

Schilddrüse 1993

Schilddrüse 1993

Therapie der Hyperthyreose

11. Konferenz über die menschliche Schilddrüse
Heidelberg

Henning-Symposium

Wissenschaftliche Fortbildungsveranstaltung
der Sektion Schilddrüse
der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie
unter Beteiligung
der Chirurgischen Arbeitsgemeinschaft Endokrinologie
der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie – CAEK –
und
der Arbeitsgemeinschaft Schilddrüse
der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin

Herausgegeben von
D. Reinwein · B. Weinheimer



Walter de Gruyter
Berlin · New York 1994

Herausgeber

Prof. Dr. D. Reinwein
Medizinische Klinik und Poliklinik
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45147 Essen

Dr. B. Weinheimer
Karlsbergstr. 20
66424 Homburg/Saar

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme

Schilddrüse 1993 : Therapie der Hyperthyreose ; wissenschaftliche Fortbildungsveranstaltung der Sektion Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie unter Beteiligung der Chirurgischen Arbeitsgemeinschaft Endokrinologie der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie – CAEK – und der Arbeitsgemeinschaft Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin / 11. Konferenz über die menschliche Schilddrüse, Heidelberg, Henning-Symposium. Hrsg. von D. Reinwein ; B. Weinheimer. – Berlin ; New York : de Gruyter, 1994

ISBN 3-11-014403-4

NE: Reinwein, Dankwart [Hrsg.]; Konferenz über die Menschliche Schilddrüse <11, 1993, Heidelberg>; Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie / Sektion Schilddrüse

© Copyright 1994 by Walter de Gruyter & Co., D-10785 Berlin

Dieses Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Der Verlag hat für die Wiedergabe aller in diesem Buch enthaltenen Informationen (Programme, Verfahren, Mengen, Dosierungen, Applikationen etc.) mit Autoren bzw. Herausgebern große Mühe darauf verwandt, diese Angaben genau entsprechend dem Wissensstand bei Fertigstellung des Werkes abzdrukken. Trotz sorgfältiger Manuskriptherstellung und Korrektur des Satzes können Fehler nicht ganz ausgeschlossen werden. Autoren bzw. Herausgeber und Verlag übernehmen infolgedessen keine Verantwortung und keine daraus folgende oder sonstige Haftung, die auf irgendeine Art aus der Benutzung der in dem Werk enthaltenen Informationen oder Teilen davon entsteht.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen und dergleichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, daß solche Namen ohne weiteres von jedermann benutzt werden dürfen. Vielmehr handelt es sich häufig um gesetzlich geschützte, eingetragene Warenzeichen, auch wenn sie nicht eigens als solche gekennzeichnet sind.

Satz und Druck: Arthur Collignon GmbH, Berlin.

Buchbinderische Verarbeitung: Dieter Mikolai, Berlin

Umschlagentwurf: Rudolf Hübler, Berlin.

Printed in Germany

Vorwort

Vor Ihnen liegt das Ergebnis der 11. Konferenz über die menschliche Schilddrüse (Heidelberg 7. bis 9. Oktober 1993). Vor 20 Jahren erstmals und seitdem in zweijährigen Abständen trafen sich Ärzte und Wissenschaftler verschiedener medizinischer Disziplinen für mehrere Tage, um gemeinsam das augenblickliche Wissen über die menschliche Schilddrüse auszutauschen und mögliche Empfehlungen für die Praxis zu erarbeiten.

„Schilddrüse 1993“ war der Hyperthyreose gewidmet. Pathogenese und Therapie der immunogenen Hyperthyreose (Morbus Basedow) wurden auf neuestem Wissensstand diskutiert. Dabei wurden die medikamentösen, nuklearmedizinischen und operativen Formen der Behandlung von autoimmuner und autonomer Hyperthyreose von Fachkennern vorgestellt und in Gegenüberstellung der einzelnen therapeutischen Verfahren verglichen. Seltene Formen der Hyperthyreose, deren Behandlung und die Wirkung einer Hyperthyreose auf das Skelett-System wurden in Erinnerung gerufen. Der Hyperthyreose im Kindesalter galt eine besondere Besprechung mit Angaben über Häufigkeit sowie Möglichkeiten der medikamentösen und operativen Therapie. Auch das – angeblich seltene – gleichzeitige Vorkommen von Schilddrüsen-Karzinom und Hyperthyreose wird interdisziplinär erörtert. Die neuen Empfehlungen der Sektion Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie zur Einteilung und Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen werden bekanntgemacht. Ein Bericht über den vorausgegangenen internationalen Workshop zur In-vitro-Diagnostik bietet einen guten Überblick für die Praxis. Auch in diesem Band finden sich wieder aktuelle Kurzberichte über diagnostische und therapeutische Verfahren und statistische Erkenntnisse aus dem gesamten Bereich der Schilddrüsenerkrankungen.

Der guten Zusammenarbeit mit dem Verlag Walter de Gruyter und Co. verdanken wir ein frühzeitiges Erscheinen dieses 11. Bandes von Ergebnissen unserer Konferenzen. Der Henning Berlin G.m.b.H. (Marion Merrell Dow G.m.b.H.) danken wir – wie seit „Schilddrüse 1973“ – für eine sehr großzügige Unterstützung unserer Arbeit. Allen aktiven und passiven Teilnehmern danken wir für das Gelingen der Konferenz und dafür, daß „Schilddrüse 1993“ stattfinden konnte.

August 1994

Für die Herausgeber
B. Weinheimer

Inhalt

1 Therapie der Hyperthyreose

1.1 Neues zur Pathogenese des Morbus Basedow

Neues zur Pathogenese des Morbus Basedow: der TSH-Rezeptor <i>M. Derwahl</i>	3
---	---

Alternative splicing of the human TSH receptor: a possible role of the soluble TSH receptor in the aetiology of Graves' disease <i>N. Hunt, K. P. Willey</i>	10
---	----

TSH-Rezeptorantikörper beim Morbus Basedow <i>R. Hoermann</i>	13
--	----

Postpartum-Hyperthyreose: Sind positive TSH-Rezeptorantikörper für M. Basedow beweisend? <i>A. Kurtaran, J. Flores, M. Weissel</i>	23
---	----

Immunmechanismen beim Morbus Basedow <i>A. E. Heufelder</i>	26
--	----

Möglicher Transfer einer immunogenen Hyperthyreose bei einer Knochenmarktransplantation (KMT) <i>S. Lederbogen, K. Quabeck, H. Grosse-Wilde, K. Badenhoop, K. H. Usadel, Th. Olbricht, D. Reinwein</i>	44
---	----

Schilddrüsenantikörper und die Intensität des intrathyreoidalen Autoimmunprozesses bei Morbus Basedow <i>R. Paschke</i>	47
--	----

Neues zur Pathogenese des Morbus Basedow: Zusammenfassung und Aspekte für die zukünftige Therapie <i>K. Mann</i>	54
---	----

1.2 Morbus Basedow und Autonomie

Hyperthyreosetherapie: state of the art <i>D. Reinwein</i>	63
---	----

Konservative Therapie des Morbus Basedow <i>G. Benker</i>	71
--	----

VIII Inhalt

Pharmakokinetik von Methimazol und seinem Metaboliten 3-Methyl-2-Thiohydantoin	80
<i>D. Aktuna, W. Langsteger, W. Buchinger, W. Florian, B. Schubert, K. Dominik, O. Eber</i>	
Changes of level of thyroid autoantibodies (TBII, TSab, anti-HTG, anti-TPO) during methimazole treatment of patients with Basedow's disease	85
<i>Gy. Bakó, E. Nagy, E. Fórizs, Zs. Karányi, E. Mezősi, A. Leövey</i>	
Langzeit-follow-up von 196 Morbus-Basedow-Patienten nach initial unterschiedlich hoher (10 versus 40 mg) Methimazol-Therapie	91
<i>A. Rawert, G. Benker, D. Reinwein</i>	
Definitive Therapie bei Morbus Basedow	96
<i>W. Meng</i>	
Radiojodtherapie des M. Basedow und der funktionellen Autonomie: state of the art	117
<i>Chr. Reiners</i>	
Entwicklung einer immunogenen Hyperthyreose nach Radiojodtherapie einer (uni-)fokalen Schilddrüsenautonomie	125
<i>B. Boddenberg, E. Voth, H. Schicha</i>	
Ergebnisse der Radiojodtherapie bei fokaler Schilddrüsenautonomie und Immunthyreopathie M. Basedow	131
<i>C. A. Guhlmann, J. Rendl, P. Kornecki, W. Börner</i>	
Bedeutung des Suppressionsuptakes (TcTUs) zur besseren Abschätzung der Aktivität für die Radiojodtherapie bei verschiedenen Erscheinungsformen der funktionellen Autonomie der Schilddrüse	137
<i>M. Reinhardt, H. Blattmann, D. Emrich, E. Moser</i>	
Conclusio	140
<i>M. Hüfner</i>	
Plummern bei Morbus Basedow	143
<i>Th. Olbricht, K. W. Sievers, U. Krause</i>	
Operationsindikation und chirurgisches Vorgehen bei Hyperthyreose	153
<i>A. Frilling, A. Stenger, E. Achilles</i>	
Chirurgie der Hyperthyreose bei Morbus Basedow: Hemithyreoidektomie versus subtotale Resektion	160
<i>B. Bein, S. Wähling, F. Spelsberg</i>	

Immunogene Hyperthyreose und funktionelle Autonomie <i>J. Friedrich, T. Olbricht, M. Luster, U. Krause</i>	164
Effektivität der chirurgischen Therapie in der Behandlung der Hyperthyreose <i>I. Gál, D. Nagy, S. Saortay, E. Kosa</i>	167
Simultanoperationen an Herz und Schilddrüse <i>U. Krause, U. Wolfhard, T. Olbricht, M. K. Walz, S. Müller</i>	172
Bedeutung des Volumens der Restschilddrüse für die Entwicklung eines Hyperthyreoserezidivs nach operativer Therapie der Immunthyreopathie vom Typ M. Basedow <i>E. Werner, J. Rendl, W. Börner</i>	176
Postoperative Schilddrüsenfunktion nach chirurgischer Therapie bei Morbus Basedow <i>J. Witte, P. E. Goretzki, R. Carius, H. D. Röher</i>	181
Operationstaktik bei chirurgischer Hyperthyreosebehandlung <i>T. Setschanov, R. Pandev, I. Mendisov, G. Gantshev</i>	186
Conclusio <i>H. Dralle</i>	191
 1.3 Unkonventionelles therapeutisches Vorgehen	
Unkonventionelles therapeutisches Vorgehen bei Hyperthyreose – Blick über den Zaun: Therapie außerhalb Deutschlands <i>Th. Olbricht</i>	195
Von Pflanzenextrakten zu Hormonantagonisten – neue experimentelle Konzepte zur Hyperthyreosetherapie <i>J. Köhrle</i>	210
Autonomous thyroid nodule and percutaneous ethanol injection: was it love at first sight? <i>L. Baschieri, F. Monzani, N. Caraccio, P. V. Lippolis, A. Casolaro, O. Goletti</i>	234
Sonographisch gezielte perkutane Alkoholinstitution in der Therapie dekompensierter autonomer Schilddrüsenadenome <i>W. Blank, B. Braun</i>	243
Behandlung autonomer Schilddrüsenadenome durch intranoduläre Äthanolinjektionen unter Ultraschallkontrolle <i>K. W. Wenzel</i>	248
Conclusio <i>D. Emrich</i>	258

X Inhalt

1.4 Hyperthyreose im Kindesalter

Diagnose und Behandlung der Hyperthyreose im Kindesalter: Ergebnisse einer Umfrage in Europa <i>H. Perrild</i>	263
--	-----

Besonderheiten der Therapie der Hyperthyreose im Kindesalter <i>F. Péter</i>	267
---	-----

Spezielle Aspekte für die chirurgische Therapie der Hyperthyreose im Kindesalter <i>J. Witte, P. E. Goretzki, A. Müller, H. D. Röher</i>	278
--	-----

Neonatale Hyperthyreose bei unbehandeltem maternalen M. Basedow – ein Fallbericht mit Literaturvergleich <i>C. Krüger, H. G. Dörr, M. Zant, C. Kändler, R. Beyer, W. Becker, F. Wolf, D. Harms</i>	283
--	-----

1.5 Seltene Formen der Hyperthyreose

Hyperthyreose und Thyreoiditis <i>U. Bogner</i>	297
--	-----

Inappropriate TSH-Sekretion <i>G. Brabant, K. Ocran</i>	304
--	-----

Hyperthyreose bei Trophoblastentumoren <i>B. Saller</i>	314
--	-----

Seltene Formen der Hyperthyreose: Struma ovarii <i>A. Kroiss</i>	324
---	-----

Jodinduzierte Hyperthyreose <i>P. M. Schumm-Draeger</i>	332
--	-----

Jodidtherapie bei komplizierter Thyreotoxikose <i>E. Kallee, D. Luft, J. Saal, B. Steinke, R. Wahl</i>	343
---	-----

Schilddrüsenantikörper vor und nach Plummerung bei Patienten mit Morbus Basedow <i>W. Reinhardt, Th. Olbricht, F. Jockenhövel, K. Cissewski, S. Lederbogen, U. Krause, D. Reinwein</i>	347
--	-----

Seltene Hyperthyreoseformen: Interferon-induzierte Thyreopathien <i>K. Badenhop, K. H. Usadel</i>	352
--	-----

Hyperthyreose vom Typ M. Basedow bei primärer Nebennierenrindeninsuffizienz	360
<i>M. Ventz, M. Lehsnau, G. Knappe, H. Gerl, R. Michael</i>	
Zusammenfassung	366
<i>K. W. Wenzel</i>	
 1.6 Schilddrüse und Knochen	
Schilddrüsenhormone und Knochenstoffwechsel	371
<i>M. Peterlik</i>	
Schilddrüsenhormone und Osteoporose	380
<i>Ch. Wüster</i>	
Schilddrüsenhormongabe – ein Risikofaktor für spätere Osteoporose?	395
<i>H.-Chr. Schober</i>	
 2 Neues zur Diagnostik und Therapie der Schilddrüsenerkrankungen	
2.1 Diagnostik	
Messung der Jodidkonzentration im Urin mit „Paired-ion, reversed-phase high-performance liquid chromatography“ und elektrochemischer Detektion	403
<i>J. Rendl, S. Seybold, W. Börner</i>	
Erste Ergebnisse und Methoden zum Nachweis von Antifibroblasten-Antikörpern (aFA) bei Patienten mit endokriner Ophthalmopathie	413
<i>P. Scheibner, F. Tatzber, K. Müllner, P. Pfragner, H. Esterbauer, E. Brunner, O. Eber</i>	
Entwicklung eines Festphasenenzymimmunoassays zur Bestimmung von Autoantikörpern gegen die Schilddrüsenhormone T ₃ und T ₄	421
<i>H.-J. Knopf, C. Zahn, G. Müller</i>	
Serum-Thyreoglobulin bei hospitalisierten chronischen geriatrischen Patienten: eine Screening-Studie	422
<i>I. Szabolcs, W. Bernard, F. A. Horster</i>	
Thiocyanat im Serum bei euthyreoter Struma, Hyper- und Hypothyreose	429
<i>Th. Olbricht, U. Krause, S. Lederbogen, D. Reinwein</i>	

XII Inhalt

Farbcodierte Doppler-Sonographie zur Differenzierung der Hyperthyreose <i>B. Braun, W. Blank, P. Gelinsky</i>	435
Bestimmung des funktionellen autonomen Volumens unabhängig von seiner intrathyreoidalen Verteilung <i>D. Emrich, U. Erlenmaier, M. Pohl, H. Luig</i>	440
Unterscheiden sich hyperthyreote funktionelle Autonomien von euthyreoten hinsichtlich ihres TcTU's oder ihres autonomen Volumens? Diskriminanzanalyse von funktionellen Schilddrüsenautonomien bei endogener TSH-Suppression <i>E. Werner, J. Rendl, M. Scheubeck, W. Börner</i>	444
2.2 Beobachtung und Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen	
Jodausscheidung, Patientencompliance und Änderungen im Schilddrüsenvolumen unter Strumatherapie <i>J. Rendl, S. Seybold, W. Börner</i>	453
Strumarezidivprophylaxe mit und ohne L-Thyroxin bei 104 Patienten; retrospektive Langzeitbeobachtung über 6,4 Jahre <i>A. H. Rzepka, Th. Olbricht, D. Reinwein</i>	464
Klassifikation von 445 Patienten mit Hypothyreose in einem Jodmangelgebiet <i>Ch. Jaspers, A. Kirbas, D. Reinwein</i>	470
Schilddrüsenvolumen und Wachstumshormonsubstitution bei Erwachsenen mit Hypophysenvorderlappeninsuffizienz <i>P. Kann, B. Piepkorn, G. Kahaly, J. Beyer</i>	475
Hypophysäre Schilddrüsenhormonresistenz mit neonataler Hyperthyreose <i>M. Klett, D. Schönberg</i>	478
Fehldiagnose einer Autonomie bei Patienten mit chronischer Autoimmunthyreoiditis <i>M. Grußendorf</i>	486
Untersuchungen zur körperlichen Leistungsfähigkeit bei Schilddrüsenfunktionsstörung <i>J. Hellermann, G. Kahaly</i>	493
2.3 Schilddrüsenmalignität	
Die Wertigkeit der ^{99m} Tc-MIBI-Szintigraphie in der Rezidivdiagnostik bei differenzierten Schilddrüsenkarzinomen <i>H. Elser, I. Mattern-Alvarez, P. Georgi</i>	499

Intraoperative Rezidivlokalisation von medullären Schilddrüsenkarzinomen mittels einer Gammasonde: erste klinische Ergebnisse	508
<i>S. Adams, R. P. Baum, H. J. C. Wenisch, G. Herrmann, A. Niesen, A. Encke, G. Hör</i>	
Wertigkeit verschiedener diagnostischer Parameter bei der Erkennung von Frührezidiven bei Patienten mit Schilddrüsenkarzinomen	513
<i>S. Weiß, E. Henke, R. Schnorrfeil</i>	
Schilddrüsenkarzinom und Hyperthyreose	518
<i>M. Auersperg, M. Hočevár, M. Us-Krašovec, T. Movrin, B. Novak</i>	
Hyperthyreose und Schilddrüsenkarzinom: Ergebnisse einer regionalen Erhebung	528
<i>J. Winter, W. Back, S. Mehl, R. Paschke, M. Knoll, R. Frentzel-Beyme</i>	
Einfluß des TNM-Stadiums und weiterer Parameter auf die Prognose von Schilddrüsentumoren	533
<i>F. Grünwald, P. Ullmann, R. Fimmers, A. Hotze, H.-J. Biersack</i>	
Das pT4-Stadium beim papillären Schilddrüsenkarzinom: eine eigene Prognoseentität?	536
<i>O. Gimm, G. F. W. Scheumann, G. Wegener, H. Dralle</i>	
3 Empfehlungen für die Praxis	
Neueste Fortschritte in der Schilddrüsendiagnostik: In-vitro-Tests — methodische und klinische Aspekte	553
<i>H. Meinhold, W. Becker</i>	
Empfehlungen für die Schilddrüsendiagnostik und die Diagnose von Schilddrüsenkrankheiten — Zusammenfassung	578
<i>G. Hintze</i>	
Morbus Basedow: welche Therapie für den individuellen Patienten?	599
<i>R. Ziegler, Ch. Herfarth, P. Georgi</i>	
Verzeichnis der erstgenannten Autoren	615
Sachverzeichnis	621

- 1 Therapie der Hyperthyreose
- 1.1 Neues zur Pathogenese des Morbus Basedow

Neues zur Pathogenese des Morbus Basedow: der TSH-Rezeptor

M. Derwahl

1. Entdeckung des TSH-Rezeptors als Antigen

Seit der Entdeckung eines schilddrüsenstimulierenden Faktors im Serum von Patienten mit Morbus Basedow, ursprünglich als „long acting thyroid stimulator“ (LATS) bezeichnet, wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, um die Eigenschaften dieses Stimulators zu ergründen [1, 13]. Im Tierversuch hatten 1956 Adams und etwas später McKenzie nachgewiesen, daß durch LATS eine Hyperthyreose ausgelöst werden kann und die meisten TSH-Wirkungen nachgeahmt werden können. Dies legte die Vermutung nahe, daß LATS an denselben Rezeptor auf der Schilddrüsenoberfläche bindet wie TSH. Diese Hypothese wurde später durch Charakterisierung von LATS als Immunglobulin [10, 14] und durch kompetitive Bindungsanalysen mit ¹²⁵Jod-markiertem TSH, das durch diese Immunglobuline von seinem Rezeptor verdrängt wird, bestätigt [21]. Dieser erste Rezeptorassay war die Grundlage für den noch heute in der Diagnostik eingesetzten Radiorezeptorassay (TRAK) zur Messung von TSH-Rezeptorautoantikörpern.

2. Molekulare Struktur des TSH-Rezeptors

Durch die molekulare Klonierung des humanen TSH-Rezeptors im Jahre 1989 wurde es möglich, neue Einsichten in die Struktur und Funktion dieses Rezeptors zu gewinnen [12, 19]. Der menschliche TSH-Rezeptor ist ein aus 764 Aminosäuren aufgebautes Protein, das aus extrazellulären, transmembranen und intrazellulären Anteilen besteht (Abb. 1). Während der aus 398 Aminosäuren aufgebaute große extrazelluläre Teil des TSH-Rezeptors als Bindungsstelle für TSH und TSH-Rezeptorantikörper dient, erfolgt die Signalübertragung in die Schilddrüsenzelle in den transmembranen und intrazellulären Anteilen des Rezeptors. Schon vor der Klonierung war bekannt, daß der TSH-Rezeptor ein Glykoprotein ist [25]. Durch molekulare Untersuchungen des klonierten Rezeptors konnte dies bestätigt und gezeigt werden, daß der extrazelluläre Teil des humanen TSH-Rezeptors sechs Glykosilierungsstellen aufweist [23]. Wichtig für die Funktion des TSH-Rezeptors sind

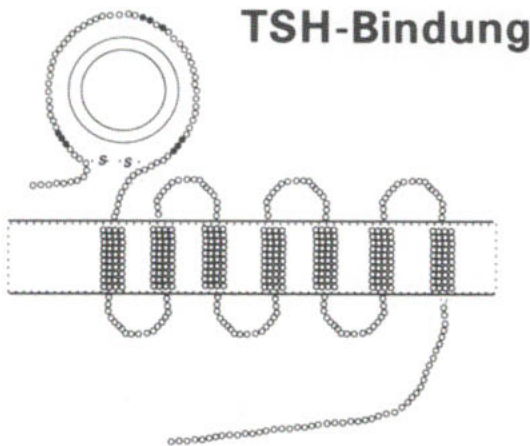


Abb. 1 Bindung von TSH an die extrazelluläre Domäne des TSH-Rezeptors. Die Bindung von TSH an seinen Rezeptor erfolgt am extrazellulären Teil. Potentielle Bindungsstellen sind durch gefüllte Kreise dargestellt (vgl. Text). Das amino- und carboxyterminale Ende dieses Teils ist durch drei Disulfidbrücken (-S-S-) verbunden, die für die dreidimensionale Rezeptorstruktur bedeutsam sind. Die für G-Protein-gekoppelte Rezeptoren charakteristischen sieben transmembranen Regionen werden durch drei extrazelluläre und drei intrazelluläre Aminosäurenketten verbunden (schematische Darstellung ohne Berücksichtigung der relativen Größenverhältnisse).

ferner Disulfidbrücken zwischen Cysteinresten des Rezeptorproteins, die die dreidimensionale Struktur des Rezeptors entscheidend mitbestimmen.

Das Molekulargewicht des TSH-Rezeptors wird auf etwa 100 KDa geschätzt [23]. Entgegen früheren Annahmen besteht der Rezeptor nicht aus zwei Untereinheiten, sondern nur aus einer Polypeptidkette. Die genaue dreidimensionale Struktur des humanen TSH-Rezeptors ist allerdings noch nicht bekannt, da es bislang noch nicht gelungen ist, eine ausreichende Menge TSH-Rezeptorprotein für eine Röntgenstrukturanalyse zu isolieren.

2.1 Bindungsstellen für TSH

Die Analyse der TSH-Bindungsstellen wurde durch die Größe des extrazellulären Rezeptorteils und durch die noch unzureichenden Kenntnisse über die Tertiärstruktur des TSH-Rezeptors erheblich erschwert. Alle molekularen Analysen der potentiellen Bindungsstellen basieren auf TSH-Bindungsstudien an mutierten TSH-Rezeptoren, bei denen einzelne Aminosäuren entfernt (sogen. Deletionen) und durch physikochemisch ähnliche Aminosäuren des verwandten LH-Rezeptors (sogen. homologe Mutationen) ersetzt wurden, oder auf Bindungsstudien an synthetisch hergestellten TSH-Rezeptorpeptiden. In Abb. 1 sind die wichtigsten potentiellen Bindungsstellen für TSH an der

extrazellulären Rezeptordomäne dargestellt. Es handelt sich am aminoterminalen Ende des Rezeptors um die Aminosäuren 32–50, im mittleren Anteil um die Aminosäuren 202–211 und 222–230 und am Ende der extrazellulären Domäne um die Aminosäuren 344–364 [2, 18, 27]. Bei allen potentiellen Bindungsstellen ist letztlich noch ungeklärt, ob es sich um wirkliche Bindungsstellen für TSH handelt oder ob durch diese Mutationen die dreidimensionale Rezeptorstruktur verändert wird und so die Bindungseigenschaften verändert werden.

2.2 Bindungsstellen für TSH-Rezeptorantikörper

Durch analoge Studien an TSH-Rezeptormutanten oder synthetischen TSH-Rezeptorpeptiden wurden auch potentielle Bindungsstellen für stimulierende TSH-Rezeptorantikörper (TSH-rezeptorstimulierende Antikörper, TSA_{Ab}), die beim Morbus Basedow zur Hyperthyreose führen, gefunden. Sie verteilen sich auf den gesamten extrazellulären Anteil des TSH-Rezeptors. Im einzelnen handelt es sich um die Aminosäuren 25–30, 32–57, 123–131, 172–202, 309–337, 341–366 und 372–397 [7, 9, 15–17, 20]. Ob es sich bei diesen Abschnitten um echte Bindungsstellen (sogen. Epitope) der Antikörper an das TSH-Rezeptorantigen handelt, ist noch ungeklärt. Die bisher vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, daß die Epitope des TSH-Rezeptors von seiner Konformation, seiner Proteinfaltung und damit seiner dreidimensionalen Struktur bestimmt werden. Solche diskontinuierlichen Epitope bestehen üblicherweise aus 15–22 Aminosäuren, die von 2 bis 4 unterschiedlichen Regionen der primären Aminosäuresequenz stammen und durch die Faltung des Proteins benachbarte Positionen einnehmen. Insofern wird erst eine Röntgenstrukturanalyse der dreidimensionalen Struktur des humanen TSH-Rezeptors definitive Aussagen über die verschiedenen Epitope für TSH-Rezeptorantikörper ermöglichen.

Für die Bindung von blockierenden TSH-Rezeptorantikörpern (thyroid blocking antibodies, TBA_{Ab}), die unter der Therapie eines Morbus Basedow oder bei der primären Hypothyreose auftreten können und zur Hypothyreose führen [22], sind vorwiegend die Aminosäuren am carboxyterminalen Ende der extrazellulären Domäne verantwortlich [17].

Rapoport hat ausgehend von den komplexen Ergebnissen der TSH- und TSH-Rezeptorantikörperbindungsanalysen ein Modell entwickelt [17], das die Interaktion am Rezeptor anschaulicher macht und dabei auch die Tatsache berücksichtigt, daß TSH-Rezeptorantikörper TSH aus seiner Bindung am Rezeptor verdrängen. Dieses Modell geht davon aus, daß sich die Bindungsstellen für TSA_{Ab} zwar auf den gesamten Bereich der extrazellulären Domäne erstrecken (Abb. 1), sich aber nur im carboxyterminalen Bereich der extra-

zellulären Domäne für TSH und stimulierende oder blockierende Antikörper überschneiden und daß daher diese Region für die TSH-Verdrängung vom Rezeptor durch Antikörper größte Bedeutung hat [17].

3. TSH-Rezeptor und Signalübertragung

Durch Bindung von TSH oder TSH-Rezeptorautoantikörpern an den TSH-Rezeptor kommt es zu einer Aktivierung rezeptorabhängiger Stoffwechselwege, die in der Folge die Funktion und synergistisch mit anderen Faktoren das Wachstum der Schilddrüse regulieren. Der Mechanismus der Aktivierung ist noch unbekannt. Vassart und Dumont [26] haben kürzlich vier mögliche Modelle beschrieben. Das erste geht von einer Strukturänderung des Rezeptors nach TSH-Bindung aus, ohne daß der Ligand mit der transmembranen Region interagiert. Alternativ wäre eine Interaktion zwischen einer TSH-Untereinheit und der transmembranen Region nach TSH-Bindung denkbar. Als weitere Möglichkeiten werden eine isolierte Strukturänderung der extrazellulären Domäne nach TSH-Bindung oder eine enzymatische Aktivität des TSH-TSH-Rezeptorkomplexes diskutiert.

Der TSH-Rezeptor ist an zwei verschiedene Stoffwechselwege, den Adenylatzyklase- und den in seiner Funktion für die Schilddrüse noch wenig erforschten Phosphoinositolweg gekoppelt. Die Signalübertragung vom TSH-Rezeptor an das Enzym Adenylatzyklase, das die Bildung von zyklisch-AMP katalysiert, erfolgt über die Aktivierung der α -Untereinheit des stimulatorischen Guanin-Nukleotid-bindenden Proteins (Abb. 2). Der sogen. second messenger zyklisch-AMP aktiviert die abhängige Proteinkinase A und reguliert so die Jodidaufnahme der Schilddrüsenzelle und die Schilddrüsenhormonsynthese und hat Einfluß auf das Schilddrüsenwachstum [6].

4. Der TSH-Rezeptor in der Diagnostik und Therapie des Morbus Basedow: Perspektiven

Durch die molekulare Klonierung des humanen TSH-Rezeptors wurde es möglich, diesen Rezeptor gentechnologisch herzustellen und für die Schilddrüsenantikörperdiagnostik zu verwenden [3–5, 8, 11]. Der rekombinante TSH-Rezeptor wurde sowohl zum Aufbau eines Radiorezeptorassays als auch eines TSH-Rezeptorbioassays zur Differenzierung in stimulierende und blockierende Antikörper verwandt. Verglichen mit kommerziellen Radiorezeptorassays (TRAK), die die Verdrängung von ^{125}J -TSH an Schweineschilddrüsenmembranen messen, wies der rekombinante humane Rezeptorassay eine signi-

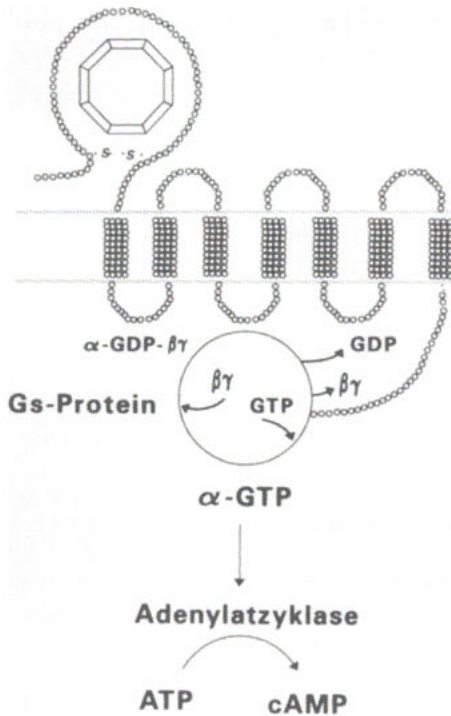


Abb. 2 Signalübertragung am aktivierten TSH-Rezeptor. Nach Bindung von TSH oder TSH-Rezeptorantikörpern kommt es zu einer Aktivierung des Rezeptors. Die Übertragung dieses Signals an das Enzym Adenylatzyklase, das die Bildung von zyκλο-AMP katalysiert, erfolgt über die Aktivierung der α -Untereinheit des stimulatorischen Guanin-Nukleotid-bindenden Proteins (Gs-Protein). Diese Aktivierung geschieht durch einen Austausch von GDP (Guanosin-5'-diphosphat) gegen GTP (Guanosin-5'-triphosphat) und eine Dissoziation in die aktivierte α -GTP-Untereinheit und ein $\beta\gamma$ -Dimer. Dieser Vorgang ist reversibel und wird katalysiert durch intrinsische GTPase-Aktivität der α -Untereinheit, die GTP spaltet und den inaktiven ursprünglichen α -GDP- $\beta\gamma$ -Komplex wiederherstellt. Der sogen. second messenger zyκλο-AMP aktiviert die abhängige Proteinkinase A und reguliert so die Jodidaufnahme der Schilddrüsenzelle und die Schilddrüsenhormonsynthese und hat Einfluß auf das Schilddrüsenwachstum. An dieser Signalübertragung sind das carboxyterminale Ende des Rezeptors und alle drei intrazellulären Aminosäurenketten beteiligt.

fikant höhere Sensitivität auf [8]. Durch die technische Weiterentwicklung dieses Prototypes eines rekombinanten TSH-Rezeptorassays, der isolierte TSH-Rezeptoren als Antigen verwendet, wird dieser Radiorezeptorassay in den nächsten Jahren auch für die Routinediagnostik verfügbar werden.

Da der TSH-Rezeptorbiosassay, der den zyκλο-AMP-Anstieg nach Stimulation mißt, auf aufwendige In-vitro-Zellsysteme angewiesen ist, wird die Differenzierung der Antikörper bei speziellen Fragestellungen weiterhin einzelnen

Forschungslabors vorbehalten bleiben. Erst die genaue Definition der Bindungsstellen (Epitope) für stimulierende bzw. blockierende Antikörper wird es ermöglichen, Assays mit den so definierten unterschiedlichen Antigenen herzustellen. Voraussetzung für diese Analysen ist die Aufklärung der Tertiärstruktur des menschlichen TSH-Rezeptors durch Röntgenstrukturanalyse. Diese Ergebnisse werden auch die Grundlage dazu liefern, selektive Antagonisten für die Therapie des Morbus Basedow herzustellen, die die Bindung bzw. die Wirkung stimulierender TSH-Rezeptorantikörper hemmen.

Literatur

- [1] Adams, D. D., H. D. Purves: Abnormal responses in the assay of thyrotropins. *Proc. Univ. Otago Sch. Med.* 34 (1956) 11–12.
- [2] Atassi, M. Z., T. Manshouri, S. Sakata: Localization and synthesis of the hormone-binding regions of the human thyrotropin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 3613–3617.
- [3] Derwahl, M., A. Baumgart, M. Pohl et al.: Characterisation of the human TSH receptor expressed in CHO-K1 cells: binding properties, cAMP response to TSH/TSI and number of gene copies. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 124 Suppl. 1 (1991) 98.
- [4] Derwahl, M., H. Schatz, B. Bolle et al.: Measurement of stimulating TSH receptor antibodies in sera of patients with Graves' disease by a recombinant TSH receptor bioassay. *Exp. Clin. Endocrinol.* 100 (1992) 75–79.
- [5] Derwahl, M., K. Meyer, B. Bolle et al.: Heterogeneous responses to stimulating immunoglobulins from patients with Graves' disease in recombinant TSH receptor bioassays and a thyroid cell line. *Exp. Clin. Endocrinol.* 101 (1993) 51.
- [6] Dumont, J. E., J. C. Jauniaux, P. P. Roger: The cyclic AMP-mediated stimulation of cell proliferation. *TIBS* 14 (1989) 67–72.
- [7] Endo, T., M. Ohmori, M. Ikeda et al.: Rabbit antibodies against two different extracellular domains of human thyrotropin receptor possess thyroid stimulating activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179 (1991) 1548–1553.
- [8] Filetti, S., D. Foti, G. Costante et al.: Recombinant human TSH receptor in a radioreceptor assay for the measurement of TSH receptor autoantibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72 (1991) 1096–1101.
- [9] Kosugi, S., T. Ban, L. D. Kohn: Identification of thyroid-stimulating antibody-specific interaction sites in the N-terminal region of the thyrotropin receptor. *Mol. Endocrinol.* 7 (1993) 114–130.
- [10] Kriss, J. P., V. Pleshakov, J. R. Chien: Isolation and identification of the long-acting thyroid stimulator and its relation to hyperthyroidism and circumscribed pretibial myxedema. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 24 (1964) 1005–1028.
- [11] Ludgate, M., J. Perret, M. Parmentier et al.: Use of the recombinant human thyrotropin receptor (TSH-R) expressed in mammalian cell lines to assay TSH-R autoantibodies. *Mol. Cell. Endocrinol.* 73 (1993) R13–R18.
- [12] Libert, F., A. Lefort, C. Gerard et al.: Cloning, sequencing and expression of human TSH receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165 (1989) 1250–1255.
- [13] McKenzie, J. M.: Humoral factors in the pathogenesis of Graves' disease. *Physiol. Rev.* 43 (1966) 252–260.

- [14] Meek, J. C., A. E. Jones, U. J. Lewis et al.: Characterisation of the longacting thyroid stimulator of Graves' disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 52 (1964) 342–349.
- [15] Mori, T., H. Sugawa, T. Piraphatdist et al.: A synthetic oligopeptide derived from human thyrotropin receptor sequence binds Graves' immunoglobulin and inhibits thyroid stimulating antibody activity but lacks interactions with TSH. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178 (1991) 165–172.
- [16] Murakami, M., M. Mori: Identification of immunogenic regions in human thyrotropin receptor for immunoglobulin G of patients with Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171 (1990) 512–518.
- [17] Nagayama, Y., H. L. Wadsworth, D. Russo et al.: Binding domains of stimulatory and inhibitory thyrotropin (TSH) receptor antibodies determined with chimeric TSH-lutropin/chorionic gonadotropin receptors. *J. Clin. Invest.* 88 (1991) 336–340.
- [18] Nagayama, Y., H. L. Wadsworth, G. D. Chazenbalk et al.: Thyrotropin-luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor extracellular domain chimeras as probes for TSH receptor function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 902–905.
- [19] Nagayama, Y., K. D. Kaufman, P. Seto et al.: Molecular cloning, sequence and functional expression of the cDNA for the human TSH receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165 (1989) 1184–1190.
- [20] Ohmori, M., T. Endo, T. Onaya: Development of chicken antibodies toward the human thyrotropin receptor peptides and their bioactivities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 174 (1991) 399–403.
- [21] Rees-Smith, B., R. Hall: Thyroid-stimulating immunoglobulins in Graves' disease. *Lancet* (1974) 427–431.
- [22] Rees-Smith, B., S. McLachlan, J. Furmaniak: Autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Endocr. Rev.* 9 (1988) 106–121.
- [23] Russo, D., G. D. Chazenbalk, Y. Nagayama et al.: A new structural model for the thyrotropin receptor as determined by covalent cross-linking of thyrotropin to the recombinant receptor in intact cells: evidence for a single polypeptide chain. *Mol. Endocrinol.* 5 (1991) 1607–1612.
- [24] Russo, D., G. D. Chazenbalk, Y. Nagayama et al.: Site-directed mutagenesis of the human TSH receptor: role of asparagine-linked oligosaccharides in the expression of a functional receptor. *Mol. Endocrinol.* 5 (1991) 29–34.
- [25] Tate, R. L., J. M. Holmes, L. D. Kohn et al.: Characteristics of a solubilized thyrotropin receptor from bovine thyroid plasma membranes. *J. Biol. Chem.* 250 (1975) 6527–6532.
- [26] Vassart, G., J. E. Dumont: The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr. Rev.* 13 (1992) 596–603.
- [27] Wadsworth, H. L., G. D. Chazenbalk, Y. Nagayama et al.: An insertion in the human thyrotropin receptor critical for high affinity hormone binding. *Science* 249 (1990) 1423–1425.

Alternative splicing of the human TSH receptor: a possible role of the soluble TSH receptor in the aetiology of Graves' disease

N. Hunt, K. P. Willey

The heterodimeric glycoprotein hormones include the thyrotropic hormone TSH and the gonadotropic hormones FSH, LH and hCG in which the α subunit is common to the hormones within a species and the β subunits are unique to each hormonal activity and confer receptor specificity [13]. Specific target cell stimulation is associated with acute activation of adenylate cyclase and a longer term trophic response. The receptors for the glycoprotein hormones are members of a larger family of G protein-coupled receptors that bind small ligands and which have characteristic seven transmembrane regions [2, 8, 9, 11, 12, 15]. In contrast to the G protein-coupled receptors for small ligands, the glycoprotein hormone receptors have a large extracellular domain that appears to be important for binding of the hormone [9].

Pathological manifestations involving the glycoprotein hormones and their receptors are most profound in Graves' disease, a condition of hyperthyroxemia and thyroid hyperplasia associated with low or undetectable levels of circulating TSH. The hyperstimulation of the thyroid in Graves' disease has been attributed to an auto-immune reaction, resulting in the production of a spectrum of auto-antibodies, some of which interact directly with the TSH receptor and induce chronic endocrine activity [14].

In the course of developing a radioreceptor assay for TSH using human thyroid tissue, we were able to demonstrate that a large percentage of the material binding specifically to the radioligand (bovine TSH) was not associated with the membrane but was found in a 0.2 μ m filtrate and, after interaction with TSH was precipitable with PEG [6, 7, 17]. As this was not the case with bovine thyroid or stably transfected cell lined expressing the human TSH receptor, we considered this molecule a soluble TSH receptor variant. The finding by Murakami [10], that an anti-TSH receptor antiserum raised against a peptide corresponding to amino acids 32–56 of the receptor detected a protein of approximately 60Kd in the serum of Graves' patients, is a further indication for the presence of a soluble TSH receptor in both thyroid and serum [6, 7]. We proposed a possible origin for such molecules at the 20th ETA in Dublin [6]. Northern blot analysis of human thyroid mRNA revealed the presence of two smaller TSH receptor transcripts which

hybridised to a 5' cDNA probe (corresponding to the extracellular domain) but not to a 3' cDNA probe coding for the transmembrane spanning region. This suggested that these transcripts (which are also associated with poly-somes) arose by alternative splicing of the TSH receptor RNA and had only the coding capacity of the extracellular domain; thus qualifying them as soluble TSH receptor candidates. Indeed, PCR cloning of TSH receptor splicing variants from thyroid polysomal RNA has revealed the presence of five alternatively spliced molecules. One of these transcripts (splicing variants) has recently been published by two groups and has been shown to represent a molecule corresponding to the first 8 exons and a novel 22 amino acid carboxy terminus [3, 16]. Although the physiological relevance of the alternatively spliced TSH receptor molecules has yet to be definitively proven, their presence in the human thyroid (they are not present in bovine and rat thyroids) at equivalent levels to the full-length receptor mRNA would lend weight to our finding, and those of Murakami et al. [10], of a soluble TSH-binding entity in Graves' thyroid tissue and sera. Further, alternatively spliced variants coding for the extracellular portion of a receptor have been demonstrated for the closely related LH and FSH receptors, in both man and other species, although their translation and physiological significance remain to be elucidated [4, 5, 8]. Interestingly, the FSH receptor splicing variants cloned so far (from man and sheep) also represent molecules originating from exon 1–8 as shown for the TSH receptor [4, 5]. The translation of such a molecule could explain the presence of buffer-soluble FSH binding proteins found in bovine testis extracts [1]. Intriguingly, a soluble TSH receptor variant could also be the immunogen eliciting the anti-TSH receptor antibodies found in Graves' sera, whilst, being capable of inhibiting the radioreceptor assays by virtue of its own ability to bind TSH. Studies to further characterise the regulation of these molecules and their possible physiological relevance are in progress.

Acknowledgements

This present study was in part supported by the Bundesminister für Forschung und Technologie, Bonn, Germany, as part of a larger concerted project "Fertilitätsstörungen" (01 KY 9103).

References

- [1] Dias, J. A., L. E. Reichert: Characterization of a follitropin-binding component prepared from immature bovine testes in the absence of detergent. *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 613–620.

- [2] Dohlman, H. G., M. G. Caron, R. J. Lefkowitz: A family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Biochem.* 26 (1987) 2657–2664.
- [3] Graves, P. N., Y. Tomer, T. F. Davies: Cloning and sequencing of a 1.3 kb variant of human thyrotropin receptor mRNA lacking the transmembrane domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187 (1992) 1135–1143.
- [4] Gromoll, J., T. Gudermann, E. Nieschlag: Molecular cloning, of a truncated isoform of the human follicle stimulating hormone receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 188 (1992) 1077–1083.
- [5] Haseena, K., T. A. Yarney, M. R. Sairam: Cloning of alternatively spliced mRNA transcripts coding for variants of ovine testicular follitropin receptor lacking the G protein coupling domains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 190 (1993) 888–894.
- [6] Hunt, N., K. P. Willey, W. Northemann et al.: The thyrotropin receptor of Graves' disease exists as a 'soluble' receptor in the thyroid and in serum. *J. Endocrinol. Invest.* 15 (suppl. 2) (1992) 2.
- [7] Hunt, N., K. P. Willey, D. Jähner et al.: Multiple forms of thyroid stimulating hormone receptor associated with Graves' disease. *Exp. Clin. Endocrinol.* 4–5 (1992 a) 22–28.
- [8] Loosfelt, H., M. Misrahi, M. Atger et al.: Cloning and sequence of porcine LH-hCG receptor cDNA: variants lacking transmembrane domain. *Science* 245 (1989) 525–528.
- [9] McFarland, K. C., R. Sprengel, H. S. Phillips et al.: Lutropin-Choriogonadotropin receptor: an unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science* 245 (1989) 494–499.
- [10] Murakami, M., K. Miyashita, M. Yamada et al.: Characterization of human thyrotropin receptor related peptide-like immunoreactivity in peripheral blood of Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 186 (1992) 1074–1080.
- [11] Nagayama, Y., K. D. Kaufman, P. Seto et al.: Molecular cloning, sequence and functional expression of the cDNA for the human thyrotropin receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165 (1989) 1184–1190.
- [12] Parmentier, M., F. Libert, C. Maenhaut et al.: Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science* 246 (1989) 1620–1622.
- [13] Pierce, J. G., T. F. Parsons: Glycoprotein hormones: structure and function. *Ann. Rev. Biochem.* 50 (1981) 465–495.
- [14] Smith, B. R., S. M. McLachlan, J. Furmaniak: Autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Endo. Rev.* 9 (1988) 106–121.
- [15] Sprengel, R., T. Braun, K. Nikolics et al.: The testicular receptor for follicle stimulating hormone: structure and functional expression of cloned cDNA. *Mol. Endo.* 4 (1990) 525–530.
- [16] Takeshita, A., Y. Nagayama, K. Fujiyama et al.: Molecular cloning and sequencing of an alternatively spliced form of the human thyrotropin receptor transcript. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 188 (1992) 1214–1219.
- [17] Willey, K. P., N. Hunt, N. Abend et al.: Serum unmasks the binding of thyroid-stimulating hormone to endogenous and transfected receptors: evidence for a soluble form of the receptor in human thyroid. *J. of Endo.* in press (1993).

TSH-Rezeptorantikörper beim Morbus Basedow

R. Hoermann

Einleitung

Im Jahre 1956 berichteten Adams und Purves erstmals über eine schilddrüsenstimulierende Aktivität im Serum von Patienten mit M. Basedow [1]. Im Vergleich zum TSH zeigte dieser Schilddrüsenstimulator eine protrahierte Wirkung auf die Freisetzung von radioaktiv markiertem Jod aus der Schilddrüse des Meerschweinchens und wurde daher als Long-Acting Thyroid Stimulator (LATS) bezeichnet. Biochemisch wurde LATS als ein Immunglobulin der Klasse IgG identifiziert und das Konzept der schilddrüsenstimulierenden Antikörper beim M. Basedow begründet. Die Stimulation der menschlichen Schilddrüse nach Übertragung von Plasma eines Patienten mit M. Basedow wurde von Adams und Mitarbeitern im Selbstversuch belegt [2]. Erst ca. 20 Jahre nach der Entdeckung der Basedow-Immunglobuline wurde der Mechanismus ihrer schilddrüsenstimulierenden Wirkung verständlich, der über die Aktivierung des TSH-Rezeptors auf der Oberfläche der Schilddrüsenzelle abläuft. Verschiedene Autoren berichteten, daß Basedow-Immunglobuline die Bindung von radioaktiv markiertem TSH an Schilddrüsenmembranen und solubilisierter TSH-Rezeptoren hemmten [16]. Diese Ergebnisse führten zu der pathogenetischen Vorstellung, nach der es sich bei den Basedow-Immunglobulinen um Autoantikörper gegen den TSH-Rezeptor handelt. Diese Antikörper binden ähnlich wie TSH an den Rezeptor und führen über eine Aktivierung des second messengers cAMP zur vermehrten Produktion von Schilddrüsenhormonen. Im Gegensatz zum TSH, das einer hypophysären Regulation unterliegt, erfolgt die Stimulation durch TSH-Rezeptorantikörper jedoch unkontrolliert und führt damit zu einer Überstimulation der Schilddrüse und Hyperthyreose des Patienten. Der endgültige Beweis für die Richtigkeit dieser attraktiven Hypothese konnte allerdings erst in jüngster Zeit erbracht werden, nachdem die erfolgreiche Klonierung des menschlichen TSH-Rezeptors es ermöglicht hatte, die direkte Interaktion von Basedow-Immunglobulinen mit dem isolierten und in Nichtschilddrüsenzellen transfizierbaren rekombinanten humanen TSH-Rezeptor zu untersuchen [17]. Damit ließ sich zweifelsfrei dokumentieren, daß die Antikörper an den TSH-Rezeptor selbst und nicht etwa an ein anderes Schilddrüsenantigen mit enger Nachbarschaftsbeziehung zum TSH-Rezeptor binden. Nach mehreren Jahrzehnten konnte damit die vermutete Existenz von TSH-Rezeptorantikörpern bei M.

Basedow gesichert werden. Die jüngsten Fortschritte haben sich auch in der Nomenklatur und Einteilung der TSH-Rezeptorantikörper niedergeschlagen. Während wir früher beschreibend von TSH-bindungsinhibierenden Immunglobulinen (TBII), thyroid stimulating antibodies (TSAb), thyroid stimulating immunoglobulins (TSI) oder thyroid blocking antibodies (TBAb) etc. sprachen, sollen diese Begriffe nach einer neuen Übereinkunft der internationalen Fachgesellschaften nicht mehr verwendet werden [13]. Es wird empfohlen, nur noch die Bezeichnung TSH-Rezeptorantikörper, abgekürzt TSH-R Ab oder TSH-R Ak, zu benutzen und ihre funktionelle Wirkung mit dem Zusatz stimulierende oder blockierende TSH-R Ak zu beschreiben (Tab. 1).

Tabelle 1 Einteilung der TSH-Rezeptorantikörper

-
- stimulierende TSH-R Ak (frühere Bezeichnungen TSAb, TSI)
 - blockierende TSH-R Ak (frühere Bezeichnung TBAb)
 - wachstumsstimulierende Ak (TGI)?
 - wachstumsblockierende Ak (TGII)?
-

Nach diesem kurzen historischen Abriss sollen in der folgenden Übersicht einige neue Gesichtspunkte zur pathophysiologischen Bedeutung der TSH-Rezeptorantikörper diskutiert, die Bestimmung der TSH-Rezeptorantikörper mit besonderer Blickrichtung auf die in Zukunft zu erwartenden neuen Nachweisverfahren beschrieben und der heutige Stellenwert der TSH-Rezeptorantikörper für die klinische Praxis kurz dargestellt werden.

Pathophysiologische Aspekte

Die Bindung des TSH oder stimulierender TSH-R Ak an den TSH-Rezeptor des Thyrozyten löst eine Reihe von Folgereaktionen aus [17]. Zunächst werden G-Proteine aktiviert, die eng mit allen Glykoproteinrezeptoren assoziiert sind. Diese binden und spalten das Guanylnucleotid GTP. Im aktivierten Zustand zerfällt das G-Protein nach Austausch von GDP gegen GTP in seine Untereinheiten α und $\beta\gamma$. Die GTP-bindende α -Untereinheit (G_s) überträgt das Signal auf das Enzym Adenylatcyclase, das zur vermehrten Bildung von zyklischem AMP angeregt wird. Die Anhebung des cAMP-Spiegels bewirkt eine Aktivitätssteigerung verschiedener Proteinkinasen mit der Folge einer Zunahme der Jodaufnahme in die Schilddrüse, des Jodeinbaus, der Biosynthese von Schilddrüsenhormonen und letztlich der gesteigerten Produktion von Thyroxin und Trijodthyronin. Neben dem Adenylatcyclase-system stehen Glykoproteinrezeptoren über den Weg der G-Proteine (G_p) auch mit der Phospholipase C in Verbindung. Inwieweit dieser zweite

Weg eine Rolle bei der Wirkung von stimulierenden TSH-R-Ak, insbesondere ihrer wachstumsstimulierenden Aktivität, spielt, ist derzeit noch offen.

Von klinischer Bedeutung ist die Tatsache, daß nicht alle Antikörper, die an den TSH-Rezeptor binden, eine funktionstimulierende Aktivität aufweisen, sondern auch Antikörper existieren, die eine blockierende Wirkung haben [10]. Wir müssen also zwischen stimulierenden und blockierenden TSH-R Ak unterscheiden. Dies ist auch die Erklärung für folgende Beobachtungen: 1. den Nachweis von TSH-Rezeptorantikörpern bei einer Untergruppe von Patienten mit einer Autoimmunthyreoiditis, bei denen sich die Hypothyreose teilweise im Gegensatz zur destruktiven Form als reversibel erwiesen hat, 2. eine diskordante Entwicklung von TSH-bindungshemmender Aktivität und T3-freisetzender Aktivität bei manchen Patienten im Verlauf der Erkrankung und 3. die geringe Korrelation zwischen der in Bindungsassays gemessenen Aktivität und den Ergebnissen funktioneller Bioassays. Wir stehen gerade am Beginn, diese Zusammenhänge auf molekularer Ebene zu verstehen. Die Arbeitsgruppen von Rapoport und Kohn konnten zeigen, daß stimulierende und blockierende TSH-R Ak neben einer Anzahl von gemeinsamen Epitopen eine Reihe unterschiedlicher spezifischer Epitope auf der Oberfläche des extrazellulären Anteils des menschlichen TSH-Rezeptors erkennen [11, 14]. Zum Teil scheinen dabei auch andere Epitope eine Rolle zu spielen als für die TSH-Bindung. Diese Befunde erklären die unterschiedlichen biologischen Eigenschaften dieser Liganden. Es ist bekannt, daß das Serum eines einzelnen Patienten mit M. Basedow eine Mischung verschiedener TSH-Rezeptorantikörper enthält, die unterschiedliche Epitope erkennen, daß also auch beim M. Basedow blockierende TSH-R Ak vorkommen und die Summe dieser Wirkungen in ihrem Nettoeffekt die klinische Manifestation der Hyper- oder Hypothyreose bestimmt. Ein Teil der TSH-Rezeptorantikörper führt dabei sicher auch zu einer Stimulation des Wachstums der Schilddrüse und steht damit mit der Entwicklung einer Struma bei M. Basedow in kausaler Beziehung. Darüber hinaus gibt es Hinweise, besteht jedoch keine Einigkeit, ob außer den erwähnten stimulierenden und blockierenden TSH-R Ak zusätzlich als eigenständige Entität sog. wachstumsstimulierende und wachstumsblockierende Antikörper existieren [21].

Die pathophysiologische Kausalkette, stimulierende TSH-R Ak – TSH-Rezeptor – funktionelle Stimulation der Schilddrüse mit den Folgen einer Hyperthyreose und des Strumawachstums bei M. Basedow, ist gut belegt. Neuere Daten weisen zudem auf einen wichtigen zweiten Stimulationsweg hin: TSH-R Ak – TSH-Rezeptor – immunologische Stimulation der Schilddrüse mit der Konsequenz einer Verstärkung der Autoimmunität. So war nach Injektion von gereinigten Basedow-Immunglobulinen im Nacktmaus-Modell mit transplantiertem menschlichem Schilddrüsengewebe nicht nur eine

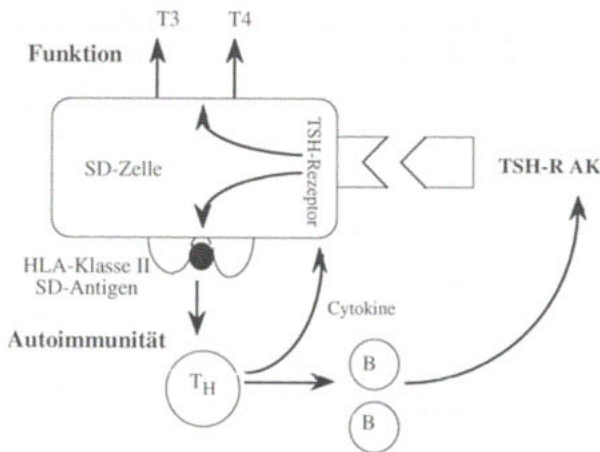


Abb. 1 Funktionelle und immunologische Stimulation der Schilddrüse durch TSH-Rezeptorantikörper.

funktionelle Aktivierung der Schilddrüse, gemessen an der gesteigerten Schilddrüsenhormonproduktion, zu beobachten, sondern auch eine immunologische Reaktion der Schilddrüse festzustellen, die durch eine verstärkte Expression von HLA-Klasse II-Antigenen auf den Transplantatthyreozyten gekennzeichnet war [9]. Die Stimulation der HLA-DR-Expression, der aus der Sicht von Bottazzo eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des M. Basedow zukommt [3], war von der Dosis des verabreichten Basedow-IgG abhängig und fiel mit einer Zunahme der HLA-DR-positiven Thyreozyten von 3% in den Kontrollen auf maximal 75% in den mit Basedow-IgG behandelten Tieren sehr deutlich aus. Weiterhin ließ sich durch Blockade des TSH-Rezeptors mittels des experimentell-einsetzbaren in vivo wirksamen TSH-Rezeptorantagonisten Asialoagalakto-hCG gemeinsam mit der funktionellen Wirkung auch die HLA-DR-stimulierende Wirkung der Basedow-Immunglobuline hemmen und somit die immunologische Stimulation der Schilddrüse gleichfalls als spezifische Rezeptor-vermittelte Wirkung von TSH-R Ak definieren [9]. Eine verstärkte Expression des mikrosomalen Antigens, der Schilddrüsenperoxidase (TPO), auf der Oberfläche des Thyreozyten infolge einer Stimulation mit Basedow-Immunglobulinen wurde ebenfalls beschrieben [4]. Man darf daher heute von einer dualen – funktionellen und immunologischen – Stimulation der Schilddrüse durch TSH-Rezeptorantikörper ausgehen. Nach der derzeitigen pathogenetischen Vorstellung, wie sie kürzlich von Volpé dargestellt wurde [19], führt die Präsentation eines Schilddrüsenantigens in Verbindung mit dem HLA-Klasse II-Antigen zu einer Aktivierung spezifischer T-Helferzellen. Diese wiederum regen durch die Abgabe verschiedener Zy-

Tabelle 2 Bestimmungsmethoden für TSH-Rezeptorantikörper

Radiorezeptorassays

- Hemmung der ^{125}I -TSH-Bindung
 - an menschliche Schilddrüsenmembranen
 - an Fettzellmembranen des Meerschweinchens
 - an solubilisierter TSH-Rezeptoren des Schweines
 - an rekombinante humane TSH-Rezeptoren

Funktionelle Assays

- Radiojodfreisetzung aus Meerschweinchen- bzw. Mausschilddrüse (LATS)
- Kolloidtropfenbildung in menschlichen Schilddrüsen Schnitten
- zytochemischer Bioassays
- Stimulation der cAMP-Bildung oder Hemmung der TSH-stimulierten cAMP-Bildung
 - in humanen Schilddrüsen Schnitten oder -membranen
 - in humanen Schilddrüsenzellen in Kultur
 - in FRTL-5-Zellen
 - in mit dem rekombinanten humanen TSH-Rezeptor transfizierten Zelllinien
- T3-Freisetzung aus Schweine- oder humanen Schilddrüsen Schnitten
- ^3H -Thymidineinbau in Ratten-, Schweinefollikel oder FRTL-5-Zellen
- morphologische und funktionelle Untersuchungen an xenotransplantiertem menschlichem Schilddrüsengewebe in der Nacktmaus

Tabelle 3 TSH-Rezeptorantikörper bei Schilddrüsenerkrankungen

Diagnose	n	TRAK pos.
M. Basedow		
– vor Therapie	70	64 (91,4%)
– nach 12 Mon. Therapie	33	15 (45,5%)
– in Remission (> 3 J.)	44	7 (15,9%)
Autonomie	247	5 (2,0%)
euthyreote Struma	108	2 (1,9%)

tokine die B-Zellen zur Proliferation und Autoantikörperproduktion an. Auf diese Weise kommt ein *circulus vitiosus* in Gang, der dazu dient, die Autoimmunerkrankung zu verstärken (Abb. 1).

Bestimmung der TSH-Rezeptorantikörper

Auf Grund ihrer pathogenetischen Schlüsselrolle wurde dem Nachweis der TSH-Rezeptorantikörper in der klinischen Diagnostik große Bedeutung zugemessen. Im Laufe der Jahre wurden dazu zahlreiche Testverfahren entwickelt (Tab. 2). Während der ursprüngliche Mausbioassay zur Bestimmung des

LATS nur eine sehr geringe Sensitivität aufwies, ließen sich auf Basis des Radiorezeptorassays zuverlässige und einfach durchführbare Testverfahren entwickeln. Ein gutes Beispiel ist der sog. TRAK-Assay, der auf dem Prinzip der Konkurrenz der im Patientenserum enthaltenen TSH-R Ak mit radioaktiv markiertem TSH um die Bindung an solubilisierete Schweine-TSH-Rezeptoren beruht und auch als kommerzieller Testkit breite Anwendung gefunden hat. Mit dieser Methode wurden von verschiedenen Untersuchern sehr gute Ergebnisse berichtet [16]. Unsere eigenen Ergebnisse faßt Tab. 3 zusammen [8]. Die Methode weist eine hohe Sensitivität von ca. 90% bei der unbehandelten Basedow-Hyperthyreose auf und besitzt auch eine gute Spezifität, d. h. es gelingt mit hoher Zuverlässigkeit, einen M. Basedow von einer Autonomie oder euthyreoten Struma abzugrenzen. Die Bestimmung der TSH-R Ak sollte vor Therapiebeginn durchgeführt werden, da die Inzidenz des Antikörpernachweises mit der Dauer einer thyreostatischen Therapie abfällt. Bei Patienten mit M. Basedow in Remission sind TSH-R Ak selten nachweisbar. Eine Weiterentwicklung der bewährten Methode des Radiorezeptorassays zur Bestimmung der TSH-R Ak ist jetzt mit der Verfügbarkeit des rekombinanten humanen TSH-Rezeptors möglich [17]. Die Verwendung des rekombinanten humanen TSH-Rezeptors bietet gegenüber den bisher eingesetzten löslichen Schweineschilddrüsenrezeptoren mehrere Vorteile: 1. wird das relevante menschliche Antigen verwendet, 2. wird die Chargenheterogenität verschiedener TSH-Rezeptorpräparationen eliminiert und eine Konstanz des Materials gewährleistet und 3. läßt sich mit dem humanen Assaysystem nach Filetti et al., die verschiedene TSH-Radiorezeptorassays verglichen haben, eine Steigerung der Empfindlichkeit um den Faktor 10 gegenüber dem herkömmlichen TRAK-Assay erzielen [7]. Im allgemeinen konnte auch eine gute Korrelation zwischen dem TRAK-Assay und dem rekombinanten humanen TSH-Rezeptorassay gefunden werden, abgesehen von einigen Ausnahmen, die durchaus bemerkenswert erscheinen und die Bedeutung des homologen menschlichen Testsystems unterstreichen [5, 6, 7]. Im Vergleich zum TRAK-Assay liegt die Positivitätsrate des neuen humanen Assays nach bisherigen Berichten sogar noch um einige Prozentpunkte höher. Es ist zu erwarten, daß nach den bereits vorliegenden ersten sehr positiven Erfahrungen ein Radiorezeptorassay mit Verwendung des rekombinanten humanen TSH-Rezeptors als sog. humaner TRAK schon sehr bald auch als kommerzieller Kit zur Verfügung stehen wird.

Es wurde bereits an früherer Stelle darauf hingewiesen, daß die TSH-Rezeptorbindung nicht mit der funktionellen Stimulation der Schilddrüse identisch ist und daher der Radiorezeptorassay nicht die stimulierende Aktivität der TSH-R Ak bei M. Basedow widerspiegelt. Verschiedene Bioassays zur Messung der funktionellen Wirkungen der TSH-R Ak wurden vorgeschlagen, wie

in Tab. 2 zusammengestellt. Die meisten Verfahren beruhen auf der Messung des zyklischen AMP, einige messen auch die hormonelle Endantwort in Form der Schilddrüsenhormonfreisetzung aus Schilddrüsen Schnitten *in vitro* und auch *In-vivo*-Modelle, wie z. B. die Nacktmaus mit transplantiertem menschlichem Schilddrüsen Gewebe, stehen zur Verfügung. Diese Methoden erfordern jedoch einen zu hohen technischen Aufwand, um in der Praxis Anwendung zu finden, und bleiben wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten. Auch hier ergaben sich durch neue molekularbiologische Techniken Weiterentwicklungen. Man kann heute Zelllinien mit der bekannten cDNA für den menschlichen TSH-Rezeptor transfizieren, so daß diese den Rezeptor auf ihrer Oberfläche in hoher Dichte exprimieren und eine Stimulation des Rezeptors eine Steigerung der cAMP-Antwort der Zelle bewirkt. Dieses Verfahren liefert die Basis für empfindliche, standardisierbare Bestimmungsmethoden für stimulierende und blockierende TSH-R Ak [6, 17, 18]. Für die Zukunft erscheint eine Methode wünschenswert, die den menschlichen TSH-Rezeptor verwendet, die funktionelle Aktivität der TSH-R Ak erfaßt und dabei einfach zu handhaben ist.

Klinischer Stellenwert der TSH-Rezeptorantikörper

Wir wissen um den pathogenetischen Stellenwert der TSH-R Ak bei M. Basedow und haben auch gelernt, ihre Aktivität im Patientenserum mit modernen leistungsstarken Methoden zu bestimmen. Welchen Nutzen haben wir davon in der klinischen Praxis? Eine Zusammenfassung des klinischen Stellenwerts der TSH-Rezeptorantikörper zeigt Tab. 4. Bei einem Patienten mit Hyperthyreose können wir durch die Bestimmung der TSH-R Ak mit hoher Sicherheit zwischen einer Autonomie der Schilddrüse und einer autoimmunen Genese differenzieren [12, 16]. Die TSH-R Ak sind in dieser Hinsicht auch der Bestimmung andere Autoimmunmarker, wie der TPO- oder Thyroglobulin-Antikörper, überlegen und vorzugsweise einzusetzen [12]. Anzu merken ist hier jedoch, daß die Differentialdiagnose zwischen einem M. Basedow und einer uni-/multifokalen Autonomie der Schilddrüse vielfach auch schon an Hand eindeutiger klinischer Parameter, wie z. B. einer endokrinen Ophthalmopathie oder des szintigraphischen Nachweises eines heißen Knotens, gelingt und in diesen Fällen die Bestimmung der TSH-R Ak nicht indiziert ist. Bei der autoimmunen Form einer Hypothyreose sind im Gegensatz zur autoimmunen Hyperthyreose nur selten TSH-R Ak nachweisbar. Bei diesen Patienten liegt dann oft nicht der sonst für die Entstehung einer Hashimoto-Thyreoiditis charakteristische Mechanismus einer Zytotoxizität und Zeldestruktion zugrunde, sondern es liegt lediglich eine funktionelle Hemmung vor. Klinisch ist diese Unterscheidung deshalb wichtig, da die

destruierende Form einer lebenslangen Substitution mit Levothyroxin bedarf, in dem beschriebenen Sonderfall aber eine Reversibilität der Schilddrüsenunterfunktion mit dem Abfall der blockierenden TSH-R Ak möglich erscheint und auch verschiedentlich beobachtet wurde.

Tabelle 4 Klinischer Stellenwert der TSH-Rezeptorantikörperbestimmung

in der *Differentialdiagnose*

- sensitiver Marker für M. Basedow
- selten bei der Autoimmunhypothyreose
- Bestimmung vor Therapiebeginn

im *Verlauf*

- keine Bedeutung für Therapieüberwachung
- keine Verlaufsuntersuchungen

zur *Prognose*

- keine Aussagekraft für Rezidivgefährdung des einzelnen Patienten
- kein prognostischer Marker

Die TSH-Rezeptorantikörper werden diaplazentar übertragen und wirken daher auch auf den Feten. Eine positive Anamnese einer Schilddrüsenautoimmunerkrankung sollte Anlaß zu einer Bestimmung der TSH-R Ak bei der Mutter sein, wenn auch nur wenige durch TSH-R Ak vermittelte transiente neonatale Hyperthyreosen bekannt geworden sind [20].

Zahlreiche Untersuchungen befaßten sich mit der Bestimmung der TSH-Rezeptorantikörper unter der Behandlung eines M. Basedow. Unter thyreostatischer Medikation kommt es bei der Mehrzahl der Patienten zu einem deutlichen Abfall der TSH-R-Ak-Titer. Es ist nicht geklärt, ob dem Titerabfall ein immunsuppressiver Effekt des Thyreostatikums zugrunde liegt oder alleine die Ruhigstellung der Schilddrüse schon zu einer spontanen immunologischen Besserung der Krankheit führt. Für die konkrete Gestaltung der thyreostatischen Behandlung, wie z. B. die Dosierung und Dauer der Medikation, leistet die Bestimmung der TSH-R Ak keinen Beitrag; Verlaufsuntersuchungen unter einer thyreostatischen Behandlung sind daher nicht indiziert. Nach einer subtotalen Resektion einer Basedow-Struma fallen die TSH-R Ak in der Regel rasch ab, während nach Radiojodtherapie häufig ein vorübergehender Anstieg der TSH-R Ak beobachtet wird. Die funktionelle Situation wird jedoch durch die ablative Maßnahme bestimmt, so daß der Antikörperbestimmung keine wesentliche Aussagekraft zukommt.

Große Erwartungen wurden in der Vergangenheit an die prognostische Aussagekraft der TSH-R Ak für den weiteren Verlauf der Erkrankung nach Absetzen einer thyreostatischen Behandlung geknüpft. In einer großen deutschen Multizenterstudie wurde diese Frage von Schleusener et al. prospektiv

untersucht [15]. Zwar ließ sich eindeutig ein statistischer Zusammenhang zwischen dem TSH-R-Ak-Status bei Therapieende und der Prognose, d. h. dem Auftreten eines Rezidivs oder einer Remission der Hyperthyreose innerhalb eines Jahres nach Absetzen der Medikation, nachweisen, jedoch ergab sich für die richtige Vorhersage des weiteren Verlaufs des einzelnen Patienten, d. h. die Sensitivität der Methode, lediglich ein Wert von 49%. Infolgedessen ist in den meisten Fällen keine Aussage über den weiteren Krankheitsverlauf eines Patienten nach Absetzen des Thyreostatikums zu treffen. Es steht uns derzeit kein immunologischer Marker zur Verfügung, um die thyreostatische Behandlung zu überwachen und ihren Erfolg abzuschätzen. Wir sind in dieser Hinsicht nach wie vor auf den empirischen Auslaßversuch angewiesen, der von den meisten Autoren nach etwa 1jähriger Behandlungsdauer vorgenommen wird. Es bleibt zu hoffen, daß in Zukunft verbesserte Möglichkeiten einer Bestimmung der funktionell-relevanten stimulierenden TSH-R Ak an Stelle der heterogenen Gesamtpopulation der TSH-R Ak zu einer Verbesserung der prognostischen Aussagekraft beitragen.

Literatur

- [1] Adams, D. D., H. D. Purves: Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. Univ. Otago. Med. School. Proc. 36 (1956) 11–12.
- [2] Adams, D. D., F. N. Fastier, J. B. Howie et al.: Stimulation of the human thyroid by infusions of plasma containing LATS protector. J. Clin. Endocrinol. Metab. 39 (1974) 826–832.
- [3] Bottazzo, G. F., R. Pujol-Borell, T. Hanafusa et al.: Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. Lancet II (1983) 1115–1119.
- [4] Chiovato, L., A. Pinchera: The microsomal/peroxidase antigen: modulation of its expression in thyroid cells. Autoimmunity 10 (1991) 319–331.
- [5] Costagliola, S., S. Swillens, P. Niccoli et al.: Binding assay for thyrotropin receptor autoantibodies using the recombinant receptor protein. J. Clin. Endocrinol. Metab. 75 (1991) 1540–1544.
- [6] Derwahl, M., H. Schatz, B. Bolle et al.: Measurement of stimulating TSH receptor antibodies in sera of patients with Graves' disease by a recombinant TSH receptor bioassay. Exp. Clin. Endocrinol. 100 (1992) 75–79.
- [7] Filetti, S., D. Foti, G. Costante et al.: Recombinant human thyrotropin (TSH) receptor in a radioreceptor assay for the measurement of TSH receptor autoantibodies. J. Clin. Endocrinol. Metab. 72 (1991) 1096–1101.
- [8] Hoermann, R., R. Mueller, B. Saller et al.: Methodische Probleme und klinische Wertigkeit der Bestimmung von TSH-Rezeptorantikörpern mit einem kommerziellen Kit. Lab. Med. 9 (1985) 208–213.
- [9] Hoermann, R., P. M. Schumm-Draeger, K. Mann: Inhibition of functional and immunological responses to thyroid-stimulating antibodies from patients with Graves' disease by blockade of the thyrotropin receptor. Thyroid 3 (1993) 273–278.

- [10] Konishi, J., Y. Iida, K. Kasagi et al.: Primary myxedema with thyrotropin-binding inhibitor immunoglobulins; clinical and laboratory findings in 15 patients. *Ann. Intern. Med.* 100 (1985) 26–31.
- [11] Kosugi, S., T. Ban, T. Akamizu et al.: Identification of separate determinants on the thyrotropin receptor reactive with Graves' thyroid stimulating antibodies and with thyroid stimulating blocking antibodies in idiopathic myxedema: these determinants have no homologous sequence on gonadotropin receptors. *Mol. Endocrinol.* 6 (1992) 168–180.
- [12] Mann, K., B. Saller, R. Hoermann: Clinical relevance of immunological markers in Graves' disease. *Exp. Clin. Endocrinol.* 97 (1991) 224–230.
- [13] McLachlan, S. M. et al.: Recommendations for a revised nomenclature of thyroid autoantigens and autoantibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74 (1992) 1380.
- [14] Nagayama, Y., B. Rapoport: The thyrotropin receptor 25 years after its discovery: new insight after its molecular cloning. *Mol. Endocrinol.* 6 (1992) 145–156.
- [15] Schleusener, H., J. Schwander, C. Fischer et al.: Prospective multicentre study on the prediction of relapse after antithyroid drug treatment in patients with Graves' disease. *Acta. Endocrinol. (Copenh.)* 120 (1989) 689–701.
- [16] Smith, B. R., S. M. McLachlan, J. Furmaniak: Autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Endocr. Rev.* 9 (1988) 106–121.
- [17] Vassart, G., J. E. Dumont: The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr. Rev.* 13 (1992) 596–611.
- [18] Vitti, P., R. Elisei, M. Tonacchera et al.: Detection of thyroid-stimulating antibody using chinese hamster ovary cells transfected with cloned human thyrotropin receptor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 76 (1993) 499–503.
- [19] Volpé, R.: Autoimmunity causing thyroid dysfunction. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 20 (1991) 565–587.
- [20] Zakarija, M., J. M. McKenzie: Pregnancy-associated changes in the thyroid-stimulating antibody of Graves' disease and the relationship to neonatal hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57 (1983) 1036–1040.
- [21] Zakarija, M., J. M. McKenzie: Do thyroid growth-promoting immunoglobulins exist? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 70 (1990) 308–310.

Diskussion

Heidemann:

Unter „Einsatz des TRAK-Assay“ nannten Sie auch die Autoimmunhypothyreose. Bei dieser Funktionsstörung beobachtet man eine TSH-Erhöhung, welche die Bestimmung der TSH-Rezeptorantikörper beeinflussen könnte. Möglicherweise stellen Sie falsch positive TRAK-Ergebnisse fest.

Hörmann:

Die meisten Assays besitzen keine so hohe Empfindlichkeit, daß TSH-Konzentrationen bis zu 30 mU/l interferieren würden. Nur sehr hohe Werte könnten den Bindungsassay beeinflussen. Bei etwa 10% der Hypothyreosen müßte keine Zerstörung der Schilddrüsenzellen, sondern eine funktionsblockierende Wirkung durch Antikörper als Ursache der Hypothyreose angenommen werden. Bei diesen Patienten könnte sich nach Verschwinden der Antikörper (wie im Verlauf eines Morbus Basedow) die Schilddrüsenfunktion normalisieren.

Postpartum-Hyperthyreose: Sind positive TSH-Rezeptorantikörper für M. Basedow beweisend?

A. Kurtaran, J. Flores, M. Weissel

Die Postpartum-Thyreoiditis (PPT) ist eine besondere Verlaufsform einer Autoimmunthyreoiditis [2, 6, 7]. Sie ist charakterisiert durch eine lymphozytäre Infiltration der Schilddrüse (SD) sowie eine verminderte Traceranreicherung [2]. Obwohl sie nicht sehr selten auftritt, ist sie noch weithin unbekannt. Das klassische Syndrom der PPT ist eine transiente Hyperthyreose gefolgt von einer Hypothyreose etwa 12 Wochen postpartal. Nach 6–8 Monaten ist die SD-Funktion wieder normal, kann aber in seltenen Fällen eine permanente Hypothyreose zurücklassen [2, 6].

Bei Vorliegen einer Postpartum-Hyperthyreose sollte differentialdiagnostisch eine präexistente oder frisch ausgelöste Autoimmunhyperthyreose von einer destruktiven Hyperthyreose, die in der Regel transient verläuft, abgegrenzt werden, da die Therapiestrategien beider Hyperthyreosen unterschiedlich sind [7]. Möglichkeiten, eine klassische PPT mit Hyperthyreose von einer Autoimmunhyperthyreose im Sinne eines M. Basedow zu unterscheiden, sind folgende [1, 7, 8]:

1. TSH-Rezeptorantikörper (TRAK): Ein M. Basedow ist unter anderem durch das Auftreten von Antikörpern gegen den TSH-Rezeptor charakterisiert [3]. Diese Antikörper sind nicht bei allen Patienten positiv, es gilt aber der Nachweis von TRAK bei vorliegender Hyperthyreose für einen M. Basedow beweisend [4, 8].
2. Tracer-uptake in die SD: Die Jod- bzw. Tc-Aufnahme in die SD bei PPT ist, verglichen mit subakuter Thyreoiditis, stark vermindert [2, 4, 6].
3. Verlauf der Erkrankung: Während eine PPT mit Hyperthyreose eine sich selbst limitierende Erkrankung ist und in den meisten Fällen mild und transient verläuft, sind die Beschwerden bei einem M. Basedow stärker, und eine spezifische Therapie ist daher meist erforderlich [6].

Wir präsentieren nun einen Fall, den wir im Rahmen der Erhebung der Häufigkeit der PPT in Wien [5] beobachtet haben. Die Prävalenz der PPT in Wien beträgt ca. 5% und entspricht den internationalen Angaben. Eine 22jährige Mutter entwickelte 4 Monate postpartal sowohl klinisch als auch biochemisch eine Hyperthyreose. Zu diesem Zeitpunkt fand sich auch ein positiver TRAK von 21 U/l (Henning, Radiorezeptorassay). Wir führten eine

SD-Szintigraphie mit Tc-99m durch, die einen sehr schwachen und deutlich inhomogenen Uptake des Tracers aufwies, welche einen M. Basedow unwahrscheinlich machte. Die Patientin wurde lediglich mit einem β -Blocker behandelt, und es konnte in einigen Wochen sowohl klinisch als auch biochemisch eine Normalisierung der hyperthyreoten Stoffwechsellaage erreicht werden. Korrelierend mit dieser Konstellation kam es zu diesem Zeitpunkt zu einem Abfall des TRAK's. Die Patientin ist seither euthyreot, und eine hypothyreote Phase wurde bisher (20 Monate pp) nicht beobachtet.

Schlußfolgerung

Trotz der allgemein geltenden Regel, daß bei Vorliegen einer Hyperthyreose ein positiver TRAK-Titer auch in der Postpartum-Periode für einen M. Basedow beweisend ist, glauben wir, daß bei unserem Fall eine PPT mit Hyperthyreose vorlag. Inwieweit die TSH-Rezeptorantikörper für die Entwicklung der Hyperthyreose eine Rolle gespielt haben und ob es sich dabei um ein Epiphänomen handelt, bleibt offen. Eine Postpartum-Hyperthyreose mit positivem TRAK ist aber nicht zwangsläufig ein M. Basedow.

Literatur

- [1] Emerson, C. H.: Thyroid disease during and after pregnancy. In: L. E. Braverman, R. D. Utiger (Hrsg.): *The Thyroid*. J. B. Lippencott Co, Philadelphia 1991.
- [2] Gärtner, R.: Postpartum-Thyroiditis – Definition, Häufigkeit und klinische Bedeutung. *Internist* 33 (1992) 100–102.
- [3] Hermann, J.: Die Hyperthyreosen. *Die Medizinische Welt* 39 (1988) 288–294.
- [4] Jansson, R., S. Bernander, A. Karlsson et al.: Autoimmune Thyroid Dysfunction in the Postpartum Period. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58,4 (1984) 681–687.
- [5] Kurtaran, A., M. Weissel, I. Hechter et al.: Do we need Screening for Postpartum-thyroiditis in Austria? *J. Endocrinol. Invest.* 15 (Suppl. 5) 13.
- [6] Roti, E., C. H. Emerson: Clinical Review 29. Postpartum Thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74,1 (1992) 2–5.
- [7] Stuenkel, C. A., G. N. Burrow: Postpartum Thyroiditis. In: R. V. Lee, W. M. Barron, D. B. Gotton (Hrsg.): *Current Obstetric Medicine*, Vol. 1, Chapter 14, p. 349. St. Louis 1991.
- [8] Walfish, P. G., J. Y. C. Chan: Postpartum Hyperthyroidism. *Clin. Endocrinol. Metab.* 14 (1985) 417–447.

Diskussion

Gärtner:

Wissen Sie etwas über die Jodversorgung der Patientin? Ist sie möglicherweise während der Entbindung mit jodhaltigen Substanzen behandelt worden?

Kurtaran:

Über eine Jodkontamination weiß ich nichts Näheres.

Derwahl:

Bei dem von Ihnen geschilderten Fall über Hyperthyreose bei Postpartum-Thyreoiditis mit hohen TRAK-Werten, aber szintigraphisch niedrigem Jod-uptake, besteht aus meiner Sicht die klassische Indikation für eine Differenzierung der TSH-Rezeptorantikörper. Auf diese Weise könnten Sie nachweisen, ob die im TRAK-Assay gemessenen Antikörper eine stimulierende Wirkung auf die Schilddrüse besitzen oder z. B. als funktionslos bindende Antikörper an den TSH-Rezeptor binden und damit keine Beziehung zur Hyperthyreose haben.

Kurtaran:

Sie haben ja gesehen, zu dem Zeitpunkt, wo die Hyperthyreose aufgetreten ist, gab es auch einen positiven TSH-Rezeptorantikörpertiter. Also aus klinischem Aspekt bestand eine Korrelation. Daher haben wir in erster Linie an einen Morbus Basedow gedacht. Und deswegen wollten wir auch wissen, ob dies szintigraphisch nachzuweisen ist.

Derwahl:

Ich wollte Sie damit bestätigen und sagen, daß Sie durch eine Differenzierung, indem Sie sagen „wir haben TSH-Rezeptorantikörper und bestimmen die Funktion dieser Antikörper“, wirklich feststellen können, ob es sich um eine Stimulation der Schilddrüse durch diese Antikörper handelt oder ob es funktionslose TSH-Rezeptorantikörper waren.

Immunmechanismen beim Morbus Basedow

A. E. Heufelder

1. Immunmechanismen beim Morbus Basedow

Bei der Immunthyreopathie vom Typ Morbus Basedow handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung mit thyreoidalen und extrathyreoidalen Manifestationen. Neben der Schilddrüse sind in absteigender Häufigkeit das Retroorbitalgewebe (endokrine Orbitopathie), die Prätibialregion (prätibiales Myxödem) sowie die Akren im Bereich von Händen und Füßen (Akropathie) betroffen. Das verbindende, histologisch verifizierbare Merkmal der thyreoidalen und extrathyreoidalen Manifestationen ist die lymphozytäre Infiltration der Zielgewebe. Zu den bei Patienten mit Morbus Basedow typischerweise nachweisbaren Autoantikörpern gehören Antikörper gegen Schilddrüsenperoxidase sowie IgG-Antikörper, die den TSH-Rezeptor im Zielgewebe entweder stimulieren (TSH-Rezeptor stimulierende Immunglobuline) oder inhibieren (TSH-Bindung an den TSH-Rezeptor blockierende Antikörper).

Nach heutigem Verständnis ist die Entstehung einer Immunthyreopathie vom Typ Morbus Basedow nicht durch einen singulären Defekt oder Pathomechanismus, sondern durch ein komplexes, multifaktorielles Geschehen zu erklären. Daran sind neben den im Zentrum stehenden immunologischen und immungenetischen Mechanismen auch psychosoziale Faktoren und Umwelteinflüsse beteiligt. Zu den bekannten ethnischen Hochrisikogruppen gehören unter anderem Kaukasier mit den Gewebsantigenen HLA-B8 und HLA-DR3, Japaner mit HLA-BW35 und Chinesen mit HLA-BW46. Die einzelnen Haplotypen scheinen vorwiegend Prädispositionsfaktoren darzustellen, haben jedoch keinen bislang nachweisbaren Einfluß auf den Verlauf oder das therapeutische Ansprechen eines Morbus Basedow.

Die primäre Ursache der Immunthyreopathie vom Typ Morbus Basedow ist nach wie vor ungeklärt, doch konnten in den letzten Jahren – insbesondere seit der Klonierung des humanen TSH-Rezeptors sowie der zunehmenden Verfügbarkeit molekularbiologischer Methoden – kausal relevante Partialmechanismen in zunehmendem Maße identifiziert und teilweise auch im Detail analysiert werden. Nachfolgend werden schwerpunktmäßig einige aktuelle Fortschritte der experimentellen Grundlagenforschung zum Morbus Basedow dargestellt, deren mögliche klinische Relevanz bereits absehbar ist. Abb. 1 zeigt eine Synopsis dieser neuen Entwicklungen in Verbindung mit den eta-

blierten Konzepten zur Pathogenese des Morbus Basedow. Der Kenntnisstand vor 1990 ist in exzellenten Übersichtsarbeiten umfassend dargestellt [7, 13, 67].

Immunmechanismen beim Morbus Basedow

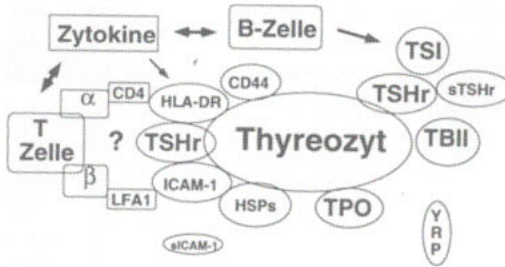


Abb. 1 Synopsis der Immunmechanismen bei der Immunthyreopathie vom Typ Morbus Basedow (TSI = TSH-Rezeptor-stimulierende Antikörper; TBII = TSH-Rezeptor-inhibierende Antikörper; YRP = Yersinia-enterocolitica-Releaseprotein; sICAM = löslicher ICAM-1-Rezeptor; sTSHr = löslicher TSH-Rezeptor).

1.1 T-Lymphozyten

Ein zentrales Ereignis bei der Auslösung des thyreoidalen Immunprozesses bildet die Interaktion zwischen intrazellulär prozessiertem Antigen, MHC-Klasse-I-Molekülen und CD8+ Lymphozyten sowie MHC-Klasse-II-Molekülen und CD4+ Lymphozyten. Die Präsentation von intrazellulär prozessiertem Antigen erfolgt auf der Oberfläche antigenpräsentierender Zellen wie Makrophagen, aktivierter T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und zytokinaktivierter Thyreozyten. An den Antigen-HLA-Komplex auf der Zelloberfläche präsentationsfähiger Zellen binden die Antigenrezeptoren von CD4+ und CD8+ Lymphozyten. Dieser Bindungsprozeß stimuliert die Bildung von Antikörpern in B-Lymphozyten sowie die Sekretion von Zytokinen in T-Lymphozyten. Diese parakrin und autokrin freigesetzten Zytokine stimulieren ihrerseits die Proliferation antigenaktivierter B-Lymphozyten und antigenunabhängig aktivierter T-Lymphozyten, aktivieren natürliche Killerzellen und vermitteln die zytotoxischen Effekte von CD8+-Lymphozyten auf nichtlymphatische Zellen. Im Rahmen der T-Zellaktivierung spielt das Vorliegen spezieller HLA-Haplotypen eine wesentliche Rolle, weil manche Antigene besser mit bestimmten HLA-Haplotypen assoziieren und bestimmte Antigen-HLA-Komplexe unterschiedlich gut an den Antigenrezeptor von T-Zellen binden.

Die thyreoidale lymphozytäre Infiltration bei Autoimmunthyreopathien besteht zu einem wesentlichen Anteil aus T-Lymphozyten, deren phänotypische Charakterisierung an Hand von Oberflächenmarkern eine auffällige Selektion

von T-Zelluntergruppen (Suppressorzytotoxische [CD8+] und Suppressor-Inducer [CD45RA+] T-Zellen) erkennen läßt [7, 13, 62]. Variationen des Antigenrezeptors kommen bei der Aktivierung von T-Zellen eine besondere Rolle zu, weil die Struktur des T-Zellantigenrezeptors die Bindung an bestimmte Antigen-HLA-Komplexe determiniert. Aufschluß über die zentrale Frage, ob infiltrierende Lymphozyten im Sinne einer sekundären Immunantwort in die Schilddrüse eingewandert sind oder dort als selektionierte T-Zellpopulation intrathyreoidal heranreifen (primäre Immunantwort), lieferten in den letzten Jahren Untersuchungen zum Restriktionsgrad der intrathyreoidalen T-Zellpopulation [10, 11, 12, 40, 41, 42]. Sowohl die α -Kette als auch die β -Kette des T-Zellantigenrezeptors wird von einem Gen kodiert, das sich von einem ursprünglich weitaus größeren Gen ableitet und im Laufe der T-Zellreifung mehrfach Rearrangementprozessen unterzogen wird. Im Gegensatz zu McIntosh et al. [42] konnten Davies et al. mittels PCR im Schilddrüsengewebe von Patienten mit autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen im Vergleich zum peripheren Blut dieser Patienten eine ausgeprägte Restriktion des T-Zellrezeptor-V α -Genrepertoires nachweisen [10, 11, 12]. Demgegenüber zeigten Patienten mit nichtautoimmunen Schilddrüsen sowie gesunde Kontrollpersonen keine derartige Restriktion. Diese sowie jüngst an *scid*-Mäusen erhobenen Befunde [40, 41] sprechen für eine primäre antigenabhängige Rekrutierung einzelner oder weniger autoreaktiver T-Zellklone in die Schilddrüse beim Morbus Basedow. Die beträchtliche interindividuelle Variabilität im Restriktionsgrad der T-Zellrezeptor-V-Gene sowie die auffällige Heterogenität der selektierten V-Genfamilien sprechen für einen komplexen Immunprozeß, der stark von individuellen immungenetischen Faktoren abhängt und Interaktionen zwischen verschiedenen T-Zellantigenrezeptoren und zahlreichen Antigenepitopen umfassen dürfte. Trotz dieser Limitation wecken diese Befunde die Hoffnung, mit Hilfe monoklonaler Antikörper gegen spezifische T-Zellrezeptoren die abnorme T-Zellfunktion bei autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen selektiv hemmen zu können. Eine präzisere Charakterisierung der Interaktionen zwischen den relevanten Epitopen beteiligter Schilddrüsen-autoantigene, den HLA-Haplotypen und dem T-Zellantigenrezeptorkomplex ist Voraussetzung für ein besseres Verständnis der Mechanismen, die am Verlust der Antigentoleranz, an der Auslösung des intrathyreoidalen Immunprozesses sowie an dessen Perpetuierung kritisch beteiligt sind.

1.2 TSH-Rezeptor

1.2.1 TSH-Rezeptor als Zielantigen für T-Zellen und TSH-Rezeptorimmunglobuline

Obwohl T-Lymphozyten beim Morbus Basedow im Rahmen der frühen Immunreaktion gegen den TSH-Rezeptor eine Schlüsselrolle spielen dürften, ist über die Interaktionen zwischen T-Zellen und TSH-Rezeptorepitopen

bislang wenig bekannt. Weetman et al. untersuchten in vitro die Proliferation peripherer T-Zellen von 36 Patienten mit erstmanifestem Morbus Basedow nach Stimulation mit 28 synthetischen Peptiden, die überlappend die gesamte extrazelluläre Domäne des hTSH-Rezeptors abdeckten [60]. Dabei war mit keinem dieser Peptide ein signifikanter Proliferationsunterschied zwischen T-Zellen von Basedow-Patienten und Kontrollpersonen zu erkennen. Lediglich zwei Peptide (AA 160–179 und 174–193) führten bei 31–33% der Basedow-Patienten und bei 10–19% der Kontrollpersonen zu einer deutlicheren Stimulation. Interessanterweise war keine HLA-DR-Assoziation und keine Verstärkung der Proliferation nach Entfernung der CD8+-Zellen zu erkennen. Darüber hinaus verschwand die Proliferationstendenz peripherer Blutlymphozyten nach Stimulation mit TSH-Rezeptorpeptiden unter antithyreoidaler Medikation. Dieser Befund einer heterogenen polyklonalen T-Zellantwort auf unterschiedliche TSH-Rezeptorepitope lassen die Autoren am möglichen Erfolg einer Immuntherapie des Morbus Basedow durch Applikation modifizierter TSH-Rezeptorpeptide zweifeln. Sakata et al. verglichen die Proliferation peripherer Blutlymphozyten von 8 Basedow-Patienten, 4 Patienten mit Hashimoto-Thyreoiditis, 2 Patienten mit subakuter Thyreoiditis, 2 Patienten mit rheumatoider Arthritis und 8 Kontrollpersonen nach Stimulation mit fünf überlappenden synthetischen Peptiden (AA 12–30, 24–44, 308–328, 324–344, 339–364), die zwei TSH-Bindungsregionen des TSH-Rezeptors in Molekülbereichen abdeckten, die keine Sequenzhomologien mit dem LH-CG-Rezeptor aufweisen [55]. Dabei zeigte sich eine für Basedow-Patienten spezifische, allerdings heterogene und interindividuell verschiedene Lymphozytenproliferation. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die TSH-Bindungsregionen des hTSH-Rezeptors auch Zielepitope für autoreaktive T-Zellen umfassen dürfen, die allerdings einer individuellen immungenetischen Regulation zu unterliegen scheinen.

Seit der Klonierung, Sequenzierung und Expression des TSH-Rezeptors [46, 50] wurden umfangreiche Anstrengungen unternommen, die genauen Bindungsstellen von TSH-Rezeptorantikörpern am TSH-Rezeptor zu lokalisieren und deren Einfluß auf die Rezeptorfunktion zu charakterisieren [14, 35–37, 44, 47–49, 66]. Nagayama und Rapoport konnten zeigen, daß die extrazelluläre Domäne des TSH-Rezeptors eine entscheidende Rolle für die Interaktion von TSH und TSH-Rezeptorantikörpern mit dem TSH-Rezeptor spielt [47]. Hierbei scheint insbesondere einem Cystein im Aminosäurenssegment 38–45 durch Etablierung einer Disulfidbrücke eine zentrale Bedeutung bei der Rezeptorfunktion zuzukommen [66]. Unter Verwendung von chimärisch konstruiertem TSH-LH-Rezeptorprotein in transfizierten Zellen konnte diese Gruppe seitdem eine Reihe von TSH-Rezeptorregionen identifizieren, die bei der Bindung von TSH und TSH-Rezeptorantikörpern eine Rolle spielen

dürften [49]. Durch Substitution kleiner Aminosäuresegmente (z. B. AA 25–30) ließ sich zeigen, daß Untergruppen von TSH-Rezeptorantikörpern im Serum von Basedow-Patienten trotz einheitlicher funktioneller Aktivität (z. B. cAMP-Stimulation) an unterschiedliche Regionen des TSH-Rezeptors binden [48], also trotz funktioneller Uniformität eine heterogene Epitopspezifität aufweisen. Zu klären bleibt hier allerdings die zentrale Frage, ob als Ursache dieser Effekte tatsächlich die erzeugten Sequenzveränderungen selbst verantwortlich sind. Eine weitaus größere Rolle spielen möglicherweise die hierdurch induzierten Konformationsänderungen in der dreidimensionalen Struktur des Gesamtmoleküls oder von der Mutation entfernt liegender Rezeptorregionen.

Studien von Kohn und Mitarbeitern lassen erkennen, daß TSH-Rezeptor-stimulierende und -inhibierende Antikörper, wie sie bei bis zu einem Drittel der Basedow-Patienten im Serum vorliegen, an unterschiedliche Regionen des TSH-Rezeptors binden und je nach Konzentrationen und gegenseitigem Interaktionsgrad die funktionelle Aktivität des TSH-Rezeptors modulieren können [35, 36]. Die überwiegend am TSH-Rezeptor der Ratte vorgenommenen Mutationen sprechen für eine präferentielle Bindung TSH-Rezeptorblockierender Antikörper an Regionen, die am Carboxylende der extrazellulären TSH-Rezeptordomäne liegen [36]. Demgegenüber scheinen die Bindungsstellen für TSH-Rezeptor-stimulierende Antikörper heterogener verteilt und vermehrt am N-terminalen Ende der extrazellulären TSH-Rezeptordomäne gelegen zu sein [37]. Weitgehend ungeklärt ist nach wie vor der Beitrag der extrazellulären Schleifen der Transmembrandomänen. Übereinstimmend ist den nicht immer einheitlichen Ergebnissen zahlreicher Arbeitsgruppen [14, 35–37, 44, 47–48, 66] zu entnehmen, daß sich TSH-Rezeptorantikörper im Serum von Patienten mit Morbus Basedow aus einem Spektrum funktionell und immunologisch heterogener Subpopulationen zusammensetzen, das sowohl interindividuelle als auch im Krankheitsverlauf intraindividuelle Unterschiede aufweist.

Trotz dieser faszinierenden neuen Einblicke ist jedoch zu bedenken, daß diese Informationen überwiegend an Hand artifizieller, nichthumaner Zell- und Expressionssysteme mit potentiell unphysiologischer posttranslationeller Modifizierung (z. B. Glykosylierung) und ohne Berücksichtigung der Besonderheiten der Antigenprozessierung und -erkennung durch das humane Immunsystem gewonnen wurden. Studien von Ludgate et al. geben bereits erste Hinweise darauf, daß der rekombinante hTSH-Rezeptor unter solchen Expressionsbedingungen humanes TSH nicht spezifisch und mit hoher Affinität bindet [9] und somit möglicherweise auch kein funktionell oder immunologisch informatives Abbild der TSH-Rezeptorexpression im thyreoidalen oder extrathyreoidalen Gewebe beim Menschen darstellt.

1.2.2 TSH-Rezeptormutationen und löslicher TSH-Rezeptor

Allgemein wird angenommen, daß die Antigene im Rahmen von Autoimmunerkrankungen strukturell intakt sind und daß vielmehr eine gestörte Antigentoleranz und Fehler in der Immunregulation den Immunprozeß in Gang bringen. Interessanterweise wurde von mehreren Arbeitsgruppen in den letzten Jahren über Mutationen im TSH-Rezeptorgen bei Patienten mit Morbus Basedow berichtet. So wurde in Schilddrüsen-RNA eines Basedow-Patienten eine somatische Mutation in der extrazellulären Domäne des hTSH-Rezeptors nachgewiesen [19]. Da die Mutation in einer vermuteten TSH-Bindungsregion liegt, könnte diese Mutation mit der Schilddrüsenerkrankung dieses Patienten in Verbindung stehen. Bahn et al. fanden eine genomische Punktmutation im TSH-Rezeptorgen (Threonin für Prolinsubstitution im Codon 52) retroorbitaler Fibroblasten bei 2 von 22 untersuchten Patienten mit Morbus Basedow und endokriner Orbitopathie [4, 5]. Klinisch wiesen diese beiden Patienten eine schwere endokrine Orbitopathie, ein ausgeprägtes prätibiales Myxödem, eine Akropathie und extrem hohe Titer an TSH-Rezeptor-stimulierenden Antikörpern auf. Da diese Mutation in einem Genabschnitt liegt, der für eine potentiell immunogene Region des TSH-Rezeptors kodiert und die resultierende Ladungsänderung der Konformationsepitope des TSH-Rezeptors verändern könnte, wäre es denkbar, daß diese Mutation die immunogene Aktivität des TSH-Rezeptors oder die funktionelle Interaktion von TSH-Rezeptorantikörpersubgruppen am TSH-Rezeptor beeinflußt. Interessanterweise wurde dieselbe Mutation kürzlich auch bei einem Patienten mit Morbus Basedow im Schilddrüsengewebe nachgewiesen.

Die Existenz eines löslichen TSH-Rezeptorproteins im Schilddrüsengewebe und Serum wurde in den letzten Jahren von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben. Murakami et al. konnten zeigen, daß ein anti-TSH-Rezeptorantisera gegen ein synthetisches TSH-Rezeptorpeptid (AA 32–56) im Serum von Patienten mit Morbus Basedow ein 60 kDa-Protein erkennt, das einem löslichen TSH-Rezeptor entsprechen könnte [45]. Hunt et al. konnten in menschlicher Schilddrüsen-mRNA mittels Northern blots zwei kleinere TSH-Rezeptortranskripte nachweisen, die vermutlich durch „alternatives splicing“ der TSH-Rezeptor-RNA zustande kommen, nur für die extrazelluläre Domäne des TSH-Rezeptors kodieren und somit als Kandidaten für einen löslichen TSH-Rezeptor in Betracht kommen [33]. Durch PCR-gestützte Klonierung der TSH-Rezeptor-Splicingvarianten aus polysomaler Schilddrüsen-RNA ließen sich fünf alternativ gespligte Molekülvarianten nachweisen. Eines dieser Splicingvarianten-Transkripte kodiert aktuellen Befunden zufolge für die ersten 8 Exone sowie einen neuartigen 22 Aminosäuren-Carboxyterminus [18]. Die physiologische und pathophysiologische Bedeutung dieser durch alternatives Splicing entstandenen TSH-Rezeptormoleküle im Schilddrüsen-

gewebe und Serum von Patienten mit Morbus Basedow ist derzeit noch unklar [58]. Die Vorstellung eines löslichen TSH-Rezeptors bzw. Bindungsproteins für TSH oder TSH-Rezeptorantikörper im Serum von Patienten mit Immunthyreopathien bildet jedoch angesichts der möglichen funktionellen und immunologischen Konsequenzen in vivo und in vitro ein äußerst aufregendes Forschungsgebiet.

2. Zytokine und Adhäsionsmoleküle

Im Rahmen der Pathogenese der thyreoidalen und extrathyreoidalen Manifestation beim Morbus Basedow spielen parakrin und autokrin freigesetzte, lokal wirksame Zytokine und Wachstumsfaktoren bei der Interaktion immunkompetenter Zellen untereinander und deren Kommunikation mit Thyreozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und extrazellulären Matrixkomponenten eine zentrale Rolle. Zu den wichtigsten Funktionen von Zytokinen gehören u. a. die Regulation immunmodulatorischer Proteine (MHC-Klasse-I- und -II-Moleküle, Adhäsionsmoleküle, Streßproteine u. a.), die Aktivierung von T- und B-Lymphozyten und die Modulation metabolischer Prozesse (Zellproliferation, Produktion von Glykosaminoglykanen und Komponenten der extrazellulären Matrix). Thyreozyten sind in der Lage, zahlreiche Zytokine mit T-Zell-stimulierender Aktivität wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNF α und TGF β zu produzieren [71]. Unsere Arbeitsgruppe konnte im Schilddrüsengewebe von Basedow-Patienten IL-8 mRNA und IL-8-Protein in großen Mengen nachweisen (Abb. 2). IL-8 mRNA fand sich dabei vorwiegend im interfollikulären Bindegewebe und im Bereich der lymphozytären Zellinfiltrate, war jedoch auch in den hypertrophierten Thyreozytenfollikeln mäßig stark nachweisbar. Als Produktionsorte des zur CXC-Superfamilie gehörenden IL-8, das bereits in picomolaren Konzentrationen eine ausgeprägte Lymphozytenchemotaxis hervorruft, kommen in der Schilddrüse von Basedow-Patienten in erster Linie Monozyten/Makrophagen, Lymphozyten und Fibroblasten, daneben jedoch auch Thyreozyten und Endothelzellen in Betracht. Im Gegensatz hierzu ließ sich IFN γ -mRNA und -Protein in Basedow-Schilddrüsen nur im Bereich der mononukleären Zellinfiltrate nachweisen [72]. Neben anderen Zytokinen spielen IFN γ , TNF α und IL-1 eine wichtige Rolle bei der Aktivierung und anhaltenden Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle, die im Rahmen des Morbus Basedow bei der zellulären Infiltration thyreoidaler und extrathyreoidaler Gewebe von zentraler Bedeutung sind. Nach Zytokinaktivierung lassen sich im Schilddrüsengewebe zahlreiche Adhäsionsrezeptoren nachweisen, unter anderem ICAM-1, ICAM-2, ELAM-1, LFA-3 [43, 61, 63, 68]. Die koordinierte Aktivierung von Adhäsionsmolekülen im Gefäßendothel sowie von Gegenrezeptoren auf Lymphozyten und Makro-

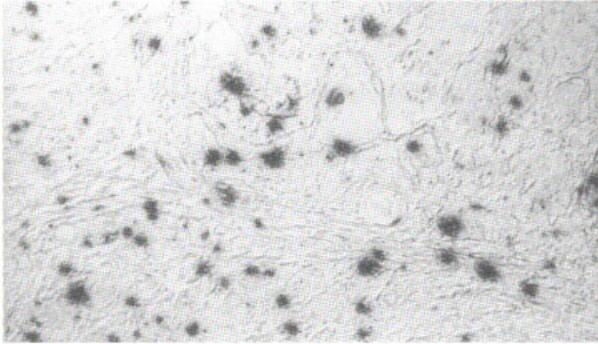


Abb. 2 Nachweis von Interleukin-8 messenger-RNA im Schilddrüsengewebe eines Patienten mit unbehandelter Immunhyperthyreose vom Typ Morbus Basedow. Nichtradioaktive in situ-Hybridisierung unter Verwendung einer Digoxigenin-markierten Oligonukleotid-sonde an Kryostatschnitten (DIC-Kontrastaufnahme, Originalvergrößerung $\times 400$).

phagen dürfte einen entscheidenden frühen Schritt in der Rekrutierung bestimmter Makrophagen- und T-Zellpopulationen in die Schilddrüse darstellen. Neben der Selektionsfunktion beim Überschreiten der Endothelbarriere besitzen Adhäsionsrezeptoren noch zahlreiche extravaskuläre Eigenschaften, denen in der Pathogenese des Morbus Basedow im Hinblick auf therapeutische Interventionen Schlüsselfunktionen zukommen dürften. Hierzu gehören die Aktivierung und Plazierung von Lymphozyten, die antigenabhängige Migration immunkompetenter Zellen, synergistische Effekte bei der Antigenpräsentation sowie zelluläre Effektorfunktionen bei der Erkennung und Zerstörung antigenpräsentierender Zellen [57]. Tamura et al. beobachteten im Tiermodell nach Gabe der Makrolidsubstanz FK 506 in Verbindung mit einer ausgeprägten Hemmung der mononukleären Zellinfiltration der Schilddrüse eine weitgehende Suppression zahlreicher immunologischer Aktivierungsmarker auf immunkompetenten Zellen, Thyreozyten und Endothelzellen, unter anderem der Adhäsionsrezeptoren ICAM-1 und LFA-1 [59]. Eine präzisere Charakterisierung der an der Auslösung und Perpetuierung von Immunthyreopathien beteiligten Adhäsionsmoleküle könnte einen wesentlichen Schritt auf dem Weg zur Entwicklung selektiverer Therapiestrategien darstellen, wie sie insbesondere bei Basedow-Patienten mit schwerer endokriner Orbitopathie vordringlich sind.

Die extrazellulären Domänen einiger der genannten Adhäsionsmoleküle sind bei Autoimmunerkrankungen auch in Form löslicher, im Blut zirkulierender Rezeptoren nachweisbar und dürften derzeit noch kaum bekannte immunmodulatorische Funktionen haben, die molekülabhängig von der Dämpfung einer überschießenden Immunantwort bis hin zur Aktivierung immunkompetenter Zellen reichen können. Im Serum von unbehandelten Patienten mit

Morbus Basedow sind signifikant erhöhte Konzentrationen an löslichem ICAM-1 (sICAM-1) nachweisbar, die bei gleichzeitigem Vorliegen einer aktiven endokrinen Orbitopathie sogar noch höher liegen können [20].

3. Infektionen, zellulärer und emotioneller Streß

Eine Bedeutung infektiöser und emotionaler Streßfaktoren als ursächliche- oder Triggermechanismen in der Pathogenese des Morbus Basedow wird seit vielen Jahren vermutet [64]. Vermutungen über eine kausale Rolle von HIV-Viren [8] erwiesen sich als nicht reproduzierbare Spekulation [44]. Die Assoziation des Morbus Basedow mit dem Nachweis von Spumavirussequenzen wurde bislang an größeren Fallzahlen und von anderen Labors nicht bestätigt [38]. Einen vorzüglichen Überblick über das komplexe Zusammenwirken infektiöser und immunologischer Mechanismen als mögliche Pathomechanismen beim Morbus Basedow und anderen Autoimmunerkrankungen vermittelt die Übersichtsarbeit von Tomer und Davies [64]. Das Konzept von Antigen-gemeinsamkeiten („molecular mimicry“) zwischen Schilddrüsenautoantigenen, extrathyreoidalen Antigenen, Streßproteinen [21], antigenen viralen oder bakteriellen Epitopen und Superantigenen bleibt durch kontroverse aktuelle Befunde weiter spannend. Arscott et al. fanden bei Patienten mit Morbus Basedow eine starke Stimulation der Proliferation intrathyreoidaler Lymphozyten durch *Yersinia-enterocolitica*-Releaseproteine, konnten jedoch kein für Basedow-Patienten spezifisches serologisches Reaktionsprofil mit *Yersinia*-Membranen oder -Releaseproteinen feststellen, so daß ein möglicher kausaler Zusammenhang zwischen *Yersinia*-infektion und Morbus Basedow durch eine Kreuzreaktivität von T-Zellen entstehen könnte [1]. In diesem Zusammenhang von Interesse sind auch Befunde von Luo et al., die eine selektive Kreuzreaktivität zwischen im Tiermodell hergestellten Antikörpern gegen die extrazelluläre Domäne des hTSH-Rezeptors und Hüllproteinpräparationen von *Yersinia enterocolitica* nachweisen konnten [39]. Diese Reaktivität war durch gereinigten hTSH-Rezeptor blockierbar. Im Gegenzug war auch die Reaktivität von Antiseren gegen *Yersinia enterocolitica* mit gereinigtem extrazellulärem TSH-Rezeptorprotein und *Yersinia-enterocolitica*-Hüllprotein blockierbar. Zumindest im Tiermodell könnte die Formation von TSH-Rezeptorkreuzreaktiven Antikörpern bei der Immunisierung gegen *Yersinia enterocolitica* zum Zusammenbruch der Selbsttoleranz für den TSH-Rezeptor führen und auf diesem Weg einen gegen den TSH-Rezeptor gerichteten Autoimmunprozeß in Gang setzen.

Auch emotionale Streßfaktoren sowie Umwelttoxene (Nikotin u. a.) dürften zu immunmodulatorischen Effekten führen und könnten beispielsweise durch

eine neuroendokrin vermittelte, zytokinabhängige HLA-DR-Expression in Thyreozyten die Präsentation von Antigenen stimulieren oder T-Zellen antigenunabhängig aktivieren. Zwischen dem Auftreten eines Morbus Basedow und vorangehenden einschneidenden psychischen Stresssituationen, wie dem Verlust eines Ehepartners, scheint eine enge Assoziation zu bestehen [56, 70]. Der methodische Ansatz solcher Studien leidet jedoch möglicherweise unter einer ungenügenden Präzisierung der Stressqualität, weil beispielsweise das Ableben eines mißliebigen Ehepartners möglicherweise gar keinen negativen Stressfaktor darstellt [53].

4. Immunmechanismen im Rahmen der endokrinen Orbitopathie (Abb. 3)

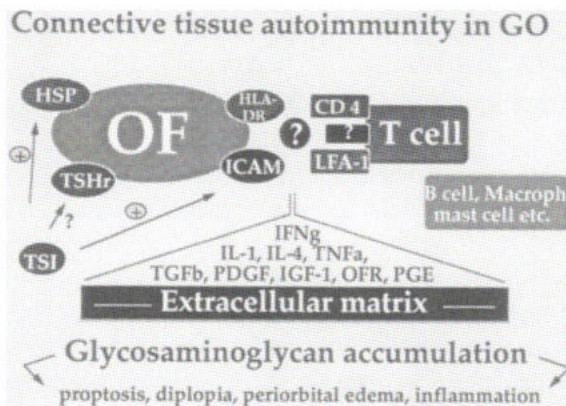


Abb. 3 Synopsis der Immunmechanismen im retroorbitalen Bindegewebe bei der endokrinen Orbitopathie (OF = Orbitafibroblast; HSP = Stressprotein; TSI = TSH-Rezeptor-stimulierende Antikörper).

Die klinischen Symptome der endokrinen Orbitopathie wie Proptosis, Augenmuskeldysfunktion und periorbitale Ödeme lassen sich auf mechanischer Basis durch die Zunahme des retroorbitalen Binde- und Muskelgewebes innerhalb der knöchernen Orbitae erklären. Die Volumenzunahme des retroorbitalen Gewebes resultiert aus einer Anhäufung von Kollagenen, hydrophilen Glykosaminoglykanen (GAG) und der damit verbundenen Flüssigkeitsretention im retroorbitalen Gewebe. Dieser Prozeß wird höchstwahrscheinlich von T-Lymphozyten unterhalten, die über bestimmte Adhäsionsmoleküle Zugang zum Retroorbitalraum erhalten [2, 3, 69]. Von aktivierten

Lymphozyten und Makrophagen sowie ortsständigen Zellen des retroorbitalen Bindegewebes freigesetzte Zytokine stimulieren in retroorbitalen Fibroblasten eine Reihe von Zellfunktionen wie die Produktion von GAG, die Expression von HLA-DR-Molekülen [22] und Streßproteinen [23, 24] sowie die Zellproliferation [25]. Während diese Prozesse in der Pathogenese der klinischen Manifestationen der endokrinen Orbitopathie eine wesentliche Rolle spielen, ist das primäre Antigen dieses vermutlichen Autoimmunprozesses nach wie vor unbekannt.

Klinisch besteht ein enger zeitlicher Zusammenhang zwischen der Manifestation einer endokrinen Orbitopathie und dem Auftreten einer immunogenen Hyperthyreose vom Typ Morbus Basedow. Als Ursache der Basedow-Hyperthyreose gelten Immunmechanismen, die gegen den TSH-Rezeptor gerichtet sind und dessen Funktion modulieren [13]. Bei Anwendung sensitiver diagnostischer Methoden kann eine endokrine Orbitopathie bei der überwiegenden Mehrzahl der Patienten mit Morbus Basedow nachgewiesen werden [3, 7]. Ein kleiner Prozentsatz von Patienten mit Morbus Basedow weist zusätzlich zu einer endokrinen Orbitopathie ein prätibiales Myxödem auf, während eine Akropathie von Fingern oder Zehen sehr selten vorkommt. Patienten mit einer oder mehreren extrathyreoidalen Manifestationen zeigen häufig eine besonders schwere Form der endokrinen Orbitopathie und weisen praktisch immer hohe Serumkonzentrationen an TSH-Rezeptor-stimulierenden Immunglobulinen auf. Auch wenn bislang keine klare Korrelation zwischen dem Schweregrad der endokrinen Orbitopathie und der Höhe der TSH-Rezeptorantikörper nachgewiesen werden konnte, finden sich bei der Mehrzahl der Patienten mit schwerer endokriner Orbitopathie deutlich erhöhte Konzentrationen an TSH-Rezeptor-stimulierenden Antikörpern. Die endokrine Orbitopathie kann demnach wohl kaum als eigenständige Erkrankung gelten, sondern repräsentiert am ehesten eine Manifestationsform in einem Spektrum von Krankheitsausprägungen, die in enger Assoziation mit dem Immunprozeß beim Morbus Basedow stehen. Wenn also ein gemeinsames Antigen als pathogenetisches Bindeglied zwischen den thyreoidalen und extrathyreoidalen Manifestationen beim Morbus Basedow in Betracht kommt, bildet der TSH-Rezeptor einen logischen Kandidaten. Derzeit fehlen noch überzeugende Befunde, denen zufolge der TSH-Rezeptor als Autoantigen von T-Lymphozyten erkannt wird [55, 60], während einige Befunde eine Interaktion zwischen TSH-Rezeptorantikörpern und extrathyreoidalen TSH-Rezeptoren erkennen lassen [26].

Für die Existenz eines TSH-Rezeptors außerhalb der Schilddrüse sprechen einige Befunde, die noch vor der Klonierung des TSH-Rezeptors mit nicht-molekularbiologischen Methoden an Fibroblasten und Adipozyten gewonnen wurden [54]. Darüber hinaus wurden auf Zellmembranen aus dem retroor-

bitalen Bindegewebe von Schweinen Bindungsstellen für ^{125}J -markiertes bovinen TSH nachgewiesen, die bevorzugt mit IgG-Antikörpern aus dem Serum von Patienten mit endokriner Orbitopathie reagierten [34]. Für die Existenz eines funktionell intakten TSH-Rezeptors auf retroorbitalen Fibroblasten sprechen auch Befunde unserer Arbeitsgruppe, die eine gesteigerte Expression verschiedener immunmodulatorischer Moleküle nach Stimulation retroorbitaler Fibroblasten mit IgGs von Patienten mit endokriner Orbitopathie und hohen TSH-Rezeptor-stimulierenden Immunglobulinen erkennen ließen [26]. Da diese Effekte jedoch nicht den klassischen, durch den TSH-Rezeptor in Thyreozyten vermittelten Funktionen entsprechen, bleibt die Existenz eines funktionell intakten TSH-Rezeptors im extrathyreoidalen Gewebe weiterhin hypothetisch.

Mehrere Arbeitsgruppen haben sich mittlerweile mit der Suche nach TSH-Rezeptor RNA in extrathyreoidalen Geweben befaßt. Mittels Northern blotting von Augenmuskel-mRNA sowie PCR-Amplifikation einer Augenmuskel-cDNA library gelang Paschke et al. kein Nachweis von Transkripten der extrazellulären Region des hTSH-Rezeptors [51]. Während diese Autoren ihre Befunde als Hinweis für das Fehlen eines TSH-Rezeptors im Orbitagewebe und damit als Argument gegen eine Rolle des TSH-Rezeptors als Autoantigen bei der endokrinen Orbitopathie interpretieren, sind andere Arbeitsgruppen zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen. Mittels Northern blotting und PCR konnten Rosselli-Rehfuß et al. TSH-Rezeptortranskripte zwar nicht im Augenmuskelgewebe von Kaninchen, wohl aber im Fettgewebe nachweisen [52]. Francis et al. konnten TSH-Rezeptortranskripte mittels PCR in Lymphozyten-RNA nachweisen [16], doch gelten diese Befunde infolge der Primerlokalisierung in der intronlosen intrazellulären Region als unsicher. Mittels reverse-transcriptase-PCR (RT-PCR) konnten Feliciello et al. RNA für den gesamten TSH-Rezeptor in nicht näher definierten Zellhomogenaten aus Schilddrüsen- und Retroorbitalgewebe, jedoch nicht in Fibroblasten und Muskelzellen nachweisen [15, 17].

Unsere Arbeitsgruppe hat in kultivierten retroorbitalen Fibroblasten von Patienten mit endokriner Orbitopathie mittels RT-PCR ein 705-Basenpaarlanges Fragment der extrazellulären Domäne des hTSH-Rezeptors nachgewiesen [27]. Zum Ausschluß einer Kontamination mit DNA wurde mit Primern amplifiziert, die mehrere Introns überspannen. Zusätzlich wurden sämtliche cDNA-Proben mit intronüberspannenden Primerpaaren für β -Aktin parallel amplifiziert und sämtliche Produkte durch Transskriptsequenzierung und Southern blotting mit einer internen Sonde kontrolliert. Die für den hTSH-Rezeptor kodierende RNA wurde in retroorbitalen und prätibialen Fibroblasten von Patienten mit endokriner Orbitopathie, gesunden Kontrollpersonen sowie TSH-Rezeptor-transfizierten CHO-Zellen nachgewiesen. Im

Gegensatz hierzu waren mit diesem Protokoll in verschiedenen anderen nicht-fibroblastären Zelllinien sowie nichttransfizierten CHO-Zellen keine hTSH-Rezeptortranskripte nachweisbar. Diese Befunde dokumentieren die Präsenz von TSH-Rezeptor-kodierender RNA in Fibroblasten und sprechen bei intakter Translation für die Expression des hTSH-Rezeptors in diesen Zellen. Seitdem konnten wir in retroorbitalen Fibroblasten RNA nachweisen, die für den gesamten hTSH-Rezeptor kodiert [28]. Derzeit laufende Studien müssen zeigen, ob tatsächlich ein funktionell intaktes TSH-Rezeptorprotein mit metabolischen Auswirkungen auf die Zelle sowie immunologischer Relevanz im Rahmen des orbitalen Immunprozesses exprimiert wird. Der Befund einer TSH-Rezeptorexpression in Fibroblasten aus allen untersuchten Regionen liefert auf den ersten Blick keine logische Erklärung für die extrathyreoidalen Prädispositionsstellen des Morbus Basedow im Bereich von Orbita und Prätibium. Andererseits liegen jedoch zahlreiche Befunde vor, die phänotypische, funktionelle und immunologische Unterschiede zwischen Fibroblasten aus unterschiedlichen anatomischen Regionen erkennen lassen [22, 23, 29–32]. Darüber hinaus könnten quantitative Unterschiede in der Expression des hTSH-Rezeptors oder Unterschiede in der gewebeabhängigen Expression einer alterierten hTSH-Rezeptorform bestehen. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß bei einigen Patienten mit endokriner Orbitopathie in Fibroblasten aus Orbita, Prätibium und Abdomen eine Punktmutation des hTSH-Rezeptorgens nachzuweisen ist [5]. Diese Mutation, die auch bei einem Patienten mit Immunhyperthyreose vom Typ Morbus Basedow nachgewiesen wurde, könnte immunologische Relevanz besitzen, weil sie möglicherweise die dreidimensionale Struktur des hTSH-Rezeptors verändert. Obwohl diese Mutation bislang nur bei einem kleinen Teil der Patienten mit Morbus Basedow nachzuweisen war, könnten hTSH-Rezeptorgenmutationen bei diesen Patienten funktionell und immunologisch bedeutsam sein. Darüber hinaus wurde in einer Basedow-Schilddrüse auch noch die somatische Mutation eines unterschiedlichen Nukleotids nachgewiesen [19].

Das Auftreten einer endokrinen Orbitopathie trotz Vorliegens einer biochemisch euthyreoten Stoffwechsellaage gilt als populäres Argument gegen eine mögliche Bedeutung des hTSH-Rezeptors bei dieser Erkrankung. Das Vorkommen von TSH-Rezeptorantikörpern mit heterogener Epitopspezifität und variabler funktioneller Aktivität ist gerade beim Morbus Basedow gut bekannt und in Arbeiten aus jüngster Zeit experimentell eindrucksvoll belegt [35, 36]. Obwohl bislang kaum Daten zum Immunglobulinrepertoire bei Patienten mit Morbus Basedow vorliegen, bestehen heute kaum noch Zweifel, daß Immunglobuline mit unterschiedlicher funktioneller Aktivität an verschiedene Regionen der extrazellulären TSH-Rezeptordomäne binden und nicht notwendigerweise mit der Region interagieren, die für die Bindung und funktionelle

Aktivität von TSH verantwortlich ist [3, 47, 49]. Das Auftreten einer endokrinen Orbitopathie bei Euthyreose widerlegt somit keineswegs die Möglichkeit, daß der hTSH-Rezeptor ein wichtiges, die thyreoidalen und extrathyreoidalen Manifestationen des Morbus Basedow verbindendes Antigen darstellt. Die Präsenz eines funktionell intakten TSH-Rezeptors im Orbitagewebe vorausgesetzt, dürfte das Konzept funktionell und immunologisch unterschiedlicher TSH-Rezeptorepitope, die mit den entsprechenden Immunglobulindomänen interagieren, auch wesentlichen Einfluß auf das Verständnis der endokrinen Orbitopathie haben.

Danksagung

Die vorgestellten und zitierten eigenen Untersuchungen erfolgten mit freundlicher Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (He 1485/2-1 und He 1485/3-1) sowie das National Eye Institute der NIH (EY 08819).

Literatur

- [1] Arscott, P., E. D. Rosen, R. J. Koenig et al.: Immunoreactivity to yersinia enterocolitica antigens in patients with autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75 (1992) 295–300.
- [2] Bahn, R. S., A. E. Heufelder: Mechanisms of disease: Pathogenesis of Graves' ophthalmology. *New Engl. J. Med.* (im Druck).
- [3] Bahn, R. S., A. E. Heufelder: Retroocular fibroblasts – important effector cells in Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 2 (1992) 89–94.
- [4] Bahn, R. S., G. M. Dutton, A. E. Heufelder et al.: A genomic point mutation in the extracellular domain of the TSH receptor in patients with Graves' ophthalmopathy (submitted).
- [5] Bahn, R. S., A. E. Heufelder, C. M. Dutton: A point mutation of the TSH receptor in retroocular fibroblasts from a patient with Graves' ophthalmopathy. *J. Endocrinol. Invest.* 16 (Suppl. 2 to No 6) (1993) 42 (Abstract).
- [6] Bohr, U. R. M., M. Behr, U. Loos: A point mutation PRO⁵²-THR in the hormone binding domain of the human thyrotropin receptor gene in a patient with Basedow' disease. *Exp. Clin. Endocrinol.* 101 (Suppl. 1) (1993) 103 (Abstrakt).
- [7] Burman, K. D., J. R. Baker: Immune mechanisms in Graves' disease. *Endocr. Rev.* 6 (1985) 183–232.
- [8] Ciampolillo, A., V. Marini, R. Mirakian et al.: Retrovirus-like sequences in Graves' disease: Implications for human immunity. *Lancet* 1 (1989) 1096–1100.
- [9] Costagliola, S., S. Swillens, P. Niccoli et al.: assay for thyrotropin receptor autoantibodies using the recombinant receptor protein. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75 (1992) 1540–1544.
- [10] Davies, T. F., E. S. Concepcion, A. Ben-Nun et al.: T-cell receptor V gene use in the autoimmune thyroid disease: direct assessment by thyroid aspiration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 76 (1993) 660–666.
- [11] Davies, T. F., A. Martin, E. S. Concepcion et al.: Evidence for selective accumulation of intrathyroidal T lymphocytes in human autoimmune thyroid disease based on T-cell receptor V gene usage. *J. Clin. Invest.* 89 (1992) 157–162.

- [12] Davies, T. F., A. Martin, E. S. Concepcion et al.: Evidence of limited variability of antigen receptors on intrathyroidal T-cells in autoimmune thyroid disease. *New Engl. J. Med.* 325 (1991) 238–244.
- [13] DeGroot, I. J., J. Quintans: The causes of autoimmune thyroid disease. *Endocr. Rev.* 10 (1989) 537–562.
- [14] Endo, T., M. Ohmori, M. Ikeda et al.: Heterogeneous responses of recombinant human thyrotropin receptor to immunoglobulins from patients with Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 186 (1992) 1391–1396.
- [15] Feliciello, A., A. Porcellini, I. Ciullo et al.: Expression of thyrotropin-receptor mRNA in healthy and Graves' disease retro-orbital tissue. *Lancet* 342 (1993) 337–338.
- [16] Francis, T., H. B. Burch, W. Y. Cai et al.: Lymphocytes express thyrotropin receptor-specific mRNA detected by the PCR technique. *Thyroid* 1 (1991) 223–228.
- [17] Franklyn, J. A.: Graves' ophthalmopathy and the TSH receptor. *Lancet* 342 (1993) 318–319.
- [18] Graves, P. N., Y. Tomer, T. F. Davies: Cloning and sequencing of a 1,3 KB variant human thyrotropin receptor mRNA lacking the transmembrane domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187 (1992) 1135–1143.
- [19] Heldin, N. E., B. Gustavsson, K. Westermark et al.: A somatic point mutation in a putative ligand binding domain of the TSH receptor in a patient with autoimmune hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 73 (1990) 1374–1376.
- [20] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in sera of patients with Graves' ophthalmopathy and thyroid diseases. *Clin. exp. Immunol.* 92 (1993) 296–302.
- [21] Heufelder, A. E., J. R. Goellner, B. E. Wenzel et al.: Immunohistochemical detection and localization of a 72 kDa heat shock protein in autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74 (1992) 724–731.
- [22] Heufelder, A. E., T. J. Smith, C. A. Gorman et al.: Increased induction of HLA-DR by interferon-gamma in cultured fibroblasts derived from patients with Graves' ophthalmopathy and pretibial dermopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 73 (1991) 307–313.
- [23] Heufelder, A. E., B. E. Wenzel, C. A. Gorman et al.: Detection, cellular localization and modulation of heat shock proteins in cultured fibroblasts from patients with extrathyroidal manifestations of Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 73 (1991) 739–745.
- [24] Heufelder, A. E., B. E. Wenzel, R. S. Bahn: Cell surface localization of a 72 kDa heat shock protein in retroocular fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74 (1992) 732–736.
- [25] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Stimulation of human retroocular fibroblast proliferation by paracrine/autocrine factors and its antagonism by glucocorticoid receptor agonists. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* (im Druck).
- [26] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Evidence for the presence of a functional TSH receptor in retroocular fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *Exp. Clin. Endocrinol.* 100 (1992) 62–67.
- [27] Heufelder, A. E., C. M. Dutton, G. Sarkar et al.: Detection of TSH receptor RNA in cultured fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy and pretibial dermopathy. *Thyroid* (in press).
- [28] Heufelder, A. E., C. M. Dutton, R. S. Bahn: Detection of RNA encoding the entire TSH receptor extracellular domain in cultured retroocular fibroblasts. *Proceedings of the Endocrine Society*, 1993, 429 (Abstrakt).
- [29] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Detection and localization of cytokine immunoreactivity in retroocular connective tissue in Graves' ophthalmopathy. *Eur. J. Clin. Invest.* 23 (1993) 10–17.

- [30] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Elevated expression in situ of selection and immunoglobulin superfamily adhesion molecules in retroocular connective tissues from patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin. Exp. Immunol.* 91 (1993) 381–389.
- [31] Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Graves' immunoglobulins and cytokines stimulate the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cultured Graves' orbital fibroblasts. *Eur. J. Clin. Invest.* 22 (1992) 529–537.
- [32] Heufelder, A. E., R. S. Bahn, K. P. Boergen et al.: Nachweis, Lokalisation und Modulation der CD44/Hyaluronsäure-Rezeptor-Expression bei Patienten mit endokriner Orbitopathie. *Med. Klin.* 88 (1993) 181–185 u. 318–319.
- [33] Hunt, N., K. P. Willey, D. Jähner et al.: Multiple forms of thyroid stimulating hormone receptor associated with Graves' disease. *Exp. Clin. Endocrinol.* 100 (1992) 22–27.
- [34] Kendall-Taylor, P., S. Atkinson, M. Holcombe: A specific IgG in Graves' ophthalmopathy and its relation to retro-orbital and thyroid autoimmunity. *Br. Med. J.* 288 (1984) 1183–1186.
- [35] Kosugi, S., T. Ban, T. Akamizu et al.: Identification of separate determinants on the thyrotropin receptor reactive with Graves' thyroid-stimulating antibodies and with thyroid-stimulating blocking antibodies in idiopathic myxedema: these determinants have no homologues sequence on gonadotropin receptors. *Mol. Endocrinol.* 6 (1992) 168–180.
- [36] Kosugi, S., T. Ban, T. Akazimu et al.: Use of thyrotropin receptor mutants to detect stimulating TSHr antibodies in hypothyroid patients with idiopathic myxedema who have blocking TSHr antibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77 (1993) 19–24.
- [37] Kosugi, S., T. Ban, L. D. Kohn: Identification of thyroid stimulating antibody-specific interaction sites in the N-terminal region of the thyrotropin receptor. *Mol. Endocrinol.* 7 (1993) 114–130.
- [38] Lagaye, S., P. Vexiau, Morozov et al.: Human spumaretrovirus-related sequences in the DNA of leucocytes from patients with Graves' disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 10070–10074.
- [39] Luo, G. L., J. F. Fan, G. S. Seetharamaiah et al.: Immunization of mice with yersinia enterocolitica leads to the induction of antithyrotropin receptor antibodies. *J. Immunol.* 151 (1993) 922–928.
- [40] Matsuoka, N., N. Bernard, E. S. Concepcion et al.: T-cell receptor V region β -chain gene expression in the autoimmune thyroiditis of non-obese diabetic mice. *J. Immunol.* 151 (1993) 1691–1701.
- [41] Matsuoka N., A. Martin, E. S. Concepcion et al.: Preservation of functional human thyroid organoids in the scid mouse: II. Biased use of intrathyroidal T-cell receptor V genes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77 (1993) 311–315.
- [42] McIntosh, R. S., P. E. Watson, A. P. Pickerill et al.: No restriction of intrathyroidal T-cell receptor V α families in the thyroid gland of Graves' disease. *Clin. exp. Immunol.* 91 (1993) 147–152.
- [43] Miyazaki, A., R. Mirakian, G. F. Bottazzo: Adhesion molecule expression in Graves' thyroid glands; potential relevance of granule membrane protein (GMP-140) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the homing and antigen presentation process. *Clin. exp. Immunol.* 89 (1992) 52–57.
- [44] Murakami, M., M. Mori: Identification of immunogenic regions in human thyrotropin receptor for immunoglobulin G of patients with Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171 (1990) 512–519.
- [45] Murakami, M., K. Miyashita, M. Yamada et al.: Characterization of human thyrotropin receptor-related peptide-like immunoreactivity in peripheral blood of Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 186 (1992) 1074–1080.

- [46] Nagayama, Y., K. D. Kaufman, P. Seto et al.: Molecular cloning, sequence and functional expression of the cDNA for the human thyrotropin receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165 (1989) 1184–1190.
- [47] Nagayama, Y., B. Rapoport: The thyrotropin receptor 25 years after its discovery: new insights after its molecular cloning. *Mol. Endocrinol.* 6 (1992) 145–156.
- [48] Nagayama, Y., B. Rapoport: Thyroid stimulatory autoantibodies in different patients with autoimmune thyroid disease do not all recognize the same components of the human thyrotropin receptor: selective role of receptor amino acids Ser25-Glu30. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75 (1992) 1425–1430.
- [49] Nagayama, Y., H. L. Wadsworth, D. Russo et al.: Binding domains of stimulatory and inhibitory thyrotropin (TSH) receptor autoantibodies determined with chimeric TSH-lutropin/chorionicgonadotropin receptors. *J. Clin. Invest.* 88 (1991) 336–340.
- [50] Parmentier, M., F. Libert, C. Maenhaut et al.: Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science* 246, 1620–1622.
- [51] Paschke, R., R. Elisei, G. Vassart et al.: Lack of evidence supporting the presence of messenger RNA for the thyrotropin receptor in extraocular muscle. *J. Endocrinol. Invest.* 16 (1993) 329–332.
- [52] Rosselli-Rehfuß, L., L. S. Robbins, R. D. Cone: Thyrotropin receptor messenger ribonucleic acid is expressed in most brown and white adipose tissues in the guinea pig. *Endocrinology* 130 (1992) 1857–1861.
- [53] Rosch, P. J.: Stressful life events and Graves' disease. *Lancet* 342 (1993) 566–567.
- [54] Rotella, G. M., R. Zonefrati, R. Toccafondi et al.: Ability of monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor to increase collagen synthesis in human fibroblasts: an assay which appears to measure exophthalmogenic immunoglobulins in Graves's sera. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 62 (1986) 357–367.
- [55] Sakata, S., S.-I. Tanaka, K. Okuda et al.: Autoimmune T-cell recognition sites of human thyrotropin receptor in Graves' disease. *Mol. Cell. Endocrinol.* 92 (1993) 77–82.
- [56] Sonino, N., M. E. Girelli, M. Boscaro et al.: Life events in the pathogenesis of Graves' disease: a controlled study. *Acta Endocrinol.* 128 (1993) 293–296.
- [57] Springer, T. A.: Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346 (1990) 425–434.
- [58] Takeshita, A., Y. Nagayama, K. Fujiyama et al.: Molecular cloning and sequencing of an alternatively spliced form of the human thyrotropin receptor transcript. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 188 (1992) 1214–1219.
- [59] Tamura, K., J. Woo, N. Murase et al.: Suppression of autoimmune thyroid disease by FK 506: influence on thyroid-infiltrating cells, adhesion molecule expression and anti-thyroglobulin antibody production. *Clin. exp. Immunol.* 91 (1993) 368–375.
- [60] Tandon, N., M. A. Freeman, A. P. Weetman: T-cell responses to synthetic TSH receptor peptides in Graves' disease. *Clin. exp. Immunol.* 89 (1992) 468–473.
- [61] Tandon, N., M. W. Makgoba, C. G. Gahmberg et al.: The expression and role in T-cell adhesion of LFA-3 and ICAM-2 on human thyroid cells. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 64 (1992) 30–35.
- [62] Teng, W. P., S. B. Cohen, D. N. Posnett et al.: T-cell receptor phenotypes in autoimmune thyroid disease. *J. Endocrinol. Invest.* 13 (1990) 339–342.
- [63] Tolosa, E., C. Roura, M. Catalfamo et al.: Expression of intercellular adhesion molecule-1 in thyroid follicular cells in autoimmune, non-autoimmune and neoplastic diseases of the thyroid gland: Discordance with HLA. *J. Autoimmun.* 5 (1992) 107–118.
- [64] Tomer, Y., T. F. Davies: Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr. Rev.* 14 (1993) 107–120.
- [65] Tominaga, T., S. Katamine, H. Namba et al.: Lack of evidence for the presence of human immunodeficiency virus type 1-related sequences in patients with Graves' disease. *Thyroid* 1 (1991) 307–314.

- [66] Wadsworth, H. L., D. Russo, Y. Nagayama et al.: Studies on the role of amino acids 38–45 in the expression of a functional thyrotropin receptor. *Mol. Endocrinol.* 6 (1992) 394–398.
- [67] Weetman, A. P.: Autoimmune thyroiditis: predisposition and pathogenesis. *Clin. Endocrinol.* 36 (1992) 307–323.
- [68] Weetman, A. P., M. Freeman, L. K. Borysiewicz et al.: Functional analysis of intercellular adhesion molecule-1-expressing human thyroid cells. *Eur. J. Immunol.* 20 (1990) 271.
- [69] Weetman, A. P.: Thyroid associated eye disease: pathophysiology. *Lancet* 338 (1991).
- [70] Winsa, B., H. O. Adami, R. Berstrom et al.: Stressful life events and Graves' disease. *Lancet* 338 (1991) 1475–1479.
- [71] Zheng, R. Q. H., E. Abney, C. Q. Chu et al.: Detection of IL-6 and IL-1 production in human thyroid epithelial cells by non-radioactive in situ hybridization and immunohistochemical methods. *Clin. exp. Immunol.* 83 (1991) 314–319.
- [72] Zheng, R. Q. H., E. R. Abney, C. Q. Chu et al.: Detection of in vivo production of tumor necrosis factor-alpha by human thyroid epithelial cells. *Immunology* 75 (1992) 456–462.

Diskussion

Kallee:

Der Morbus Basedow ist doch eine polytope, polymorphe Systemerkrankung des lymphatischen Apparates. Außer der Schilddrüse und den Augen sind vielfach auch andere Organe befallen, beispielsweise denke ich an Diabetes, Polyarthrit, Gicht und Gastritis mit perniziöser Anämie, die meist nicht gleichzeitig, sondern sukzessiv auftreten. Wie ist das auf „genetischer Ebene“ zu erklären?

Heufelder:

Es kommt darauf an, welche Philosophie man vertritt, ob man glaubt, daß der Morbus Basedow eine antikörperabhängige oder eine T-Zell-abhängige Erkrankung ist. Die meisten würden, glaube ich, zustimmen, daß er eine T-Zell-vermittelte Erkrankung ist, die dann zur B-Zellstimulation und dann zur Antikörperbildung führt. Ob T-Zellen in der Magenschleimhaut, im Gelenk oder, wo immer Sie sie finden, im Pankreas vorhanden sind, ich weiß es nicht so genau. Aber ich könnte mir vorstellen, man müßte untersuchen, ob das die gleichen T-Zellen sind.

Möglicher Transfer einer immunogenen Hyperthyreose bei einer Knochenmarktransplantation (KMT)

S. Lederbogen, K. Quabeck, H. Grosse-Wilde, K. Badenhoop, K. H. Usadel, Th. Olbricht, D. Reinwein

Obwohl der Pathomechanismus der Hyperthyreose vom Typ Morbus Basedow noch nicht vollständig aufgeklärt ist, wird heute von einem Zusammenreffen einer genetisch determinierten Disposition und äußerer Einflüsse ausgegangen [2, 5]. Bekannt ist, daß die Determinanten immunologischer Parameter im Rahmen einer allogenen KMT übertragen werden können. Holland et al. [3] beschrieben das Auftreten einer immunogenen Hyperthyreose bei zwei Geschwistern acht Jahre nach erfolgreicher KMT. Lampeter et al. [4] beobachteten bei einer Patientin das Auftreten eines insulinpflichtigen Diabetes mellitus vier Jahre nach KMT. Der Bruder (Spender) litt bereits zum Zeitpunkt der Transplantation an einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus. In beiden Fällen ist der lange Zeitraum zwischen Transplantation und Ausbruch der Erkrankung bemerkenswert, so daß ein Zusammenhang nur vermutet werden konnte. Wir berichten über den ersten Fall eines Auftretens einer immunogenen Hyperthyreose direkt in Anschluß an eine KMT.

Eine 26jährige Patientin erkrankte 10/91 an einer akuten myeloischen Leukämie. Nach drei Kursen Chemotherapie nach dem TAD-Protokoll konnte eine komplette Remission erreicht werden. Im Mai 1992 erfolgte in der Inneren Klinik (Tumorforschung) Essen die erfolgreiche KMT. Spenderin war die 35jährige HLA-identische Schwester, die sich jedoch in einem HLA-DPB Allel von ihrer Schwester unterschied (Abb. 1). Bei einer Kontrolluntersuchung drei Wochen vor Transplantation konnte klinisch und biochemisch eine eindeutig euthyreote Stoffwechsellaage sowie ein unauffälliger Antikörperstatus dokumentiert werden (Normwerte für fT4, fT3, TSH 1,4 mU/l, TRAK < 5 U/l). Vier Wochen nach der KMT traten Tachykardien bis 116 min^{-1} und ein Gewichtsverlust von 6 kg auf. Zehn Wochen nach Transplantation sicherten wir dann eindeutig eine floride Hyperthyreose (fT3 14.5 pmol/l, fT4 42.0 pmol/l, TSH < 0.1 mU/l) bei Morbus Basedow (TPO-AK 691 U/ml, TAK 883 U/ml, TRAK 22 U/l). Sonographisch konnte eine Struma diffusa (Volumen 38 ml) mit typisch echoarmer Binnenstruktur dargestellt werden. Die ergänzende 99m-Technetiumszintigraphie war nach Jodkontamination durch oral applizierte Desinfektionsmittel nicht verwertbar, der Uptake betrug nur

0,2%. Eine thyreostatische Therapie mit Methimazol 40 mg/die wurde eingeleitet. Zufällig wurde bei o.g. Schwester zum gleichen Zeitpunkt ebenfalls eine floride Hyperthyreose entdeckt (T4 403 nmol/l, T3 10.05 nmol/l, fT4 49 pmol/l, TSH < 0.23 mU/l, TRAK 70 U/l). Da die klinischen Symptome bereits einige Monate bestanden, muß von einer Hyperthyreose bereits zum Zeitpunkt der Transplantation ausgegangen werden.

vor KMT:

– Patientin:	HLA-DPB*0401,0401
– Spenderin:	HLA-DPB*0101,0401

nach KMT:

– Patientin:	DQA1*0301/*0501	DQB1*0201/*0302
– Spenderin:	DQA1*0301/*0501	DQB1*0201/*0302

Abb. 1 Molekulargenetische Untersuchungen.

Nach der KMT konnte aus EDTA-Blutproben der beiden Schwestern DNA isoliert und mittels Polymerasekettenreaktion eine HLA DQA1/DQB1 Typisierung angeschlossen werden (Abb. 1). Im weiteren Verlauf konnte die Methimazoldosis auf 5 mg/die reduziert werden, zusätzlich wurde L-Thyroxin 50 µg/die verordnet. Bei einer Kontrolluntersuchung 13 Monate nach Diagnosestellung befand sich die Patientin in einem guten Allgemeinzustand, bei euthyreoter Stoffwechsellaage erfolgt seitdem ein Auslaßversuch. Schilddrüsenvolumen (18 ml) und Binnenstruktur hatten sich normalisiert.

Die Hypothese, daß bei unserer Patientin ein Transfer eines organspezifischen T-Suppressor-Zell-Defektes und kein zufälliges Auftreten vorliegt, wird durch die sehr rasche Entwicklung der Hyperthyreose nach KMT unterstützt, auch wenn ein endgültiger Beweis aussteht.

Ein unspezifischer T-Suppressor-Zell-Defekt, bedingt durch äußere Einflüsse (e. g. Stress, Medikamente etc.), könnte einen zusätzlichen Faktor darstellen. Darüber hinaus fand sich nach KMT bei den molekulargenetischen Untersuchungen eine Identität der Schwestern für DQA1/DQB1. Da eine Häufung des auch bei den beiden Schwestern nachgewiesenen Allel DQA1*0501 bei Patienten mit Morbus Basedow beschrieben wurde [1], muß hier ein weiterer prädisponierender Faktor angenommen werden.

Literatur

- [1] Badenhop, K., H. Schleusener, K. H. Usadel: Immunogenetics of Endocrine Ophthalmopathy and Graves' Disease. In: G. Kahaly (Hrsg.): Endocrine Ophthalmopathy. Molecular, Immunological and Clinical Aspects. Dev. Ophthalmol., vol. 25, S. 11–19. Karger, Basel 1993.

- [2] Farid, N. R.: Understanding the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease — Still an Illusive Goal! *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74 (1992) 495A—495B.
- [3] Holland, F. J., J. K. McConnon, R. Volpé et al.: Concordant Graves' Disease after Bone Marrow Transplantation: Implications for Pathogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72 (1991) 837—840.
- [4] Lampeter, E. F., M. Homberg, K. Quabeck et al.: Transfer of insulin-dependent diabetes between HLA-identical siblings by bone marrow transplantation. *Lancet* 341 (1993) 1243—1244.
- [5] Volpé, R.: Pathogenesis of Graves' Disease. In: L. E. Bravermann, R. E. Utiger (Hrsg.): *The Thyroid. A fundamental and clinical text*, S. 648—657. J. B. Lippincott Co, Philadelphia 1991.

Schilddrüsenantikörper und die Intensität des intrathyreoidalen Autoimmunprozesses bei Morbus Basedow

R. Paschke

Einleitung

Die Bedeutung unterschiedlich erhöhter Schilddrüsen Autoantikörpertiter bei Morbus Basedow ist bisher weitgehend unbekannt. So erlaubt nach den Ergebnissen der größten prospektiven Studie die Bestimmung der Schilddrüsenantikörper nach einer thyreostatischen Therapie keine Vorhersage des individuellen Morbus Basedow Verlaufs [20].

Der Morbus Basedow ist ein organspezifischer Autoimmunprozeß, welcher durch eine lymphozytäre Infiltration der Schilddrüse gekennzeichnet ist. Trotz extrathyreoidaler Syntheseorte für Schilddrüsenantikörper [18, 23] scheinen die intrathyreoidalen Lymphozyten der bedeutendste Ort der Schilddrüsenantikörpersynthese zu sein [7, 14, 16].

Mikrosomale Antikörper korrelieren mit der Intensität der intrathyreoidalen Infiltration durch B-Lymphozyten und mit der Anzahl intrathyreoidaler Lymphozyten bei lymphozytärer Thyreoiditis und in normalen Schilddrüsen [10, 11, 24]. Es ist bisher jedoch nicht bekannt, ob dies auch für den Morbus Basedow zutrifft. Weiterhin ist bisher unbekannt, ob die TSH Rezeptorantikörper mit dem Ausmaß der lymphozytären Schilddrüseninfiltration korrelieren. Daher wurde die Korrelation der Schilddrüsenantikörper bei Morbus Basedow mit der Intensität der Infiltration durch solche immunkompetenten Zellen untersucht, für welche eine Beteiligung im Autoimmunprozeß bei Morbus Basedow bekannt ist.

Patienten und Methoden

26 Patienten, deren Schilddrüse wegen eines Morbus Basedow subtotal reseziert wurde (mittleres Alter 36.7 ± 2.1 Jahre), wurden prospektiv untersucht. 24 Patienten wurden präoperativ mit Carbimazol und 2 Patienten mit Propylthiouracil behandelt. Die Schilddrüsenantikörper wurden innerhalb von 2 Wochen präoperativ mittels Radiorezeptorassay (TSH Rezeptorantikörper, Henning, Berlin), Enzymimmunassay (mikrosomale Antikörper, Elias, Frei-

burg) und Radioimmunassay (Thyreoglobulin Antikörper, Henning, Berlin) bestimmt.

Beide Schilddrüsenlappen wurden standardisiert aufgearbeitet und in Formalin fixiert. Für jeden Schilddrüsenlappen wurde ein kompletter Querschnitt in Paraffin eingebettet. Serienschnitte wurden mit dem polyklonalen Antikörper für interdigitierende Retikulumzellen (Antigen präsentierende Zellen) [9], mit polyklonalen Antikörpern für IgG lambda und kappa Leichtketten und mit dem monoklonalen Antikörper für aktivierte T-Zellen (CD45R0), welche die Weizenkeim-Mitogen-stimulierte-IgG-Synthese unterstützen [1, 22], angefärbt. Für alle Antikörper (Dako) wurde die Avidin-Biotin-Methode angewandt.

Die Intensität der lymphozytären Schilddrüseninfiltration wurde durch die Punktzählmethode [5] in 100 Gesichtsfeldern/Schilddrüse bei 300facher Vergrößerung bestimmt und als Volumen% berechnet. Die bekannte Punktzählmethode [5] korreliert nach vorausgegangenen Untersuchungen mit der Auszählung der Lymphozyten [17]. Mit beiden Methoden lassen sich für den jeweiligen Schilddrüsenlappen repräsentative Ergebnisse ermitteln [3, 17]. Da sich die immunhistologische Anfärbung besser bei höheren Vergrößerungen beurteilen läßt, für welche die Punktzählmethode nicht anwendbar ist, wurde die Gesamtzahl aller Lymphozyten und die Anzahl sowie der Prozentsatz der angefärbten Lymphozyten jeweils in 51 zufällig ausgewählten Gesichtsfeldern bei 500facher Vergrößerung bestimmt. Auf Grund der geringeren Häufigkeit der S 100 positiven Antigen präsentierenden Zellen wurden diese in 3 Schnitten pro Schilddrüse ausgezählt. Die Fläche der Schnitte wurde morphometrisch mit dem Leitz ASM 68K bestimmt. Die Infiltration durch S 100 positive Zellen wurde dann pro 20 cm² Schnittfläche berechnet.

Ergebnisse

Die Intensität der lymphozytären Schilddrüseninfiltration variierte von 0.1 – 28.0 Volumen% (Mittelwert 5.1 Volumen%). Eine ähnlich große Variabilität konnte auch für kappa positive (Range 3 – 1145, Mittelwert 308,1) und lambda positive (Range 2 – 572, Mittelwert 156,5) Plasmazellen, aktivierte T-Zellen (Range 42 – 4321, Mittelwert 852) und Antigen präsentierende Zellen (Range 0 – 2406, Mittelwert 251) beobachtet werden. Eine Korrelation zwischen TSH-Rezeptorantikörperwerten und denen für mikrosomale Antikörper bestand nicht. Auch das Alter der Patienten korrelierte nicht mit den Antikörpertitern.

Mikrosomale Antikörper und Thyreoglobulinantikörper korrelierten signifikant mit dem Ausmaß der lymphozytären Schilddrüseninfiltration sowie mit

Tabelle 1 Korrelation der innerhalb von 2 Wochen präoperativ bestimmten TSH-Rezeptorantikörper (TRAK), der mikrosomalen Antikörper (MAK) und der Thyreoglobulinantikörper (TAK) mit der Intensität der intrathyreoidalen Infiltration durch immunkompetente Zellen

n: Anzahl Patienten r: Korrelationskoeffizient p: Irrtumswahrscheinlichkeit n. s.: nicht signifikant ($p > 0,05$)	TRAK n = 25	MAK n = 24	TAK n = 15
Gesamtlymphozyten	r = 0,34 n. s.	r = 0,86 p = 0,0001	r = 0,88 p = 0,0001
Lymphozyten (Vol%)	r = 0,19 n. s.	r = 0,92 p = 0,0001	r = 0,90 p = 0,0001
Lambda-positive Lymphozyten (Zahl)	r = 0,45 p = 0,02	r = 0,71 p = 0,001	r = 0,64 p = 0,009
Kappa-positive Lymphozyten (Zahl)	r = 0,27 n. s.	r = 0,71 p = 0,0001	r = 0,56 p = 0,02
UCLH1-positive Lymphozyten (Zahl)	r = 0,13 n. s.	r = 0,90 p = 0,0001	r = 0,85 p = 0,0001
Antigen-präsentierende Zellen	r = 0,06 n. s.	r = 0,90 p = 0,0001	r = 0,73 p = 0,001
Anzahl interstitieller Aggregate	r = 0,24 n. s.	r = 0,71 p = 0,0004	r = 0,56 p = 0,02
Anzahl Sekundärfollikel	r = 0,07 n. s.	r = 0,93 p = 0,0001	r = 0,84 p = 0,0001

dem Ausmaß der Schilddrüseninfiltration durch IgG produzierende Plasmazellen, aktivierte T-Zellen und Antigen präsentierende Zellen. Die mit einem Radioligandenassay gemessenen TSH-Rezeptorantikörperwerte zeigten dagegen bis auf eine grenzwertig signifikante Korrelation für lambda positive Plasmazellen nicht signifikante ($p < 0,05$) Korrelationen (Tab. 1).

Die Korrelationsdiagramme für TSH-Rezeptorantikörper und mikrosomale Antikörper mit den UCLH1 positiven Lymphozyten (Abb. 1), deren Korrelationskoeffizienten signifikant unterschiedlich sind, zeigen jeweils einen Patienten mit hohen Titern für mikrosomale (60500 U/l) und TSH-Rezeptorantikörper (438 U/l), welche die Korrelationen unverhältnismäßig beeinflussen könnten. Jedoch auch ohne diese Werte bleibt der signifikante Unterschied für die Korrelationen der mikrosomalen und TSH-Rezeptorantikörper mit den intrathyreoidalen immunkompetenten Zellen erhalten.

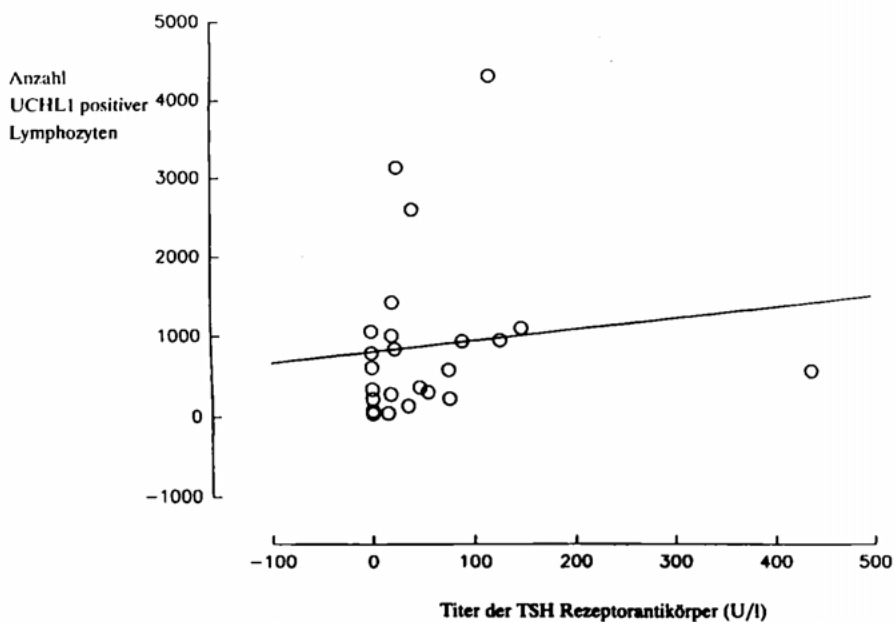
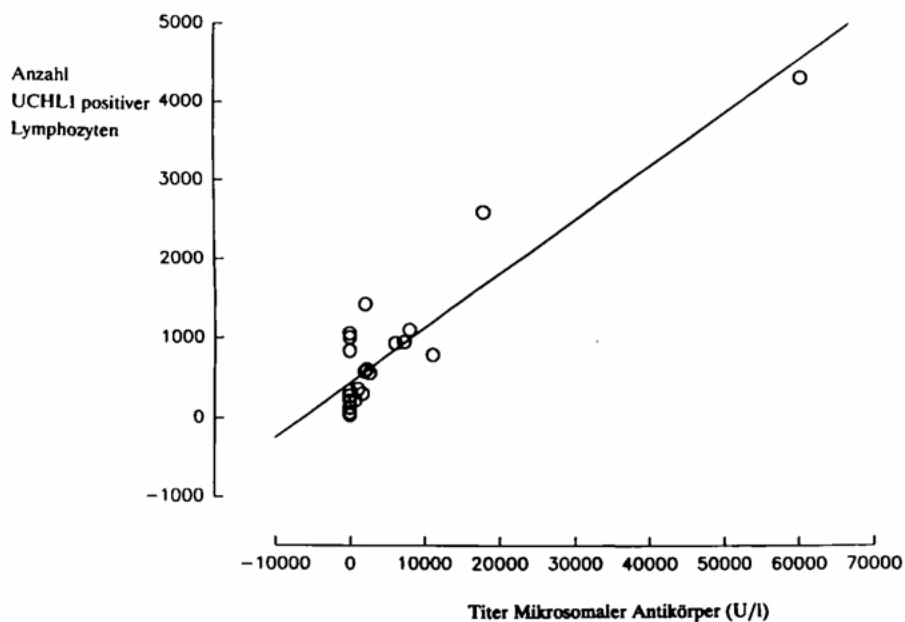


Abb. 1 Korrelationsdiagramm für mikrosomale und TSH-Rezeptorantikörper mit der Anzahl der aktivierten T-Zellen (UCHL1 positiv).

Diskussion

Die für diese Untersuchung verwandten Antikörper identifizieren immunkompetente Zellen, welche für die Aktivität des intrathyreoidalen Autoimmunprozesses bei Morbus Basedow repräsentativ und weitgehend spezifisch sind. IgG produzierende Plasmazellen sind wahrscheinlich an der intrathyreoidalen Schilddrüsenantikörpersynthese beteiligt. Über 50% der intrathyreoidalen T-Zellen sind aktiviert [12]. CD45R0 positive aktivierte T-Zellen unterstützen die Weizenkeim-Mitogen-stimulierte-IgG-Synthese [1, 22]. Interdigitierende Retikulumzellen können Antigen effektiver als andere Antigen präsentierende Zellen präsentieren [2]. Weiterhin sind dendritische Zellen, welche für die Perpetuierung des Autoimmunprozesses von großer Bedeutung sind, im Erfolgsorgan eines organspezifischen Autoimmunprozesses vermehrt [8].

Die Bedeutung unterschiedlicher Titer für mikrosomale Antikörper bei Morbus Basedow ist weitgehend unbekannt. Da Patienten mit Morbus Basedow in der Regel mehrere Schilddrüsenantikörper aufweisen, ist es schwierig, die Effekte eines Antikörpers von denen der anderen zu diskriminieren. Die Assoziation der mikrosomalen und Thyreoglobulinantikörper mit einer erhöhten Infiltration der Schilddrüse durch Lymphozyten, Plasmazellen, aktivierte T-Zellen und Antigen präsentierende Zellen erscheint jedoch auf Grund der signifikanten Korrelationskoeffizienten am bedeutendsten zu sein.

Nach In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen werden die TSH-Rezeptorantikörper überwiegend intrathyreoidal gebildet [7, 14]. Im Gegensatz zu den Ergebnissen für mikrosomale und Thyreoglobulinantikörper konnte jedoch für die TSH-Rezeptorantikörper, mit Ausnahme der lambda positiven Lymphozyten, mit keiner der untersuchten Populationen immunkompetenter Zellen eine signifikante Korrelation gefunden werden. Der bekannte extrathyreoidale Beitrag zur Schilddrüsenantikörpersynthese [18, 23] sowie Fälle von Morbus Basedow ohne nachweisbare TSH-Rezeptorantikörper [4, 6] sind mögliche Erklärungen für das Fehlen von signifikanten Korrelationen zwischen TSH-Rezeptorantikörpertitern und der Intensität der intrathyreoidalen lymphozytären Schilddrüseninfiltration. Auch eine mangelnde Spezifität der gegenwärtigen TSH-Rezeptorantikörperbindungsassays sowie die mögliche Beteiligung nur weniger intrathyreoidaler immunkompetenter Zellen an der Autoantikörpersynthese können weitere Gründe für die fehlenden signifikanten Korrelationen sein.

Die Korrelationsdiagramme der mikrosomalen und TSH-Rezeptorantikörper mit den immunkompetenten Zellen haben ein gemeinsames wichtiges Charakteristikum. Sie beinhalten alle eine Gruppe von Patienten mit präoperativ nicht nachweisbaren TSH-Rezeptor- ($n = 8$) und mikrosomalen Antikörpern ($n = 11$), welche bereits trotz präoperativ negativer Antikörper eine große

Variabilität der lymphozytären Schilddrüseninfiltration zeigen. Diese Grundvariabilität erstreckt sich über einen großen Teil der gesamten Variabilität der Schilddrüseninfiltration durch immunkompetente Zellen. Trotz der signifikanten Korrelationskoeffizienten wird es daher im Einzelfall schwierig sein, von peripheren Schilddrüsenantikörpertitern auf die Intensität der Schilddrüseninfiltration durch immunkompetente Zellen zurückschließen. Diese Ergebnisse stimmen mit der eingeschränkten prädiktiven Bedeutung der Schilddrüsenantikörper überein [20]. Weiterhin kann ein erheblicher Anteil der intrathyreoidalen immunkompetenten Zellen einer unspezifischen Infiltration zugerechnet werden, da wahrscheinlich nur 2–6% der intrathyreoidalen T-Zellen autoreaktiv sind [13, 15].

Literatur

- [1] Akbar, A. N., L. Terry, A. Timms et al.: Loss of CD 45R and gain of UCHL 1 reactivity is a feature of primed T-cells. *J. Immunol.* 140 (1988) 2171–2178.
- [2] Banga, U. P., P. S. Barnett, D. Mahadevan et al.: Immune recognition of antigen and its relevance to autoimmune disease: recent advances at the molecular level. *Eur. J. Clin. Invest.* 19 (1989) 107–116.
- [3] Deneff, J. F., A. C. Cordier, M. Mesquita et al.: The influence of fixation procedure, embedding medium and section thickness on morphometric data in thyroid gland. *Histochem.* 63 (1979) 163–171.
- [4] Endo, T., K. Haraguchi, M. Ohmori et al.: Thyrotropin receptor non mediated thyroid stimulating immunoglobulin in Graves' disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 3 (1991) 1543–1547.
- [5] Haug, H.: Die Treffermethode, ein Verfahren zur quantitativen Analyse im histologischen Schnitt. *Zeitschr. Anat. Entwicklungsgesch.* 118 (1955) 302–312.
- [6] Ilicki, A., A. Gamstedt, A. Karlsson: Hyperthyroid Graves' disease without detectable Thyrotropin receptor antibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74 (1992) 1090–1094.
- [7] Kendall-Taylor, P., A. J. Knox, N. R. Steel et al.: Evidence that thyroid stimulating antibody is produced in the thyroid gland. *Lancet* 1 (1984) 645–655.
- [8] King, P. D., D. R. Katz: Mechanisms of dendritic cell function. *Immunology Today* 11 (1990) 206–211.
- [9] Lauriola, L., F. Michetti, S. Sentinelle et al.: Detection of S-100 labelled cells in nasopharyngeal carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 37 (1984) 1235–1238.
- [10] Maänpää, J., I. Lautenschlager, M. Nyberg et al.: Thyroid-infiltrating lymphocytes, thyroid function and HLA-DR in juvenile autoimmune thyroiditis. *Acta Endocrinol.* 121 (1989) 573–577.
- [11] Maagoe, H., I. Reintoft, H. E. Christensen et al.: Lymphocytic thyroiditis I. Correlations between morphological, immunological and clinical findings. *Acta Med. Scand.* 201 (1977) 299–302.
- [12] MacKenzie, W. A., A. E. Schwartz, E. W. Friedman et al.: Intrathyroidal T-cell clones from patients with autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64 (1987) 818–824.
- [13] Mariotti, S., L. Chiovato, P. Vitti et al.: Recent advances in the understanding of humoral and cellular mechanisms implicated in thyroid autoimmune disorders. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 50 (1989) 73–84.