

Hashimoto-Thyreoiditis – Einflüsse durch EBV Infektionen – Diagnostik bei EBV, herkömmliche vs. EliSpot Testungen

Im Jahr 1912 beschrieb der japanische Arzt Dr. Hakaru Hashimoto die Thyreoiditis-lymphomatosa (Autoimmunthyreoiditis) bei vier Patienten. Er bemerkte dabei, dass sich das Schilddrüsengewebe histologisch in lymphatisches Gewebe verwandelte. Als Ursache für die typischen Symptomatik wurde seither ein fehlgeleiteter Immunprozess festgestellt, der zu einer chronischen Entzündung der Schilddrüse und zur Zerstörung des Schilddrüsengewebes durch T-Lymphozyten führt. Es handelt sich also um einen autoimmunologischen Prozess der nur schwer behandelbar ist. Derartige Erkrankungen unterliegen in ihrem Entstehungsprozess meist sehr vielen unterschiedlichen Mechanismen. Diese wurden jedoch in ihrer Vielzahl noch nicht ausreichend näher untersucht, jedoch sind einige mögliche Einflussfaktoren Gegenstand derzeitiger Forschungs- und Diagnostikansätze. Hierzu zählen unter anderem die Genetik des Patienten, sowie ökologische Faktoren, beispielsweise eine multiple Infektion mit verschiedenen Krankheitserregern.

Es haben sich fünf mögliche Mechanismen bei der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen herauskristallisiert:

- Molekulare Mimikry-Aktivierung autoreaktiver T-Zellen durch mikrobielle Peptide mit struktureller Ähnlichkeit zu Selbstpeptiden
- Virale und bakterielle Superantigene-Aktivierung der Autoreaktivität von T-Zellen, die bestimmte V β -Segmente exprimieren
- Verbesserte Verarbeitung von Autoantigenen durch Antigen-präsentierende Zellen, die für eine Entzündung rekrutiert wurden. Gefolgt von autoreaktivem Lymphozyten-Priming
- Supra-Aktivierung – Verbesserte Cytokinproduktion induziert die Expansion autoreaktiver T-Zellen
- Aktivierung von Lymphozyten, insbesondere der B-Zellen, durch lymphotrope Viren, steigert die B-Zell-Proliferation, dies führt im Umkehrschluss zu einer Antikörperüberproduktion und der Bildung zirkulierender Immunkomplexe

Virusinfektionen werden häufig als Haupteinflussfaktor bei der Pathogenese von Autoimmunprozessen

genannt, wobei die Inzidenz exponentiell steigt. Das Epstein-Barr-Virus (EBV) gilt dabei als wichtigster ökologischer Faktor für Autoimmunerkrankungen und insbesondere für Hashimoto-Thyreoiditis (HT) [6]. EBV gehört zur Familie der Herpesviridae, die auch als humanes Herpesvirus 4 (HHV-4) eingestuft werden und deren primäres Reservoir der Mensch darstellt. Es wird geschätzt, dass die Häufigkeit einer EBV-Infektion bei Erwachsenen zwischen 90% und 95% liegt. Schätzungen zufolge sind fast 95% der erwachsenen Bevölkerung Träger dieses Virus, während es in Entwicklungsländern bis zu 100% sein können. Ein Grund für den Anstieg der Prävalenz in Jugendlichen und jungen Erwachsenen kann vor allem von der Art der Primärinfektion abgeleitet werden. Da EBV am häufigsten durch Speichel übertragen wird, hat sie auch ihren Beinamen „Kusskrankheit“ erhalten [7]. Eine Infektion bleibt jedoch meist unentdeckt, da die meisten Infektionen symptomlos verlaufen.

Sobald eine Person mit einem EBV infiziert wurde, prägt sich eine latente EBV-Infektion der B-Lymphozyten aus. Die Viruslast bleibt in zirkulierenden B-Zellen mit nicht aktiviertem Phänotyp über die Zeit relativ konstant. Während der Latenzphase ist jedoch eine EBV-Reaktivierung möglich. Dies kann unter anderem durch Immunsuppression durch bestimmte Zytokine oder Steroidhormone verursacht werden. Wird das Virus aktiviert verfällt es in den sogenannten lytischen Reproduktionsprozess. Wobei sich das Virus vermehrt und neue Wirtszellen zur Einnistung sucht.

Das Epstein-Barr-Virus wird als ätiologischer Faktor von Autoimmunerkrankungen angesehen. Die häufigsten Begleiter einer Autoimmunerkrankung, sind dabei die Verschlimmerung der Symptome, da das Virus die Immunantwort des Wirts verändern kann. So codiert das EBV unter anderem ein Homolog des bcl-2-Onkogens, welches die Apoptose inhibiert und eine Interferon γ (IFN- γ) Freisetzung in den B-Zellen aktiviert. Die Ausschüttung von IFN- γ wird unter anderem für die zelluläre Diagnostik (EliSpot) von EBV herangezogen. Außerdem ist das EBV mitverantwortlich für Veränderungen in der Produktion von entzündungshemmenden Zytokinen, wie Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interleukin (IL)-1 und IL-6, sowie von viralen Zytokinen,



Dr. med. Mihail Pruteanu

die die gleichen immunsuppressiven Eigenschaften haben wie IL-10. Interleukin 10 verstärkt die Bcl-2-Expression und reduziert die IFN- γ -Produktion. Interleukin 1, TNF- α , und IFN- γ können die HLA-Klasse-II-Expression induzieren und dazu führen das eine Auto-Antigen-Präsentation oder auto-reaktive T-Zell-Aktivierung stattfindet. Des Weiteren wurde gezeigt, dass das Epstein-Barr-Virus auch T-Lymphozyten infizieren kann [8].

Im Jahr 1971 zeigte Evan et al. erhöhte Antikörpertiter auf EBV bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE). Dies war der Grund für den Verdacht, dass das EBV einer der Auslöser bei der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen sein kann [9]. Angesichts der Häufigkeit des Auftretens von EBV und seiner Eigenschaften, ist es nicht erstaunlich, dass autoimmune Folgeerkrankungen keine Seltenheit mehr sind. So wurden beispielsweise Epstein-Barr-Virus-kodierte kleine RNAs (EBERs) bei beiden Hashimoto-Schilddrüsenentzündungen und Morbus Basedow-Patienten festgestellt. Darüber hinaus ist ein erhöhter Serumspiegel von Epstein-Barr Kernantigenen (EBNA) bei Patienten mit Hashimoto-Thyreoiditis beobachtet worden. Bei Patienten mit Thyreoiditis wurde festgestellt, dass Antikörper gegen das virale Capsid Antigen (IgG-VCA) und gegen die frühen Antigene (IgG-EA-D/DR) von EBV häufiger auftreten. Zudem konnte bei den Kontrollen von Kindern mit Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse gezeigt werden, dass die Seroprävalenz der EBV-Infektion höher ist, als die der Kontrollpopulation [10].

Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse (AISD), einschließlich Morbus Basedow und HT, betreffen mittlerweile bis zu 10% der Weltbevölkerung [1]. Wobei die Autoimmunthyreoiditis Hashimoto der Schilddrüse die häufigste Ursache einer Hypothyreose darstellt [5]. HT oder die chronisch lymphatische Thyreoiditis ist eine häufige Autoimmunerkrankung mit unbekannter Ätiologie, deren Prävalenz in den letzten 50 Jahren deutlich zugenommen hat [2, 3, 4]. Zumeist sind von einer Hashimoto-Thyreoiditis Frauen (95%) im Alter zwischen 30 und 50 Jahren betroffen. Als guter diagnostischer Marker haben sich hierbei die Anti-Thyreoperoxidase (TPO) Antikörper herausgestellt, da mehr als 90% der Patientinnen einen erhöhten Anti-TPO-Antikörper-Titer aufweisen. Bei den 10% der Patienten ohne erhöhten Anti-TPO-Antikörper-Titer besteht die Thyreoiditis im fortgeschrittenen Stadium schon viele Jahre, und der Immunprozess kann als „ausgebrannt“ bezeichnet werden [5].

Experten schlagen vor, dass primär ein Schilddrüsenfunktion-Screening bei Patienten mit, Sjögren-Syndrom, rheumatoide Arthritis und Lupus erythematodes durchgeführt werden sollte, da diese

Erkrankungen in Zusammenhang mit einer EBV-Infektion stehen können.

EBV befällt hauptsächlich B-Lymphozyten und nasopharyngeale Epithelzellen, was unter anderem zu einer Autoimmunerkrankung führen kann. Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass EBV zu einer in vitro-Transformation von ruhenden B-Lymphozyten in proliferierende Lymphoblasten führen kann [6]. Weswegen EBV mittlerweile als viraler Auslöser verschiedener Bluterkrankungen wie Lymphomen oder Leukämien angesehen wird. Auch die Beteiligung von EBV an der bösartigen Umwandlung der Hashimoto-Erkrankung in ein malignes Lymphom der Schilddrüse wird in forschungskreisen stark diskutiert, da beispielsweise über 90% aller primären Schilddrüsenlymphome in Patienten mit einer aktuellen oder vergangenen Hashimoto-Erkrankung mit B-Zellbeteiligung gefunden wurden [11].

Bei gesunden Personen nehmen bei einer Primärinfektion EBV-spezifische T-Zell-Antworten eine Schlüsselrolle ein. Diese sind wesentlich an der Steuerung der Virusreplikation und des Aufbaus des Latenzzustandes beteiligt. Dieser meist lebenslange Trägerzustand kann zu einer Prävention EBV-assoziiierter Krankheiten führen [6, 11].

Zum Nachweis Epstein-Barr-Virus-spezifischer T-Zell-Antworten gibt es verschiedene Methoden. Unter den Interferone gamma-release Assays hat sich jedoch der EliSpot als sehr effiziente und aussagekräftige Methode herausgestellt. Für den EliSpot werden autolog EBV-transformierte B-lymphoblastoid Zelllinien (B-LCL) als Antigenquelle zur Stimulation der Lymphozyten verwendet. B-LCL exprimieren nicht nur latente Proteine von EBV, sondern auch die lytischen Proteine. Aufgrund der Tatsache, dass nur ein geringer Anteil von Zellen (<5%) der B-LCL Zelllinie in die lytische Phase der Infektion verfällt, können damit sowohl CD8+ als auch CD4+ lytische Antigen-spezifische T-Zellen aktiviert werden. Der EliSpot ist eine attraktive Alternative zu anderen Lymphozytentests, wie beispielsweise dem Lymphozytentransformationstest (LTT), da der EliSpot zur Anregung der Zellen proteinübergreifende Antigenmischungen auch von überlappenden Peptiden verwendet, sowie die Dauer der Testdurchführung meist etwas geringer ist als beim LTT. Dies hat den Vorteil, dass keine Memory-T-Zellen im Test stimuliert werden und das Ergebnis für den Patienten schneller verfügbar ist. EBV-spezifische Analysen mittels T-Zell-Antworten wie z. B. durch EliSpot-Analysen liefern neue Einblicke in die Pathogenese von EBV-assoziierten Erkrankungen und dadurch eine moderne Methode zur Überwachung der EBV-Infektion von Patienten [12].

Dr. med. Mihail Pruteanu
Zirbelstraße 58, 2. Stock
86154 Augsburg | Deutschland
info@arminlabs.com
www.arminlabs.com

Literatur

- [1] Davies TF. Infection and autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 674–676
- [2] Hueston WJ (2001) Treatment of hypothyroidism. *Am Fam Physician* 64: 1717–1724
- [3] Staii A, Mirocha S, Todorova-Koteva K, Glinberg S, Jaume JC (2010) Hashimoto thyroiditis is more frequent than expected when diagnosed by cytology which uncovers a pre-clinical state. *Thyroid Res* 3: 11
- [4] Rizzo M, Rossi RT, Bonaffini O, Scisca C, Altavilla G, et al. (2010) Increased annual frequency of Hashimoto's thyroiditis between years 1988 and 2007 at a cytological unit of Sicily. *Ann Endocrinol (Paris)* 71: 525–534
- [5] Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Schnedl (2012) 100 Jahre Hashimoto-Thyreoiditis. *Der Praktische Arzt*: 01–04
- [6] Anna Dittfeld, Katarzyna Gwizdek, Marek Michalski, Romuald Wojnicz, A possible link between the Epstein-Barr virus infection and autoimmune thyroid disorders, *Central European Journal of Immunology* 2016; 41 (3): 297–301
- [7] Aleksandra Pyzik, Ewelina Grywalska, Beata Matyjaszek-Matuszek, Jaroslaw Ludian, Ewa Kiszczak-Bochynska, Agata Smolen, Jacek Rolinski and Dawid Pyzik, (2019) Does the Epstein-Barr Virus Play a Role in the Pathogenesis of Graves' Disease? *International Journal of Molecular Sciences* 2019, 20, 3145
- [8] Kasprzak A, Spachacz R, Wachowiak J, et al. (2007): Epstein-Barr virus (EBV) infection in B-cell non-Hodgkin's lymphomas in children: virus latency and its correlation with CD21 and CD23 molecules. *Folia Histochem Cytobiol* 45: 169–179
- [9] Nagata K, Okuno K, Ochi M, et al. (2015): Production of thyrotropin receptor antibodies in acute phase of infectious mononucleosis due to Epstein-Barr virus primary infection: a case report of a child. *Springerplus* 4: 456
- [10] Maeda, A., Sato, T., and Wakiguchi, H. 2006. Epidemiology of Epstein-Barr virus (EBV) infection and EBV-associated diseases. *Nihon Rinsho* 64:609–612
- [11] Andrea Janegova, Pavol Janega, Boris Rychly, Kristina Kuracinova, Pavel Babal, The role of Epstein-Barr virus infection in the development of autoimmune thyroid diseases. *Endokrynologia Polska* 2015; 66 (2–8)
- [12] Jie Yang, Victor M. Lemas, Ian W. Flinn, Chris Krone, and Richard F. Ambinder, Application of the ELISPOT assay to the characterization of CD81 responses to Epstein-Barr virus antigens, *Blood*, 1 January 2000, Volume 95, Number 1