

# Resistenz gegen TSH

## Resistance to Thyrotropin

O.E. Janssen<sup>1</sup>, Beate Quadbeck<sup>1</sup>, S. Refetoff<sup>2</sup>

**Zusammenfassung:** Das Syndrom der Resistenz gegen TSH (RTSH) beruht auf einer verminderten Wirkung des biologisch aktiven TSH-Moleküls an dessen Rezeptor. Betroffene Patienten haben erhöhte TSH-Spiegel, niedrig-normale oder erniedrigte Trijodthyronin (T<sub>3</sub>) und Thyroxin (T<sub>4</sub>) Spiegel und meist eine normale Schilddrüsenmorphologie. In Abhängigkeit vom Schweregrad der Resistenz variiert nicht nur das klinische Erscheinungsbild, sondern auch der Grad der Erhöhung der TSH-Serumspiegel und der Erniedrigung der Schilddrüsenhormon-Serumspiegel. Differentialdiagnostisch sind Patienten mit einer primären Hypothyreose (erhöhtes TSH, erniedrigtes T<sub>4</sub> und hypoplastische Schilddrüse) und Patienten mit beginnender zentraler Hypothyreose (niedrig-normales oder erniedrigtes T<sub>4</sub> bei noch nachweisbarem TSH) abzugrenzen. Bei fünfzehn Familien mit homozygot rezessiver oder kombiniert-heterozygoter Vererbung wurden Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen als Ursache der RTSH nachgewiesen. Die Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen führen aufgrund einer veränderten Ligandenbindung bzw. eines Synthese- oder Prozessierungsdefektes zu einer verminderten oder fehlenden Rezeptorfunktion. Der Phänotyp der Resistenz gegen TSH findet sich auch in einer großen Anzahl von Familien, bei denen sich keine Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen nachweisen ließen. In den meisten dieser Familien wird der Phänotyp autosomal dominant vererbt, die zugrundeliegende genetische Ursache ist jedoch bislang nicht bekannt.

**Schlüsselwörter:** Thyreotropin; TSH-Rezeptor-Mutationen; Schilddrüsenhormone; RTSH; TSH-Rezeptor-Gen; Schilddrüse.

**Summary:** Resistance to thyrotropin (TSH) is a syndrome of reduced sensitivity to a biologically active TSH molecule. Subjects have elevated TSH levels but

no goiter. However, thyroid hormone concentration may vary from normal to very low, depending on the severity of the resistance. Individuals with very high TSH, low thyroxine (T<sub>4</sub>), and hypoplastic thyroid glands can be mistakenly diagnosed with primary hypothyroidism due to agenesis of the thyroid gland. Those with normal or slightly decreased T<sub>4</sub> can be misdiagnosed as having central hypothyroidism, especially if their serum TSH concentration is only slightly elevated. Mutations in the TSH receptor (TSHr) gene have been reported in fifteen families with homozygous recessive or compound heterozygous inheritance. The mutant TSHrs show reduced or no function due to either altered ligand binding or a defect in membrane targeting. A larger proportion of families express the phenotype in the absence of a TSHr defect. In many, the inheritance is dominant and the genetic cause has not yet been determined.

**Keywords:** TSH receptor mutations; TSH action; thyroid hormones; RTSH; TSH receptor gene.

## Hormonresistenz

Resistenzsyndrome von Hormonen haben eine verminderte oder fehlende Zielorganantwort auf die Stimulation durch das betreffende Hormon zur Folge. Prinzipiell lassen sich hierbei vier verschiedene Mechanismen unterscheiden: 1. Eine verminderte biologische Aktivität der Hormone durch Mutationen, die eine verminderte Synthese oder einen Defekt der Hormonmoleküle bewirken. Da der Rezeptor selbst nicht betroffen ist, spricht man von einer „Pseudo-Resistenz“. 2. Die Synthese eines veränderten Hormonrezeptors durch Mutationen des Rezeptorproteins, die die Fähigkeit des Rezeptors, den Liganden, Proteinkofaktoren oder DNA zu binden, vermindert. Solche Defekte werden als Funktionsverlust-Mutationen bezeichnet („loss-of-function“). 3. Defekte von Kofaktoren oder anderen interagierenden Substanzen, die die Wirkung des Hormonrezeptors vermitteln indem sie einen stabilisierenden oder modulierenden Komplex mit diesem und dem Hormon bilden. 4. Defekte in der von Zellmembran gebundenen Hormonrezeptoren, wie z. B. auch der TSH-Rezeptor, aktivierten Signaltransduktion. Die verminderte Aktivierung dieser sogenannten „second-messenger“, z. B. durch Mutationen in Guanin-Nukleotid-bindenden Pro-

<sup>1</sup>Klinik für Endokrinologie, Zentrum für Innere Medizin, Universitätsklinikum Essen, Germany.

<sup>2</sup>Departments of Medicine and Pediatrics, the Committee on Genetics and the J.P. Kennedy Jr. Mental Retardation Research Center, The University of Chicago, Chicago, Illinois, USA.

Correspondence: Priv.-Doz. Dr. med. Onno E. Janssen, Ltd. Oberarzt der Medizinischen Poliklinik, und Klinik für Endokrinologie, Zentrum für Innere Medizin, Universitätsklinikum Essen, Hufelandstraße 55, 45122 Essen, Germany.

Fax: +49 20 17 23 59 76

E-mail: onno.janssen@uni-essen.de

Homepage: www.endokrinologie.de

teinen (Gs oder Gq) bewirkt nicht selten eine verminderte Wirkung mehrerer Hormone, wenn diese den gleichen post-Rezeptor-Signalweg benutzen.

## Homöostase der Schilddrüsenhormonsynthese

Die konstante Versorgung des Organismus mit Schilddrüsenhormonen wird durch zwei Mechanismen gewährleistet: 1. Die Kontrolle der Schilddrüsenhormonsekretion durch einen Feedback-Mechanismus innerhalb der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse und 2. die Umwandlung des Prohormons Thyroxin ( $T_4$ ) in das aktive Trijodthyronin ( $T_3$ ) durch gewebespezifische Jodthyronin-Dejodasen. Thyreotropin (TSH), welches in den thyreotropen Zellen der Hypophyse synthetisiert wird, stimuliert die Synthese und Sekretion von Schilddrüsenhormonen durch die Schilddrüse. Die TSH-Synthese und -Sekretion wiederum wird durch das TSH-Releasing Hormon (TRH) stimuliert, einem Tripeptid aus der mittleren Eminenz des Hypothalamus [1]. Die Synthese und Sekretion des TSH und TRH werden durch  $T_3$  gehemmt, welches durch 5'-Monodejodierung aus  $T_4$  gebildet wird [2, 3]. Die Homöostase der Schilddrüsenhormonversorgung wird somit durch den negativen Feedback und die Produktion von  $T_3$  durch intrazelluläre, gewebespezifische  $T_4$ -Dejodasen gewährleistet.

## Wirkung von TSH am TSH-Rezeptor

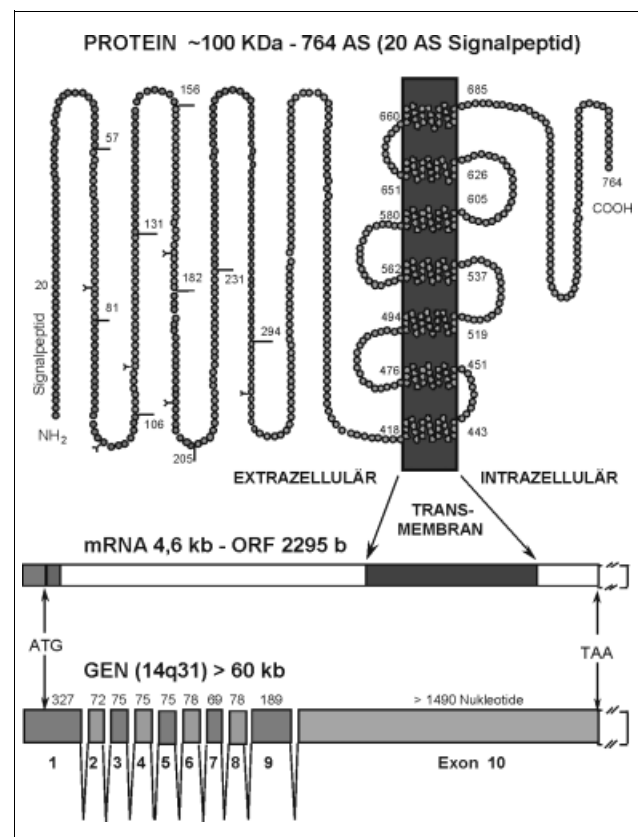
TSH ist ein heterodimeres Glykoprotein des Hypophysenvorderlappens und der entscheidende Regulator der Schilddrüsenhormonsynthese und -sekretion. Es beeinflusst darüber hinaus auch das Wachstum der Schilddrüse. Diese biologische Wirkung wird durch die Bindung von TSH an die extrazelluläre Domäne (Ektodomäne) des TSH-Rezeptors in der Membran von Schilddrüsenfollikelzellen vermittelt [4, 5]. Der zugrunde liegende Prozess ist gekennzeichnet durch die Aktivierung eines G-Proteins, an den der TSH-Rezeptor gekoppelt ist. Der aktivierte Rezeptor bewirkt eine Dissoziation der  $\alpha_s$  Untereinheit des G-Proteins  $G_s\alpha$ . Dies wiederum hat eine erhöhte Aktivität der Adenylatzyklase mit Anstieg des „second messengers“ cAMP zur Folge. Zusätzlich wird bei hohen TSH-Konzentrationen die durch Phosphorylase-C vermittelte Signaltransduktion aktiviert. Der wesentliche second messenger, der fast alle physiologischen Wirkungen des TSH vermittelt, ist jedoch cAMP [6, 7].

## Struktur und Genetik des TSH-Rezeptors

Der TSH-Rezeptor gehört zur Familie der G-Protein-gekoppelten-Rezeptoren [8] und besteht aus einer einzigen Glykopolypeptidkette mit 744 Aminosäuren und einem Mo-

lekulargewicht von insgesamt etwa 100 kDa (Abb. 1). Der Rezeptor besteht aus sieben transmembranösen Segmenten, die durch drei extrazelluläre und drei intrazelluläre Schleifen verbunden sind. Die lange N-terminale Ektodomäne des Rezeptors besteht aus 398 Aminosäuren und ist reich an Oligosaccharidketten. Acht Leucin-reiche Wiederholungsmotive der Ektodomäne formen eine Art „Hufeisen“, dessen konkave Innenseite mit TSH und anderen Liganden (z. B.  $\beta$ hCG) interagiert.

Der TSH-Rezeptor wird von einem einzigem Gen auf Chromosom 14 kodiert [9]. Das TSH-Rezeptor Gen ist mehr als 60 kbp groß und besteht aus 10 kodierenden Exons [10] (Abb. 1). Exon 1 bis 9 sind klein und kodieren für die Ektodomäne des Rezeptors. Das lange, terminale Exon 10 mit mehr als 1490 Basenpaaren kodiert sowohl für ein Drittel der Ektodomäne als auch für die transmembranösen und intrazellulären Domänen. Die hauptsächliche Form der TSH-Rezeptor mRNA ist aufgrund eines langen 3'-untranslatierten Abschnittes



**Abbildung 1** TSH-Rezeptor Struktur und Organisation des TSH-Rezeptor Gens. Das obere Diagramm zeigt die extrazelluläre, transmembranöse und intrazelluläre Domäne des Moleküls, das mittlere Diagramm die mRNA und das untere Diagramm die Genstruktur des TSH-Rezeptors. Die 10 Exone sind Segment für Segment mit alternierenden Farben kodiert und korrespondieren mit gleichfarbigen Kreisen, die jeweils eine Aminosäure (AS) darstellen.

4,6 kb lang und enthält einen offenen Leserahmen von 2292 Nukleotiden [11].

## Definition und Phänotyp der Resistenz gegen TSH

Die Resistenz gegen TSH (RTSH) ist durch eine variabel ausgeprägte Unempfindlichkeit gegenüber dem biologisch aktiven TSH-Molekül gekennzeichnet. Charakteristischerweise finden sich erhöhte TSH-Serumspiegel, eine normal grosse oder hypoplastische Schilddrüse und – in Abhängigkeit vom Ausprägungsgrad der verminderten TSH-Wirkung – niedrig-normale bis stark verminderte Schilddrüsenhormonspiegel. Das Erscheinungsbild der betroffenen Patienten reicht somit auf der eine Seite von normalen peripheren Schilddrüsenhormonen bei erhöhten TSH-Spiegeln (klinisch euthyreot) bis zur schweren Hypothyreose (erniedrigte periphere Schilddrüsenhormone bei erhöhtem TSH-Spiegel) auf der anderen Seite. Bis auf die erhöhten TSH-Serumspiegel entspricht der letztere Phänotyp der zentralen Hypothyreose, bei der sich aufgrund von TSH-Synthesedefekten jedoch sehr niedrige TSH-Serumspiegel finden [12].

## Resistenz gegen TSH durch Mutationen im TSH-Rezeptor

Eine Hyposensitivität gegen TSH wurde erstmals von Stanbury und Kollegen 1968 [13] bei einem acht Jahre alten Jungen mit schwerer, angeborener Hypothyreose (hohe Serum-TSH-Spiegel, kleine Schilddrüse und normaler Radiojod-Uptake ohne Anstieg nach Gabe von TSH) beschrieben. Von ähnlichen Fällen berichteten in den nächsten Jahren auch andere Autoren [14–17], der zugrunde liegende TSH-Rezeptor-Defekt blieb jedoch lange Zeit unbekannt. In zwei Fällen wurde eine verminderte Stimulation von cAMP durch TSH dokumentiert [14, 16]. Takeshita und Kollegen [18] sequenzier-

ten das TSH-Rezeptor-Gen bei zwei zuvor bereits beschriebenen Zwillingen mit RTSH [17], fanden jedoch keine Mutation.

Die Erstbeschreibung einer RTSH aufgrund von Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen erfolgte erst wesentlich später [19]. In der betroffenen Familie (die Eltern sind nicht blutsverwandt) hatte das zweitgeborene Mädchen beim Neugeborenen-Screening einen TSH-Spiegel von 103 mU/L (Normalwerte <20) und normale T<sub>4</sub>-Spiegel bei normaler Schilddrüsengrösse (Tab. 1). Die ältere Schwester wurde daraufhin nochmals getestet und hatte ebenfalls ein erhöhtes TSH von 80 mU/L im Serum (Normalwert 0,4–3,6) und normale T<sub>4</sub>-Spiegel. Bei ihrer Geburt war im Neugeborenen-Screening nur auf T<sub>4</sub> getestet worden, so dass der erhöhte TSH-Wert initial nicht entdeckt wurde. Die physische und psychische Entwicklung beider Mädchen war vollkommen unauffällig. Bei den Geschwistern wurde eine Therapie mit Levothyroxin in einer Dosierung von 50 µg/Tag eingeleitet. Hierdurch konnte bei der Erstgeborenen eine Erniedrigung des TSH-Spiegels auf 38 mU/L erreicht werden. Auch das dritte Kind der Familie, das vier Jahre später geboren wurde, wies erhöhte TSH-Spiegel von 96 mU/L und normale T<sub>4</sub>-Spiegel beim Neugeborenen-Screening auf und wurde ebenfalls mit T<sub>4</sub> behandelt. Im weiteren Verlauf entwickelten sich alle drei Geschwister auch nach dem späteren Absetzen der Schilddrüsenhormongabe komplett unauffällig.

Die Sequenzanalyse genomischer DNA hatte bei der erstbeschriebenen Familie keine Mutation im Exon 10 ergeben. Die Sequenzierung der extrazellulären Domäne des TSH-Rezeptors, die durch die ersten neun Exons kodiert wird, erfolgte damals mangels Kenntnis der Organisation des TSH-Rezeptor Gens mit cDNA, die durch Amplifikation von RNA aus Leukozyten der drei weiblichen Geschwister hergestellt wurde [19]. Auf jedem der zwei Allele des TSH-Rezeptors waren zwei verschiedene Nukleotide ausgetauscht, so dass offensichtlich alle drei Geschwister kombiniert-heterozygot für die zwei gleichen Mutationen waren (Abb. 2).

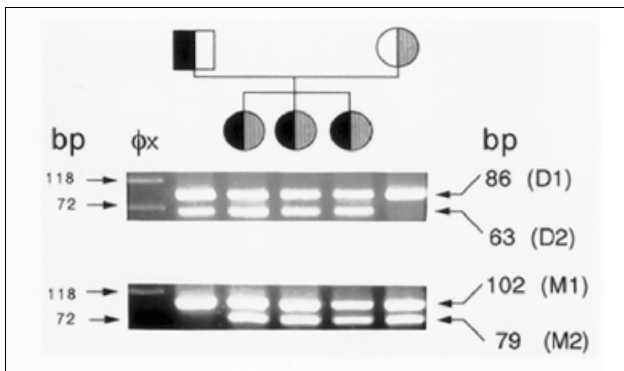
**Tabelle 1** Schilddrüsenfunktionsparameter der ersten Familie mit TSH-Rezeptor-Mutationen

Patient	Alter (Jahre)	TT <sub>4</sub> (nmol/L)	TT <sub>3</sub> (nmol/L)	FT <sub>4</sub> I	FT <sub>4</sub> (pmol/L)	FT <sub>3</sub> (pmol/L)	TSH mU/L
Tochter-1	13	103	1.58	109	23.8	5.08	66
Tochter-2	9.5	93	2.18	86	14.0	5.84	73
Tochter-3	5.5	104	2.60	93	17.0	7.24	55
Vater	41	87	1.81	107	16.7	4.34	4.2 <sup>a</sup>
Mutter	39	100	1.84	99	16.7	4.12	3.6 <sup>b</sup>
Normalwerte		64–154	1.38–2.76	77–135	10.3–34.7	3.99–7.37	0.4–3.6

Tg-AK und TPO-AK wurden bei keinem der Familienmitglieder nachgewiesen.

<sup>a</sup> Mittelwert aus 3 Bestimmungen von 3.1–5.5 mU/L

<sup>b</sup> Mittelwert aus 3 Bestimmungen von 2.3–4.6 mU/L



**Abbildung 2** Nachweis der TSH-Rezeptor Mutationen in der erstbeschriebenen Familie. Genomische DNA der Familienmitglieder wurde mit einem gemeinsamen antisense Primer (5'-actggaataactcacAGTGTCA-3') und einem degenerierten sense Primer (5'-ACAGACAACCTTACATGACTTTAA-3') der in Anwesenheit der A599 Mutation eine Dra I Restriktionsschnittstelle produziert und einem anderen degenerierten Primer (5'-ctcttcgagTGAAATTGCAGAC-3') der in Anwesenheit der G583 Mutation eine Mwo I Restriktionsschnittstelle produziert, amplifiziert. Die degenerierten Nukleotide sind unterstrichen und Intronsequenzen sind in Kleinbuchstaben dargestellt. Das obere Gel zeigt, dass der Vater und alle drei Töchter ein mutiertes Allel mit A599 (D2) und ein Dra I-resistentes Allel (D1: T599) haben. Das untere Gel zeigt, dass die Mutter und alle drei Töchter ein mutiertes Allel mit G583 (M2) und ein Mwo I-resistentes Allel (M1: C583) haben. Der Stammbaum zeigt die Vererbung der mutierten TSH-Rezeptor Mutationen. Als DNA-Standard wurde Hae III verdauter  $\phi$ X eingesetzt.

Beide Mutationen fanden sich im Exon 6, das für den mittleren Anteil der extrazellulären Domäne des Rezeptors kodiert (Abb. 1). In einem Allel war Thymin an Position 599 durch Adenin ersetzt, so dass einen Austausch von Ile<sup>167</sup> durch Asn resultierte. Im anderen Allel war Cytosin an Position 583 durch Guanin ersetzt, mit der Konsequenz des Austausches von Pro<sup>162</sup> durch Ala. Jedes der zwei mutierten Allele konnte auf jeweils einen Elternteil zurückgeführt werden, das männliche Allel enthielt A599 und das mütterliche G583. Der Nachweis jeweils eines normalen Allels bewies, dass die Eltern für unterschiedliche Mutationen heterozygot waren (Abb. 2). Die funktionelle Charakterisierung der beiden TSH-Rezeptor-Mutationen, allein und in Kombination, bestätigte deren verminderte Aktivierbarkeit im *in vitro*-Modell [20, 21].

Mittlerweile wurden bei vierzehn weiteren Familien insgesamt neunzehn verschiedene Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen entdeckt, diese sind zusammen mit den resultierenden Veränderungen der Schilddrüsenfunktion in Tabelle 2 dargestellt.

Bei acht Familien hat der mutierte TSH-Rezeptor eine verminderte Funktion zur Folge. Analog zur Ausprägung der beeinträchtigten TSH-Wirkung können drei verschiedene Phänotypen unterschieden werden: 1. Die meisten der bisher untersuchten Betroffenen sind euthyreot, da die Mehrsekretion von TSH die Auswirkungen der Resistenz kompensiert. Typischerweise

zeigt sich die Laborkonstellation eines zu den normalen T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Werten inadäquat hohen TSH-Spiegels (*kompensierte Resistenz gegen TSH*) [19, 22, 23, 30, 31]. 2. Patienten bei denen die Rezeptorfunktion durch die Mutation stärker beeinträchtigt ist, entwickeln eine subklinische Hypothyreose (erhöhte TSH-Werte, niedrig-normale T<sub>4</sub>-Spiegel). Bislang ist der Verlust der TSH-Rezeptor-Funktion bei zwei voneinander unabhängig berichteten Fällen mit der Manifestation einer subklinischen Hypothyreose assoziiert (*teilkompensierte Resistenz gegen TSH*) [24, 25]. 3. Beim kompletten Verlust der TSH-Rezeptor-Funktion resultiert eine schwere Hypothyreose (sehr hohe TSH-Werte, sehr niedrige T<sub>4</sub>-Spiegel). Bislang ist dies bei fünf Familien nachgewiesen worden (*dekompensierte Resistenz gegen TSH*) [26–29, 32]. Eine Therapie mit Schilddrüsenhormonen ist nur bei Patienten mit subklinischer bzw. manifester Hypothyreose indiziert. Unabhängig vom klinischen Ausprägungsgrad des Funktionsverlustes des Rezeptors waren die Betroffenen in sieben Familien homozygot und in acht Familien kombiniert heterozygot für die verschiedenen TSH-Rezeptor Mutationen.

Alle bekannten TSH-Rezeptor-Mutationen fanden sich in der extrazellulären Domäne (Abb. 3). In dem kurzen, carboxyterminalen, intrazellulären Segment des TSH-Rezeptor-Gens wurden bis heute keine Mutationen nachgewiesen. Die Inzidenz der RTSH bzw. TSH-Rezeptor-Mutationen ist bislang nicht bekannt.

## Ursachen des Funktionsdefektes mutierter TSH-Rezeptoren

Der beobachtete Funktionsverlust mutierter TSH-Rezeptoren kann prinzipiell auf einem Rezeptormangel durch verminderte Synthese oder gesteigertem Abbau, fehlerhafter Integration des Rezeptors in die Zellmembran, reduzierter Bindungsaffinität für TSH oder auf einer Kombination dieser drei Mechanismen beruhen [26, 33]. Auch die zwei verschiedenen Mutationen der erstbeschriebenen Familie wurden bezüglich der Beeinflussung der Syntheseleistung, der Expression des TSH-Rezeptors auf der Zelloberfläche und der Ligandenbindung untersucht [34].

Der mütterliche mutierte TSH-Rezeptor (Ala<sup>162</sup>) ließ sich in COS-7-Zellen exprimieren und zeigte eine signifikante Abnahme der Bindungsaffinität für TSH. Auch der väterliche mutierte TSH-Rezeptor (Asn<sup>167</sup>) ließ sich exprimieren, zeigte aber keine nachweisbare Ligandenbindung. Fluß-Zytometrie mit verschiedenen monoklonalen Anti-TSH-Rezeptor-Antikörpern bestätigte, dass die väterliche Asn<sup>167</sup>-TSH-Rezeptor-Mutation keinen Synthesedefekt, aber einen Defekt der Membranintegration und der Ligandenbindung bewirkt, wohingegen die mütterliche Ala<sup>162</sup>-Mutation lediglich einen Bindungsdefekt aufweist [34].

In einem dreidimensionalen Modell, das auf der Kristallstruktur eines Ribonukleaseinhibitors beruht, der zur gleichen Proteinfamilie wie der TSH-Rezeptor ge-

**Tabelle 2** TSH und FT<sub>4</sub> Werte bei Patienten homozygot oder kombiniert-heterozygot für Funktionsverlust-Mutationen („Loss of Function“) im TSH-Rezeptor

MUTATIONEN		Neugeborenen-Screening		Serum		Literatur
		TSH (mU/L)	FT <sub>4</sub> I (% des unteren Normalwertes)	TSH (mU/L)	FT <sub>4</sub> (% des unteren Normalwertes)	
P162A	I167N	ND <sup>a</sup>	ND	<b>50–66</b>	117–149	[19]
		<b>103</b>	153 <sup>b</sup>	<b>44–88</b>	112–152	
		<b>96</b>	217 <sup>b</sup>	<b>46–55</b>	130–142	
P162A	P162A	99	109	NG <sup>c</sup>	NG	[22]
		ND	ND	<b>14.2</b>	115	
		ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	<b>13.4</b>	174	
C390W	W546X	<b>34</b>	117	NG	NG	[22]
C390W	402–412Δ and 419X	<b>89</b>	<b>44</b>	<b>79</b>	<b>74</b>	[24]
R109Q	W546X	NG	NG	<b>92–134</b>	<b>83–133</b>	[25]
Q324X	D410N	<b>44</b>	182	NG	NG	[22]
				<b>110</b>	NL <sup>d</sup>	
C41S	F525L	<b>129</b>	200	<b>26–115</b>	100–220	[22]
A553T	A553T	<b>490–&gt;130</b>	<b>46</b>	ND	ND	[26]
656X	Δ157–182	<b>119</b>	NG	<b>1390</b>	< <b>28</b>	[27]
R609X	R609X	> <b>100<sup>e</sup></b>	NG	NG	NG	[28]
T477I	T477I	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	<b>80</b>	< <b>40</b>	[29]
R310C	R310C	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	<b>62</b>	193	[30]
		ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	<b>61</b>	100	
R450H	G498S	Hoch NG	NG	<b>66.8</b>	125	[31]
		Hoch NG	NG	<b>41.3</b>	138	
int5/ex6		<b>160</b> (Tag 3)		<b>778</b> (Tag 18)	< <b>29</b>	[32]
		<b>350</b>	ND	<b>855</b> (Tag 15)	< <b>27</b>	
		NG	NG	<b>130</b> (Tag 5)	<b>56</b>	

Pathologische Werte sind **fett** dargestellt. Bei Mehrfachbestimmungen ist der Bereich angegeben.

<sup>a</sup> ND: nicht durchgeführt; <sup>b</sup> TT<sub>4</sub>; <sup>c</sup> NG: nicht angegeben; <sup>d</sup> NL: Normal, Wert nicht angegeben;

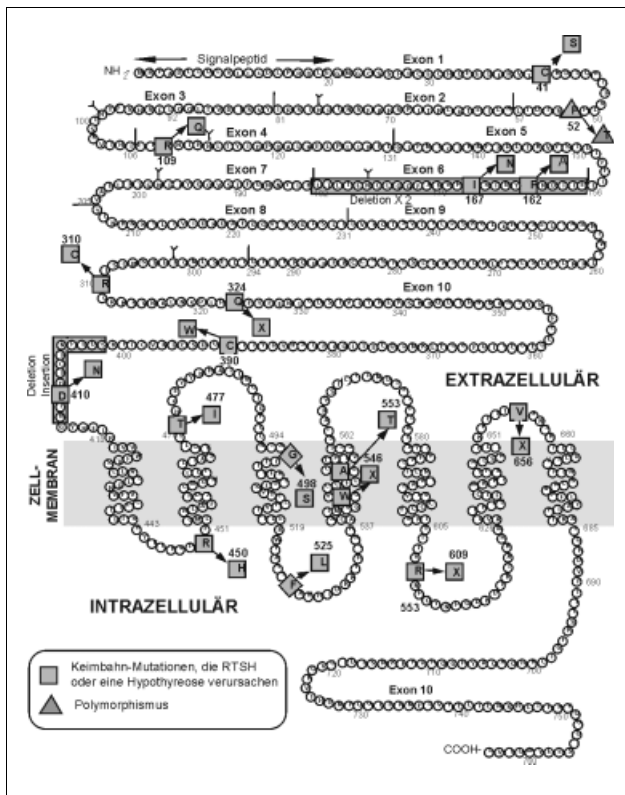
<sup>e</sup> in 6 betroffenen Familienmitgliedern; <sup>f</sup> vor routinemäßigem Neugeborenen-Screening.

hört [35, 36], konnte gezeigt werden, daß der Ersatz des homologen Pro<sup>162</sup> die Ligandenbindung, nicht jedoch die Gesamtstruktur verändert. Andererseits würde der Ersatz der aliphatischen Seitenkette des Ile<sup>167</sup> durch eine polare Aminosäure wie z. B. im Asn mit der Faltung des Moleküls interferieren, da diese innerhalb des hydrophoben Kerns nicht toleriert wird. Das Strukturmodell korreliert also perfekt mit den Eigenschaften der zwei TSH-Rezeptor-Mutationen. Bei zwei weiteren Mutationen des TSH-Rezeptors, Ala<sup>553</sup> und 419X, wird der Rezeptor zwar in ausreichender Menge synthetisiert, kann jedoch höchstwahrscheinlich ebenfalls aufgrund einer veränderten Faltung des Moleküles nicht

korrekt in die Membran der Schilddrüsenfollikelzellen integriert werden [24, 26].

### Resistenz gegen TSH ohne Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen

In den letzten Jahren wurde von drei Arbeitsgruppen über Einzelpersonen und Familien mit Resistenz gegen TSH berichtet, bei denen sich keine Mutationen im TSH-Rezeptor-Gen fanden [37–39]. Bei den meisten dieser Familien war der Erbgang autosomal dominant [38, 39].



**Abbildung 3** Lokalisation bekannter RTSH-Mutationen des TSH-Rezeptors. Die Aminosäuren sind im Einbuchstabencode angegeben, die Nummerierung beginnt am Transkriptionsstart. Die potentiellen Glykosylierungsstellen sind mit Y gekennzeichnet.

Wie eingangs bereits dargestellt, können sich Mutationen in der Signaltransduktion als Hormonresistenz auswirken. Tatsächlich fanden sich bei Funktionsverlust-Mutationen des  $G_s\alpha$ -Proteins eine Resistenz gegen TSH sogar bei heterozygot Betroffenen [40]. In Abhängigkeit vom Schweregrad des Funktionsverlustes resultiert eine latente oder manifeste Hypothyreose. Aufgrund der ubiquitären Expression des  $G_s\alpha$ -Proteins zeigt sich bei diesen Patienten ein breites Spektrum von Symptomen, die Veränderungen der Nebenschilddrüsen, Gonaden und Skelettdeformitäten beinhalten. Dieser Symptomenkomplex ist als „Albright’sche hereditäre Osteodystrophie“ bekannt [41].

Von den 28 Familien mit dem Phänotyp einer RTSH ohne TSH-Rezeptor-Mutationen, die in Chicago (USA) und Brüssel (Belgien) identifiziert wurden, fanden sich immerhin vier Familien mit jeweils mindestens sechs betroffenen Familienmitgliedern, die sich somit für Linkage-Analysen eignen. Auch in diesen großen Familien konnte jedoch bisher keine Ursache für die RTSH nachgewiesen werden, auch bezüglich der Linkage zu TSH $\beta$ ,  $G_s\alpha$  und schilddrüsen-spezifischen Transkriptionsfaktoren wie TTF1, TTF2 und PAX8 [42].

## Danksagung

Die hier dargestellten Untersuchungen wurden mit Mitteln des National Institutes of Health (DK-15 070) und des US Public Health Service (RR-00055) unterstützt. Die Autoren danken Gilbert Vassart, Sabine Costagliola, Thongkum Sunthornthepvarakul, Yoshitaka Hayashi, Roy Weiss und Silvana Pannain für ihre Beiträge an diesen Untersuchungen.

## Literatur

1. Morley JE. Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. *Endocr Rev* 1981;2:396–436.
2. Berry MJ, Larsen PR. The role of selenium in thyroid hormone action. *Endocr Rev* 1992;13:207–219.
3. St. Germain DL, Galton VA. The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 1997;7:655–668.
4. Zhang M, Phuong K, Tong T, Fremont V, Chen J, Narayan P, Puett D, Weintraub BD, Szkudlinski MW. The extracellular domain suppresses constitutive activity of the transmembrane domain of the human TSH receptor: implications for hormone-receptor interaction and antagonist design. *Endocrinol* 2000;141:3514–3517.
5. Vlaeminck-Guillem V, Ho SC, Rodien P, Vassart G, Costagliola S. Activation of the cAMP Pathway by the TSH Receptor Involves Switching of the Ectodomain from a Tethered Inverse Agonist to an Agonist. *Mol Endocrinol* 2002;16:736–746.
6. Nagayama Y, Rapoport B. The thyrotropin receptor 25 years after its discovery: New insight after its molecular cloning. *Mol Endocrinol* 1992;6:145–156.
7. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev* 1992;13:596–611.
8. Bockaert J, Pin JP. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. *EMBO J* 1999;18:1723–1729.
9. Libert F, Passage E, Lefort A, Vassart G, Mattei MG. Localization of human thyrotropin receptor gene to chromosome region 14q31 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet* 1990;54:82–83.
10. Gross B, Misrahi M, Sar S, Milgrom E. Composite structure of the human thyrotropin receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;177:679–687.
11. Libert F, Parmentier M, Lefort A, Dinsart C, Van Sande J, Maenhaut C, Simons MJ, Dumont JE, Vassart G. Selective amplification and cloning of four new members of the G protein-coupled receptor family. *Science* 1989;244:569–572.
12. Refetoff S, Dumont JE, Vassart G. Thyroid disorders. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. (8 ed.), Scriver CL, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Vogelstein B (eds). New York: MacGraw-Hill, 2000, p. 4029–4075.
13. Stanbury JB, Rocmans P, Buhler UK, Ochi Y. Congenital hypothyroidism with impaired thyroid response to thyrotropin. *N Engl J Med* 1968;279:1132–1136.
14. Codaccioni JL, Carayon P, Michel-Bechet M, Foucault F, Lefort G, Pierron H. Congenital hypothyroidism associated with thyrotropin unresponsiveness and thyroid cell membrane alterations. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50:932–937.
15. Aarseth HP, Hang E, Raknerud N, Frey HM. TSH unresponsiveness, a case report. *Acta Endocrinol* 1983;102:358–366.
16. Medeiros-Neto GA, Knobel M, Bronstein MD. Impaired cyclic AMP response to thyrotropin in congenital hypothyroidism with thyroglobulin deficiency. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1979;92:62–68.
17. Takamatsu J, Nishikawa M, Horimoto M, Ohsawa N. Familial unresponsiveness to thyrotropin by autosomal recessive inheritance. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1569–1573.

18. Takeshita A, Nagayama Y, Yamashita S, Takamatsu J, Ohsawa N, Maesaka H, Tachibana K, Tokuhira E, Ashizawa K, Yokoyama N, Nagataki S. Sequence analysis of the thyrotropin (TSH) receptor gene in congenital primary hypothyroidism associated with TSH unresponsiveness. *Thyroid* 1994;4:255–259.
19. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med* 1995;332:155–160.
20. Libert F, Lefort A, Gerald C, Parmentier M, Perret J, Ludgate M, Dumont JE, Vassart G. Cloning, sequencing and expression of the human thyrotropin (TSH) receptor: evidence for binding of autoantibodies. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165:1250–1255.
21. Jameson JL, Powers AC, Gallagher GD, Habener JF. Enhancer and promoter element interactions dictate cyclic adenosine monophosphate mediated and cell-specific expression of the glycoprotein hormone  $\alpha$ -gene. *Mol Endocrinol* 1989;3:763–772.
22. de Roux N, Misrahi M, Brouner R, Houang M, Carel JC, Granier M, Le Bouc Y, Ghinea N, Boumedienne A, Toublanc JE, Milgrom E. Four families with loss of function mutations of the thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4229–4235.
23. Tonacchera M, Agretti P, De Marco G, Perri A, Pinchera A, Vitti P, Chiovato L. Thyroid resistance to TSH complicated by autoimmune thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol Metab* 2001;86:4543–4536.
24. Biebertmann H, Schöneberg T, Krude H, Schultz G, Gudermann T, Grüters A. Mutations of the human thyrotropin receptor gene causing thyroid hypoplasia and persistent congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3471–3480.
25. Clifton-Bligh RJ, Gregory JW, Ludgate M, John R, Persani L, Asteria C, Beck-Peccoz P, Chatterjee VKK. Two novel mutations in the thyrotropin (TSH) receptor gene in a child with resistance to TSH. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1094–1100.
26. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest* 1997;99:3018–3024.
27. Gagné N, Parma J, Deal C, Vassart G, van Vliet G. Apparent congenital athyreosis contrasting with normal plasma thyroglobulin levels and associated with inactivating mutations in the thyrotropin receptor gene: are athyreosis and ectopic thyroid distinct entities? *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1771–1775.
28. Tiosano D, Pannain S, Vassart G, Parma J, Gershoni-baruch R, Mandel H, Lotan R, Zaharan Y, Pery M, Weiss RE, Refetoff S, Hochberg Z. The hypothyroidism in an Inbred kindred with congenital thyroid hormone and glucocorticoid deficiency is due to a mutation producing a truncated thyrotropin receptor. *Thyroid* 1999;9:887–894.
29. Tonacchera M, Agretti P, Pinchera A, Rosellini V, Perri A, Collecchi P, Vitti P, Chiovato L. Congenital hypothyroidism with impaired thyroid response to thyrotropin (TSH) and absent circulating thyroglobulin: evidence for a new inactivating mutation of the TSH receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1001–1008.
30. Russo D, Betterle C, Arturi F, Chieffari E, Girelli ME, Filetti S. A novel mutation in the thyrotropin (TSH) receptor gene causing loss of TSH binding but constitutive receptor activation in a family with resistance to TSH. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4238–4242.
31. Nagashima T, Murakami M, Onigata K, Morimura T, Nagashima K, Mori M, Morikawa A. Novel inactivating missense mutations in the thyrotropin receptor gene in Japanese children with resistance to thyrotropin. *Thyroid* 2001;11:551–559.
32. Bretones P, Duprez L, Parma J, David M, Vassart G, Rodien P. A familial case of congenital hypothyroidism caused by a homozygous mutation of the thyrotropin receptor gene. *Thyroid* 2001;11:977–980.
33. Biebertmann H, Grüters A, Schöneberg T, Gudermann T. Congenital hypothyroidism caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med* 1997;336:1390–1391.
34. Costagliola S, Sunthornthepvarakul T, Migotte I, van Sande J, Kajava AM, Refetoff S, Vassart G. Structure-function relationship of two loss-of-function mutations of the thyrotropin receptor gene. *Thyroid* 1999;9:995–1000.
35. Kajava AV, Vassart G, Wodak SJ. Modeling of the three-dimensional structure of proteins with the typical leucine-rich repeats. *Structure* 1995;3:867–877.
36. Kobe B, Deisenhofer J. The leucine-rich repeat: a versatile binding motif. *TIBS* 1994;415–421.
37. Mimouni M, Mimouni-Bloch A, Schachter J, Shuhat M. Familial hypothyroidism with autosomal dominant inheritance. *Arch Dis Child* 1996;75:245–246.
38. Nogueira CR, Nguyen LQ, Coelho-Neto JR, Arseven OK, Jameson JL, Kopp P, Medeiros-Neto GA. Structural analysis of the thyrotropin receptor in four patients with congenital hypothyroidism due to thyroid hypoplasia. *Thyroid* 1999;9:523–528.
39. Xie J, Pannain S, Pohlenz J, Weiss RE, Moltz K, Morlot M, Asteria C, Persani L, Beck-Peccoz P, Parma J, Vassart G, Refetoff S. Resistance to thyrtropin (TSH) in three families is not associated with mutations in the TSH receptor or TSH. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3933–3940.
40. Levine MA, Jap TS, Mauseth RS, Downs RW, Spiegel AM. Activity of the stimulatory guanine nucleotide-binding protein is reduced by erythrocytes from patients with pseudohypoparathyroidism and pseudo-pseudohypoparathyroidism: Biochemical, endocrine and genetic analysis of Albright's hereditary osteodystrophy in 6 kindreds. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:497–502.
41. Spiegel AM, Shenker A, Weinstein LS. Receptor-effector coupling by G proteins: implications for normal and abnormal signal transduction. *Endocr Rev* 1992;13:536–565.
42. Damante G, Di Lauro R. Thyroid-specific gene expression. *Biochim Biophys Acta* 1994;1218:255–266.