

Medizinische Klinik

Organ der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin

© Urban & Vogel 1993

NO. 4

APRIL 15, 1993

VOLUME 88

Hans-Peter Schuster

**The 99th Meeting of Deutsche Gesellschaft
für Innere Medizin** 173

Original articles

Andreas Stallmach, Bernd von Lampe,
Hans-Dieter Orzechowski, Ernst O. Riecken
**Decreased fibronectin in receptor expression
results in increased tumorigenicity of colonic
epithelial cells.** 175

Armin E. Heufelder, Rebecca S. Bahn,
Klaus P. Boergen, Peter C. Scriba
**Detection, localization and modulation of
hyaluronic acid/CD44 receptor expression
in patients with Graves' ophthalmopathy** 181

Harald Matthes, Andreas Stallmach, Burkhard Matthes,
Hermann Herbst, Detlef Schuppan, Ernst O. Riecken
**Indications to different collagen metabolism
in Crohn' disease and ulcerative colitis** 185

Stephan Martin, José M. Casanovas,
Donald E. Staunton, Timothy A. Springer
**Prevention of rhinovirus infection in vitro
by ICAM-1-immunoglobulin chimeras** 193

Christian Ole Feddersen, Peter Barth,
Annette Püchner, Peter von Wichert
**N-acetylcysteine diminishes structural and
functional lung injury in endotoxin treated
rats** 198

Philipp Wende, Manfred Strauch, Thomas Unger,
Norbert Gretz, Peter Rohmeiss
**Autoregulation of renal blood flow,
glomerular filtration rate and plasma-renin
activity in spontaneously hypertensive rats
and normotensive Wistar rats** 207

Reviews

Wolfgang Christian Poller, Jakob-Peter Faber
**Molecular analysis of pulmonary risk genes.
Its relevance to clinical research, diagnosis
and treatment** 212

Werner Seeger
**Prevention of acute adult respiratory distress
syndrome** 231

Ines Kappstein
Prevention of nosocomial pneumonia 247

Karl Wagner, Anton Daul
Prevention of acute renal failure 251

Erwin Seifert
Prevention of gastrointestinal stress 256

Editorial

Hans-Peter Schuster
Prophylaxis in intensive care medicine 261

Point of view

Gerhard Riecker
The basis of medical decision-making 263

Case record

Eberhard F. Lampeter, Michael Homberg,
Klaus Quabeck, Peter Werner, Friedrich A. Gries,
Hubert Kolb

**Accidental transfer of type I diabetes
mellitus by transplantation of HLA-identical
bone marrow** 272

News 275

Imprint 278

Nachweis, Lokalisation und Modulation der Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression bei Patienten mit endokriner Orbitopathie

Armin E. Heufelder*, Rebecca S. Bahn**, Klaus P. Boergen***, Peter C. Scriba*

Zusammenfassung

Die Akkumulation von Hyaluronsäure im Retrobulbärraum bildet ein pathophysiologisch charakteristisches Merkmal der endokrinen Orbitopathie. Über den Hyaluronsäurerezeptor (CD44) werden wichtige zelluläre Funktionen wie die Migration, Proliferation und Adhäsion von Bindegewebs- und Entzündungszellen sowie der Hyaluronsäuremetabolismus reguliert. Bei der Akkumulation von Hyaluronsäure sowie der Infiltration immunkompetenter Zellen im Rahmen der endokrinen Orbitopathie könnte der CD44-Rezeptor eine Rolle spielen. Nachweis und Lokalisation des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors erfolgten immunhistochemisch an Kryostatenschnitten von Biopsien des Retroorbitalgewebes von Patienten mit schwerer endokriner Orbitopathie sowie an normalem Kontrollgewebe unter Verwendung monoklonaler Anti-CD44-Antikörper. Die Modulation von CD44 durch Zytokine und gereinigte IgG-Frakturen von Patienten mit endokriner Orbitopathie wurde in Extrakten von *in vitro* stimulierten retroorbitalen Fibroblastenmonolayern mittels SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese und Immunoblotting untersucht und densitometrisch quantifiziert. CD44 war in Biopsien von allen Patienten mit endokriner Orbitopathie ($n = 7$) nachweisbar und dabei vorwiegend in Fibroblasten des retroorbitalen Bindegewebes, im Bereich der extrazellulären Matrix sowie in mononukleären Zellinfiltraten lokalisiert. Im Gegensatz hierzu war CD44 im Kontrollgewebe nur auf niedrigem Niveau und in vereinzelt Bindegewebszellen nachweisbar. IL-1 α , TNF α , IGF-1 und Patienten-IgGs führten zu einer signifikanten Stimulation der Expression von CD44 (Bereich 168 bis 588%; alle $p < 0,05$). Mit EGF, IL-6, Kontroll-IgGs oder 15% fötalem Kälberserum war hingegen keine wesentliche Veränderung

der CD44-Expression zu beobachten. Unter IFN γ ergaben sich neutrale bis schwach inhibitorische Effekte. Die hier untersuchte CD44-Standardmolekülvariante ist im Retrobulbärgewebe von Patienten mit endokriner Orbitopathie überexprimiert. Im Orbitagewebe bei endokriner Orbitopathie nachgewiesene Zytokine und Wachstumsfaktoren wie IL-1 α , TNF α und IGF-1 sowie IgG-Frakturen von Patienten mit endokriner Orbitopathie stimulieren die CD44-Expression in kultivierten retroorbitalen Fibroblasten. Die lokale Stimulation des CD44-Rezeptors und die damit verbundenen metabolischen und immunologischen Funktionen könnten in der Pathogenese der endokrinen Orbitopathie eine Rolle spielen.

Summary

Detection, localization and modulation of hyaluronic acid/CD44 receptor expression in patients with Graves' ophthalmopathy

Accumulation of hyaluronic acid within the orbital tissues represents a histological hallmark of Graves' ophthalmopathy. The hyaluronic acid/CD44-receptor plays a key role in the binding and metabolism of hyaluronic acid, and affects numerous cellular functions of potential relevance to the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy, including cell proliferation, migration, and adhesive interactions between connective tissue components and immunocompetent cells. Using a highly sensitive immunoperoxidase technique and monoclonal antibodies directed against the standard CD44 molecule, we examined the expression and modulation of hyaluronic acid/CD44 receptors in cryostat sections of orbital biopsy specimens derived from patients with severe Graves' ophthalmopathy and normal individuals. Modulation of CD44 by cytokines and affinity-purified IgGs derived from patients with Graves' ophthalmopathy was studied in extracts of fibroblast monolayers following stimulation *in vitro*, using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and immunoblotting. Strong immunoreactivity for CD44 was present in all specimens derived from pa-

tients with Graves' ophthalmopathy and was detected in fibroblasts residing in retroorbital connective tissue, in extracellular matrix components and in mononuclear cell infiltrates. By contrast, in normal orbital specimens, CD44 immunoreactivity was faint and present only in occasional connective tissue cells. Recombinant IL-1 α , TNF α , IGF-1 and GO-IgGs significantly stimulated CD44 expression in Graves' retroocular fibroblasts (range: 168 to 588%; all $p < 0.05$). By contrast, EGF, IL-6, control IgGs and 15% fetal calf serum failed to alter CD44 expression. Treatment of monolayers with IFN γ resulted in weak inhibition of CD44 expression. In conclusion, the hyaluronic acid/CD44 receptor is expressed at elevated levels in Graves' orbital connective tissue *in situ*. Certain autocrine/paracrine factors, known to be present in the orbit in Graves' ophthalmopathy, as well as patients' IgGs, are capable of stimulating the expression of CD44 in Graves' retroocular fibroblasts *in vitro*. Local stimulation of the hyaluronic acid/CD44 receptor and the resulting metabolic and immunological consequences may play a role in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy.

Die Akkumulation hydrophiler Glykosaminoglykane, insbesondere von Hyaluronsäure, sowie die Infiltrate immunkompetenter Zellen im orbitalen Binde- und Augenmuskulgewebe gehören zu den auffälligsten histologischen Veränderungen im Rahmen der endokrinen Orbitopathie [3, 7, 17, 21, 27]. Als Folge dieser Veränderungen resultieren die typischen klinischen Manifestationen der endokrinen Orbitopathie wie Proptosis, Diplopie, periorbitale Schwellung und Entzündung [4, 24, 26]. Zahlreiche Zytokine, Wachstumsfaktoren und Entzündungsmediatoren, die von infiltrierenden Lymphozyten, Makrophagen, Mastzellen sowie lokal im Bindegewebe gebildet werden, modulieren zahlreiche zelluläre Prozesse im Retroorbitalraum [3, 26]. Zu den wichtigsten, durch parakrine und autokrine Mechanismen modulierten Funktionen

*Medizinische Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München.

**Division of Endocrinology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic/Foundation, Rochester, MN, USA, und

***Sehschule der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Eingang des Manuskripts: 3. 2. 1993.

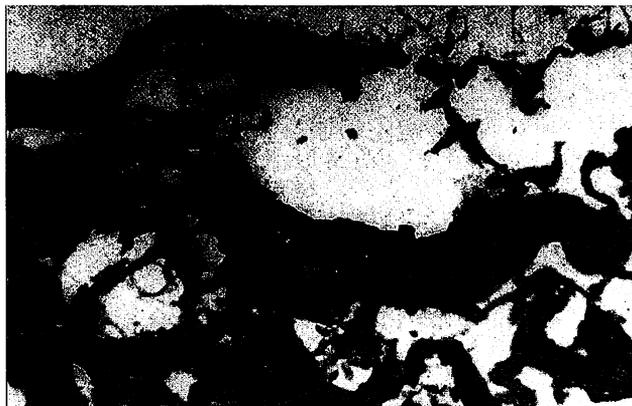


Abbildung 1a

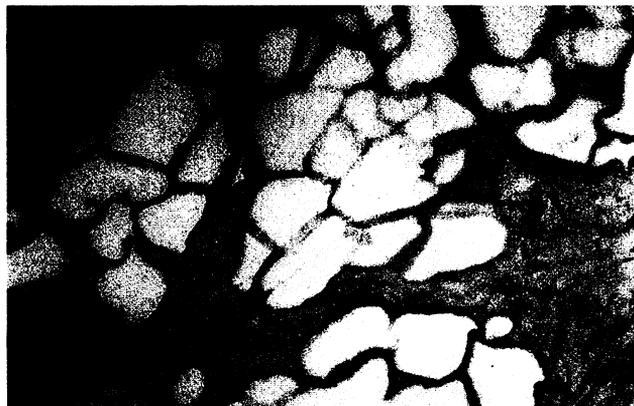


Abbildung 1b

Abbildungen 1a und 1b. Immunoperoxidasedetektion des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors (Standardmolekülvariante) an Kryostatsschnitten von Retroorbitalgewebe unter Verwendung eines monoklonalen Anti-CD44-Antikörpers. a) Gewebeprobe eines Patienten mit Morbus Basedow und endokriner Orbitopathie, b) normales Kontrollgewebe. Originalvergrößerungen 160fach.

gehören die Stimulation von Zellproliferation [10] und Glykosaminoglykansynthese [22, 24, 25] im retroorbitalen Bindegewebe, die Expression von HLA-Klasse-II-Molekülen [13, 14, 27], Streßproteinen [15] und Adhäsionsrezeptoren [12, 13]. Neben der vermehrten Produktion von Hyaluronsäure könnten im Rahmen der endokrinen Orbitopathie auch Veränderungen im Bindungsverhalten und Metabolismus der Hyaluronsäure für die Akkumulation von Hyaluronsäure im Orbitagewebe von Bedeutung sein. Der mit dem Hyaluronsäurerezeptor als identisch identifizierte CD44-Rezeptor [2, 6] spielt nicht nur im Hinblick auf die Bindung und Metabolisierung von Hyaluronsäure und extrazellulärer Matrix eine zentrale Rolle [1, 8], sondern moduliert weitere wichtige Zellfunktionen, die in der Pathogenese der endokrinen Orbitopathie von grundsätzlicher Relevanz sein könnten. Hierzu gehören unter anderem die Migration und Proliferation von Bindegewebs- und Entzündungszellen sowie Signalmechanismen, die zur Adhäsion und Interaktion von Lymphozyten und Antigen-präsentierenden Zellen sowie Matrixkomponenten führen [9, 16, 22].

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Nachweis und der zellulären Lokalisation des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors im Retroorbitalgewebe von Patienten mit endokriner Orbitopathie und von Normalpersonen. Der Einfluß ausgewählter Zytokine, Wachstumsfaktoren sowie aus Patientenseren isolierter Immunglobulin-G-Fractionen auf die Expression des Hyaluronsäure/

re/CD44-Rezeptors wurde anhand kultivierter retroorbitaler Fibroblastenmonolayer untersucht, die von Patienten mit schwerer endokriner Orbitopathie stammten.

Patienten und Methoden

Biopsien aus dem retroorbitalen Bindegewebe wurden von sieben Patienten mit Morbus Basedow und endokriner Orbitopathie im Rahmen von orbitalen Dekompressions- oder Strabismusoperationen entnommen. Kontrollgewebe wurde im Rahmen von Schieloperationen ($n = 4$) oder rekonstruktiven Orbitaeingriffen ($n = 3$) gewonnen. Die Gewinnung und Subkultivierung von Fibroblastenprimärkulturen sowie deren phänotypische Charakterisierung erfolgten nach einem etablierten Schema [12, 15]. Der immunhistochemische Nachweis des CD44-Rezeptors wurde an fixierten Kryostatsschnitten der Biopsate unter Verwendung monoklonaler Anti-CD44-Antikörper sowie eines hochsensitiven Dreischritt-Immunoperoxidase-Detektionssystems durchgeführt [13, 15]. Für Studien zur Modulation des CD44-Rezeptors wurden Fibroblastenmonolayer (Medium 199 plus 1% fötales Kälberserum) für jeweils 72 Stunden mit Interleukin 1 α /IL-1 α ; 100 U/ml), Interleukin 6 (IL-6; 100 U/ml), Tumornekrose-Faktor (TNF α ; 100 U/ml), epidermale Wachstumsfaktor (EGF; 1 ng/ml), insulinähnlichem Wachstumsfaktor (IGF-1; 10 ng/ml) oder 15% fetalem Kälberserum inkubiert und die aufbereiteten Zellextrakte mit-

tels SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese aufgetrennt [12, 15]. Nachweis und Quantifizierung von CD44-Immunität erfolgten mittels Immunoblotting und Laserdensitometrie unter Berücksichtigung der aufgetragenen Proteinmengen [15]. Die Isolierung von IgG-Fractionen aus Patientenseren mit hohen Konzentrationen TSH-Rezeptor-stimulierender Immunglobuline sowie aus Kontrollseren erfolgte mittels Protein-A-Affinitätschromatographie [12]. Die Zellmonolayer wurden mit den IgG-Fractionen in einer Konzentration von 100 μ g/ml über 72 Stunden inkubiert. Die vergleichende Analyse der CD44-Rezeptor-Expression anhand von Kryostatsschnitten erfolgte semiquantitativ durch zwei unabhängige Beobachter nach einem etablierten Verfahren [14]. Die statistische Datenauswertung erfolgte mit dem t-Test, wobei ein p-Wert von 0,05 oder kleiner als signifikant gewertet wurde.

Ergebnisse

Immunreaktivität für den Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor war in allen Biopsien aus Retroorbitalgewebe von Patienten mit endokriner Orbitopathie nachweisbar (Abbildungen 1a und 1b). Eine starke spezifische Anfärbung (+++) war bei sechs der sieben untersuchten Patienten zu finden, ein Patient zeigte eine etwas schwächer ausgeprägte CD 44-Immunreaktivität (++) . Die Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression war vorwiegend in Fibroblasten des retrookulären Bindegewebes, in endomysialen Fibroblasten, extrazellulären Matrix-

komponenten sowie mononukleären Zellinfiltraten lokalisiert. Im Kontrollgewebe bei Normalpersonen war der Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor demgegenüber auf niedrigem Niveau (zwei Patienten: negativ; vier Patienten: positiv) exprimiert und nur in vereinzelten Bindegewebszellen nachweisbar.

Primärkulturen retroorbitaler Fibroblasten von Patienten mit endokriner Orbitopathie wiesen im Vergleich mit Zellmonolayern aus Subpassagen ein signifikant höheres Basalniveau der immunreaktiven Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression auf (Abbildung 2; $p < 0,01$). Eine signifikante Stimulation der Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression in kultivierten Fibroblastenmonolayern war nach Inkubation mit IL-1 α (100 U/ml; $p < 0,0001$), TNF α (100 U/ml; $p < 0,05$) und IGF-1 (10 ng/ml; $p < 0,001$) nachweisbar (Abbildung 3; Stimulationsbereich 168 bis 588%), während EGF (1 ng/ml), IL-6 (100 U/ml) und 15% fötales Kälberserum ohne signifikanten Effekt blieben. Nach Stimulation mit Patienten-IgGs über 72 Stunden zeigten von Patienten mit endokriner Orbitopathie gewonnene retroorbitale Fibroblastenmonolayer einen signifikanten Anstieg der CD44-Rezeptor-Expression (Abbildung 4; $p < 0,0001$), der nach vorangehender Absorption des Inkubationsmediums mit Protein A nicht mehr nachweisbar war. Im Gegensatz hierzu waren nach Behandlung der Fibroblastenmonolayer mit IgG-Fractionen aus Normalseren keine signifikanten Veränderungen an immunreaktivem CD44-Rezeptor festzustellen.

Diskussion

Die Akkumulation von Hyaluronsäure sowie die Infiltration von Entzündungszellen im Retroorbitalgewebe sind typische histologische Befunde bei Patienten mit endokriner Orbitopathie [4, 7, 17, 21]. Zahlreiche Zytokine und Wachstumsfaktoren wie IL-1 α , TNF α -, IFN γ und IGF-1 werden im retroorbitalen Bindegewebe gebildet und freigesetzt [11, 26]. Als Produktionsorte dieser parakrin/autokrin wirksamen Faktoren kommen in erster Linie Lymphozyten/Makrophagen, aber auch Zellen des retroorbitalen Fett- und Bindegewebes in Betracht [11, 13]. Zu den pathophysiologisch relevanten Wirkungen dieser Entzün-

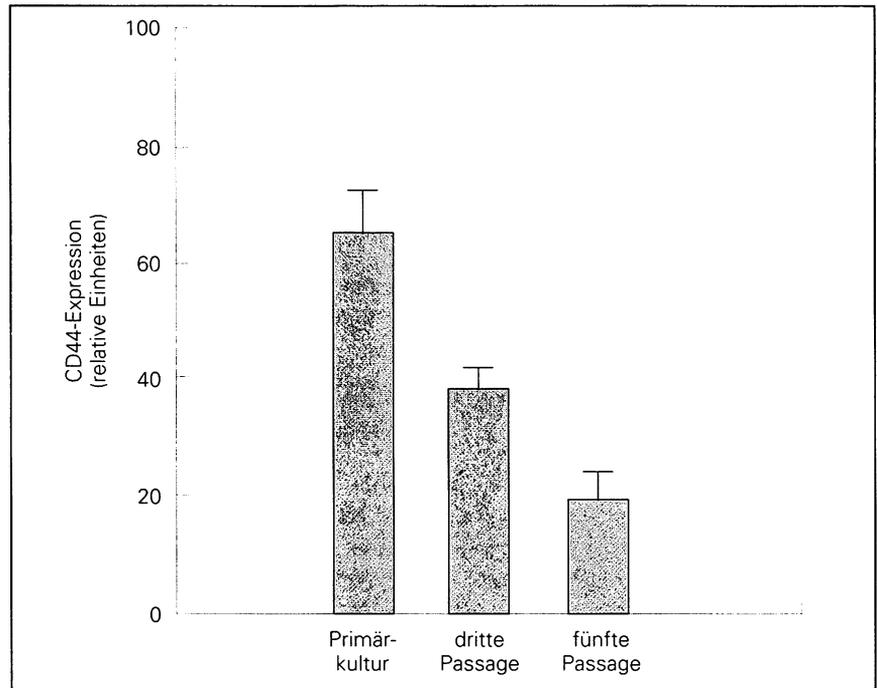


Abbildung 2. Nachweis des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors in Primärkulturen und Subpassagen retroorbitaler Fibroblasten von Patienten mit endokriner Orbitopathie ($n = 7$). Zellextrakte wurden mittels SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese aufgetrennt und die CD44-Immunreaktivität durch Immunoblotting mit monoklonalen Anti-CD44-Antikörpern nachgewiesen. Die Daten repräsentieren die korrigierten Mittelwerte \pm Standardabweichung relativer Einheiten nach laserdensitometrischer Quantifizierung.

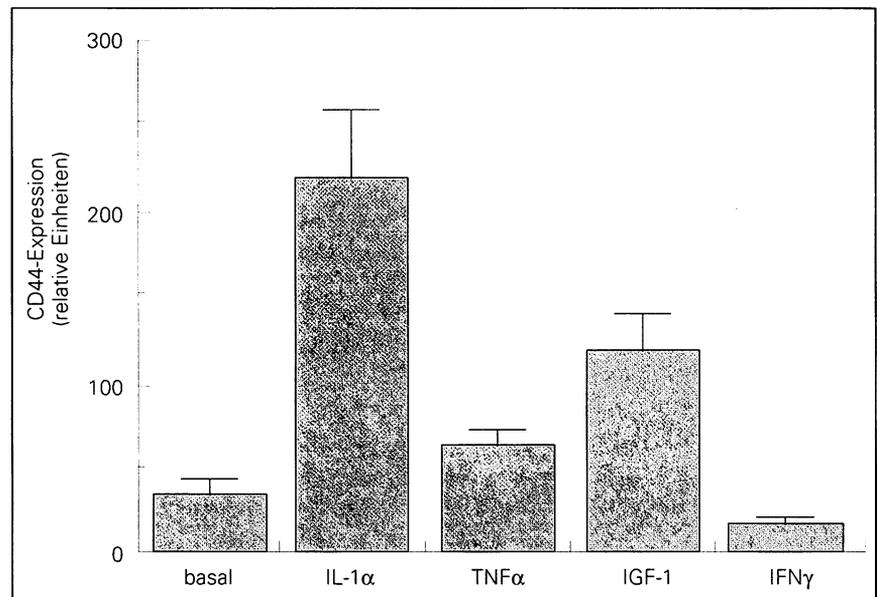


Abbildung 3. Nachweis des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors in retroorbitalen Fibroblastenmonolayern von Patienten mit endokriner Orbitopathie ($n = 7$). Nach Stimulation mit den angegebenen Zytokinen/Wachstumsfaktoren wurden die Zellextrakte mittels SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese aufgetrennt. Die CD44-Immunreaktivität wurde durch Immunoblotting unter Verwendung monoklonaler Anti-CD44-Antikörper nachgewiesen. Die Daten repräsentieren die korrigierten Mittelwerte \pm Standardabweichung relativer Einheiten nach laserdensitometrischer Quantifizierung.

dungsmediatoren und Wachstumsfaktoren gehören neben immunologischen Effekten die Modulation der Fibroblastenproliferation sowie die Beeinflussung metabolischer Prozesse, zum Beispiel die gesteigerte Bildung von hydrophilen Glykosaminoglykanen, speziell der Hyaluronsäure [10, 20, 24]. Ob darüber hinaus Störungen der Hyaluronsäurebindung, -aufnahme und -metabolisierung an der exzessiven Hyaluronsäureakkumulation im Orbita-raum bei endokriner Orbitopathie beteiligt sind, ist bislang nicht geklärt.

Die vorliegenden Daten zeigen eine starke Expression des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors im Retroorbitalgewebe von Patienten mit endokriner Orbitopathie, die im retroorbitalen Kontrollgewebe von Normalpersonen nicht nachzuweisen war. CD44-Immunreaktivität war insbesondere in retroorbitalen Bindegewebszellen, in der umgebenden extrazellulären Matrix sowie in einem Teil der infiltrierenden mononukleären Zellen lokalisiert. Von den untersuchten Zytokinen und Wachstumsfaktoren waren IL-1 α , TNF α und IGF-1 in der Lage, die Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression in vitro zu stimulieren. Primärkul-

turen retroorbitaler Fibroblasten zeigten eine prominente Expression von CD44, die im Verlauf nachfolgender Zellpassagen auf niedrigerem Niveau nachzuweisen war. Im Gegensatz zu Kontroll-IgG-Fractionen waren IgG-Fractionen aus Seren von Patienten mit endokriner Orbitopathie und hohen Konzentrationen an TSH-Rezeptor-stimulierenden Immunglobulinen ebenfalls in der Lage, die Expression des immunreaktiven CD44-Rezeptors in retroorbitalen Fibroblasten zu stimulieren. Diese Befunde weisen darauf hin, daß die Überexpression von CD44 im Retroorbitalgewebe bei Patienten mit endokriner Orbitopathie Folge einer lokalen Stimulation durch parakrine/autokrine Faktoren sein könnte, die von aktivierten mononukleären Zellen und Fibroblasten produziert werden und durch die Reservoirfunktion der extrazellulären Matrix in hohen lokalen Konzentrationen vorliegen können.

Die funktionelle Bedeutung der gesteigerten Hyaluronsäure/CD44-Rezeptor-Expression im Retroorbitalgewebe bei endokriner Orbitopathie ist derzeit noch weitgehend unklar, umfaßt jedoch entsprechend der multifak-

toriellen Rolle des CD44-Rezeptors ein breites Spektrum möglicher metabolischer und immunologischer Konsequenzen [8, 9]. Neben der Regulation des rezeptorvermittelten Hyaluronsäuremetabolismus kommen insbesondere Adhäsionsprozesse zwischen immunkompetenten Zellen und extrazellulären Matrixkomponenten [7, 20] sowie Signaltransduktionsmechanismen [5, 16, 19, 22] in Betracht, die bei der Interaktion von aktivierten T-Zellen mit antigenen Epitopen des Retroorbitalgewebes eine Rolle spielen.

Danksagung: Die Autoren danken Jim Garrity, M. D., Department of Ophthalmology, Mayo Clinic/Foundation, für die Bereitstellung von Gewebematerial. Die vorliegende Arbeit erfolgte mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (He 1485/3-1) sowie der National Institutes of Health (National Eye Institute: EY08819), USA.

Literatur

1. Asher, R., A. Bignami: Hyaluronate binding and CD44 expression in human glioblastoma cells and astrocytes. *Exp. Cell Res.* 203 (1992), 80–90.
2. Aruffo, A., I. Stamenkovic, M. Melnick, C. B. Underhill, B. Seed: CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 61 (1990), 1303–1313.
3. Bahn, R. S., A. E. Heufelder: The role of connective tissue autoimmunity in Graves' ophthalmopathy. *Autoimmunity* 13 (1992), 75–79.
4. Bahn, R. S., A. E. Heufelder: Retroocular fibroblasts: important effector cells in Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 2 (1992), 89–94.
5. Conrad, P., B. L. Rothman, K. A. Kelley, M.-L. Blue: Mechanism of peripheral T cell activation by coengagement of CD44 and CD2. *J. Immunol.* 149 (1992), 1833–1839.
6. Culty, M., K. Miyake, P. W. Kincade, E. Silorski, E. C. Butcher, C. Underhill: The hyaluronate receptor is a member of the CD44 (H-CAM) family of cell surface glycoproteins. *J. Cell Biol.* 111 (1990), 2765–2774.
7. Daicker, B.: Das gewebliche Substrat der verdickten äußeren Augenmuskeln bei der endokrinen Orbitopathie. *Klin. Mbl. Augenheilk.* 174 (1979), 843–847.
8. Haynes, B. F., H.-X. Liao, K. L. Patton: The transmembrane hyaluronate receptor (CD44): multiple functions, multiple forms. *Cancer cells* 3 (1991), 347–350.
9. Haynes, B. F., M. J. Telen, L. P. Hale, S. M. Denning: CD44 – A molecule involved in leukocyte adherence and T-cell activation. *Immunol. Today* 10 (1989), 423–428.
10. Heufelder, A. E., R. S. Bahn: Stimulation of human retroorbital fibroblast proliferation by paracrine/autocrine factors and its antagonism by glucocorticoid receptor antagonists. *Proc. Endocrine Society* (1992), 53.
11. 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.

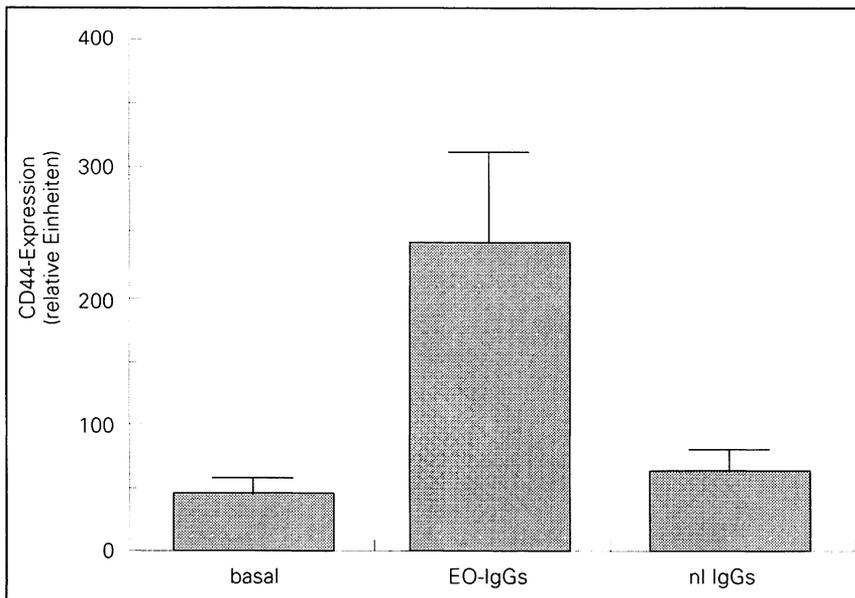


Abbildung 4. Nachweis des Hyaluronsäure/CD44-Rezeptors in retroorbitalen Fibroblastenmonolayern von Patienten mit endokriner Orbitopathie ($n = 7$). Nach Stimulation mit IgG-Fractionen (100 $\mu\text{g/ml}$) aus Seren von Patienten mit endokriner Orbitopathie und Kontrollpersonen wurden die Monolayer extrahiert und mittels SDS-Polyacrylamid-gelelektrophorese aufgetrennt. Die CD44-Immunreaktivität wurde durch Immunoblotting unter Verwendung monoklonaler Anti-CD44-Antikörper nachgewiesen. Die Daten repräsentieren die korrigierten Mittelwerte \pm Standardabweichung relativer Einheiten nach laserdensitometrischer Quantifizierung.

Fortsetzung auf Seite 277.

Für die Verfasser: Dr. Armin E. Heufelder, Forschergruppe Immunologie/Molekularbiologie der Schilddrüse, Medizinische Klinik der Universität, Ziemssenstraße 1, D-8000 München 2.