologischen Klinik unserer Universität, zunächst als Assistenz-, später als Oberärztin tätig.
In dieser Zeit hat sich Frau Bruckner-Tuderman durch ihre Arbeiten internationalen Ruf auf dem Gebiet der Bindegewebsforschung erworben.
Dies zeigen neben der heutigen Auszeichnung auch weitere Preise und Stipendien, die ihr bereits zuerkannt wurden.
Es stellt sich die Frage, wie sich ein solches Curriculum entwickelt. Ist dies Intelligenz, Zielstrebigkeit, Begeisterungsfähigkeit, Neugier, Schicksal? Es gehört alles dazu. Wichtig ist die richtige Strategie. Diese in vorbildlicher Weise verfolgt zu haben, verdient Anerkennung: Einstieg in die klinisch angewandte Forschung nach mehrjähriger Tätigkeit in der Grundlagenforschung.
Hierbei das adäquate Umfeld bereitgestellt und eine gute Regie geführt zu haben, ist das besondere Verdienst meines Vorgängers (Herrn Professor Schnyder), dem als wichtigem geistigem Mentor ebenfalls ein Teil dieser Auszeichnung gebührt.
Im speziellen verdienen die Arbeiten von Frau Privatdozentin Dr. Bruckner-Tuderman Anerkennung, weil sie uns in einer produktiven Verflechtung von Medizin und Naturwissenschaften dem Verständnis einer wichtigen Krankheitsgruppe näherbringen und damit letztlich einen Beitrag zur besseren Versorgung unserer Patienten liefern.
Die Frage nach bisher Geleistetem drängt sich in runden Geburtstagsjahren auf. In diesem Sinne ist die Auszeichnung, die Ihnen, Frau Privatdozentin Bruckner-Tuderman heute zuteil wird, eine Antwort, auf die Sie stolz sein können und sicher nicht nur ein ver-

spätetes Geburtstagsgeschenk, sondern gleichzeitig Motivation zur Fortführung Ihrer Aktivitäten, die weiterhin von Erfolg gekrönt sein mögen.

DER CLOËTTA-PREIS 1992
WIRD

FRAU PRIVATDOZENTIN DR. MED.

LEENA BRUCKNER-TUDERMAN

GEBOREN 1952 IN HELSINKI, FINNLAND
OBERÄRZTIN AN DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK
DES UNIVERSITÄTSSPITALS ZÜRICH
IN ANERKENNUNG IHRER AUSSERORDENTLICHEN ARBEITEN
AUF DEM GEBIET DER BIOLOGIE UND
MOLEKULARPATHOLOGIE DES BINDEGEWEBES DER HAUT
VERLIEHEN.

ZÜRICH, 16. NOVEMBER 1992

FÜR DEN STIFTUNGSRAT:

DER VIZEPRÄSIDENT: A. Wettstein

EIN MITGLIED: B. Pontius

EIN MITGLIED: Alfred Werdenberg

PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman

CURRICULUM VITAE

Name:	Leena Kaarina Bruckner-Tuderman
Titel:	PD Dr. med.
Adresse:	Universitätstrasse 47, CH-8006 Zürich
Geburtsdatum:	1. September 1952
Geburtsort:	Oulu, Finnland
Staats-angehörigkeit:	Schweizerin und Finnin
Ausbildung:	1976 Arztdiplom, Universität Oulu, Oulu, Finnland, 1976 Akademische Dissertation, Dr. med., 1984–1987 Dermatologische Spezialarzt-Ausbildung, Universität Zürich, 1989 Habilitation, Universität Zürich, Privatdozentin für Dermatologie und Venerologie

Berufserfahrung:

3/1976–2/1977	Assistentin, Mediz. Biochemie, Universität Oulu, Finnland
3/1977–10/1980	Post-doctoral fellow, Instructor und Adj. Assistant Professor, Dept. Biochemistry, Rutgers Medical School, CMDNJ, N.J., U.S.A.
11/1980–9/1983	Wissenschaftliche Assistentin, Abt. Strukturbiologie, Biozentrum, Universität Basel
10/1983–12/1983	Gastärztin, Orthopädische Universitätsklinik Basel
1/1984–3/1987	Assistenzärztin, Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
4/1987–12/1987	Oberärztin i.V., Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
1/1988–	Oberärztin, Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
10/1990–	SCORE A-Stipendiatin des Schweiz. Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung

Auszeichnungen:

1985	Poster-Preis der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft
1987	Sauter-Preis für Dermatologische Forschung
1992	Korrespondierendes Mitglied der Finnischen Dermatol. Gesellschaft

Fachgesellschaften:

Schweiz. Gesellschaft für Dermatologie und Venereologie
Swiss Contact Dermatitis Research Group
Schweizerische Arbeitsgruppe für Bindegewebsforschung
Deutsche Dermatologische Gesellschaft
Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung
European Society for Dermatological Research
European Academy for Dermatology and Venerology
European Tissue Repair Society
Society for Investigative Dermatology (USA)

Forschungskredite:

Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung
der wissenschaftlichen Forschung
Reguläre Kredite 1989–
SCORE A-Kredit 1990–
EMDO-Stiftung 1990–1991
Cilag-Stiftung 1989–1991
Roche Research Foundation 1992–1993
Hartmann-Müller-Stiftung 1992

Publikationen:

siehe beiliegende Liste

MOLECULAR PATHOLOGY OF THE EPIDERMAL-DERMAL INTERFACE IN SKIN

Leena Bruckner-Tuderman

1. The Epidermal-Dermal Interface

One of the main functions of the skin is to provide mechanical protection against the outside environment. A prerequisite for such a function is a strong cohesion between the skin epithelium, the epidermis and the mesenchymal connective tissue, the dermis. The interface of these two layers consists of a basement membrane zone, the so called dermo-epidermal junction (1), which concomitantly adheres and demarcates the two layers and serves also as a scaffold for tissue organization and regeneration (Fig. 1). This type of highly specialized basement membrane zone is found only in a limited number of tissues: the skin, the mucous membranes, the cornea and conjunctiva, the esophagus and the placental membranes, all of them tissues exposed to shearing forces.

Abnormalities of this zone can lead to impaired function and severe medical consequences including excessive blistering, poor wound healing or ulcerations of the skin, mucous membranes or the eye. Understanding the pathology of such abnormalities and design of efficient therapeutic regimens necessitates knowledge about the normal structure, function and physiology of this zone.

Today, the morphology of the dermo-epidermal junction is well known, but not all molecular components are characterized yet, and we are only beginning to understand the regulatory signals directing the epidermal-dermal communication that is necessary for the synthesis and maintenance of this interface.

We have approached these questions by taking two parallel routes: First, by studying the normal components of the dermo-epidermal junction and their regulation in vitro, and second, by investigating genetic disorders of this zone where a single mutation causes a distinct disease. Such disorders demonstrate the consequences of the mutation in vivo and thereby deliver indirect information about

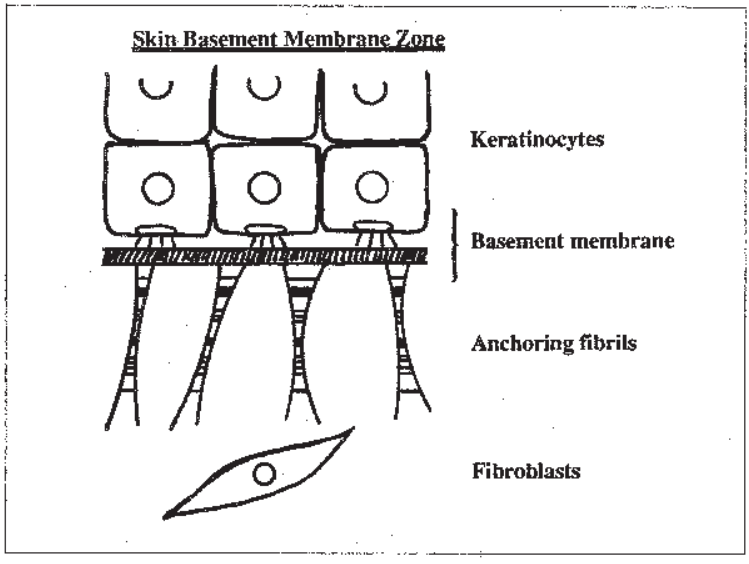


Fig. 1: A simplified scheme of the skin basement membrane zone (epidermal-dermal interface). The basement membrane which demarcates the epidermis and the dermis, appears in electron microscope as a bilayer and is therefore presented with a light and a dark zone. The epidermal keratinocytes attach to the basement membrane by filamentous structures, and the basement membrane is anchored to the dermal connective tissue by the cross-banded anchoring fibrils. The fibroblasts send signals that regulate the turnover of the basement membrane zone.

the normal function of the components of the epidermal-dermal interface. Study of these disorders also helps understanding the processes that underlie common acquired skin diseases or disturbances of epithelialization in general.

2. Molecular Components of the Skin Basement Membrane Zone: Role of Collagen VII

The basement membrane zone consists of an integral network of macromolecules which assemble, in addition to the basement membrane proper, into unique structures, such as the hemidesmosome-

anchoring filament complex or the anchoring fibril network that provide the strong coherence through chemical and/or physical interactions. By binding cytokines and growth factors the basement membrane zone also acts as reservoir for regulators of biological processes (2–4).

Anchoring fibrils are cross-banded fibrils with frayed ends that emerge from the basement membrane into the dermal connective tissue and attach these two skin compartments (5). Collagen VII is the major structural component of these fibrils (6–7). It is a triple-helical molecule that consists of three identical α-1(VII) chains. Each chain has a central repetitive -Gly-X-Y- sequence typical of all collagens, and a large amino-terminal and a small carboxy-terminal globular domain (Fig. 2). The molecular weight of an α-chain is about 300 kD (8), it is translated from a 8.5 kb mRNA which in turn is a product of an unusual 30 kb gene with more than 100 exons (9–11). The cDNA K131 that spans the transition from the globular to the

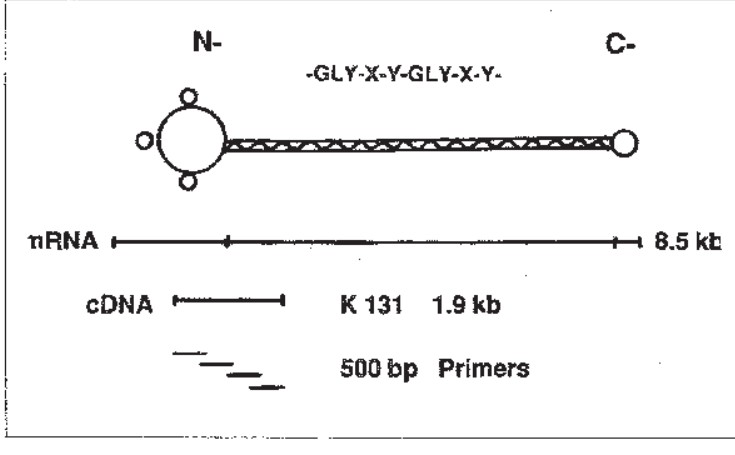


Fig. 2: Collagen VII is a large molecule of about 900 kD. It consists of three α-1(VII) chains of about 300 kD each. All α-chains contain a central triplehelix with a repetitive -Gly-X-Y- sequence and a large N-terminal and a small C-terminal globular domain. The mRNA coding for an α-1(VII) chain is about 8.5 kb in length. The cDNA K131 has been useful in studies on the expression of collagen VII in normal and EB cells.

triple-helical domain of collagen VII has been very useful in studies on expression of this collagen, in elucidating the gene structure and in linkage analyses (11).

3. Expression of Collagen VII In Vitro.

The synthesis of collagen VII and biogenesis of the anchoring fibrils remain to be elucidated. An intriguing question is, how the fibrils polymerize and get deposited to their location below the lamina densa. Both keratinocytes and fibroblasts are capable of synthesizing small amounts of collagen VII in vitro (12,13), but it is not clear which cells do so in vivo. We have shown that co-culture of keratinocytes and fibroblasts greatly enhances the expression of collagen VII in both cell types (14). However, in three-dimensional skin equivalent cultures, keratinocytes represent the main production site of collagen VII. Although epidermal cells may be responsible for most of the synthesis of this collagen (13–15), it seems likely that a stimulus from fibroblasts is necessary for optimal synthesis.

The nature of the signals regulating collagen VII expression is one of our current research interests. No direct cell-cell contact in the co-cultures was necessary to enhance the expression, and conditioned media from co-cultures stimulated collagen VII expression in keratinocytes. This suggested a soluble factor as transmitter. A likely candidate was a cytokine with multiple regulatory effects on extracellular matrix, namely TGF-β (16). We showed that this factor was present in the conditioned media, and antibodies to it completely blocked the stimulatory effect on keratinocytes. Subsequently, exogenous recombinant TGF-β at picomolar concentrations was shown to stimulate collagen VII expression in a time and dose dependent manner (17). In keratinocyte monocultures, TGF-β induced a maximal enhancement of about 7-fold and about 2-fold in already highly expressing co-cultures. Fibroblast monocultures synthesized very minor quantities of collagen VII and responded weakly to TGF-β, a fact that points to existence of other synergistic factors that stimulate collagen VII expression. In a culture system mimicking the skin in vivo, in the so called skin equivalents, or "arti-

ficial skin", a more stable dermo-epidermal junction was produced after treatment with TGF-β. Further, this growth factor seems a specific enhancer of collagen VII expression at least in skin cultures, since the synthesis of other basement membrane proteins, laminin and collagen IV, increased to a much lesser extent. Our data suggest that TGF-β is one important mediator of epithelial-mesenchymal interactions and upregulates the synthesis of the anchoring fibrils at the skin basement membrane zone. Therefore, this growth factor exhibits potential as a therapeutic agent to stabilize the dermo-epidermal junction in pathologic situations with poor epithelialization and wound healing.

4. Genetic Blistering Diseases as Models

Genetic disorders of the dermo-epidermal junction have been coined Epidermolysis Bullosa (EB) to describe the main symptom of these diseases, formation of blisters after minimal trauma. EB represents a genetically, clinically and biologically heterogeneous group with three main categories defined according to where the cleavage occurs: above, at or below the basement membrane (see 18-20). Apart from the skin, the mucous membranes of the orifices, cornea and conjunctiva, upper respiratory tract and esophagus may be affected. These diseases result from a mutation in a gene coding for a structure protein of the skin basement membrane zone. A patient with such a disease demonstrates in a very "visible" way the consequences of a component's dysfunction. Using microscopy and biochemical techniques, we can follow the pathogenetic pathway from the visible blister to microscopic and molecular abnormalities and thereby learn about the normal interactions that result in a fully functional and protective skin. In this context, the most intriguing diseases are presently the dystrophic EB.

5. Examples of Molecular Abnormalities in Dystrophic EB

All dystrophic EB exhibit blistering below the basement membrane, at the level of the anchoring fibrils. This deep cleavage leads to scar-

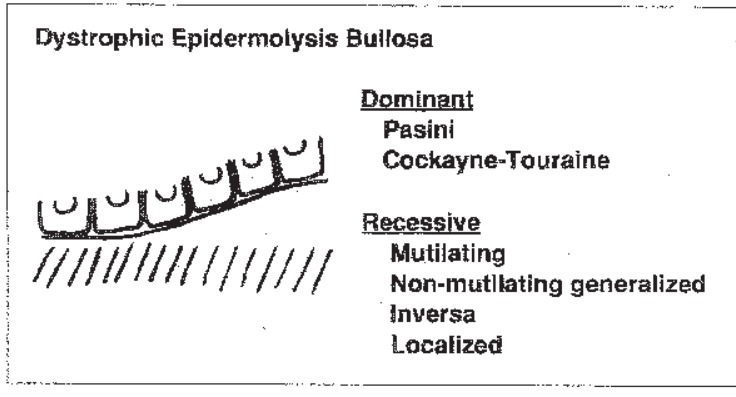


Fig. 3. In dystrophic EB, cleavage occurs below the basement membrane. The intact epidermis and the basement membrane form the blister roof. The subtypes of dystrophic EB are defined according to pattern of inheritance and the distribution of the lesions.

ring which gained the name "dystrophic" for these diseases. The group contains six subgroups, two of which are inherited in a dominant and four in a recessive manner (Fig. 3). Ultrastructural analysis of the patients' skin has demonstrated a variable degree of morphological abnormalities of the anchoring fibrils; normal appearing but quantitatively reduced, rudimentary in structure, or totally absent (18,21). It therefore seemed likely that molecular abnormalities of collagen VII contributed to pathogenesis of these diseases. In concert with this assumption, genetic linkage was recently established between COL7A1, the gene for collagen VII in chromosome 3, and dystrophic EB (22,23). In the last few years, we have characterized anchoring fibrils and collagen VII expression in skin and cutaneous cells of patients with different subtypes of dystrophic EB (24), and in the following, examples of how abnormalities can lead to clinical phenotypes are shown. As examples, the *recessive dystrophic mutilating EB* and *dominant dystrophic generalized EB* (Pasini disease) will be discussed below.

Most patients with the *recessive dystrophic mutilating EB* lack anchoring fibrils and collagen VII totally (25,26). A dramatic

absence of any immunofluorescence staining (Fig. 4) was observed when the skin of these patients was investigated using antibodies to collagen VII. Electron microscopy showed lack of anchoring fibrils and immunoelectron microscopy and immunoblotting of skin extracts with antibodies to collagen VII yielded a negative reaction; neither intact collagen VII nor its fragments were found (26). In fibroblasts or keratinocytes derived from skin of one patient, no expression of collagen VII was observed, in contrast to normal controls. Co-culture or stimulation with TGF-β of EB-cells also failed to stimulate collagen VII expression, and experiments with mixed, normal/EB co-cultures exhibited strong stimulation of collagen VII production in the normal counterpart but not in the EB cells. These data indicated that the EB-cells possess the capacity to stimulate normal cells in co-culture (normal signalling function) but cannot produce detectable amounts of collagen VII (27). The molecular mechanisms underlying the complete absence of collagen VII in mutilating EB remain unclear. Hypothetically, either the lack of synthesis, or the production of severely abnormal polypeptides that are immediately degraded by cellular or tissue proteinases, could contribute to the absence of collagen VII from the skin and other tissues.

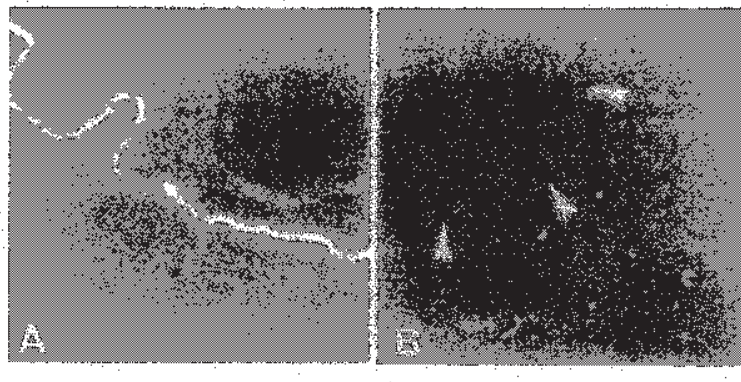


Fig. 4: Indirect immunofluorescence staining of normal (A) and EB *mutilans* (B) skin with antibodies to collagen VII. Note the complete absence of staining from the EB skin. The white arrow heads demarcate the dermo-epidermal junction in the EB skin.

Indeed, in very recent experiments we have detected intact mRNA for collagen VII in cultured keratinocytes from one such patient, suggesting synthesis of an abnormal protein that is sensitive to degrading enzymes. Currently we are analyzing the coding region of the collagen VII gene in these patients and searching for a mutation that causes the abnormality.

Another interesting abnormality of collagen VII was recently detected in a family with *dominant dystrophic generalized EB* (Pasini disease). The affected individuals had a reduced number of apparently normal and some rudimentary anchoring fibrils (28) in skin and blistering below the basement membrane. When keratinocytes from one patient were cultured and stained with antibodies to collagen VII, a strong intracellular retention of this collagen was observed (Fig. 5). The intensity of fluorescence in the EB cells corresponded to that in normal keratinocytes that had been stimulated about 5-fold with TGF-β (see above). This collagen could obviously not be secreted out of the EB cells, and accumulated in the rough endoplasmic reticulum, as was shown with electron microscopy and with help of markers. This kind of delayed secretion is often seen by

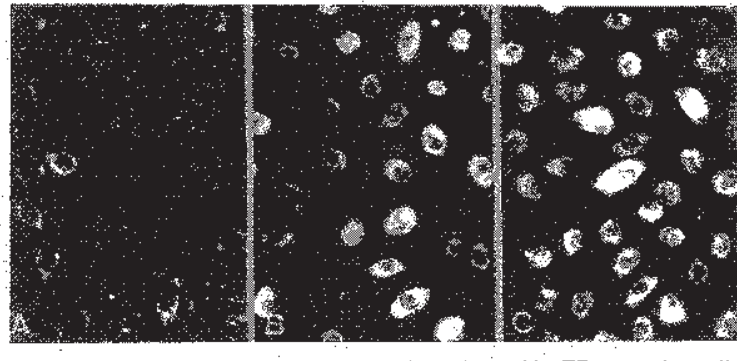


Fig. 5: Keratinocytes from a patient with dominant dystrophica EB accumulate collagen VII. Immunofluorescence staining of control (A) and EB (C) cells with antibodies to collagen VII. For comparison, in (B), collagen VII synthesis in controls was stimulated about 5-fold with TGF-β.

abnormally structured proteins. Subsequently, the collagen isolated from the patient's cells, in fact its helical domain, was somewhat larger than normal, probably due to overglycosylation. This assumption is supported by the fact that the mRNA for collagen VII was of normal size indicating that the molecule had acquired the larger size post-translationally (29). In analogy to other genetic diseases in which another collagen is affected, such as osteogenesis imperfecta or some Ehlers-Danlos syndromes (30,31), it is likely that a mutation in the gene coding for the triple helical domain causes the collagen to fold too slowly and into an imperfect triple helix. Such a molecule will be overmodified by hydroxylases and glycosylating enzymes, and it is not secreted at a normal speed or not at all. Therefore, our patient's skin does not have a sufficient number of anchoring fibrils and adequate coherence of the epidermis to the dermis.

6. Effect of Abnormal Collagen VII on Formation of Anchoring Fibrils

The mechanisms of fibrillogenesis of collagen VII into anchoring fibrils remain unclear. It is not known how many molecules of collagen VII are needed for one fibril, nor whether any other proteins are incorporated into the fibrils. The only information available is that segment-long-spacing aggregates of pepsin-digested collagen VII exhibit a banding pattern virtually identical to that of the anchoring fibrils in situ (32), a fact that has lead investigators to believe that collagen VII is the sole component of the fibrils. Due to high degree of cross-linking of the components at the dermo-epidermal junction, it has not yet been possible to isolate fibrils from the skin, and due to high insolubility and aggregating tendency of collagen VII, in vitro reconstitution has not been attempted.

However, it is tempting to speculate that incorporation of structurally abnormal collagen VII molecules into the fibrils would lead to impaired morphology and function. Fig. 6 shows a schematic representation of how the different anchoring fibril abnormalities observed in dystrophic EB could hypothetically all be explained by abnormalities of collagen VII. Incorporation into a fibril of few

mutated molecules may not change the morphology of the anchoring fibrils in electron microscope but can impair their function and cause poor coherence of the skin layers. Inclusion of quantitatively or qualitatively more abnormal molecules might induce rudimentary appearance, and polymerization of mostly mutated molecules could lead to formation of poor aggregates that do not assume fibrillar morphology at all. Cloning of the mutated genes and experimental fibrillogenesis with abnormal gene products must clarify these aspects in future.

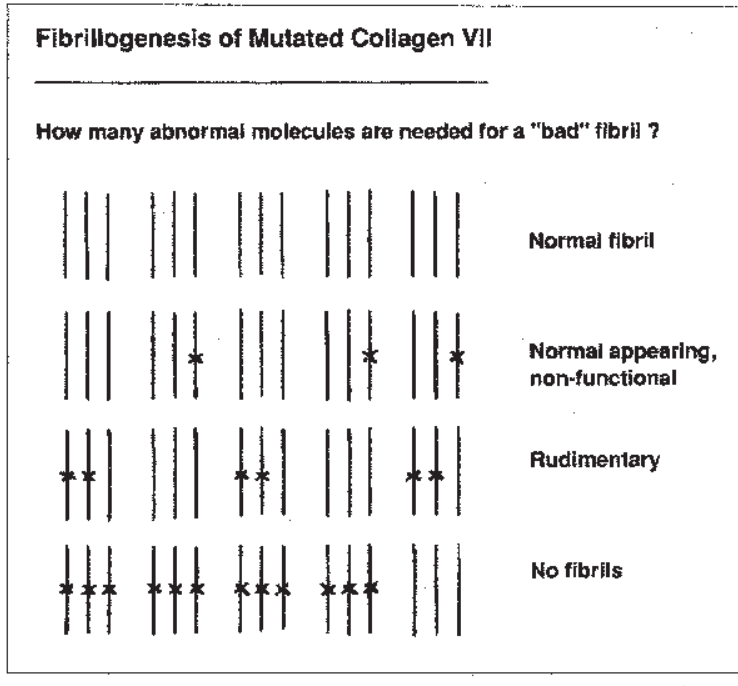


Fig. 6: Hypothetical situations leading to abnormal anchoring fibrils. The vertical lines represent normal molecules and the lines with an × represent mutated molecules. See text above for the rationale.

7. *Conclusions*

Molecular and structural studies on the dermo-epidermal junction have elucidated a number of macromolecules which are essential for the cohesion of the skin and resistance to shearing forces. Abnormalities of these proteins can lead to the blistering of the skin and related epithelia. Characteristic ultrastructural and immunochemical constellations have been defined for some of the heritable blistering disorders, and we begin to understand the causative molecular mechanisms. It is obvious, however, that only molecular cloning of the abnormal gene in each family will finally lead to the recognition of the genetic defects. Because the function of the skin basement membrane zone strongly depends on interactions between the macromolecules, several different mutations might cause disturbed interactions and, therefore, lead to similar clinical symptoms. Consequently, analysis of the normal and mutated genes of all the basement membrane components in human skin will become inevitable. This is a tedious and time consuming task. First, by the "candidate gene" approach, we have now started the search of mutations in patients with dystrophic EB whom we have shown to exhibit abnormal expression of collagen VII. However, in the long run, only studies on several structural components, and a combined approach with molecular biology, protein chemistry and cell biology will lead to a clarification of the etiopathogenetic mechanisms leading to blistering. From such studies we will learn not only about mutations leading to rare skin disorders, but they will help us understand the potentially abnormal regulatory processes resulting from e. g. diminished binding of cytokines to mutated structural components. Such abnormal regulatory processes may be the key to understanding common acquired diseases.

REFERENCES

1. Briggaman RA, Dallary FG, Wheeler CE: Formation and origin of basal lamina and anchoring fibrils in adult human skin. J Cell Biol 1971, 51, 384–395

2. Eady RAJ: Babes, blisters and basement membranes: from sticky molecules to epidermolysis bullosa. Clin Exp Dermatol 12, 161–170, 1987

3. Paulsson M: Basement membrane proteins: Structure, assembly and cellular interactions. Critic Rev Biochem Mol Biol 27, 93–127, 1992

4. Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky: A heparin-binding angiogenic protein, basic fibroblast growth factor, is stored within the basement membrane. Am J Pathol 130, 393–398, 1988

5. Palade GE, Farquhar MG (1965): A special fibril of the dermis. J Cell Biol 27: 215–224.

6. Sakai LY, Keene DR, Morris NP, Burgeson RE: Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils. J Cell Biol 1986, 103, 1577–586

7. Keene DR, Sakai LY, Lunstrum GP, Morris NP, Burgeson RE: Type VII collagen forms an extended network of anchoring fibrils. J Cell Biol 1987, 104, 611–621

8. Burgeson RE, Lunstrum GP, Rokosova B, Rimberg CS, Rosenbaum LM, Keene DR: The structure and function of type VII collagen. Ann NY Acad Sci 1990, 580, 3243

9. Parente MG, Chung LC, Ryynänen J, Woodley DT, Wynn KC, Bauer EA, Mattei M-G, Chu M-L, Uitto J: Human type VII collagen: cDNA cloning and chromosomal mapping of the gene, Proc Natl Acad Sci USA 88: 6931–6935, 1991

10. Chung-Honet LC, Christiano AM, Hovnanian A, Uitto J (1992): Partial characterization of the gene for human type VII collagen (COL7A1). J Invest Dermatol 98: 567 (abstract)

11. Uitto J, Chung-Honet LC, Christiano AM: Molecular biology and pathology of type VII collagen. Exp Dermatol 1, 2–11, 1992

12. Bruckner-Tuderman L, Schnyder UW, Winterhalter KH, Bruckner P: Tissue form of type VII collagen from human skin and fibroblasts in culture. Eur J Biochem 1987, 165, 607–611

13. Ryynänen J, Sollberg S, Parente MG, Chung LC, Christiano AM, Uitto J: Type VII collagen gene expression by cultured human cells and in fetal skin. Abundant mRNA and protein levels in epidermal keratinocytes. J Clin Invest 89, 163–168, 1992

14. König A, Bruckner-Tuderman L: Epithelial-mesenchymal interactions enhance expression of collagen VII in vitro. J Invest Dermatol 96: 803–808, 1991

15. Regauer S, Seiler GR, Barrandon Y, Easley K, Compton CC: Epithelial origin of anchoring fibrils. J Cell Biol 1990, 111, 2109–2115

16. Roberts AB, Heine UI, Flanders KC, Sporn MB: Transforming growth factor-beta. Major role in regulation of extracellular matrix. Ann NY Acad Sci 580: 225–232, 1990

17. König A, Bruckner-Tuderman L: Transforming growth factor-β stimulates collagen VII expression by cutaneous cells in vitro. J Cell Biol 117: 679–685, 1992

18. Gedde-Dahl T, Anton-Lamprecht I: Epidermolysis bullosa. In: Emery AEH, Rimoin DL (Eds): Principles and practice of medical genetics. Churchill Livingstone, New York, 1990, Vol 1, pp. 855–876

19. Priestley GC, Tidman MJ, Weiss JB, Eady RAJ (Eds): Epidermolysis bullosa. A comprehensive review of classification, management and laboratory studies. D.E.B.R.A., Crowthorne, Berkshire, U.K., 1990

20. Bruckner-Tuderman L: Epidermolysis bullosa. In: Royce P, Steinmann B (Eds): Extracellular Matrix and Its Heritable Disorders of Connective Tissue, Alan R Liss, New York, 1992, pp. 507–532

21. Hashimoto I, Schnyder UW, Anton-Lamprecht I, Gedde-Dahl T Jr, Ward S: Ultrastructural studies in epidermolysis bullosa hereditaria. III. Recessive dystrophic types with dermolytic blistering (Hallopeau-Siemens types and inverse type). Arch Dermatol Res 1976, 256, 137–150

22. Ryynänen M, Ryynänen J, Sollberg S, Iozzo RV, Knowlton RG, Uitto J: Genetic linkage of type VII collagen (COL7A1) to dominant dystrophic epidermolysis bullosa in families with abnormal anchoring fibrils. J Clin Invest 89: 974–980, 1992

23. Hovnanian A, Duquesnoy P, Blanchet-Bardon C, Knowlton RG, Amselem S, Lathrop M, Dubertret L, Uitto J, Goossens M (1992): Genetic linkage of recessive dystrophic epidermolysis bullosa to the type VII collagen gene. J Invest Dermatol 98: 576 (abstract)

24. Bruckner-Tuderman L: Collagens of the dermo-epidermal junction: role in bullous disorders. Eur J Dermatol 1:89–100, 1991

25. Heagerty AHM, Kennedy AR, Leigh I, Purkis PE, Eady RAJ: Identification of an epidermal basement membrane defect in recessive forms of dystrophic epidermolysis bullosa by LH7.2 monoclonal antibody: use in diagnosis. Br J Dermatol 1986, 115, 125–131

26. Bruckner-Tuderman L, Mitsuhashi Y, Schnyder UW, Bruckner P: Anchoring fibrils and type VII collagen are absent from skin in severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. J Invest Dermatol 1989, 93, 3–9

27. König A, Lauharanta J, Bruckner-Tuderman L: Keratinocytes and fibriblasts from a patient with mutilating dystrophic epidermolysis bullosa do not synthesize collagen VII: lack of effect of TGF-β. J Invest Dermatol, in press

28. Tidman MJ, Eady RAJ: Evaluation of anchoring fibrils and other components of the dermal-epidermal junction in dystrophic epidermolysis bullosa by a quantitative ultrastructural technique. J Invest Dermatol 1985, 84, 374-377

29. König A, Ragunath M, Steinmann B, Bruckner-Tuderman L: A collagen VII defect inhibits normal secretion and leads to a reduced number of anchoring fibrils in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. Manuscript in preparation

30. Kuivaniemi H, Tromp G, Prockop JD: Mutations in collagen genes: causes of rare and some common diseases in humans. FASEB J 5, 2052-2060, 1991

31. Prockop DJ: Mutations in collagen genes as a cause of connective tissue diseases. N Engl J Med 326, 540–546, 1992

32. Bentz H, Morris NP, Murray LW, Sakay LY, Hollister DW, Burgeson RE (1983): Isolation and partial characterization of a new human collagen with an extended triple-helical structural domain. Proc Natl Acad Sci USA 80: 3168–3172.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Tuderman L, Kuutti ER, Kivirikko KI: An affinity column procedure using poly(L-proline) for the purification of prolyl hydroxylase. Eur J Biochem 52, 9–16, 1975

2. Kuutti ER, Tuderman L, Kivirikko KI: Human prolyl hydroxylase. Purification, partial characterization, and preparation of antibodies to the enzyme. Eur J Biochem 57, 181–188, 1975

3. Tuderman L, Kuutti ER, Kivirikko K: Radioimmunoassay for human and chick prolyl hydroxylases. Eur J Biochem 60, 399–405, 1975

4. Ylöstalo P, Tuderman L, Kuutti ER, Järvinen P: Amino acid composition of amniotic fluid in intrahepatic cholestasis of pregnancy, pre-eclampsia and rhesus-incompatibility. Brit J Obst Gyn 82, 786-789, 1975

5. Tuderman L: Developmental changes in prolyl hydroxylase activity and protein in chick embryo. Eur J Biochem 6, 615–621, 1976

6. Risteli J, Tuderman L, Kivirikko KI: Intracellular enzymes of collagen biosynthesis in rat liver as a function of age and in hepatic injury induced by dimethylnitrosamine. Purification of rat prolyl hydroxylase and comparison of changes in prolyl hydroxylase activity with changes in immunoreactive prolyl hydroxylase. Biochem J 158, 269–276, 1976

7. Tuderman L: Prolyl hydroxylase. Purification and characterization of chick and human enzymes and the relationship between enzyme activity and the immunologically cross-reacting protein. Acta Universitatis Ouluensis, Series A, Scientiae Rerum Naturalium No 44, Biochemica No 8, 1976

8. Tuderman L, Kivirikko K: Immunoreactive prolyl hydroxylase in human skin, serum and synovial fluid. Eur J Clin Invest 7, 295–299, 1977

9. Tuderman L, Oikarinen A, Kivirikko K: Tetramers and monomers of prolyl hydroxylase in isolated chick embryo tendon cells. The association of inactive monomers to active tetramers and a preliminary characterization of the intracellular monomer-size protein. Eur J Biochem 78, 547–556, 1977

10. Tuderman L, Risteli J, Miettinen TA, Kivirikko K: Serum immunoreactive prolyl hydroxylase in liver disease. Eur J Clin Invest 7, 523–530, 1977

11. Tuderman L, Myllylä R, Kivirikko K: Mechanisms of the prolyl hydroxylase reaction. 1. Role of the co-substrates. Eur J Biochem 80, 341–348, 1977

12. Myllylä R, Tuderman L, Kivirikko K: Mechanisms of the prolyl hydroxylase reaction. Kinetic analysis of the reaction sequence. Eur J Biochem 80, 349–357, 1977

13. Anttinen H, Tuderman L, Oikarinen A, Kivirikko K: Intracellular enzymes of collagen biosynthesis in human platelets. Blood 50, 29–37, 1977

14. Tuderman L, Kivirikko K, Prockop DJ: Partial purification and characterization of a neutral protease which cleaves the N-terminal propeptide from procollagen. Biochemistry 17, 2948–2954, 1978

15. Risteli J, Tuderman L, Tryggvason K, Kivirikko K: Effect of hepatic injury of prolyl 3-hydroxylase and 4-hydroxylase concentrations in liver and serum. Biochem J 170, 129–135, 1978

16. Majamaa K, Kuutti-Savolainen ER, Tuderman L, Kivirikko K: Turnover of prolyl hydroxylase tetramers and monomer-size protein in chick embryo cartilagenous bone and lung in vivo. Biochem J 178, 313–322, 1979

17. Prockop DJ, Tuderman L, Guzman NA: Collagen in normal and diseased connective tissue. In: Arthritis and allied conditions, 9th ed, (DJ McCarty, ed.), pp. 179–188, 1979

18. Prockop DJ, Kivirikko K, Tuderman L, Guzman NA: The biosynthesis of collagen and its disorders. N Engl J Med 301, 13–23: 77–85, 1979

19. Morikawa T, Tuderman L, Prockop DJ: Inhibitors of procollagen N-protease. Synthetic peptides with sequences similar to the cleavage site in the pro I(I) chain. Biochemistry 19, 2646–2650, 1980

20. Steinmann B., Tuderman L, Peltonen L, Martin GR, McKusick VA, Prockop DJ: Evidence for a structural mutation of procollagen type I in a patient with Ehlers-Danlos syndrome type VII. J Biol Chem 255, 8887–8893, 1980

21. Fleischmajer R, Timpl R, Tuderman L, Raisher L, Wiestner M, Perlish JS, Graves PN: Ultrastructural identification of aminopropeptides of type I and III collagens in human skin. Proc Natl Acad Sci USA 78, 7360–7364, 1981

22. Njieha F, Morikawa T, Tuderman L, Prockop DJ: Partial purification of a procollagen C-proteinase. Inhibition by synthetic peptides and sequential cleavage of type I procollagen. Biochemistry 21, 757–764, 1982

23. Prockop DJ, Tuderman L: Extracellular enzymes. Methods in Enzymology 82, 305–319, 1982

24. Tuderman L, Prockop DJ: Procollagen N-proteinase: properties of the enzyme purified from chick embryo tendons. Eur J Biochem 125, 545–549, 1982

25. Foellmer HG, Kawahara K, Madri JA Furthmayr H, Timpl R, Tudermau L: A monoclonal antibody specific for the aminoterminal cleavage site of procollagen type I. Eur J Biochem 134, 183–189, 1983

26. Bruckner P, Mayne R, Tuderman L: p-HMW collagen, a minor collagen obtained from chick embryo cartilage without proteolytic treatment of the tissue. Eur J Biochem 136, 333–339, 1983

27. Franklin RM, Emmons LR, Emmons RP, Oommen A, Pink RJ, Rijnbeek AM, Schnetzler M, Tuderman L, Vainio E: Monoclonal antibody which recognizes a common antigenic determinant on intermediate filament proteins, actin and myosin. Hybridoma 2, 275–285, 1983

28. Franklin RM, Emmons LR, Emmons RP, Kai O, Oommen A, Pink RJ, Rijnbeek AM, Schnetzler M, Tuderman L, Vainio E: A monoclonal antibody which recognizes an epitope common to an avian-specific nuclear antigen and to cytokeratins. J Cell Biochem 24, 1–14, 1984

29. Tuderman L, Franklin RM: Effect of the avian osteopetrosis virus MAV.2-0 on cells and their collagen production in vitro. Eur J Biochem 148, 169–175, 1985

30. Bruckner-Tuderman L, Bruckner P: Kollagen in der modernen Bindegewebsforschung. Anwendung molekularbiologischer Methoden auf medizinische Fragestellungen. Hautarzt 36, 126–131, 1985

31. Bruckner-Tuderman L, Blank AA: Unusual cutaneous dissemination of a tropical fish tank granuloma. Cutis 36, 405–408, 1985

32. Bruckner-Tuderman L: Granuloma gluteale infantum. Hautarzt 37, 347–349, 1986

33. Meyer J, Gilardi S, Sigg C, Bruckner-Tuderman L: Intermediate levels of aryl sulphatase C in human leukocytes of female carriers for X-linked recessive ichtyosis. Arch Derm Res 278, 491–493, 1986

34. Sigg C, Bruckner-Tuderman L, Gilardi S: Andrological investigations in patients treated with etretin. Dermatologica 175, 48–49, 1987

35. Bruckner-Tuderman L, Vogel A, Schnyder UW: Fibroblasts from a patient with acrogeria produce normal amounts of type I and III collagen. Dermatologica 174, 157–165, 1987

36. Bruckner-Tuderman L, Schnyder UW, Winterhalter KW, Bruckner P: Tissue form of type VII collagen from human skin and fibroblasts in culture. Eur J Biochem 165, 607–611, 1987

37. Leigh I, Purkis PE, Bruckner-Tuderman L: LH 7.2 monoclonal antibody detects type VII collagen in the basement membranes of ectodermally derived epithelia including skin. Epithelia 1, 17–29, 1987

38. Bruckner-Tuderman L, Rüegger S, Odermatt B, Mitsuhashi Y, Schnyder UW: Lack of type VII collagen in unaffected skin of patients with severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. Dermatologica 176, 57–64, 1988

39. Woodley DT, Burgeson RE, Lunstrum G, Bruckner-Tuderman L, Reese MJ, Briggaman RA: The epidermolysis bullosa acquisita antigen is the globular carboxyl terminus of type VII procollagen. J Clin Invest 3, 683–687, 1988

40. Bruckner-Tuderman L, Sigg C, Geiger JM, Gilardi S: Acitretin in the symptomatic therapy of severe X-linked recessive ichtyosis. Arch Dermatology 124, 529–532, 1988

41. Sigg C, Meyer JC, Bruckner-Tuderman L, Gilardi S: Andrologische Untersuchungen bei Patienten mit X-chromosomaler rezessiver Ichtyose. Hautarzt 39, 97–101, 1988

42. Bruckner-Tuderman L, Vogel A, Rüegger S, Odermatt B, Tönz O, Schnyder UW: Epidermolysis bullosa with mottled pigmentation. J Am Acad Dermatol 21, 425–432, 1989

43. Bruckner-Tuderman L, Mitsuhashi Y, Schnyder UW, Bruckner P: Type VII collagen and anchoring fibrils are absent from skin in severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. J Invest Dermatol 93, 3–9, 1989

44. Pfaltz M, Bruckner-Tuderman L and Schnyder UW: Type VII collagen is a component of cylindroma basement membrane zone. J Cutan Pathol 16, 388–395, 1989

45. Bruckner-Tuderman L, Schnyder UW: Pyoderma gangrenosum of the eye lids. Dermatologica 179, 105–106, 1989

46. Hunziker N, Pache F, Bruckner-Tuderman L, Ruffi R, Bircher A, Suter H, Thürlimann W: Sensitization to Kathon CG in Switzerland, Report of the Swiss contact dermatitis research group. In: Current topics of contact dermatitis (Frosch P, Dooms-Goossens A, Lachapelle JM, Rycroft R, Scheper R, Eds.) Springer Heidelberg 1989, pp. 115–120.

47. Bruckner-Tuderman L, Schnyder UW: Molecular and clinical heterogeneity of recessive dystrophic epidermolysis bullosa: type VII collagen as a probe. In: Epidermolysis bullosa. A comprehensive review of classification, management and laboratory studies (Priestley GC, Tidman MJ, Weiss JB, Eady RAJ, Eds.). DEBRA, Crowthorne, Berkshire, U.K., 1990, pp. 107–110

48. Bruckner-Tuderman L, Niemi K-M, Kero M, Schnyder UW and Reunala T: Type VII collagen is expressed but anchoring fibrils are defective in dystrophic epidermolysis bullosa inversa. Brit J Dermatol 122, 383–390, 1990

49. Bruckner-Tuderman L, Pfaltz M, Schnyder UW: Epidermolysis bullosa dystrophica inversa in a child. Pediatr Dermatol 7, 116–121, 1990

50. Riess CE, Bruckner-Tuderman L: Delayed type hypersensitivity to fucidic acid in patients with chronic dermatitis. Lancet 335, 1525–1526, 1990

51. Panizzon R, Vuorio T, Bruckner-Tuderman L: Collagen biosynthesis and type I and type III procollagen mRNA in lichen sclerosus et atrophicus. Arch Dermatol Res 282, 480–483, 1990

52. Trüeb R and Bruckner-Tuderman L: Generalisierte mucinosis follicularis idiopathica. Hautarzt 41, 625–627, 1990

53. Schnyder UW, Bruckner-Tuderman L: Erbkrankheiten: gestern, heute und morgen. Hautarzt 41, Suppl X, 19–22, 1990

54. Sawamura D, Sugawara T, Hashimoto I, Bruckner-Tuderman L, Fujimoto D, Okada Y, Utsumi N, Shikata H: Increased gene expression of matrix metalloproteinase-3 (stromelysin) in skin fibroblasts from patients with severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. Biochem Biophys Res Commun 174, 1003–1008, 1991

55. Bruckner-Tuderman L, Guscetti F, Ehrensperger, F: Animal model for dermolytic mechanobullous disease; sheep with recessive dystrophic epidermolysis bullosa lack collagen VII. J Invest Dermatol 96, 452–458, 1991

56. Bruckner-Tuderman L, Pfaltz M, Schnyder UW: Cylindroma overexpresses collagen VII, the major anchoring fibril protein. J Invest Dermatol 96, 729–734, 1991

57. König A and Bruckner-Tuderman L: Epithelial-mesenchymal interactions enhance expression of collagen VII in vitro. J Invest Dermatol 96, 803–808, 1991

58. Bruckner-Tuderman L: Collagens of the dermo-epidermal junction: role in bullous disorders. Eur J Dermatol 1, 89–100, 1991

59. Bruckner-Tuderman L, König A, Schnyder UW: Patch test results of the Dermatology Clinic Zürich in 1989; Personal computer aided statistical evaluation. Dermatology 184, 29–33, 1992

60. Bruckner-Tuderman L, Rantala I, Reunala T: Evidence for a structural abnormality of collagen VII in a patient with dystrophic epidermolysis bullosa inversa. J. Invest Dermatol 98, 141–146, 1992

61. Burger J, Gmür J, Bruckner-Tuderman L: Epidermolysis bullosa acquisita, a possible manifestation of GvHD? Bone Marrow Transplantation 9, 139–141, 1992

62. König A, Bruckner-Tuderman L: Transforming growth factor beta stimulates collagen VII expression by cutaneous cells in vitro. J Cell Biol 117, 679–685, 1992

63. Baumgartner R, Trüeb R, Bruckner L, Schmid U, Speiser P, Burg G: Rezidivierender Lidtumor bei nekrotisierender Pannikulitis. Kl. Mbl. Augenheilk. 200, 529–531, 1992

64. Bruckner-Tuderman L: Epidermolysis bullosa. In: Extracellular matrix and its heritable disorders of connective tissue (P. Royce, B. Steinmann, Eds.), Wiley-Liss, New York, 1992, pp. 507–532

65. Bruckner-Tuderman L: Epidermolysis bullosa. In: Diseases of the connective tissue in the skin (Lapiere C and Krieg T, Eds.), Martin Dunitz Publishers, in press

66. Bruckner-Tuderman L: Die dermo-epidermale Junktionszone: neuere Aspekte der Pathophysiologie. Hautarzt, in press

67. Bruckner-Tuderman L, Winberg J-O, Anton-Lamprecht I, Schnyder UW, Gedde-Dahl T Jr: Anchoring fibrils, collagen VII and neutral metalloproteases in recessive dystrophic epidermolysis inversa. J Invest Dermatol, in press

68. König A, Lauharanta J, Bruckner-Tuderman L: TGF-β stimulates expression of collagen VII in normal keratinocytes but not in cells derived from mutilating dystrophic epidermolysis bullosa skin. J Invest Dermatol, in press

ÉLOGE DU PROFESSEUR DR. JÜRG TSCHOPP

Professeur Dr. J. Mauël

Monsieur le Président du Conseil de Fondation,
Chers Collègues,
Mesdames, Messieurs,

Ce n'est qu'à un concours de circonstances que je dois le plaisir de vous présenter aujourd'hui le Prof. J. Tschopp, et de faire son éloge. Cet honneur aurait dû normalement échoir au Prof. C. Bron, actuel directeur de l'Institut de Biochimie de l'Université de Lausanne, où travaille notre lauréat. Le Prof. Bron a dû se désister, du fait qu'il se trouve en ce moment à quelque dix mille kilomètres du lieu où se tient cette cérémonie.
Mon cher Jürg, c'est à vous que je vais maintenant m'adresser. Vous m'excuserez d'utiliser, pour ce faire, ce que l'on appelle en français la «formule de politesse». Il y a en effet bien longtemps que, dans nos interactions quotidiennes, nous avons abandonné le «vous» pour le «tu»; cependant, malgré une lecture attentive des *laudatios* passées, je n'en ai trouvé aucune dans laquelle cette formule plus directe et plus familière ait été utilisée. Je n'aurais certes pas la prétention de créer un tel précédent et vous accepterez sans doute, étant donné la solennité de cette cérémonie, que nous en restions pour cette fois au «vous» de circonstance.
Vous êtes né à Liestal, près de Bâle, voici 41 ans. Tout jeune vous étiez, je crois, passionné par les jeux de construction. Cette passion ne vous a pas quitté, même si vous avez délaissé les pièces de Meccano pour ces objets beaucoup plus petits que l'on appelle *molécules*; mais rien ne vous attire tant aujourd'hui que de construire des édifices moléculaires pour en examiner ensuite le mode d'assemblage et les propriétés. Vous aimez les machines, et en même temps êtes attiré par la biologie. En 1970, au sortir de vos études secondaires, vous décidez que la médecine pourrait satisfaire ce double intérêt, et vous vous inscrivez donc pour des études dans cette discipline. Mais le hasard, ou le destin, en décide autrement, car c'est bien le résultat

d'une rencontre fortuite avec un de vos professeurs, peu de jours avant le début des cours, qui vous fait opter finalement pour des études de chimie. Puis vient le travail de diplôme. Vous serez l'un des premiers étudiants à l'effectuer au *Biozentrum*, créé peu de temps auparavant à l'Université de Bâle. A l'occasion de ce travail, vous allez vous intéresser à un groupe de molécules qui retiendront votre attention durant de nombreuses années: il s'agit des phospholipides membranaires. Sous la direction du Prof. J. Seelig, vous étudiez les propriétés des bicouches phospholipidiques en utilisant la technique toute nouvelle – nous sommes en 1974 – du *electron spin resonnance*. Cette approche, qui met à profit les techniques les plus pointues de la physique pour étudier les propriétés des molécules biologiques, répond manifestement à votre attente, puisque vous décidez de faire votre doctorat au Département de Chimie biophysique du *Biozentrum*. Sous la direction du Prof. J. Engel et celle du Prof. Kellenberger, vous vous initierez entre autres à la microscopie électronique. Cette technique vous permettra d'analyser les mécanismes d'assemblage de la queue du bactériophage T4, ce qui fera l'objet de votre thèse. Vous vous penchez ensuite sur l'association des sous-unités du premier composant du complément. Vous en définissez pour la première fois la stœchiométrie exacte, et prendrez de cet édifice moléculaire un cliché au microscope électronique, cliché qui fera le tour du monde de la littérature scientique.

Vous voici, cher Collègue, déjà propulsé aux avants-postes de la recherche sur le complément. Mais le meilleur reste encore à venir. En 1980, vous partez pour ce qui est alors considéré – et est resté – un des hauts lieux de la recherche en immunologie, la Scripps Clinic and Research Foundation, à la Jolla, en Californie. Sous la direction de H. Müller-Eberhard et en collaboration avec le Dr. E. R. Podack, vous aller centrer votre intérêt sur le composé situé à l'autre extrémité de la cascade réactionnelle du complément , le C9. Une fois de plus, le hasard fera bien les choses – mais l'on sait que le hasard ne favorise que les esprits bien préparés. C'est en effet parce que vous oubliez un jour de remettre au frigo une préparation de C9 purifié, que vous découvrez le mécanisme de polymérisation qui permet au complexe de s'insérer dans les membranes, en y créant les pores qui conduisent à la lyse cellulaire.

Tout à vos occupations scientifiques, vous ignorez peut-être que de ce côté-ci de l'Atlantique, quelqu'un suit de près vos activités. Vous avez en effet été «repéré» par le Prof. H. Isliker qui, avec son flair proverbial, voit déjà en vous celui qui pourra le seconder, puis lui succéder dans ses activités de recherche sur le complément. C'est ainsi qu'en 1982, vous rejoignez son équipe au sein de l'Institut de Biochimie de l'Université de Lausanne, où vous êtes nommé professeur assistant. Votre adaptation à l'univers lausannois est particulièrement réussie puisque, dès 1985, avec l'aide de vos assistants, vous identifiez la protéine formatrice de pores des lymphocytes cytotoxiques, la *perforine*, dont, je crois, vous allez nous entretenir dans un instant. En 1986, ces travaux remarquables vous valent l'attribution du prix Miescher; parallèlement, vous grimpez les échelons de la hiérarchie universitaire, et êtes nommé professeur associé en 1987, puis professeur ordinaire en 1990. Ces succès n'entamment en rien votre élan, puisque très rapidement, vous découvrez encore une famille de sérine-estérases des granules lymphocytaires, que vous baptisez *granzymes*. Ces nouvelles molécules retiendront particulièrement votre attention et, avec la collaboration du Dr. D. Jenne, vous consacrerez beaucoup d'efforts à en étudier la structure, la fonction, l'expression et la filiation.

Je vais arrêter ici cette énumération : elle est loin d'être complète, et bien d'autres molécules et phénomènes biologiques sont encore l'objet de votre sollicitude scientifique, ne serait-ce que la *clusterin*, cet inhibiteur de la lyse par le complément, et l'apoptose, ou mort cellulaire programmée, que vous avez récemment commencé à étudier. Si je m'arrête, c'est parce que je crois que la démonstration de vos multiples talents est suffisamment claire. Lorsque l'on se penche sur votre jeune et déjà si brillante carrière, on ne sait ce qu'il faut le plus admirer, de l'énergie avec laquelle vous menez à bien ce que vous entreprenez, du flair avec lequel vous repérez les domaines qui formeront demain les grands thèmes de la recherche en biologie, ou de la rapidité avec laquelle vous assimilez techniques et démarches nouvelles, et savez les mettre en œuvre pour résoudre les questions qui vous fascinent. Permettez-moi de vous souhaiter, cher Collègue, pour le bénéfice de la science et pour le renom de la place scientifique suisse, encore bien des années de fructueuses recherches.

DER CLOËTTA-PREIS 1993
WIRD

HERRN PROF DR. PHIL. NAT.

JÜRG TSCHOPP

GEBOREN 1951 IN LIESTAL
ORDENTLICHER PROFESSOR AM INSTITUT FÜR BIOCHEMIE
DER UNIVERSITÄT LAUSANNE
IN ANERKENNUNG SEINER AUSSERORDENTLICHEN ARBEITEN
AUF DEM GEBIET DER IMMUNABWEHR, IM SPEZIELLEN
DER LYMPHOZYTEN VERMITTELTEN ZELLYSE
VERLIEHEN.

ZÜRICH, 15. NOVEMBER 1993

FÜR DEN STIFTUNGSRAT:

DER VIZEPRÄSIDENT: [signature]

EIN MITGLIED: [signature]

EIN MITGLIED: [signature]

Professor Dr. Jürg Tschopp

CURRICULUM VITAE

Personal Statistics:

Name:	Jürg Tschopp
Date of Birth:	July 5, 1951
Nationality:	Swiss
Place of Birth:	Liestal/Switzerland
Marital Status:	Married; two children

Education and Academic Degrees:

1974	Diploma in Chemisty, University of Basel, Switzerland
1978	Ph.D. in Biophysics, Biocenter of the University of Basel
1982	Assistent Professor, University of Lausanne, Switzerland
1985	Privat-Docent, University of Lausanne
1987	Associate professor, University of Lausanne
1990	Full professor, University of Lausanne

Professional Record:

1970–1974	University of Basel, Switzerland, Department of Chemistry. Study of Chemistry, undergraduate work studying spin-label probes in phospholipid bilayers (Professor J. Seelig).
1975–1979	Biocenter of the University of Basel, Department of Biophysical Chemistry. Thesis work on the mechanism of bacteriophage T4 tail assembly. Postdoctoral work studying antigen-antibody-C1 (first component of complement) interaction (Professor J. Engel).
1980–1982	Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla/California, Department of Molecular Immunology. Postdoctoral fellow. Study of the late components of complement (C5b-C9) (Dr. H. J. Müller-Eberhard).

1982 to present	University of Lausanne, Institute of Biochemistry. Research project: The mechanism of complement- and T lymphocyte-mediated cytolysis.

Honors:

1986	Fridrich-Miescher Award

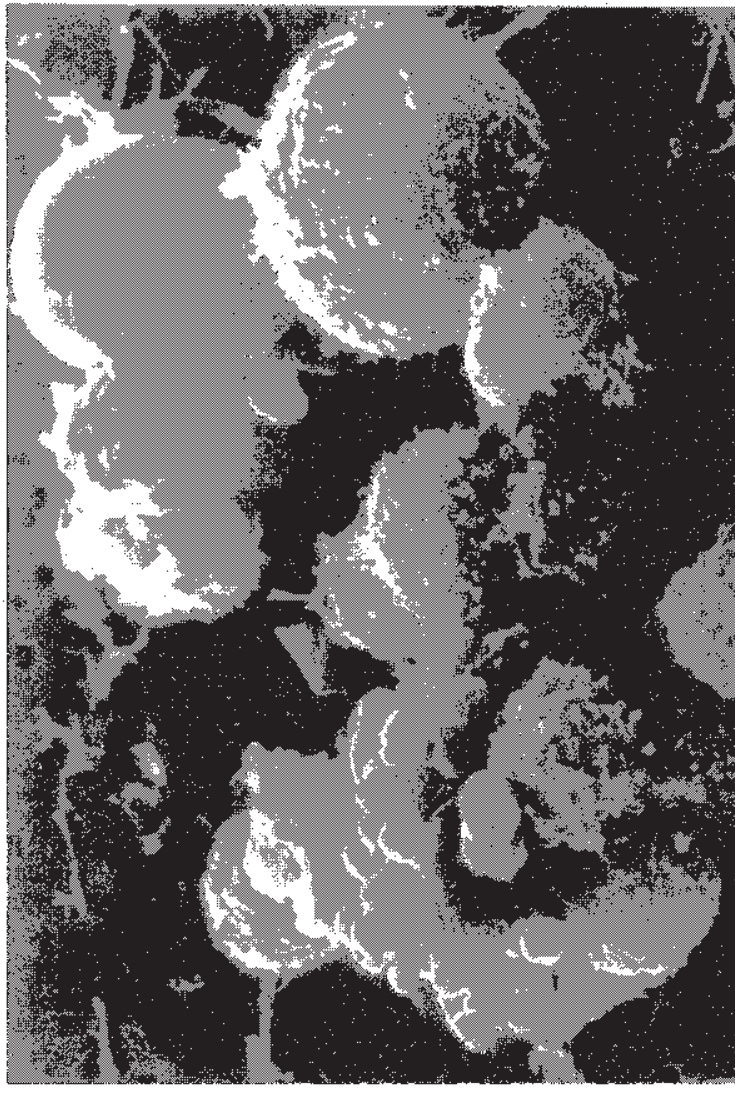
DAS PHÄNOMEN DER VON LYMPHOZYTEN VERMITTELTEN ZELLYSE

Jürg Tschopp

Unser Organismus befindet sich im ständigen Kampf mit Krankheitserregern, aber in den meisten Fällen behält er die Oberhand. Ein Schutzwall aus fein aufeinander abgestimmten immunologischen Erkennungs- und Abwehrmechanismen führt zur Ausschaltung dieser von aussen eindringenden Stoffe. Der Körper kämpft dagegen mit zwei grundsätzlich verschiedenen Abwehrstrategien. Unspezifische Mechanismen sind in der Lage, bereits beim ersten Kontakt Krankheitserreger oder Fremdstoffe abzuwehren. Sie sind gegen alle potentiell schädlichen Stoffe gerichtet, sind nicht zielgerichtet und beinhalten sowohl eine zelluläre wie auch eine humorale Komponente.

Diese unspezifische erste Abwehr genügt aber oft nicht, um Bakterien, Viren, Parasiten und andere Fremdstoffe auszuschalten. Spezifische Abwehrmechanismen bilden dann einen weiteren Schutzwall. Diese immunologischen Reaktionen zeichnen sich dadurch aus, dass sie erst nach der Erkennung des fremden Materials wirksam werden. Nach einer gewissen Latenzzeit werden durch eine Anzahl von verschiedenen Zell-Zell- und Zell-Fremdstoff-Interaktionen Antikörper gebildet und die Proliferation bestimmter Zellen angeregt. Hierdurch können die Krankheitserreger spezifisch und effizient eliminiert werden.

Neben den B-Lymphozyten, welche die Antikörper bilden, sind vor allem die T-Lymphozyten für die spezifische zelluläre Abwehr verantwortlich. Die T-Lymphozyten reagieren nicht mit frei zirkulierenden Fremdkörpern, sondern stellen einen wichtigen Teil der Immunantwort gegen Partikel wie Viren oder bestimmte Bakterienarten dar, welche in der Zelle leben. T-Lymphozyten – oder auch kurz T-Zellen genannt – spielen auch eine wichtige Rolle bei der Transplantatabstossung sowie in einigen Fälle bei der Ausschaltung von transformierten oder Tumorzellen (Abb. 1).



T-Lymphozyten haben ihren Ursprung in den Stammzellen des Knochenmarks. Die Reifung und Differenzierung erfolgt dann im Thymus. Die T-Lymphozyten verlassen den Thymus, und ein erheblicher Teil zirkuliert mit Blut und Lymphe ständig zwischen Milz, Lymphknoten und den zu schützenden Geweben. Dadurch wird erreicht, dass jederzeit und in jedem Körperteil T-Lymphozyten die einwandernden Krankheitserreger erkennen und abfangen können. Grundsätzlich unterscheidet man zwei Typen von T-Lymphozyten, die Helfer-Zellen und die zytotoxischen T-Lymphozyten. Beide Typen stellen einen wichtigen Bestandteil der Immunabwehr dar: in dieser kurzer Übersicht wird aber nur auf die zytolytische T-Zelle eingegangen.

Erkennung der Krankheitserreger durch aktive T-Lymphozyten

Ein charakteristisches Merkmal der Zytolyse ist der direkte Kontakt zwischen der Effektorzelle und der Zielzelle. Der enge Kontakt ermöglicht die genaue Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden Oberflächenstrukturen; er induziert einen proliferativen Stimulus. Die zytotoxische Effektorzelle synthetisiert neue Proteine und Wachstumsfaktoren, teilt sich und wächst zu einer klonalen Population von antigenspezifischen Effektorzellen heran. Sind die Zielzellen eliminiert, so sinkt die Produktion der Wachstumsfaktoren wieder ab und die Lymphozyten treten in die Ruhephase über. Des weiteren wird durch diesen engen Zell-Zell-Kontakt die Freisetzung und Aktivierung lytischer Effektormoleküle erwirkt.
Der T-Lymphozyt erkennt die Fremdantigene nicht als intakte Moleküle, sondern in Form von kleinen Peptiden, die ihm auf der Oberfläche von infizierten oder fremden Zellen angeboten werden

Abb. 1: Die verschiedenen Stadien der Tumorzellyse durch T-Lymphozyten. Der Lymphozyt (kleine Zelle) erkennt eine Tumorzelle (grosse Zelle); die beiden Zellen bilden ein Zell-Zell-Konjugat (Bild rechts unten). In der zweiten Phase treten bei der Killerzell-exponierten Zielzelle bläschenartige Ausstülpungen der Kern- und Zytoplasmamembran auf (linke Hälfte der Abbildung). Schliesslich wird die Oberfläche der Zielzelle glatt und die Zelle stirbt ab (rechte Bildhälfte, oben).

(Abb. 2); die Peptide werden auf der Zelloberfläche gemeinsam mit einem Oberflächenprotein, dem MHC-Produkt präsentiert (1). Die T-Zelle verfügt über einen für jeden Klon spezifischen Rezeptor, der aus zwei Ketten, der α- und β-Kette sowie mindestens vier CD3-Unterheiten besteht, welche für die Signalübertragung von grosser Wichtigkeit sind. Dieser Rezeptor erkennt zwar auf eine spezifische Art das Peptid; das genügt aber allein noch nicht zur T-Zell-Aktivierung. Weitere Moleküle sind zur Verstärkung der Interaktion zwischen Zielzelle und T-Lymphozyte notwendig. CD8, CD2 und LFA-1 befinden sich auf der zytotoxischen T-Zelle und verbinden sich mit den Rezeptoren MHC-Klasse I Antigen, LFA-3 und ICAM an der Oberfläche der Zielzelle. Die T-Zellen erkennen das Fremdantigen nur in Verbindung mit ihrem eigenen MHC-Klasse-I-Antigen, was den Wirkungsbereich der T-Zellen auf eigene Körperzellen einschränkt. Praktisch alle kernhaltigen Zellen unseres Körpers weisen Klasse-I-Antigene auf und können durch zytotoxische T-Zellen spezifisch eliminiert werden, falls sie beispielweise Virusantigene exprimieren.

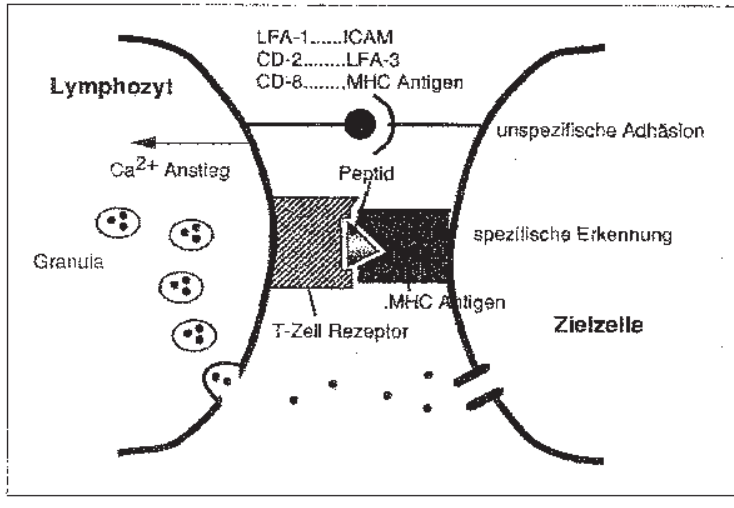


Abb. 2: Schema der wesentlichen Vorgänge bei der Zielzellerkennung und -lyse. CTL: zytotoxische Zelle, MHC-Histokompatibilitätsantigen

Im Körper zirkulieren nicht funktionierende Vorstufen der T-Lymphozyten. Der spezifische Erkennungsvorgang löst morphologische, metabolische und funktionelle Änderungen im T-Lymphozyten aus. Der Durchmesser der Zelle steigt von 0.004 mm auf 0.012 mm an, die Kernmasse vergrössert sich, und stark lichtabsorbierende Granula werden gebildet (2). Die T-Zelle beginnt sich zu teilen und wird funktionell.

Zytolyse ausgelöst durch T-Lymphozyten

Nach dieser ersten Erkennungs-, Stimulierungs- und Proliferationsphase sind die Lymphozyten zytolytisch, d. h., sie sind bereit, die Zielzellen zu erkennen und zu zerstören. Der komplexe Vorgang der Zellyse lässt sich aufgrund vieler Arbeiten in drei verschiedene Stadien aufteilen (3).

1. Zelladhesion und spezifische Zielerkennung innerhalb der ersten zwei Minuten.
2. Induktion der lytischen Reaktion in den folgenden 10 Minuten.
3. Die Lyse der Zielzelle innerhalb von Minuten bis Stunden, wobei der unmittelbare Kontakt mit der Killerzelle nicht mehr erforderlich ist (Abb. 1).

Wie bei der Induktion der Zellteilung ist wieder der T-Zellrezeptor für die spezifische Erkennung der fremden, z. B. viralen Peptide verantwortlich, die innerhalb der Zelle durch unbekannte Proteasen erzeugt werden. Dieses erste Erkennungsstadium, welches die Anwesenheit von Mg^{2+} erfordert, bewirkt mehrere morphologische Änderungen in der T-Zelle (Abb. 3). Ein massiver Kalziumeinstrom in den Lymphozyten wird beobachtet, und verschiedene Organellen werden umverteilt (4). Die spezifischen Killerzell-Granula und der Golgi-Apparat werden zur Kontaktzone zwischen der Effektorzelle und Zielzelle hin verlagert (5). Der Kern des Lymphozyten wird nach Konjugation mit der abzutötenden Zelle auf die Zielzell-abgewandte Seite verlagert. In der Kontaktregion werden Aktinfila-

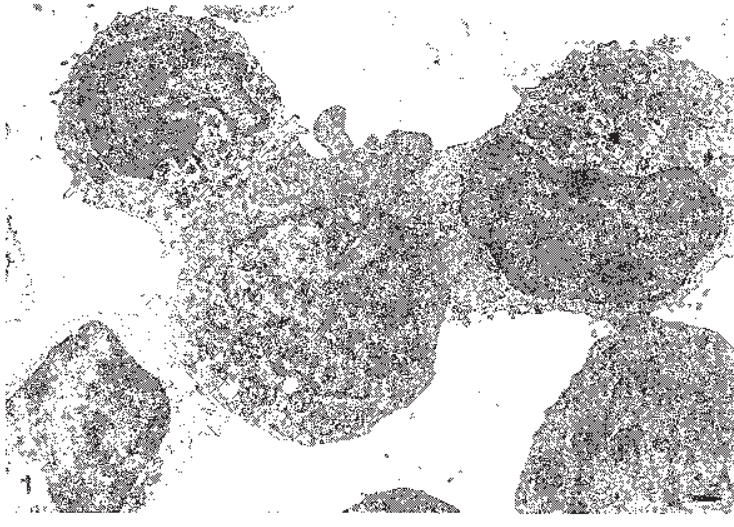


Abb. 3: Eine Zielzelle wird durch zwei Lymphozyten erkannt und zerstört. Morphologische Änderungen treten in den angreifenden Killerzellen auf. Die elektronenabsorbierenden Granula werden in Richtung der Kontaktzone umverteilt und sekretieren ihren Inhalt.

mente angereichert, und die zytoplasmatischen Granula werden in Richtung der Zielzelle transportiert (6).
Dieser Schritt dauert nur wenige Minuten und endet mit der Fusion der Granula und der Plasmamembran der zytotoxischen Zelle: der Inhalt der Granula wird in den engen Raum zwischen den Lymphozyten und der Zielzelle freigesetzt (7). In der Zielzellmembran findet man sodann dem Komplement ähnliche, zylindrische Läsionen mit einem Durchmesser von ungefähr 10 nm (8).

Isolierte Granula sind zytolytisch

Bis vor kurzem war der Mechanismus, welcher der Zellyse zugrunde liegt, noch weitgehend unbekannt. Die Tatsache, dass die Zytolyse mit dem Transport von Granula in der Kontaktzone einhergeht, brachte mehrere Forschungsgruppen auf die Idee, die Granula auf

ihre lytische Aktivität hin zu untersuchen; sie wurden mit Hilfe von subzellulären Fraktionierungsmethoden gereinigt und zeigten in der Tat hohe lytische Aktivität (9–11). Im Gegensatz zu intakten Lymphozyten lysieren isolierte Granula aber nicht spezifisch; jede kernhaltige Zelle so wie auch Erythrozyten werden durch den Granulainhalt zerstört.
Die lytische Aktivität ist wie bei intakten Zellen kalzium- und temperaturabhängig, und porenähnliche Membranläsionen werden auf der Zellmembran gefunden.

Perforin – das lytische, porenformende Protein

Das für die Lyse verantwortliche Protein konnte im Jahre 1985 (12, 13) isoliert werden. Es wurde Perforin genannt. Das gereinigte Protein hat ein Molekulargewicht von 70000 kDa. In Gegenwart von Kalzium ist Perforin extrem lytisch, und in lysierten Membranen tritt Perforin als zylinderähnliches Polymer-Polyperforin auf (14). Der Zylinder weist einen Durchmesser von 6–16 nm und eine Höhe von 16 nm auf und wird aus 2–18 Untereinheiten geformt (Abb. 4). Diese Poren sehen den typischen Komplementporen sehr ähnlich; ein grosser Teil der Aminosäuresequenz von Perforin weist auch eine grosse Homologie mit den poreformenden Molekülen C6 bis C9 des Komplementsystems auf (15, 16). Da in den beiden Enden der Polypeptidkette grosse Unterschiede bestehen, sind die für die Membraninteraktion und Polymerisation notwendigen strukturellen Elemente im Mittelteil zu suchen. Zwei hochkonservierte amphipathische Helices befinden sich zwischen Aminosäuren 167–211, und es wird angenommen, dass sie die Kontaktstelle mit den Lipiden der Zellmembran bilden (17).
Das vom T-Lymphozyten sezernierte Perforin bindet in der Anwesenheit von Kalzium-Ionen an die Membran der Zielzelle (Abb. 5); dort assoziieren die Moleküle mit den Kopfgruppen des Phosphatidylcholins, eines Lipides, welches in den Membranen aller kernhaltigen Zellen auftritt. Dieser Bindungsschritt induziert einen drastischen Konformationswechsel. Perforin faltet sich auf, erhöht seine Länge von 8 mm auf 16 mm und bringt so die beiden amphipathi-

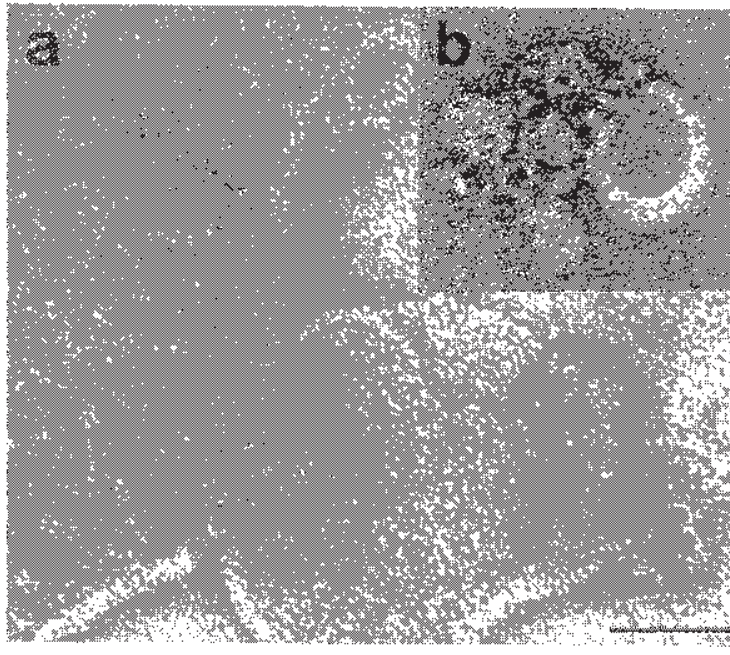


Abb. 4: a) Auf der zerstörten Zielzellmembran findet man zylindrische Gebilde – die Polyperforine. Sie bilden einen Transmembrankanal und erlauben den unkontrollierten Eintritt von Ionen. b) Ähnliche Läsionen werden auch durch Komplementproteine hervorgerufen.

schen Helices an die Oberfläche. Perforin inseriert in die Lipiddoppelmembran, und die einzelnen Moleküle beginnen sich aneinanderzureihen. Ein Kanal wird gebildet, der je nach der Anzahl der Untereinheiten im Durchmesser variiert. Der Einstrom von Ionen, vor allem Kalzium, bewirkt die Zellyse.

Rolle der übrigen sekretierten Granulaproteine in der Zytotoxizität

Es ist im wesentlichen immer noch unklar, ob Perforin alleine für die Lymphozyten-vermittelte Zellyse verantwortlich gemacht werden kann. Es ist durchaus möglich, dass andere Granula-assoziierte Pro-

teine für die Zellyse mitverantwortlich sind. Ein wichtiger Hinweis dafür sind die intrazellulären Veränderungen, die schon sehr früh in der Zielzelle beobachtet werden. Im Unterschied zu gereinigtem Perforin treten bei Zielzellen, die Killerzell-exponiert sind, bläschenartige Ausstülpungen der Kern- und Zytoplasmamembran auf, bevor Flüssigkeit und Ionen mit dem Extrazellulärraum ausgetauscht werden. Die Kern-DNA wird in Fragmente zerlegt (18). Analysiert man diese Kern-DNA mittels Agarose-Gelelektrophorese, so findet man ein sehr regelmässiges Muster von Fragmenten, deren Grösse sich um 200 Basenpaare unterscheidet. Es handelt sich um Kern-DNA, die zwischen den Nukleosomen durch Endonukleasen partiell verdaut ist (19). Diese Zerstückelung der DNA stellt einen irreversiblen Schritt im Zelltod dar und verhindert, dass nach der Zellauflösung die intakte DNA im Körper zirkuliert und von anderen Zellen aufgenommen werden kann.
Obwohl isoliertes Perforin die Zellyse bewirkt, tritt diese Fragmentierung der DNA hierbei nicht auf (20). Deshalb wurden die übrigen Hauptgranulakomponenten auf ihre DNA-degradierende Aktivität hin untersucht (Abb. 5).

i) Die sogenannten Granzyme, eine Familie von mehreren Serin-Proteasen (21). Ähnlich wie Trypsin oder Chymotrypsin schneiden diese Enzyme Polypeptidketten nach bestimmten Aminosäuren. In ausführlichen Studien wurde gezeigt, dass Proteaseinhibitoren die Zytotoxizität der T-Lymphozyten blockieren können (22).

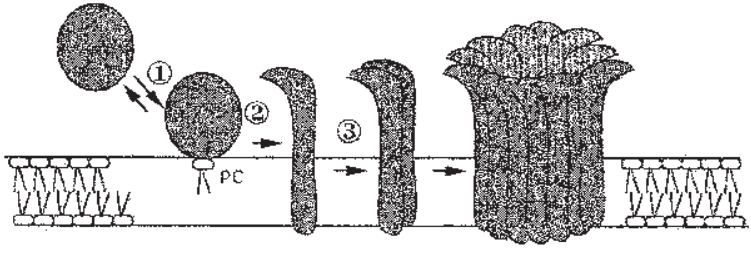


Abb. 5: Modell der durch Perforin vermittelten Lyse der Zielzellen: 1. Bindung an die Lipiddoppelschicht der Zielzellmembran. 2. Auffaltung des Proteins und Insertion in die Membran. 3. Polymerisation und Bildung der Poren.

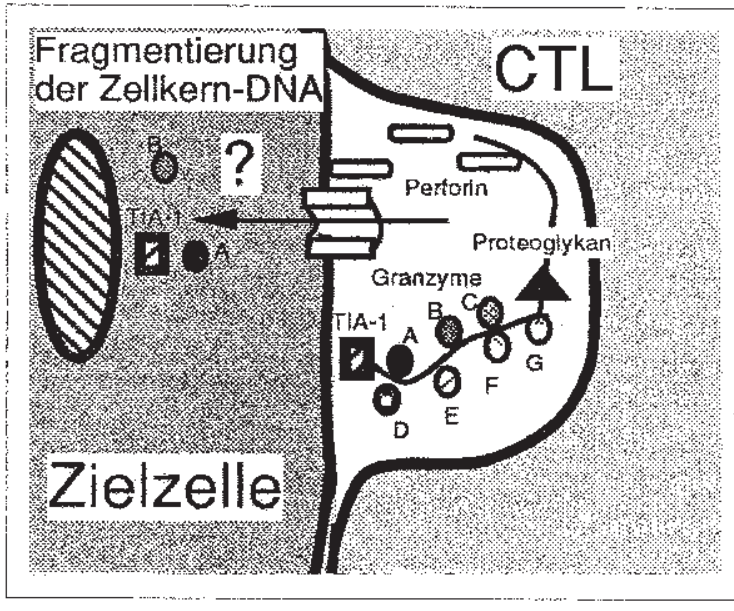


Abb. 6: Granulaproteine, welche die DNA-Fragmentierung im Kern der Zielzelle auslösen können.

ii) Proteoglykane vom Typ Chondroitinsulfat (23). Diese Moleküle sind extrem sauer und tragen sehr viele freie Sulfat-und Carboxylgruppen.

iii) TIA – ein poly-A-bindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 40000 (24).

Keines dieser gereinigten Moleküle wirkt zytotoxisch. Nach Permeabilisierung der Membran der Zielzelle mit Perforin-Poren oder mit Detergenzien tritt jedoch in Gegenwart der Granzyme A und B wie auch von TIA-1 eine Fragmentierung der DNA auf (24–26). Es ist jedoch völlig unklar, wie diese Moleküle die Endonuklease aktivieren.

Schlussfolgerungen und Perspektiven

Diese kurze Übersicht über die Fortschritte, welche in den letzten Jahren bei der Aufklärung der Mechanismen der durch Lymphozyten vermittelten Zytolyse erzielt wurden, zeigt, dass unser Wissen immer noch sehr begrenzt ist. Obwohl Perforin lytische Aktivität aufweist, scheinen auch andere Moleküle zum Zelltod beizutragen. Es kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass je nach Zielzelle (Tumorzelle, Virus-infizierte Zelle) verschiedene Mechanismen angewandt werden. Die Konzentration der Lymphokine und anderer Zellhormone könnte ebenfalls einen Einfluss ausüben. Um der Funktion von Perforin auf den Grund zu gehen, versuchen wir, das aktive, Perforin-kodierende Gen in Mäusen gezielt zu inaktivieren. Die Aufklärung der zytotoxischen Mechanismen wird durch die Analyse der Lymphozyten, welche kein Perforin produzieren, sehr erleichtert werden.
Ein genaues Verständnis dieser Zerstörungsvorgänge würde uns sicher neue Möglichkeiten eröffnen, die Zellyse spezifisch zu inhibieren; dies wäre bei der Behandlung von Autoimmunkrankheiten oder Transplantatabstossungen von grossem Nutzen. Andererseits könnte man möglicherweise die zytolytische Effizienz der Lymphozyten modulieren und verbessern, was zur schnelleren Eliminierung der Zielzellen führen würde.

Dank

Mein Dank geht an alle meine Kollegen und Mitarbeiter in meiner Gruppe und am Forschungszentrum BIL (Biochemisches Institut der Universität Lausanne, ISREC und Ludwig-Institut) in Epalinges, ohne deren Mithilfe, Unterstützung und stimulierende Diskussionen dieser Forschungsbeitrag undenkbar gewesen wäre. Auch möchte ich den Institutionen danken, welche die Arbeit in den letzten Jahren unterstützt haben: Universität Lausanne, Schweizerischer Nationalfonds, Roche Research Foundation, Sandoz-Stiftung und Schweizerische Krebsliga.

REFERENZEN

1. Springer T. A. 1990. Adhesion receptors of the immune system. Nature *346:* 425–434.

2. Olsen I., Bou-Gharios G., Abraham D. 1990. The activation of resting lymphocytes is accompanied by the biogenesis of lysosomal organelles. Eur. J. Immunol. *20:* 2161–2170.

3. Tirosh R., Berke G. 1985. Immune cytolysis viewed as a stimulatory process of the target. Adv. Exp. Med. Biol. *184:* 473–492.

4. Geiger B., Rosen D., Berke G. 1982. Spatial relationships of microtubule-organizing centers and the contact area of cytotoxic T-lymphocytes. J. Cell. Biol. *95:* 137–143.

5. Kupfer A., Singer S. J. 1989. Cell biology of cytotoxic and helper T-cell functions. Ann. Rev. Immunol. *7:* 309–338.

6. Peters P. J. w, Geuze H. J., van der Donk H. A., Slot J.W., Griffith J. M., Stam N. J., Clevers H. C., Borst J. 1989. Molecules relevant for T cell-target cell interaction are present in cytolytic granules of human T lymphocytes. Eur. J. Immunol. *in press:*

7. Takayama H., Trenn G., Humphrey J.W., Bluestone J. A., Henkart P. A., Sitkovsky M.V. 1987. Antigen receptor-triggered secretion of a trypsin-type esterase from cytotoxic T lymphocytes. J. Immunol. *138:* 566–569.

8. Dourmashkin R. R., Deteix P., Simone C. B., Henkart P. 1980. Electron microscopic demonstration of lesions on target cell membranes associated with antibody-dependent cellular cytotoxicity. Clin. Exp. Immunol. *43:* 554–560.

9. Podack E. R. 1989. Granule-mediated cytolysis of target cells. Curr. Top. Microbiol. Immunol. *140:* 1–9.

10. Masson D., Corthesy P., Nabholz M., Tschopp J. 1985. Appearance of cytolytic granules upon induction of cytolytic activity in CTL-hybrids. EMBO J. *4:* 2533–2538.

11. Henkart P. A., Millard P. J., Reynolds C.W., Henkart M. P. 1984. Cytolytic activity of purified cytoplasmic granules from cytotoxic rat large granular lymphocyte tumors. J. Exp. Med. *160:* 75–93.

12. Masson D., Tschopp J. 1985. Isolation of a lytic, pore-forming protein (perforin) from cytolytic T-lymphocytes. J. Biol. Chem. *260:* 9069–9072.

13. Podack E. R., Young J. D.-E., Cohn Z. A. 1985. Isolation and biochemical and functional characterization of perforin 1 from cytolytic T-cell granules. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *82:* 8629–8633.

14. Tschopp J., Nabholz M. 1990. Perforin-mediated target cell lysis by cytolytic T lymphocytes. Ann. Rev. Immunol. *8:* 279–302.

15. Tschopp J., Masson D., Stanley K. K. 1986. Structural/functional similarity between proteins involved in complement- and cytotoxic T-lymphocyte-mediated cytolysis. Nature *322:* 831–834.

16. Young J. D-E., Cohn Z. A., Podack E. R. 1986. The ninth component of complement and the pore-forming protein (perforin 1) from cytotoxic T cells; structural, immunological, and functional similarities. Science *233:* 184–190.

17. Peitsch M. C., Amiguet P., Guy R., Brunner J., Maizel J.V., Jr., Tschopp J. 1990. Localization and molecular modelling of the membrane-inserted domain of the ninth component of human complement and perforin. Mol. Immunol. *27:* 589–602.

18. Russel J. H. 1983. Internal desintegration model of cytotoxic lymphocyte-induced target damage. Immun. Rev. *72:* 97–113.

19. Wyllie A. H. 1980. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. Nature *284:* 555–556.

20. Gromkowski S. H., Brown T. C., Masson D., Tschopp J., Cerottini J. C. 1987. Lack of nuclear damage in target cells lysed by granules derived from cytolytic T-lymphocytes. J. Immunol. *141:* 474 -478.

21. Masson D., Tschopp J. 1987. A family of serine esterases in lytic granules of cytolytic T lymphocytes. Cell *49:* 679 -685.

22. Hudig D., Redelman D., Minning L. L. 1984. The requirement for proteinase activity for human lymphocyte-mediated natural cytotoxicity (NK); evidence that the proteinase is serine dependent and has aromatic amino acid specificity of cleavage. J. Immunol. *133:* 2647-2654.

23. MacDermott R. P., Schmidt R. E., Caulfield J. P., Hein A., Bartley G. T., Ritz J., Schlossman S. F., Austen K. F., Stevens R. L. 1985. Proteoglycans in cell-mediated cytotoxicity. J. Exp. Med. *162:* 1771-1787.

24. Tian Q., Streuli M., Saito H., Schlossman S. F., Anderson P. 1991. A polyadenylate binding protein localized to the granules of cytolytic lymphocytes induces DNA fragmentation in target cells. Cell *67:* 629–639.

25. Shi L., Kraut R. P., Äbersold R., Greenberg A. H. 1992. A natural killer cell granule protein that induces DNA fragmentation and apoptosis. J. Exp. Med. *175:* 553–566.

26. Hayes M. P., Berrebi G. A., Henkart P. A. 1989. Induction of target cell DNA release by the cytotoxic T lymphocyte granule protease granzyme A. J. Exp. Med. *170:* 933 -946.

BIBLIOGRAPHY J. TSCHOPP

1. Tschopp, J. and Smith, P.R. (1977). Extra-long bacteriophage T4 tails produced under in vitro conditions. J. Mol. Biol. 114, 281-286.

2. Tschopp, J., Arisaka, F., Van Driel, R., and Engel, J. (1979). Purification, characterization and reassembly of the bacteriophage T4D tail sheath protein P18. J. Mol. Biol. 128, 247–258.

3. Arisaka, F., Tschopp, J., Van Driel, R., and Engel, J. (1979). Reassembly of the bacteriophage T4 tail from the core-baseplate and the monomeric sheath protein P18: a co-operative association process. J. Mol. Biol. 132, 369–386.

4. Tschopp, J., Schulthess, T., Engel, J., and Jaton, J. C. (1980). Antigen-independent activation of the first component of complement C1 by chemically crosslinked rabbit IgG-oligomers. FEBS Lett. 112, 152–154.

5. Wright, J. K., Tschopp, J., and Jaton, J. C. (1980a). Preparation and characterization of chemically defined oligomers of rabbit immunoglobulin G molecules for the complement binding studies. Biochem. J. 187, 767–774.

6. Wright, J. K., Tschopp, J., Jaton, J. C., and Engel, J. (1980b). Dimeric, trimeric and tetrameric complexes of immunoglobulin G fix complement. Biochem. J. 187, 775–780.

7. Tschopp, J., Villiger, W., Lustig, A., Jaton, J. C., and Engel, J. (1980). Antigen-independent binding of IgG dimers to C 1 q as studied by sedimentation equilibrium, complement fixation and electron microscopy. Eur. J. Immunol. 10, 529–535.

8. Tschopp, J. and Engel, J. (1980). Kinetics of the cooperative association of T4 tail sheath protein P18 to polysheaths. Biophys. Chem. 12, 307–315.

9. Tschopp, J. (1982). Kinetics of activation of the first component of complement (C1) by IgG oligomers. Mol. Immunol. 19, 651–657.

10. Tschopp, J., Villiger, W., Fuchs, H., Kilchherr, E., and Engel, J. (1980). Assembly of subcomponents C1r and C1s of first component of complement: electron microscopic and ultracentrifugal studies. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77, 7014–7018.

11. Tschopp, J., Esser, A. F., Spira, T. J., and Müller-Eberhard, H. J. (1981). Occurrence of an incomplete C8 molecule in homozygous C8 deficiency in man. J. Exp. Med. 154, 1599–1607.

12. Tschopp, J. and Podack, E. R. (1981). Membranolysis by the ninth component of human complement. Biochem. Biophys. Res. Commun. 100, 1409–1414.

13. Podack, E. R. and Tschopp, J. (1982). Polymerization of the ninth component of complement (C9): formation of poly(C9) with a tubular ultrastructure resembling the membrane attack complex of complement. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79, 574–578.

14. Kilchherr, E., Fuchs, H., Tschopp, J., and Engel, J. (1982). Dissociation of C1 and concentration dependence of its activation kinetics. Mol. Immunol. 19, 683–691.

15. Podack, E. R., Tschopp, J., and Müller-Eberhard, H. J. (1982). Molecular organization of C9 within the membrane attack complex of complement: Induction of circular C9 polymerization by the C5b-8 complex. J. Exp. Med. 156, 268–282.

16. Tschopp, J., Müller-Eberhard, H. J., and Podack, E. R. (1982). Formation of transmembrane tubules by spontaneous polymerization of the hydrophilic complement protein C9. Nature 298, 534–538.

17. Ziccardi, R. J. and Tschopp, J. (1982). The dissociation properties of native C1. Biochem. Biophys. Res. Commun. 107, 618–623.

18. Podack, E. R. and Tschopp, J. (1982). Circular polymerization of the ninth component of complement. Ring closure of the tubular complex confers resistance to detergent dissociation and to proteolytic degradation. J. Biol. Chem. 257, 15204–15212.

19. Tschopp, J., Podack, E. R., and Müller-Eberhard, H. J. (1982). Ultrastructure of the membrane attack complex of complement: detection of the tetramolecular C9-polymerizing complex C5b-8. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79, 7474–7478.

20. Kilchherr, E., Fuchs, H., Tschopp, J., and Engel, J. (1982). Dissociation of C1 and concentration dependence of its activation kinetics. In Protein conformation as immunological signal, F. Celada, V. Schumaker, and E. E. Sercarz, eds. (London: Plenum Press), pp. 139–140.

21. Tschopp, J., Engel, A., and Podack, E. R. (1984). Molecular weight of poly(C9). 12 to 18 C9 molecules form the transmembrane channel of complement. J. Biol. Chem. 259, 1922–1928.

22. Tschopp, J. (1984a). Ultrastructure of the membrane attack complex of complement. Heterogeneity of the complex caused by different degree of C9 polymerization. J. Biol. Chem. 259, 7857–7863.

23. Tschopp, J. (1984b). Circular polymerization of the membranolytic ninth component of complement. Dependence on metal ions. J. Biol. Chem. 259, 10569–10573.

24. Podack, E. R. and Tschopp, J. (1984). Membrane attack by complement. Mol. Immunol. 21, 589–603.

25. Tschopp, J., Podack, E. R., and Müller-Eberhard, H. J. (1985). The membrane attack complex of complement: C5b-8 complex as accelerator of C9 polymerization. J. Immunol. 134, 495–499.

26. Stanley, K. K., Kocher, H. P., Luzio, J. P., Jackson, P., and Tschopp, J. (1985). The sequence and topology of human complement component C9. EMBO J. 4, 375–382.

27. Masson, D. and Tschopp, J. (1985). Isolation of a lytic, pore-forming protein (perforin) from cytolytic T-lymphocytes. J. Biol. Chem. 260, 9069–9072.

28. Masson, D., Corthésy, P., Nabholz, M., and Tschopp, J. (1985). Appearance of cytolytic granules upon induction of cytolytic activity in CTL-hybrids. EMBO J. 4, 2533–2538.

29. Amiguet, P., Brunner, J., and Tschopp, J. (1985). The membrane attack complex of complement: lipid insertion of tubular and nontubular polymerized C9. Biochemistry 24, 7328–7334.

30. Mollnes, T. E., Lea, T., Harboe, M., and Tschopp, J. (1985). Monoclonal antibodies recognizing a neoantigen of poly(C9) detect the human terminal complement complex in tissue and plasma. Scand. J. Immunol. 22, 183–195.

31. Kovacsovics, T., Tschopp, J., Kress, A., and Isliker, H. (1985). Antibody-independent activation of C1, the first component of complement, by cardiolipin. J. Immunol. 135, 2695–2700.

32. Mollnes, T. E., Ng, Y. C., Peters, D. K., Lea, T., Tschopp, J., and Harboe, M. (1986). Effect of nephritic factoron C3 and on the terminal pathway of complement in vivo and in vitro. Clin. Exp. Immunol. 65, 73–79.

33. Tschopp, J., Masson, D., and Schäfer, S. (1986). Inhibition of the lytic activity of perforin by lipoproteins. J. Immunol. 137, 1950–1953.

34. Tschopp, J. and Mollnes, T. E. (1986). Antigenic crossreactivity of the alpha subunit of complement component C8 with the cysteine-rich domain shared by complement component C9 and low density lipoprotein receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 4223–4227.

35. Tschopp, J., Penea, F., Schifferli, J., and Spath, P. (1986a). Dysfunctional C8 beta chain in patients with C8 deficiency. Scand. J. Immunol. 24, 715–720.

36. Tschopp, J., Masson, D., and Stanley, K. K. (1986b). Structural/functional similarity between proteins involved in complement- and cytotoxic T-lymphocyte-mediated cytolysis. Nature 322, 831–834.

37. Masson, D., Nabholz, M., Estrade, C., and Tschopp, J. (1986). Granules of cytolytic T-lymphocytes contain two serine esterases. EMBO J. 5, 1595–1600.

38. Tschopp, J. and Conzelmann, A. (1986). Proteoglycans in secretory granules of NK cells. Immunol. Today 7, 135–136.

39. Masson, D., Zamai, M., and Tschopp, J. (1986). Identification of granzyme A isolated from cytotoxic T-lymphocyte-granules as one of the proteases encoded by CTL-specific genes. FEBS Lett. 208, 84–88.

40. Tschopp, J., Amiguet, P., and Schäfer, S. (1986). Increased hemolytic activity of the trypsin-cleaved ninth component of complement. Mol. Immunol. 23, 57–62.

41. Peitsch, M. C., Kovacsovics, T. J., Tschopp, J., and Isliker, H. (1987). Antibodyindependent activation of C1. II. Evidence for two classes of nonimmune activators of the classical pathway of complement. J. Immunol. 138, 1871–1876.

42. Tschopp, J. and Masson, D. (1987). Inhibition of the lytic activity of perforin (cytolysin) and of late complement components by proteoglycans. Mol. Immunol. 24, 907–913.

43. Masson, D. and Tschopp, J. (1987). A family of serine esterases in lytic granules of cytolytic T lymphocytes. Cell 49, 679–685.

44. Mollnes, T. E. and Tschopp, J. (1987). A unique epitope exposed in native complement component C9 and hidden in the terminal SC5b-9 complex enables selective detection and quantification of non-activated C9. J. Immunol. Methods 100, 215–221.

45. Haefliger, J. A., Tschopp, J., Nardelli, D., Wahli, W., Kocher, H. P., Tosi, M., and Stanley, K. K. (1987). Complementary DNA cloning of complement C8 beta and its sequence homology to C9. Biochemistry 26, 3551–3556.

46. Garcia-Sanz, J. A., Plaetinck, G., Velotti, F., Masson, D., Tschopp, J., Mac Donald, H. R., and Nabholz, M. (1987). Perforin is present only in normal activated Lyt2+ T lymphocytes and not in L3T4+ cells, but the serine protease granzyme A is made by both subsets. EMBO J. 6, 933–938.

47. Tschopp, J. and Nabholz, M. (1987). The role of cytoplasmic granule components in cytolytic lymphocyte-mediated cytolysis. Ann. Inst. Pasteur. Immunol. 138, 290–295.

48. Haefliger, J. A., Jenne, D., Stanley, K. K., and Tschopp, J. (1987). Structural homology of human complement component C8 gamma and plasma protein HC: identity of the cysteine bond pattern. Biochem. Biophys. Res. Commun. 149, 750–754.

49. Peitsch, M. C., Tschopp, J., Kress, A., and Isliker, H. (1988). Antibodyindependent activation of the complement system by mitochondria is mediated by cardiolipin. Biochem. J. 249, 495–500.

50. Tschopp, J. and Podack, E. R. (1988). Structure and function of C9 and Poly C9. In Cytolytic lymphocytes and complement effectors: Effectors of the immune system. E. R. Podack, ed. (Boca Raton, FL: CRC Press), pp. 185–206.

51. Gromkowski, S. H., Brown, T. C., Masson, D., and Tschopp, J. (1988). Lack of DNA degradation in target cells lysed by granules derived from cytolytic T lymphocytes. J. Immunol. 141, 774–778.

52. Tschopp, J., Masson, D., Schäfer, S., Peitsch, M., and Preissner, K. T. (1988). The heparin binding domain of S-protein/vitronectin binds to complement components C7, C8, and C9 and perforin from cytolytic T-cells and inhibits their lytic activities. Biochemistry 27, 4103–4109.

53. Jenne, D., Rey, C., Masson, D., Stanley, K.K., Herz, J., Plactinck, G., and Tschopp, J. (1988). cDNA cloning of granzyme C, a granule-associated serine protease of cytolytic T lymphocytes. J. Immunol. 140, 318–323.

54. Tschopp, J. and Jongeneel, C.V. (1988). Cytotoxic T lymphocyte mediated cytolysis. Biochemistry 27, 2641–2646.

55. Jenne, D., Rey, C., Haefliger, J.A., Qiao, B.Y., Groscurth, P., and Tschopp, J. (1988). Identification and sequencing of cDNA clones encoding the granule-associated serine proteases granzymes D, E, and F of cytolytic T lymphocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85, 4814–4818.

56. Garcia-Sanz, J.A., Velotti, F., MacDonald, H.R., Masson, D., Tschopp, J., and Nabholz, M. (1988). Appearance of granule-associated molecules during activation of cytolytic T-lymphocyte precursors by defined stimuli. Immunology. 64, 129–134.

57. Jenne, D.E. and Tschopp, J. (1989). Granzymes: a family of serine proteases in granules of cytolytic T lymphocytes. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 140, 33–47.

58. Jenne, D.E. and Tschopp, J. (1988). Granzymes, a family of serine proteases released from granules of cytolytic T lymphocytes upon T cell receptor stimulation. Immunol. Rev. 103, 53–71.

59. Masson, D. and Tschopp, J. (1988). Inhibition of lymphocyte protease granzyme A by antithrombin III. Mol. Immunol. 25, 1283–1289.

60. Mollnes, T.E., Klos, A., and Tschopp, J. (1988). Identification of a human C5 betachain epitope exposed in the native complement component but concealed in the SC5b-9 complex. Scand. J. Immunol. 28, 307–312.

61. Krähenbühl, O.P., Rey, C., Jenne, D., Lanzavecchia, A., Groscurth, P., Carrel, S., and Tschopp, J. (1988). Characterization of granzymes A and B isolated from granules of cloned human cytotoxic T lymphocytes. J. Immunol. 141, 3471–3477.

62. Mollnes, T.E., Lea, T., and Tschopp, J. (1989). Activation-dependent epitopes in the terminal complement pathway. Complement. Infl. 6, 223–235.

63. Tschopp, J., Schäfer, S., Masson, D., Peitsch, M.C., and Heusser, C. (1989). Phosphorylcholine acts as a Ca2+-dependent receptor molecule for lymphocyte perforin. Nature 337, 272–274.

64. Haefliger, J.A., Tschopp, J., Vial, N., and Jenne, D.E. (1989). Complete primary structure and functional characterization of the sixth component of the human complement system. Identification of the C5b-binding domain in complement C6. J. Biol. Chem. 264, 18041–18051.

65. Jenne, D.E. and Tschopp, J. (1989). Molecular structure and functional characterization of a human complement cytolysis inhibitor found in blood and seminal plasma: identity to sulfated glycoprotein 2, a constituent of rat testis fluid. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86, 7123–7127.

66. Krähenbühl, O. P., Peter, H. H., and Tschopp, J. (1989). Absence of homologous restriction factor does not affect CTL-mediated cytolysis. Eur. J. Immunol. 19, 217–219.

67. Jenne, D. E., Masson, D., Zimmer, M., Haefliger, J. A., Li, W. H., and Tschopp, J. (1989). Isolation and complete structure of the lymphocyte serine protease granzyme G, a novel member of the granzyme multigene family in murine cytolytic T lymphocytes. Evolutionary origin of lymphocyte proteases. Biochemistry 28, 7953–7961.

68. Nabholz, M. and Tschopp, J. (1989). CTL-mediated cytolysis: perforin and alternative pathways? Immunol. Lett. 20, 179–180.

69. Preissner, K. T., Koyama, T., Müller, D., Tschopp, J., and Müller-Berghaus, G. (1990). Domain structure of the endothelial cell receptor thrombomodulin as deduced from modulation of its anticoagulant functions. Evidence for a glycosaminoglycandependent secondary binding site for thrombin. J. Biol. Chem. 265, 4915–4922.

70. Krähenbühl, O. P. and Tschopp, J. (1990). Involvement of granule proteins in T-cell-mediated cytolysis. Nat. Immun. Cell Growth. Regul. 9, 274–282.

71. Masson, D., Peters, P. J., Geuze, H. J., Borst, J., and Tschopp, J. (1990). Interaction of chondroitin sulfate with perforin and granzymes of cytolytic T-cells is dependent on pH. Biochemistry 29, 11229–11235.

72. Peitsch, M. C., Amiguet, P., Guy, R., Brunner, J., Maizel, J. V., Jr., and Tschopp, J. (1990). Localization and molecular modelling of the membrane-inserted domain of the ninth component of human complement and perforin. Mol. Immunol. 27, 589–602.

73. Gay-Crosier, F., Polla, L. L., Tschopp, J., and Schifferli, J. A. (1990). Complement activation by pulsed tunable dye laser in normal skin and hemangioma. J. Invest. Dermatol. 94, 426–431.

74. Garcia-Sanz, J. A., MacDonald, H. R., Jenne, D. E., Tschopp, J., and Nabholz, M. (1990). Cell specificity of granzyme gene expression. J. Immunol. 145, 3111–3118.

75. Peters, R., Sauer, H., Tschopp, J., and Fritzsch, G. (1990). Transients of perforin pore formation observed by fluorescence microscopic single channel recording. EMBO J. 9, 2447–2451.

76. Tschopp, J. and Nabholz, M. (1990). Perforin-mediated target cell lysis by cytolytic T lymphocytes. Annu. Rev. Immunol. 8, 279–302.

77. Canicatti, C. and Tschopp, J. (1990). Holozyme A: One of the serine proteases of Holothuria Polii coelomocytes. Comp. Biochem. Physiol. 96B, 739–742.

78. Jenne, D. E., Tschopp, J., Lüdemann, J., Utecht, B., and Gross, W. L. (1990). Wegener's autoantigen decoded (letter). Nature 346, 520.

79. Acha-Orbea, H., Scarpellino, L., Hertig, S., Dupuis, M., and Tschopp, J. (1990). Inhibition of lymphocyte mediated cytotoxicity by perforin antisense oligonucleotides. EMBO J. 9, 3815–3819.

80. Odake, S., Kam, C.M., Narasimhan, L., Poe, M., Blake, J.T., Krähenbühl, O.P., Tschopp, J., and Powers, J.C. (1991). Human and murine cytotoxic T lymphocyte serine proteases: subsite mapping with peptide thioester substrates and inhibition of enzyme activity and cytolysis by isocoumarins. Biochemistry 30, 2217–2227.

81. Haefliger, J.A., Peitsch, M.C., Jenne, D.E., and Tschopp, J. (1991). Structural and functional characterization of complement C8 gamma, a member of the lipocalin protein family. Mol. Immunol. 28, 123–131.

82. Haddad, P., Jenne, D., Tschopp, J., Clément, M.V., Mathieu Mahul, D., and Sasportes, M. (1991). Structure and evolutionary origin of the human granzyme H gene. Int. Immunol. 3, 57–66.

83. Jenne, D.E., Lowin, B., Peitsch, M.C., Böttcher, A., Schmitz, G., and Tschopp, J. (1991). Clusterin (complement lysis inhibitor) forms a high density lipoprotein complex with apolipoprotein A-I in human plasma. J. Biol. Chem. 266, 11030–11036.

84. Sauer, H., Pratsch, L., Tschopp, J., Bhakdi, S., and Peters, R. (1991). Functional size of complement and perforin pores compared by confocal laser scanning microscopy and fluorescence microphotolysis. Biochim. Biophys. Acta 1063, 137–146.

85. Hameed, A., Truong, L.D., Price, V., Krähenbühl, O. P., and Tschopp, J. (1991). Immunohistochemical localization of granzyme B antigen in cytotoxic cells in human tissues. Am. J. Pathol. 138, 1069–1075.

86. Peters, P.J., Borst, J., Oorschot, V., Fukuda, M., Krähenbühl, O. P., Tschopp, J., Slot, J.W., and Geuze, H.J. (1991). Cytotoxic T lymphocyte granules are secretory lysosomes, containing both perforin and granzymes. J. Exp. Med. 173, 1099–1109.

87. Jenne, D.E., Zimmer, M., Garcia-Sanz, J.A., Tschopp, J., and Lichter, P. (1991). Genomic organization and subchromosomal in situ localization of the murine granzyme F, a serine protease expressed in CD8+ T cells. J. Immunol. 147, 1045–1052.

88. Parmentier, H.K., Van Wichen, D.F., Peters, P.J., Tschopp, J., De Weger, R.A., and Schuurman, H.J. (1991). No histological evidence for cytotoxic T cells in destruction of lymph-node follicle centres after HIV infection. AIDS 5, 778–780.

89. Krähenbühl, O. P. and Tschopp, J. (1991). Lymphocyte-mediated target cell lysis. Immunol. Today 12, 399–402.

90. Jenne, D.E. and Tschopp, J. (1991). Angiotensin II-forming heart chymase is a mast-cell-specific enzyme (letter). Biochem. J. 276, 567–568.

91. Peitsch, M. C. and Tschopp, J. (1991). Assembly of macromolecular pores by immune defense systems. Curr. Opinion Cell Biol. 3, 710 -716.

Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta

Heft Nr. 1 (2. Auflage 1981):
Vorwort von Bundesrat Dr. Hans Hürlimann
Biographie von Professor Dr. Max Cloëtta
Biographie von Dr. Antoine Cloëtta
Übersicht über die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Ehrentafel der Preisträger

Heft Nr. 2:
Preisverleihung 1974
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Urs A. Meyer:
«Klinische Pharmakologie – eine Herausforderung für interdisziplinäre Zusammenarbeit»

Heft Nr. 3:
Preisverleihung 1975
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Hans Bürgi:
«Die Bekämpfung des Kropfes in der Schweiz. Ein Beispiel der Zusammenarbeit zwischen Grundlagenwissenschaftern, Klinikern und Behörden»

Heft Nr. 4:
Cérémonie de remise du prix 1976
Exposé du Dr Rui C. de Sousa, sur le thème:
«La membrane cellulaire: une frontière entre deux mondes»

Heft Nr. 5:
Preisverleihung 1977
Festvortrag des Preisträgers Professor Dr. Franz Oesch:
«Chemisch ausgelöste Krebsentstehung»

Heft Nr. 6:
Preisverleihung 1978
Festvortrag des Preisträgers Dr. Susumu Tonegawa:
«Cloning of Immunoglobulin Genes»

Heft Nr. 7:

Preisverleihung 1979
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Theodor Koller:
«Die strukturelle Organisation des genetischen Apparates höherer Organismen»
Professor Dr. Jean-Pierre Kraehenbuehl:
«Hormonal Control of the Differentiation of the Mammary Gland»

Heft Nr. 8:

Preisverleihung 1980
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Edward W. Flückiger:
«Neuere Aspekte der Mutterkorn-Pharmakologie»
PD Dr. Albert Burger:
«Ein Vierteljahrhundert nach Entdeckung des aktivsten Schilddrüsenhormons (Trijodothyronin)»

Heft Nr. 9:

Preisverleihung 1981
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Rolf Zinkernagel:
«„Selbst"-Erkennung in der Immunologie»
Professor Dr. Peter A. Cerutti:
«A role for active oxygen species in human carcinogenesis?»

Heft Nr. 10:

Preisverleihung 1982
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Jürgen Zapf:
«Wachstum und Wachstumsstörungen: ein gemeinsames Forschungsziel der klinischen und experimentellen Endokrinologie»
PD Dr Jean-Michel Dayer:
«Le monocyte-macrophage: un pivot entre le système immun et le tissu conjonctif dans le processus inflammatoire de l'arthrite rhumatoïde»

Heft Nr. 11:

Preisverleihung 1983
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Peter Böhlen:
«Peptides and Proteins as messengers in the communication between cells and organs»
PD Dr. Claes B. Wollheim:
«Regulation of insulin release by intracellular calcium»

Heft Nr. 12:
Preisverleihung 1984
Festvorträge der beiden Preisträger
Frau Professor Dr. Heidi Diggelmann:
«Beiträge der Retroviren zur Aufklärung grundlegender biologischer Prozesse»
Professor Dr. Jean-François Borel:
«Entwicklung und Bedeutung des Ciclosporins»

Heft Nr. 13:
Preisverleihung 1985
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Hans Thoenen:
«Entwicklungsneurobiologie; von der deskriptiven Analyse zum molekularen Verständnis»
Dr. Roberto Montesano:
«Cell-Extracellular Matrix Interactions in Organogenesis»

Heft Nr. 14:
Preisverleihung 1986
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Ueli Schibler:
«Mechanismen der gewebespezifischen Regulation von Genen»
Professor Dr. Walter Schaffner:
«Enhancer-Sequenzen und die Regulation der Gen-Transkription»

Heft Nr. 15:
Preisverleihung 1987
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Jacques Louis:
«Rôle des lymphocytes T spécifiques sur l'évolution des lésions induites par leishmania major, un parasite vivant dans les macrophages de leur hôte»
Professor Dr. Joachim H. Seelig:
«Magnetische Resonanz – ein „magnetisches Auge" zur Untersuchung der Lebensvorgänge in vivo»

Heft Nr. 16:
Preisverleihung 1988
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Jean-Dominique Vassalli:
«Protéolyse et migrations cellulaires: Multiples facettes du contrôle d'une cascade enzymatique»
PD Dr. Hans Hengartner:
«Über die immunologische Toleranz»

Heft Nr. 17:
Preisverleihung 1989
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Heini Murer:
«Parathormon: Auf dem Weg zum Verständnis seiner Wirkung im proximalen Tubulus»
Dr. Hugh Robson MacDonald:
«Selection of the T Cell Antigen Receptor Repertoire during Development»

Heft Nr. 18:
Preisverleihung 1990
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Martin E. Schwab:
«Entwicklung, Stabilisierung und Regeneration von Faserverbindungen in Gehirn und Rückenmark: Die Rolle von Nervenwachstums-Hemmstoffen»
Professor Dr. Denis Monard:
«Protéases et inhibiteurs extracellulaires dans le système nerveux»

Heft Nr. 19:
Preisverleihung 1991
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Peter J. Meier-Abt:
«Die Ausscheidungsfunktionen der Leber: Rolle von Membrantransport-Systemen»
PD Dr. Jacques Philippe:
«Structure and pancreatic expression of the insulin and glucagon genes»

EHRENTAFEL DER PREISTRÄGER

1974 Dr. Urs A. Meyer

1975 PD Dr. Hans Bürgi

1976 Dr. Rui de Sousa

1977 Prof. Dr. Franz Oesch

1978 Dr. Susumu Tonegawa

1979 Prof. Dr. Theodor Koller
Prof. Dr. Jean-Pierre Krachenbuehl

1980 Prof. Dr. Edward W. Flückiger
PD Dr. Albert Burger

1981 Prof. Dr. Rolf M. Zinkernagel
Prof. Dr. Peter A. Cerutti

1982 PD Dr. Jürgen Zapf
PD Dr. Jean-Michel Dayer

1983 Prof. Dr. Peter Böhlen
PD Dr. Claes B. Wollheim

1984 Prof. Dr. Heidi Diggelmann
Prof. Dr. Jean-François Borel

1985 Prof. Dr. Hans Thoenen
Dr. Roberto Montesano

1986 Prof. Dr. Walter Schaffner
Prof. Dr. Ueli Schibler

1987 Prof. Dr. Jacques Louis
Prof. Dr. Joachim H. Seelig

1988 Prof. Dr. Jean-Dominique Vassalli
PD Dr. Hans Hengartner

1989 Prof. Dr. Heini Murer
Dr. Hugh Robson MacDonald

EHRENTAFEL
DER PREISTRÄGER

1990 Prof. Dr. Martin E. Schwab
Prof. Dr. Denis Monard

1991 PD Dr. Peter J. Meier-Abt
PD Dr. Jacques Philippe

1992 PD Leena Kaarina Bruckner-Tuderman
Prof. Dr. Jürg Tschopp