



Epidermolysis bullosa – Ein gelungenes Beispiel translationaler Medizin

Translational Medizin findet dort statt, wo klinische Versorgung und naturwissenschaftliche Forschung eng verzahnt sind. Im weiteren Sinne spricht man von Translationalität, wenn in Laboratorien gewonnene Erkenntnisse über Krankheitsmechanismen in neue diagnostische, therapeutische und präventive Methoden übertragen und unmittelbar im klinischen Setting überprüft werden („from bench to bedside“) [1]. Basierend auf diesem Konzept konnten in der molekulargenetischen Diagnostik, aber v. a. auch in der bisher vorwiegend nur symptomorientierten Therapie von Epidermolysis-bullosa(EB-)Patienten, einschneidende Fortschritte in den letzten Jahren vermerkt werden.

Im EB-Haus Austria (www.eb-haus.org) als nationales Expertisezentrum werden klinisch-diagnostische Dienstleistungen, einschließlich Immunfluoreszenzmapping und molekularer Diagnostik, sowie ein koordiniertes multidisziplinäres Management in Kooperation mit verschiedensten medizinischen Fachrichtungen und zahlreichen nationalen bzw. internationalen Partnern zur Verfügung gestellt. Ein ständiger strukturierter Wissenstransfer zwischen Experten diverser klinischer Fächer und Grundlagenforschern innerhalb des Zentrums, mit anderen Expertisezentren, aber auch mit medizinischen Grundversorgungseinrichtungen stellt dabei, durch enge Zusammenarbeit von Wissenschaft und medizinischer Versorgung, die Basis für erfolgreiche translational Medizin.

In diesem Sinne konnten in den letzten Jahren u. a. zwei vielversprechende therapeutische Konzepte für PatientInnen mit

EB entwickelt werden, deren Konzept im Folgenden erläutert wird.

Epidermolysis bullosa

EB umfasst eine Gruppe genetisch heterogener Erkrankungen, von denen ca. 500.000 Menschen weltweit betroffen sind und deren Lebensqualität maßgeblich durch chronische Fragilität der Haut mit Blasen- und konsekutiver Erosionsbildung nach nur minimaler traumatischer Belastung eingeschränkt wird. Nach der Ebene der Blasenbildung in der Haut wird die EB in 4 Haupttypen unterteilt: EB simplex (EBS, intradermale Gewebedehiszenz), junktionale EB (JEB, Spaltbildung innerhalb der Basalmembranzzone), dystrophe EB (DEB, dermolytische Spaltbildung unterhalb der Lamina densa) und das Kindler-Syndrom (mehrere – epidermale, junktionale und dermolytische – Spaltebenen) [2, 3].

Ursächlich liegen den diversen EB-Formen Mutationen in Genen zugrunde, die für die Strukturproteinkomponenten der dermoepidermalen Junktionszone kodieren. Aktuell sind 18 Mutationen bekannt, als Folge derer die Proteine entweder funktionell beeinträchtigt sind oder gänzlich fehlen, wodurch graduell eine leicht bis exzessiv verminderte Widerstandsfähigkeit der Haut gegenüber mechanischer Beanspruchung und Scherkräften resultiert. Da die von den Mutationen betroffenen Strukturen auch in vielen anderen epitheltragenden Organen exprimiert werden, können sich schwere EB-Formen durch zahlreichen Extrakutanmanifestationen zu einer Multisystemerkrankung mit ho-

her Morbidität und früher Mortalität entwickeln [4].

Aufgrund der ausgeprägten phänotypischen *und* genotypischen Heterogenität der EB ist eine frühe, rein klinische Diagnose nur in den wenigsten Fällen realisierbar. Mittels, ggf. zur Fokussierung von Kandidatengenomen, vorangeschaltetem Immunfluoreszenzmapping sowie Mutationsanalysen, inklusive Breitband- und Hochdurchsatzverfahren, kann jedoch mittlerweile in den allermeisten Fällen eine genaue molekulare Diagnose mit Identifizierung des betroffenen Gens und der spezifischen Mutation ermöglicht werden.

Kausale EB-Therapien

Bisher ist eine Behandlung von EB-Patienten vorwiegend symptomatisch und besteht primär aus einem umfangreichen Wundmanagement sowie der Prophylaxe von schwerwiegenden (z. B. infektiösen) Komplikationen. Neue molekulare Therapieansätze, wie protein- und zell(fibroblasten-)basierte Verfahren, sowie die Durchführung von allogenen Knochenmarkstransplantationen eröffnen aber die Perspektive signifikant verbesserter Managementstrategien [5–8].

In rezenten Studien konnten bei einigen EB-Patienten mittels Übertragung von pluripotenten, in vivo zu Hautzellen reprogrammierten, Stammzellen durch Knochenmarkstransplantation eine Verbesserung der klinischen Symptomatik erreicht werden, allerdings ist die Risiko-Nutzen-Bilanzierung angesichts der periinterventionellen Mortalität u. a. aufgrund der myeloablativen Konditionie-

Derung weiterhin problematisch. Topische Injektionen von allogenen Fibroblasten beschleunigten bei einigen Patienten die Wundheilung. Die Schmerzhaftigkeit und, bzgl. der Applikationsfläche, begrenzte Anwendbarkeit der Injektion war hier aber ein wesentlicher limitierender Faktor dieser Therapie. Gleiches gilt für die intradermale Administration von rekombinantem Protein. Auch systemische Infusionen von mesenchymale Stromazellen (MSC) aus allogener Knochenmark reduzierten merkbar den Juckreiz und förderten das allgemeine Wohlbefinden in einzelnen Individuen, führten aber nachweislich zu keiner Erhöhung von Kollagen VII in der Haut. Generell stehen der Entwicklung von sicheren und wirksamen kausalen Behandlungen aktuell noch erhebliche Hürden gegenüber und eine breite klinische Anwendung liegt noch fern.

Ex-vivo-Gentherapie

Da es sich bei EB vorwiegend um monogenetische Erkrankungen handelt und somit ein einzelner Gendefekt den Phänotyp bestimmt, liegt ein wesentlicher therapeutischer Schwerpunkt auf der Entwicklung von gentherapeutischen cDNA- und RNA-Korrekturstrategien unter Verwendung von viralen oder integrierten nichtviralen Vektoren. In Studien konnten bereits ex vivo primäre Keratinozyten gezielt modifiziert werden, wodurch eine phänotypische Korrektur ihrer Adhäsionseigenschaften in vitro und auch in Hauttransplantaten von Mäusen erreicht wurde [9–11].

Nichtvirale Strategien zur Genmodifizierung, bspw. mittels Nukleasen, haben den Vorteil, dass Transgene ortsspezifisch an einer bevorzugten endogenen Stelle integriert werden können. Allerdings ist für den breiten klinischen Einsatz dieser Technologien noch weitere Entwicklungsarbeit nötig, u. a. um Off-Target-Effekte besser erfassen zu können. Darüber hinaus müssen die Techniken hinsichtlich ihrer Effizienz verbessert werden, bevor sie am Patienten angewendet werden können [12].

Die Ex-vivo-Gen-/Zelltherapie der Haut unter Verwendung von humanen epidermalen Zellen in Kombination mit retroviraler cDNA-Korrektur stellt eine vielversprechende Methode zur Behandlung von EB dar. Auch wenn damit nicht alle Symptome von EB behandelbar sind (bspw. bei Schleimhautbeteiligung), bestehen wesentliche Vorteile gegenüber In-vivo-Anwendungen.

Keratinozyten können, nachdem sie aus kleinen Hautbiopsien gewonnen worden sind, verhältnismäßig leicht in Kulturen expandiert werden. Durch geeignete Ex-vivo-Protokolle ist es anschließend möglich, epidermale Stammzellen vor dem Gentransfer selektiv zu identifizieren, um eine lang anhaltende, möglichst permanente und vollständige Korrektur der erkrankten Haut zu erreichen. Epidermale Transplantate aus korrigierten Stammzellen können dann unter Einsatz von etablierten operativen Verfahren wieder auf den Patienten transplantiert werden [13]. So ist es möglich, die klinischen Symptome der EB deutlich zu mildern. Sobald das Transplantat angewachsen ist, sistiert der gelegentlich beträchtliche Verlust von Körperflüssigkeiten aus der Wunde, wodurch mehr Proteine und Peptide im Körper erhalten bleiben. Geschlossene Wunden verbessern zudem die Abwehr von mikrobiellen Infektionen und reduzieren in weiterer Folge möglicherweise auch die Krebsentstehung, da generell chronische, über Jahre bestehende Wunden das Risiko des Auftretens von Plattenepithelkarzinomen erhöhen, was v. a. bei junctionalen und dystrophischen EB-Varianten beobachtet wird [14]. Weiterhin kann die Effizienz des Gentransfers bereits vor dem Aufbringen des Transplantates am Patienten bestätigt werden [15].

Das u. a. durch zufällige Integration des Transgens in das Genom bedingte genotoxische Potenzial von retroviralen Vektoren kann bei Ex-vivo-Gentherapieverfahren durch initiale Sicherheitsstudien bereits in Zellkultur und somit ohne direkte Verabreichung von Vektoren am Patienten zudem deutlich reduziert werden [16].

Umsetzung in die Klinik: Ex-vivo-Gentherapie in Mailand und Salzburg

Dank molekularer technologischer Fortschritte und verbesserter Sicherheitsprofile stellt die Ex-vivo-Gentherapie aktuell somit eine realistische EB-Behandlung dar.

Im Jahr 2006 berichteten Mavilio et al. aus Modena über den ersten erfolgreichen Ex-vivo-Gentherapieversuch bei einem Patienten mit junctionaler EB und Mutationen im Laminin-332-Gen [17].

In dieser Phase-I/II-Studie wurden dem Patienten zuerst Biopsien aus der Handfläche entnommen und daraus epidermale Stammzellen, sog. Holoclone, isoliert. Diese wurden ex vivo in Zellkultur genetisch mittels einer Full-length-cDNA-Gentherapie mit einem retroviralen Vektor korrigiert. Die so transduzierten Zellen exprimierten das Transgen stabil mit fast 100 % Effizienz sowohl auf der RNA- als auch auf der Proteinebene. Die korrigierten Stammzellen wurden dann selektioniert und zu Hauttransplantaten expandiert, welche dem betroffenen Patienten auf chronische Wunden am Oberschenkel aufgebracht wurden. Bereits nach 8 Tagen konnte eine epidermale Regeneration beobachtet werden. Ein Follow-up-Zeitraum von derzeit mehr als 8 Jahren hat eine nachhaltige Synthese vom LAMB3-Protein im transplantierten Hautareal bestätigt – einhergehend mit stabiler Adhäsion der Epidermis und über dem gesamten Zeitraum ohne Anzeichen von Blasenbildung, Entzündungen, Tumorentwicklung oder Immunantwort [18].

In enger Kooperation mit dem Studienteam des Zentrums für Regenerative Medizin in Modena startete nach jahrelanger Vorarbeit zur Erfüllung der legalen Voraussetzungen im Juli 2014 im EB-Haus Austria in Salzburg eine ähnliche ex-vivo-gentherapeutische Behandlung einer österreichischen JEB-Patientin. Unter Verwendung von autologen epidermalen Stammzellen ist dies die erste GMP („good medical practice“-) geleitete Ex-vivo-Gen-/Zelltherapie bei junctionaler EB. Dabei wurden die aus den transduzierten Zellen im GMP-La-

bor in Modena hergestellten, ca. 5 × 7 cm großen Transplantate nach ihrer Überstellung nach Salzburg auf chronische Wunden an den Beinen der Patientin im Rahmen einer 2-stündigen Operation aufgetragen. Ein Monat nach dem Eingriff waren die Transplantate bereits größtenteils reepithelialisiert und zeigen heute, 1 Jahr nach der Transplantation, selbst bei mechanischer Belastung eine komplette Reepithelialisierung ohne Blasenbildung.

Im Oktober 2015 wurden Biopsien aus den eingehheilten Transplantaten entnommen und immunhistochemisch sowie elektronenmikroskopisch untersucht. Hierbei konnte verifiziert werden, dass die fehlende LAMB3-Kette und infolge auch das vormals fehlgebildete LAM332-Protein durch die erfolgte Stammzell-/Gentherapie jetzt in korrekter, gesunder Haut entsprechender Form vorliegt.

Nummehr wird in regelmäßigen Abständen der Immunstatus der Patientin überprüft, um eine allfällige Abstoßung der Transplantate rechtzeitig zu erkennen. Dieses potenzielle Risiko von unerwünschten Immunreaktionen gegen das neu exprimierte Protein muss, insbesondere bei Patienten mit Nullmutationen, d. h. ohne residuale Proteinaktivität, berücksichtigt werden.

Aktuell wird des Weiteren eine Studie mit der Fragestellung durchgeführt, ob durch von EB-Patienten stammende, in vitro genkorrigierte Keratinozyten die normale Adhärenzfunktion der Haut langfristig und nebenwirkungsfrei wiederhergestellt werden kann. Angesichts der innerhalb von ca. 4 Wochen stattfindenden, kontinuierlichen epidermalen Selbsterneuerung liegt dabei die größte Herausforderung in der Sicherstellung einer langfristigen Expression des Transgens. Um eine lang anhaltende therapeutische Wirkung zu erzielen, müssen somit epidermale Stammzellen gezielt korrigiert werden. Deren Anzahl ist jedoch durch rezidivierende Verletzungen und konsekutive Narbenbildungen bei EB-Patienten sehr begrenzt und verringert sich zusätzlich mit fortschreitendem Alter des Patienten.

Natürliche Gentherapie

Einige EB-Patienten besitzen Hautareale, die (zeitlebens) gänzlich frei von Blasen sind und gleichzeitig eine erhöhte Expression des, im Großteil der übrigen Haut nicht exprimierten, Proteins aufweisen [19] [20]. Dieses Phänomen, als revertantes Mosaik oder natürliche Gentherapie bezeichnet und auf spontan postzygot-somatischen molekularen Ereignissen mit umschriebener Korrektur der kausalen Keimbahnmutation basierend, könnte verhindern, dass Immunreaktionen gegen das gentherapeutisch neusynthetisierte Protein auftreten. Des Weiteren kann die Anwesenheit von revertierten „gesunden“ Stammzellen in der eigenen Patientenhaut genutzt werden, um eine zellbasierte Therapie ohne die Notwendigkeit einer Genkorrektur zu entwickeln [21].

In einer Studie wurde bereits erfolgreich eine phänotypische und genotypische Korrektur der Haut bei Patienten mit revertantem Mosaik durch Expansion der revertanten Haut demonstriert. Dies könnte eine vielversprechende therapeutische Option für kutane Manifestationen von EB darstellen. Weiterentwickelte Protokolle für die effiziente Selektion von revertanten Keratinozyten in der Kultur sind jedenfalls von Nöten, um größere Transplantate mit ausreichender Anzahl an revertanten Stammzellen zu produzieren [22] [23].

Zusammenfassend ist die Transplantation von genkorrigierten Hautstammzellen insgesamt ein vielversprechender Ansatz für die dauerhafte Behandlung von chronischen Wunden besonders exponierter oder symptomatischer EB-Patienten.

Aufgrund des Erfolges der ersten klinischen Anwendungen dieser Therapie ist bereits eine Ausweitung auf andere Subformen der EB (wie jenen mit vielen Sekundärkomplikationen) geplant.

Diacerin und Epidermolysis bullosa

Ein weiteres Beispiel translationaler Medizin ist die Entwicklung einer topischen symptomatisch-supportiven Lokalthherapie für generalisierte, schwere Epidermo-

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

hautnah 2016 · 15:19–23 DOI 10.1007/s12326-015-0177-x
© The Author(s) 2016

C. Prodiginger · M. Laimer · J. W. Bauer

Epidermolysis bullosa – Ein gelungenes Beispiel translationaler Medizin

Zusammenfassung

Epidermolysis bullosa (EB) ist eine seltene blasenbildende Hauterkrankung mit evidenter klinischer und genetischer Heterogenität. Bisher stehen für die Betroffenen vorwiegend symptomatische (Wund-)Behandlungen zur Verfügung. Neue molekulare Therapieansätze, basierend auf dem Konzept translationaler Medizin, eröffnen zunehmend die Perspektive signifikant verbesserter Managementstrategien. So stellt die Ex-vivo-Gen-/Stammzelltherapie der Haut, unter Verwendung von humanen epidermalen Zellen in Kombination mit retroviraler cDNA-Korrektur, eine vielversprechende Methode zur Behandlung von EB dar. Keratinozyten können, nachdem sie aus kleinen Hautbiopsien gewonnen worden sind,

in Kulturen verhältnismäßig leicht expandiert werden. Epidermale Stammzellen werden dann selektiv identifiziert und transfiziert. Aus diesen korrigierten Stammzellen werden epidermale Transplantate produziert, welche auf chronische, nichtheilende Wunden von EB-Patienten transplantiert werden. So ist es möglich, die klinischen Symptome der EB langfristig, wenn nicht sogar permanent, zu mildern. Eng verzahnte molekularbiologische und klinische Forschung führten in Salzburg zudem zur Entwicklung einer antiinflammatorischen Creme mit dem bekannten Wirkstoff des nichtsteroidalen Antiphlogistikums (NSAP) Diacerein, die bei EB-simplex-Patienten eine nachweisliche Besserung der phänotypischen

Ausprägung mit vorwiegender Reduktion der Blasenbildung induziert. Diacerein inhibiert bestimmte Stresssignalkaskaden durch regulatorische Wirkung auf inflammatorische Zytokine und IL-1 β . Durch das Erreichen der „Orphan-Designation“ der europäischen Arzneimittelagentur kann eine Weiterentwicklung dieses neuen Medikamentes in einer großen europäischen Studie vorangetrieben werden, mit voraussichtlicher Marktzulassung in absehbarer Zeit.

Schlüsselwörter

Epidermolysis bullosa · Ex-vivo-Gentherapie · Stammzelltherapie · Revertantes Mosaik bei EB · Diacerein-Creme

Epidermolysis bullosa – a successful example of translational medicine

Abstract

Epidermolysis bullosa (EB) is a rare blistering skin disorder characterized by extensive clinical and genetic heterogeneity. Current treatment of EB patients is limited to mainly symptomatic (wound) therapies. New molecular therapeutic approaches, based on the concept of translational medicine, open up prospects of significantly improved management strategies. In particular, ex vivo gene therapy or stem-cell skin therapy using human epidermal cells in combination with correcting retroviral cDNA, represent promising methods for the treatment of EB. Keratinocytes obtained from small skin biopsies can be expanded in culture com-

paratively easily following the identification and selection of epidermal stem cells and transfection. Epidermal grafts of corrected stem cells are then transplanted to chronic, non-healing wounds of EB patients. Thus, it is possible to ameliorate clinical symptoms of the EB in the long term or eventually permanently. Further, interconnected molecular biological and clinical research in the EB-House Austria in Salzburg has led to the development of an anti-inflammatory cream. The active compound is the non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAP) diacerein, which shows a significant improvement in the phenotypic

expression in EB simplex patients, with predominant reduction of blistering. Diacerein inhibits distinct stress signalling cascades through regulatory activity on inflammatory cytokines and IL-1 β . By obtaining the „orphan designation“ of the European Medicines Agency (EMA), an ongoing development of this new drug can be pursued in a large European study, with expected marketing approval in near future.

Keywords

Epidermolysis bullosa · Ex vivo gene therapy · Stemcell therapy · Revertant mosaic in EB · Diacerein creme

lysis bullosa simplex (gsEBS) mit primär antientzündlichen und in weiterer Folge blasenreduzierenden Eigenschaften.

Bei dieser autosomal-dominant vererbten EB-simplex-Variante kommt es aufgrund bestimmter Mutationen zur Kompromittierung eines der basalen Zytokeratine (Keratin 5 [K5] oder Keratin 14 [K14]), welche wichtige Bestandteile des Zytoskeletts sind [24]. Entsprechende Mutationen bewirken u. a. eine Verklumpung der Keratine im Zellinneren, wodurch eine verminderte Resistenz gegen externe mechanische Belastungen mit konsekutiver Zytolyse der basalen

Keratinozyten resultiert. Dabei ist die Stresssensitivität der Keratinozyten erhöht und entsprechende Signalkaskaden (p38, JNK, ERK) sind konstitutiv aktiviert. In-vitro-Studien zeigten, dass der aktivierte JNK-Pathway den Entzündungsmediator IL-1 β induziert. Letzteres ist in gsEBS-Keratinozyten deutlich hochreguliert und seinerseits wiederum ein Induktor des JNK-Signaltransduktionspfades. Zusätzlich kommt es zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren der AP-1-Familie, die u. a. für die Expression von Keratin 14 verantwortlich sind, welches in gsEBS-Keratinozyten eben-

falls hochreguliert ist. Dadurch wird die alterierte Aggregatbildung und folglich die Zellinstabilität bzw. Zytolyse von basalen Keratinozyten mit dem klinischen Bild von Blasen- und Erosionsbildung verstärkt [25].

Um eine Verbesserung der phänotypischen Ausprägung von gsEBS zu erzielen, wurde in einer Pilotstudie versucht, diese Stresssignalkaskaden mittels Diacerein, einem auf inflammatorische Zytokine wirkenden und IL-1 β inhibierenden Wirkstoff, zu unterbinden. Diacerein zählt zu den nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAPs) und wird

in bereits zugelassenen Medikamenten (z. B. Verboril®) bspw. bei rheumatischer Arthritis systemisch verabreicht [26]. In-vitro-Versuche an mit Diacerein inkubierten sgEBS-Keratinocyten zeigen eine tendenzielle Normalisierung der Expressionsprofile der Entzündungsmediatoren IL-1 β und JNK sowie eine verstärkte Bildung von Wildtypprotein.

Klinisch konnte die im EB-Haus Austria durchgeführte Pilotstudie eine signifikante Reduktion der Blasenanzahl während der offenen Phase und einen signifikanten Unterschied zwischen Placebo und Diacerein während eines definierten Zeitintervalls der kontrollierten, randomisierten, doppelblinden Phase nachweisen [27].

Diese positiven Ergebnisse stellen die Basis für die aktuelle Durchführung einer Phase-III-Studie dar, womit die Wirksamkeit von Diacerein in zwei unabhängigen Gruppen bei insgesamt 15 Patienten analysiert werden soll. Die in Salzburg entwickelte Diacereincreme erhielt bereits von der europäischen Arzneimittelagentur (EMA) eine „Orphan-Designation“, wodurch ein Sonderstatus für die Entwicklung neuer Medikamente und Therapien für Betroffene seltener Erkrankungen gewährleistet ist und die Weiterentwicklung dieses neuen Medikaments in einer großen europäischen Studie vorangetrieben werden kann.

Korrespondenzadresse

Dr. C. Prodingner

Universitätsklinik für Dermatologie, Paracelsus Medizinische Universität Salzburg
Müllner Hauptstraße 48, 5020 Salzburg,
Österreich
ch.prodingner@salk.at

Acknowledgments. Open access funding provided by Paracelsus Medical University.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C Prodingner, M. Laimer und J. W. Bauer geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Betrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, dis-

tribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

Literatur

- Littmann BH (2011) Translational medicine: definition, history and strategies. In: Littman HB, Krishna R (Hrsg) Translational medicine and drug discovery, 1. Aufl. Cambridge University Press, Cambridge, 53–34
- Fine JD, Hintner H (2009) Life with Epidermolysis Bullosa (EB): Etiology, Diagnosis, Multidisciplinary Care and Therapy. Springer, Vienna
- Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, Heagerty A, Hintner H, Hovnanian A, Jonkman MF, Leigh I, Marinkovich MP, Martinez AE, McGrath JA, Mellerio JE, Moss C, Murrell DF, Shimizu H, Uitto J, Woodley D, Zambruno G (2014) Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol* 70:1103–1126
- Intong LR, Murrell DF (2012) Inherited epidermolysis bullosa: new diagnostic criteria and classification. *Clin Dermatol* 30:70–77
- Woodley DT, Wang X, Amir M, Hwang B, Remington J, Hou Y, Uitto J, Keene D, Chen M (2013) Intravenously injected recombinant human type VII collagen homes to skin wounds and restores skin integrity of dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 133:1910–1913
- Wong T, Gammon L, Liu L, Mellerio JE, Dopping-Hepenstal PJ, Pacy J, Elia G, Jeffery R, Leigh IM, Navsaria H, McGrath JA (2008) Potential of fibroblast cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 128:2179–2189
- Woodley DT, Remington J, Huang Y, Hou Y, Li W, Keene DR, Chen M (2007) Intravenously injected human fibroblasts home to skin wounds, deliver type VII collagen, and promote wound healing. *Mol Ther* 15:628–635
- Wagner JE, Ishida-Yamamoto A, McGrath JA, Hordinsky M, Keene DR, Woodley DT, Chen M, Riddle MJ, Osborn MJ, Lund T, Dolan M, Blazar BR, Tolar J (2010) Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *N Engl J Med* 363:629–639
- Murauer EM, Gache Y, Gratz IK, Klausegger A, Muss W, Gruber C, Meneguzzi G, Hintner H, Bauer JW (2011) Functional correction of type VII collagen expression in dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 131:74–83
- Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, Di Nunzio F, Di Iorio E, Recchia A, Maruggi G, Ferrari G, Provasi E, Bonini C, Capurro S, Conti A, Magnoni C, Giannetti A, De Luca M (2006) Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med* 12:1397–1402
- Melo SP, Lisowski L, Bashkirova E, Zhen HH, Chu K, Keene DR, Marinkovich MP, Kay MA, Oro AE (2014) Somatic correction of junctional epidermolysis bullosa by a highly recombinogenic AAV variant. *Mol Ther* 22:725–733
- Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF (2013) ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol* 31:397–405
- Spirito F, Meneguzzi G, Danos O, Mezzina M (2001) Cutaneous gene transfer and therapy: the present and the future. *J Gene Med* 3:21–31
- Weber F, Bauer JW, Sepp N, Högler W, Salmhofer W, Hintner H, Fritsch P (2001) Squamous cell carcinoma in junctional and dystrophic epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 81:189–192
- Larcher F, Dellambra E, Rico L, Bondanza S, Murillas R, Cattoglio C, Mavilio F, Jorcano JL, Zambruno G, Del Rio M (2007) Long-term engraftment of single genetically modified human epidermal holoclones enables safety pre-assessment of cutaneous gene therapy. *Mol Ther* 15:1670–1676
- Featherstone C (2007) Epidermolysis bullosa: from fundamental molecular biology to clinical therapies. *J Invest Dermatol* 127:256–259
- Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, Di Nunzio F, Di Iorio E, Recchia A, Maruggi G, Ferrari G, Provasi E, Bonini C, Capurro S, Conti A, Magnoni C, Giannetti A, De Luca M (2006) Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med* 12:1397–1402
- De Rosa L, Carulli S, Cocchiarella F, Quagliano D, Enzo E, Franchini E, Giannetti A, De Santis G, Recchia A, Pellegrini G, De Luca M (2014) Long-term stability and safety of transgenic cultured epidermal stem cells in gene therapy of junctional epidermolysis bullosa. *Stem Cell Rep* 2:1–8
- Almaani N, Nagy N, Liu L, Dopping-Hepenstal PJ, Lai-Cheong JE, Clements SE, Techanukul T, Tanaka A, Mellerio JE, McGrath JA (2010) Revertant mosaicism in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 130:1937–1940
- Jonkman MF, Scheffer H, Stulp R, Pas HH, Nijenhuis M, Heeres K, Owaribe K, Pulkkinen L, Uitto J (1997) Revertant mosaicism in epidermolysis bullosa caused by mitotic gene conversion. *Cell* 88:543–551
- Laimer M, Bauer JW, Klausegger A, Koller J, Pohla-Gubo G, Muss W et al (2006) Skin grafting as a therapeutic approach in pretibially restricted junctional epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 154:185–187
- Gostynski A, Deviaene FC, Pasmooij AM, Pas HH, Jonkman MF (2009) Adhesive stripping to remove epidermis in junctional epidermolysis bullosa for revertant cell therapy. *Br J Dermatol* 161:444–447
- Gostyrński A, Pasmooij AM, Jonkman MF (2014) Successful therapeutic transplantation of revertant skin in epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 70(1):98–101
- Morley SM, D'Alessandro M, Sexton C, Rugg EL, Navsaria H, Shemanko CS, Huber M, Hohl D, Heagerty AI, Leigh IM, Lane EB (2003) Generation and characterization of epidermolysis bullosa simplex cell lines: scratch assays show faster migration with disruptive keratin mutations. *Br J Dermatol* 149:46–58
- Wally V, Lettner T, Peking P, Peckl-Schmid D, Murauer EM, Hainzl S, Hintner H, Bauer JW (2013) The pathogenetic role of interleukin-1 beta in severe epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 133(7):1901–1903
- Moldovan F, Pelletier JP, Jolicœur FC, Cloutier JM, Martel-Pelletier J (2000) Diacerein and rhein reduce the ICE-induced IL-1 β and IL-18 activation in human osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 8:186–196
- Wally V, Kitzmueller S, Lagler F, Moder A, Hitzl W, Wolkersdorfer M, Hofbauer P, Felder TK, Dornauer M, Diem A, Eiler N, Bauer JW (2013) Topical diacerein for epidermolysis bullosa: a randomized controlled pilot study. *Orphanet J Rare Dis* 7:69