

Efomycine: Anti-entzündliche Therapie durch Hemmung der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion

Efomycine: Anti-Inflammatory Treatment through Inhibition of the Leucocyte-Endothelial Cell Interaction

Zusammenfassung

Da Selektin-vermittelte Adhäsion an Endothelzellen (sog. Rollen) ein Schlüsselschritt bei der Rekrutierung von Leukozyten in entzündeten Geweben ist, ist die gezielte Hemmung dieser Interaktionen ein vielversprechender Ansatz zur gezielten Therapie entzündlicher Erkrankungen. E- und P-Selektin werden von Endothelzellen und L-Selektin wird von Leukozyten exprimiert. Auf der Suche nach kleinmolekularen Substanzen, die Selektin-vermittelte Leukozyten-Adhäsion an Endothelzellen gezielt beeinflussen, zeigte Efomycin M, ein halbsynthetisches Makrolid, eine sehr gute Hemmung der E- und P-Selektin-vermittelten Adhäsion. Dies resultierte in signifikant vermindertem Rollen von Lymphozyten in vivo sowie in einer sehr guten therapeutischen Wirksamkeit in zwei komplementären Mausmodellen der Psoriasis, einer häufigen chronisch entzündlichen Hauterkrankung. Auf molekularer Ebene konnte gezeigt werden, dass Efomycine, obwohl chemisch nicht verwandt, Strukturanaloga des natürlichen Selektin-Liganden Sialyl-LewisX sind und wahrscheinlich dadurch ihre anti-entzündliche und anti-adhäsive Wirkung entfalten. Insgesamt sind Efomycine eine interessante neue Substanzfamilie, deren Wirkprinzip eine selektive Beeinflussung verschiedener Entzündungsprozesse – nicht nur in der Haut – erwarten lässt.

Leukozyten-Endothel-Adhäsion: Ein Schlüsselschritt bei der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen

Leukozyten-Adhäsion an Endothelien, die durch Zytokine, Chemokine und andere Mediatoren gesteuert wird, ist essenziell für die Immunüberwachung in gesunden Geweben sowie für die Pa-

Abstract

Given that selectin-mediated adhesive interactions between leukocytes and endothelial cells (i. e., rolling) are the crucial initial step in the cascade of events leading to leukocyte recruitment to inflammatory sites, selective inhibition of these interactions may be a promising target for selective anti-inflammatory therapies. E- and P-selectin are expressed by endothelial cells, while L-selectin is expressed by various leukocytes. When small-molecule compounds were screened for their capacity to inhibit selectin-mediated leukocyte-endothelial cell interactions, the macrolide, efomycine M, was found to exert profound inhibitory effects on both E- and P-selectin-mediated adhesion. This resulted in significantly diminished leukocyte rolling in vivo as well as in marked therapeutic efficacy in two complimentary mouse models of psoriasis, a common chronic inflammatory skin disorder. On the molecular level, efomycines are structural analogues of sialylated LewisX, a natural selectin ligand, although both compounds are chemically unrelated. Overall, efomycines are an interesting new family of compounds whose mode of action may prove relevant for selective therapies of various inflammatory disorders.

thogenese entzündlicher Erkrankungen. Da der initiale Kontakt von Leukozyten und Endothelzellen unabdingbar für die Pathogenese zahlreicher entzündlicher Erkrankungen ist, sind diese adhäsiven Funktionen interessante therapeutische Zielstrukturen [1].

Institutsangaben

¹ Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
² Zentrum der Dermatologie und Venerologie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. M. P. Schön · Rudolf-Virchow-Zentrum für Experimentelle Biomedizin und Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie · Julius-Maximilians-Universität · Versbacher Straße 9 · 97078 Würzburg · E-mail: Michael.Schoen@Medizin.Uni-Magdeburg.de

Bibliografie

Akt Dermatol 2003; 29: 431–434 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0340-2541

Die ersten Schritte der Leukozyten-Lokalisation in sämtlichen Geweben sind das lockere Anheften („Tethering“) und das Rollen („Rolling“), transiente adhäsive Interaktionen zwischen Leukozyten und vaskulären Endothelien, die in erster Linie durch Selektine vermittelt werden [2–7]. Selektine sind einkettige Transmembran-Proteine, die mittels lektinartiger Domänen (daher der Name) an proteingebundene Kohlenhydrat-Strukturen auf anderen Zellen binden [8–10].

Insgesamt sind drei homologe Selektine bekannt: E- und P-Selektin, die von Endothelzellen exprimiert werden sowie L-Selektin, das von verschiedenen Leukozyten exprimiert wird. Aktivierete Endothelzellen können sehr schnell P-Selektin (CD62P) an die Zelloberfläche mobilisieren [11, 12], während die Expression von E-Selektin (CD62E) transkriptionell reguliert wird [13, 14]. Chemokine und ihre Rezeptoren können die Selektin-Funktion sehr rasch modulieren [15]. Die zentrale pathogenetische Rolle der beiden endothelialen Selektine für entzündliche Erkrankungen wurde in mehreren experimentellen Studien bestätigt, in denen die Blockade der selektinvermittelten Adhäsion auch therapeutisch genutzt wurde [1, 16]. Kürzlich wurde allerdings eine klinische Studie veröffentlicht, in der ein funktionsblockierender monoklonaler Antikörper gegen E-Selektin keine signifikante Aktivität in der Behandlung von Psoriasis-Patienten zeigte [17]. Diese klinische Beobachtung legte nahe, dass spezifische Blockade eines einzigen Selektins zur Unterbrechung der Entzündungskaskade und somit zur erfolgreichen Unterdrückung von Entzündungsvorgängen nicht ausreicht. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese zeigen mehrere Studien tatsächlich teilweise redundante bzw. überlappende Funktionen von E- und P-Selektin [18–20]. Die therapeutische Wirksamkeit der hier vorgestellten Efomycine ist deshalb möglicherweise dadurch bedingt, dass die Funktion beider Selektine, E- und P-Selektin, gehemmt wird.

L-Selektin (CD62L) wird von naiven und zentralen Memory-T-Zellen exprimiert und vermittelt Adhäsion an endotheliale Selektin-Liganden. Diese Liganden, beispielsweise PNA_d, können in chronisch-entzündlichen Hauterkrankungen auf Endothelzellen induziert sein [21]. Die bevorzugte Lokalisation von L-Selektin auf den Spitzen der Mikrovilli rollender Leukozyten scheint hierbei eine wichtige Rolle für den initialen Kontakt und somit die Ligandenbindung zu spielen [22]. Außerdem scheint die rasche proteolytische Abspaltung von L-Selektin von der Leukozyten-Oberfläche durch Metalloproteasen [23, 24], ein als „Shedding“ bezeichneter Prozess, wichtig für das Rollen der Lymphozyten zu sein [25]. Die regulatorische Funktion des „Shedding“ wird beispielsweise dadurch deutlich, dass Inhibition dieses Vorganges zu verstärkter fester Leukozyten-Adhäsion am Gefäßendothel und somit zu gesteigerter Transmigration führt [26].

Die Sialyl-Lewis^x (sLe^x) enthaltenden Glycoprotein-Liganden für endotheliale Selektine werden von verschiedenen Leukozyten, beispielsweise T-Lymphozyten, ebenfalls exprimiert [10]. T-Zellen, die in die Haut lokalisieren, exprimieren meist den sLe^x-enthaltenden Selektin-Liganden CLA (cutaneous lymphocyte-associated antigen), eine spezielle Glycosylierungsform von PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, CD162) [27]. CLA ist wahrscheinlich an der gewebespezifischen kutanen Lymphozyten-Rekrutierung beteiligt [28, 29], wobei CLA-exprimierende T-Zellen bevorzugt durch das Endothel des oberflächlichen dermalen Ple-

xus extravadiieren [30]. Dies legt eine topografische Spezialisierung des dermalen mikrovaskulären Gefäßendothels hinsichtlich selektinvermittelter Adhäsion nahe.

Zusätzlich zu selektinvermitteltem Rollen der Leukozyten können auch heterodimere Adhäsionsrezeptoren aus der Integrin-Familie das Rollen mancher Lymphozyten vermitteln. Insbesondere das $\alpha_4\beta_1$ -Integrin (VLA-4, CD49d/CD29), das an Liganden aus der Immunglobulin-Superfamilie bindet (z. B. VCAM-1 [vascular cell adhesion molecule-1] und MAdCAM-1 [mucosal addressin cell adhesion molecule-1]), ist hier zu nennen [31–33]. Die Funktion beim Lymphozyten-Rollen besteht zusätzlich zu der bekannten Funktion bei fester endothelialer Adhäsion und beruht zum Teil ebenfalls auf der bevorzugten Präsentation des $\alpha_4\beta_1$ -Integrins auf den Mikrovilli rollender Leukozyten [33]. Das Integrin $\alpha_4\beta_1$ wirkt hier synergistisch mit Selektinen zusammen [34].

Aus der geschilderten Funktion endothelialer und leukozytärer Adhäsionsmoleküle bei Rollen und Anheftung zirkulierender Leukozyten wird deutlich, dass insbesondere Selektine eine Schlüsselrolle bei diesen sehr frühen Schritten der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen (beispielsweise autoimmunologisch vermittelter oder allergischer Erkrankungen) in nahezu sämtlichen Organen spielen. Dies macht Selektine zu interessanten molekularen Zielstrukturen bei der selektiven Behandlung dieser Erkrankungen.

Efomycine blockieren Leukozyten-Adhäsion in vitro

Auf der Suche nach kleinemolekularen Substanzen, die die selektinvermittelte Leukozyten-Adhäsion vermindern, wurden insgesamt 20 000 verschiedene Substanzen in einem HTS-(High Throughput Screening-)Verfahren untersucht. In diesen initialen Experimenten zeigte Fermentationsmaterial von *Streptomyces BS1261* die gewünschte Aktivität – es blockierte die Adhäsion aktivierter Thrombozyten an neutrophile Granulozyten in einem weiten Konzentrationsbereich zwischen 10^{-4} und 10^{-7} M. Durch Aufreinigung der Komponenten dieses Rohmaterials mittels HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), Dünnschichtchromatographie, Reversphasen-HPLC und FAB-(Fast Atom Bombardment)-Massenspektroskopie wurde gezeigt, dass das ursprüngliche Fermentationsmaterial vier Makrolide enthielt, die Efomycine A, B, E und G genannt wurden [35]. Schließlich wurden weitere Mitglieder der Efomycin-Familie synthetisiert, beispielsweise entstand Efomycin M durch β -Elimination der Deoxyfucose-Ketten.

In Adhäsionsexperimenten zeigte sich, dass die Leukozyten-Adhäsion an Nabelschnur-Endothelzellen, dermale Endothelzellen oder das Endothel der Schweine-Aorta durch Efomycine M, E und G, nicht hingegen A und B, signifikant unterdrückt wurde. Insbesondere Efomycin M beeinflusste selektiv die Leukozyten-Adhäsion an Endothelien und zeigte keine Inhibition der Adhäsion an eine Albumin-Matrix.

Um die molekularen Grundlagen der anti-adhäsiven Wirkung von Efomycin M genauer aufzuklären, wurde einerseits die Adhäsion von CEA (enthält Sialyl-Lewis^x) an r-(rekombinantes)-

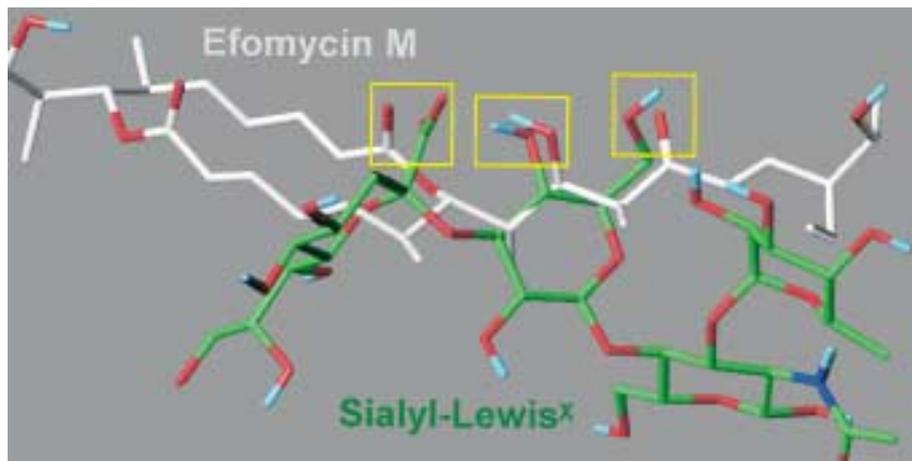


Abb. 1 Dreidimensionale Strukturen von Efomycin M und dem natürlichen Selektin-Liganden Sialyl-Lewis^x. In der Superposition beider Strukturen fällt die ähnliche dreidimensionale Anordnung der für die Selektin-Bindung relevanten Gruppen auf (gelbe Rechtecke).

E-Selektin und andererseits die Leukozyten-Adhäsion an r-P-Selektin untersucht. Es zeigte sich eine signifikante konzentrationsabhängige Blockade beider Selektine, wobei die Wirkung bei E-Selektin vergleichsweise stärker war als bei P-Selektin. Da Efomycin M darüber hinaus eine sehr geringe Toxizität zeigte, wurde es in den folgenden Experimenten *in vivo* eingesetzt, um seine Aktivität beim Rollen von Lymphozyten zu untersuchen:

Efomycin M hemmt Leukozyten-Rolling *in vivo*

Die Aktivität von Efomycin M *in vivo* wurde mithilfe intravital fluoreszenzmarkierter menschlicher T-Zellen untersucht, die in die *A. carotis communis* anästhesierter Mäuse injiziert wurden. Diese Zellen zirkulieren im Blutkreislauf des Wirtes und können durch Intravitalmikroskopie in den Ohrkapillaren direkt *in vivo* nachgewiesen werden. Auf Videoaufzeichnungen der mikroskopierten Kapillaren können dann sämtliche in einem definierten Gefäßareal im Blutstrom passierenden, rollende sowie fest adhären markierte Zellen quantifiziert werden.

Durch einmalige *i.v.* Applikation von 5 mg/kg Efomycin M wurden die rollenden Lymphozyten sofort um etwa 70% reduziert, wodurch die *In-vivo*-Wirksamkeit eindrucksvoll belegt wurde. Dass dies ein selektinspezifischer Effekt war, wurde durch komplementäre Blockade-Experimente mit funktionsblockierenden Antikörpern gegen P- und E-Selektin gezeigt.

Efomycin M bessert murine psoriasiforme Hautentzündungen

Die Inhibition des Leukozyten-Rollens durch Efomycin M deutete bereits an, dass diese Substanz bei Erkrankungen, bei denen die Leukozyten-Rekrutierung zu entzündeten Geweben eine entscheidende pathogenetische Rolle spielt, therapeutisch genutzt werden könnte. Um diese Hypothese direkt *in vivo* zu überprüfen, wurde die Psoriasis bzw. psoriasiforme hyperproliferativ-entzündliche Hautläsionen als „Modellerkrankung“ untersucht. Psoriasis ist eine häufige chronisch-entzündliche Hauterkrankung, an der bis zu 3% der Bevölkerung leiden [36]. Es handelt sich um eine primär T-Zell-vermittelte Erkrankung, bei der auch

neutrophile Granulozyten eine wichtige Rolle spielen [36]. In zwei komplementären präklinischen Modellen der Psoriasis wurde die Wirksamkeit von Efomycin M überprüft:

Das erste Modell basiert auf Rekonstitution von SCID-Mäusen mit Minor-HC-verschiedenen naiven CD4⁺-T-Zellen (CD4⁺/CD45RB^{hi}-T-Zellen). Die Empfängertiere zeigen eine massive T-Zell-Dysregulation, die zu einer protrahierten GVHD mit Colitis sowie einer psoriasis-artigen Hautentzündung führt [37,38]. Dieses Modell ist immunologisch vermittelt, ohne dass primäre epitheliale Abnormalitäten vorhanden sind. Im zweiten Modell wurde läsionale Haut von Psoriasis-Patienten auf SCID-Mäuse transplantiert, wobei der psoriatische Phänotyp erhalten bleibt und für Therapiestudien genutzt werden kann [39–41]. Beide Modelle wurden bereits zur Evaluation verschiedener anti-inflammatorischer Therapiemodalitäten erfolgreich eingesetzt.

In beiden Modellen wurden die Versuchstiere durch wiederholte Injektionen von 5 mg/kg Efomycin M behandelt, und in beiden Modellen zeigte sich unter dieser Therapie eine rapide und dramatische Besserung der Hautläsionen, ohne dass während Beobachtungszeiträumen von bis zu 7 Wochen unerwünschte Wirkungen nachweisbar waren [35]. In diesen präklinischen „proof-of-principle“-Untersuchungen wurde somit das therapeutische Potenzial von Efomycin M bestätigt.

Efomycin M ist ein Sialyl-Lewis^x-Strukturmimetikum

Um Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufzuklären, wurde Efomycin M mit dem natürlichen Selektin-Liganden Sialyl-Lewis^x [10] verglichen. In NMR-Spektroskopie- und computergestützten „Modelling“-Untersuchungen wurde gezeigt, dass Efomycin M hinsichtlich der für die Selektin-Bindung relevanten Gruppen eine sehr ähnliche Struktur wie der chemisch nicht verwandte natürliche Selektin-Ligand Sialyl-Lewis^x besitzt [35]. Diese strukturelle Ähnlichkeit könnte der Schlüssel für die selektiven Wirkungen *in vitro* und *in vivo* sein (Abb. 1).

Da selektinvermitteltes Rollen für verschiedene Gruppen von Leukozyten relevant ist, könnte Efomycin M an unterschiedlichen Stellen pathogenetischer Kaskaden eingreifen. Außerdem werden die Moleküle, deren Funktion durch Efomycin M gehemmt wird (E- und P-Selektin), präferenziell in entzündeten Geweben heraufreguliert. Man kann deshalb vermuten, dass (Neben-)Wirkungen an anderen Stellen des Organismus gering sind. Schließlich sind generelle immunsuppressive Wirkungen und pleiotrope Effekte wie bei anderen Immunsuppressiva (beispielsweise Glukokortikosteroide oder Cyclosporin A) für Efomycin M bisher nicht bekannt. Die anti-entzündliche Wirkung von Efomycin M dürfte deshalb vergleichsweise selektiv sein – sowohl im Hinblick auf die molekularen Interaktionen, die beeinflusst werden, als auch im Hinblick auf die Lokalisation im behandelten Organismus. Insgesamt sind Efomycine also eine interessante neue Substanzklasse, deren Wirkprinzip – Selektin-Blockade – ein über entzündliche Hauterkrankungen hinausreichendes Indikationsspektrum erwarten lässt. Weiterführende Studien werden diese Hypothesen überprüfen.

Literatur

- 1 Todderud G et al. BMS-190394, a selectin inhibitor, prevents rat cutaneous inflammatory reactions. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1298–1304
- 2 Shimizu Y et al. Four molecular pathways of T cell adhesion to endothelial cells: roles of LFA-1, VCAM-1, and ELAM-1 and changes in pathway hierarchy under different activation conditions. *J Cell Biol* 1991; 113: 1203–1212
- 3 von Andrian UH et al. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta-2 integrins in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7538–7542
- 4 Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell* 1994; 76: 301–314
- 5 Smith CH et al. Neuropeptides induce rapid expression of endothelial cell adhesion molecules and elicit granulocytic infiltration in human skin. *J Immunol* 1993; 151: 3274–3282
- 6 Groves RW et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) expression in cutaneous inflammation. *Br J Dermatol* 1991; 124: 117–123
- 7 Butcher E, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; 272: 60–66
- 8 Ley K. Functions of selectins. *Results Probl Cell Differ* 2001; 33: 177–200
- 9 Feizi T. Carbohydrate ligands for the leukocyte-endothelium adhesion molecules, selectins. *Results Probl Cell Differ* 2001; 33: 201–223
- 10 Varki A. Selectin ligands. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7390–7397
- 11 McEver RP, Beckstead JH. GMP-140, a platelet alpha granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 1989; 84: 92–99
- 12 Bonfanti R, Furie BC. PADGEM (GMP140) is a component of Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *Blood* 1989; 73: 1109–1112
- 13 Bevilacqua MP, Stengelin S. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1: An inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science* 1989; 243: 1160–1163
- 14 Cotran RS, Gimbrone MAJ. Induction and detection of a human endothelial activation antigen in vivo. *J Exp Med* 1986; 164: 661–666
- 15 Grabovsky V, Dwir O, Alon R. Endothelial chemokines destabilize L-selectin-mediated lymphocyte rolling without inducing selectin shedding. *J Biol Chem* 2002; 277: 20640–20650
- 16 Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068–2101
- 17 Bhushan M et al. Anti-E-selectin is ineffective in the treatment of psoriasis: a randomized trial. *BJ Dermatol* 2002; 146: 824–831
- 18 Collins RG et al. Dermal and pulmonary inflammatory disease in E-selectin and P-selectin double-null mice is reduced in triple-selectin-null mice. *Blood* 2001; 98: 727–735
- 19 Jung U, Ley K. Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J Immunol* 1999; 162: 6755–6762
- 20 Labow MA et al. Characterization of E-selectin-deficient mice: demonstration of overlapping function of the endothelial selectins. *Immunity* 1994; 1: 709–720
- 21 Hwang ST. Mechanisms of T cell homing to skin. *Adv Dermatol* 2001; 17: 211–241
- 22 Fors BP, Goodarzi K, von Andrian UH. L-selectin shedding is independent of its subsurface structures and topographic distribution. *J Immunol* 2001; 167 (7): 3642–3651
- 23 Zhao LC, Edgar JB, Dailey MO. Characterization of the rapid proteolytic shedding of murine L-selectin. *Dev Immunol* 2001; 8 (3–4): 267–277
- 24 Condon TP et al. ADAM17 but not ADAM10 mediates tumor necrosis factor-alpha and L-selectin shedding from leukocyte membranes. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2001; 11 (2): 107–116
- 25 Hafezi-Moghadam A, Ley K. Relevance of L-selectin shedding for leukocyte rolling in vivo. *J Exp Med* 1999; 189 (6): 939–948
- 26 Hafezi-Moghadam A et al. L-selectin shedding regulates leukocyte recruitment. *J Exp Med* 2001; 193 (7): 863–872
- 27 Fuhlbrigge RC et al. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. *Nature* 1997; 389: 978–981
- 28 Picker LJ et al. A unique phenotype of skin-associated lymphocytes in humans. Preferential expression of the HECA-425 epitope by benign and malignant T cells at cutaneous sites. *Am J Pathol* 1990; 136: 1053–1068
- 29 Picker LJ et al. ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T-cells. *Nature* 1991; 349: 796–799
- 30 Kunstfeld R et al. HECA-452+ T cells migrate through superficial vascular plexus but not through deep vascular plexus endothelium. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 343–348
- 31 Reinhardt PH, Elliott JF, Kubes P. Neutrophils can adhere via alpha4beta1-integrin under flow conditions. *Blood* 1997; 89 (10): 3837–3846
- 32 Singbartl K et al. A CD2-green fluorescence protein-transgenic mouse reveals very late antigen-4-dependent CD8+ lymphocyte rolling in inflamed venules. *J Immunol* 2001; 166 (12): 7520–7526
- 33 Berlin C et al. alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell* 1995; 80 (3): 413–422
- 34 Issekutz AC, Issekutz TB. The role of E-selectin, P-selectin, and very late activation antigen-4 in T lymphocyte migration to dermal inflammation. *J Immunol* 2002; 168 (4): 1934–1939
- 35 Schön MP et al. Efomycine M, a new specific inhibitor of selectin, impairs leukocyte adhesion and alleviates cutaneous inflammation. *Nat Med* 2002; 8: 366–372
- 36 Christophers E. The immunopathology of psoriasis. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 110: 199–206
- 37 Powrie F et al. Regulatory interactions between CD45RBhigh and CD45RBlow CD4+ T cells are important for the balance between protective and pathogenic cell-mediated immunity. *J Exp Med* 1994; 179: 589–600
- 38 Schön MP, Detmar M, Parker CM. Murine psoriasis-like disorder induced by naive CD4+ T-cells. *Nature Med* 1997; 3: 183–188
- 39 Boehncke W-H et al. Pulling the trigger on psoriasis. *Nature* 1996; 379: 777
- 40 Boehncke W-H et al. The SCID-hu xenogeneic transplantation model allows screening of anti-psoriatic drugs. *Arch Dermatol Res* 1999; 291: 104–106
- 41 Nickoloff BJ et al. Severe combined immunodeficiency mouse and human psoriatic skin chimeras. Validation of a new animal model. *Am J Pathol* 1995; 146: 580–588