

Regulation der Entwicklung der Hypophyse

PROF. DR. MED. ROLAND PFÄFFLE

DR. MED. JOHANNES WEIGEL

DR. MED. ANTJE BÖTTNER

Klinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche
Der Universität Leipzig

Oststr. 21-25

04317 Leipzig

Tel.: 0341 9726330

Fax: 0341 9726349

rpfaeffle@medizin.uni-leipzig.de



1.	EINFÜHRUNG	3
1.1.	Anatomie der Hypophyse.....	4
1.2.	Embryologie der Hypophyse	6
2.	SIGNALE DES HYPOTHALAMUS AN DIE SICH ENTWICKELNDE HYPOPHYSE	8
2.1.	BMP4	9
2.2.	Sonic Hedgehog (SHH)	9
3.	WICHTIGE TRANSKRIPTIONSFAKTOREN WÄHREND DER ENTWICKLUNG DES HYPOPHYSENVORDERLAPPENS	10
3.1.	Die PTX-Genfamilie	10
3.1.1.	PTX1	10
3.1.2.	PTX2	11
3.2.	LIM-Homödomän –Transkriptionsfaktoren	11
3.3.	LHX3	11
3.3.1.	LHX3 Mutationen beim Menschen	13
3.3.2.	Vererbungsmodus von LHX3-Mutationen.....	17
3.3.3.	Hypophysenmorphologie bei Patienten mit LHX3-Mutationen	17
3.4.	LHX4	17
3.4.1.	LHX4 Genmutationen beim Menschen.....	18
3.4.2.	Vererbungsmodus und Häufigkeit von LHX4 Mutationen.....	18
3.5.	PROP1	19
3.5.1.	Aufbau des PROP1-Gens	20
3.5.2.	PROP1-Mutation beim Menschen.....	20
3.5.3.	Die Variabilität des Phänotyps von PROP1-Mutationen.....	22
3.5.4.	Morphologie der Hypophyse bei Patienten mit PIT1 und PROP1-Genmutation.....	24
3.6.	PIT1	25
3.6.1.	Aufbau von PIT1	26
3.6.2.	Funktion des Pit1-Moleküls	26
3.6.3.	Tiermodelle zu Pit1-Defekten	27
3.6.4.	PIT1-Mutation beim Menschen.....	27
3.6.5.	Variabilität des Phänotyps bei PIT1-Mutation.....	28
3.6.6.	Vererbungsmodus von PIT1-Gen-Mutationen.....	29
3.7.	PAX6	30
3.8.	SIX3 und SIX6	31
3.9.	HESX1	31
4.	WEITERE TRANSKRIPTIONSFAKTOREN	32
4.1.	SF1	32
4.2.	TPIT	33
4.3.	SOX3	34
5.	ZUSAMMENFASSUNG	35
6.	AUSBLICK:	38

1. EINFÜHRUNG

Die Hypophyse ist ein zentrales Organ bei der hormonellen Steuerung aller Säugetierorganismen. Es integriert eine Vielzahl von lebenswichtigen Regelkreisen auf engstem Raum. So sezerniert sie Peptide und Proteohormone, welche die Stressantwort des Organismus (Nebennierenachse), seine Fortpflanzung (Gonadenachse), sein Wachstum (Wachstumshormonachse) und seinen Energiehaushalt (Schilddrüsenachse) steuern.

In den letzten 20 Jahren wurden eine Vielzahl von hypophysären Transkriptionsfaktoren identifiziert, welche die embryonale Entwicklung und die Funktion des Hypophysenvorderlappens steuern (Watkins-Chow u. Camper 1998; Dasen u. Rosenfeld 1999b; Savage et al. 2003b). Mit der Untersuchung dieser Faktoren ließen sich zum einen einige der Mechanismen aufklären, welche für den Funktionsausfall dieses Organs verantwortlich sein können. Andererseits erbrachten sie Erkenntnisse über den genauen Ablauf der embryonalen Entwicklung dieses Organs.

Da sich in der Hypophyse embryonal mindestens 5 verschiedene hormonproduzierende Zelllinien (die Wachstumshormon produzierenden somatotrophen, die Prolaktin produzierenden laktotrophen, die LH und FSH produzierenden gonadotrophen und die TSH produzierenden thyreotropen Zellen) aus einer ursprünglichen Organanlage entwickeln, tragen diese Untersuchungsergebnisse auch zum grundsätzlichen Verständnis embryonaler Entwicklungsprozesse komplexer Organsysteme bei. Die genetischen Mechanismen, welche beispielsweise die spezifische Transkription des GH1-Gens regulieren, müssen zum einen sehr effektiv, zum anderen jedoch auch sehr spezifisch die Expression innerhalb der wachstumshormonproduzierenden, somatotrophen Zelle gewährleisten. Die adulte etwa 600 mg schwere Hypophyse produziert täglich etwa 1-3 mg dieses Proteohormons. Etwa die Hälfte aller Zellen des Hypophysenvorderlappens sind somatotrophen Ursprungs und in ihrem Transkriptionsapparat auf diese optimierte Syntheseleistung eingerichtet. Jeder Defekt innerhalb des Transkriptionsapparates kann dessen Effektivität empfindlich beeinflussen und daher funktionelle Konsequenzen für den Organismus tragen (z.B. einen hypophysären Kleinwuchs). Darüber hinaus haben viele der beschriebenen Transkriptionsfaktoren auch zentrale Funktionen während der embryonalen Differenzierung und Proliferation einzelner hypophysärer Zelllinien. Ein Defekt innerhalb der hypophysär exprimierten Transkriptionsfaktoren geht daher in der Art und dem Umfang des Hormonausfalls über das hinaus, was sich aufgrund seines Expressionsmusters in der adulten Hypophyse vermuten lässt. Das folgende Kapitel versucht den derzeitigen Wissenstand über die Funktion der

Faktoren wiederzugeben, welche für die Entwicklung und Funktion vor allem des Hypophysenvorderlappens von Bedeutung sind.

1.1. Anatomie der Hypophyse

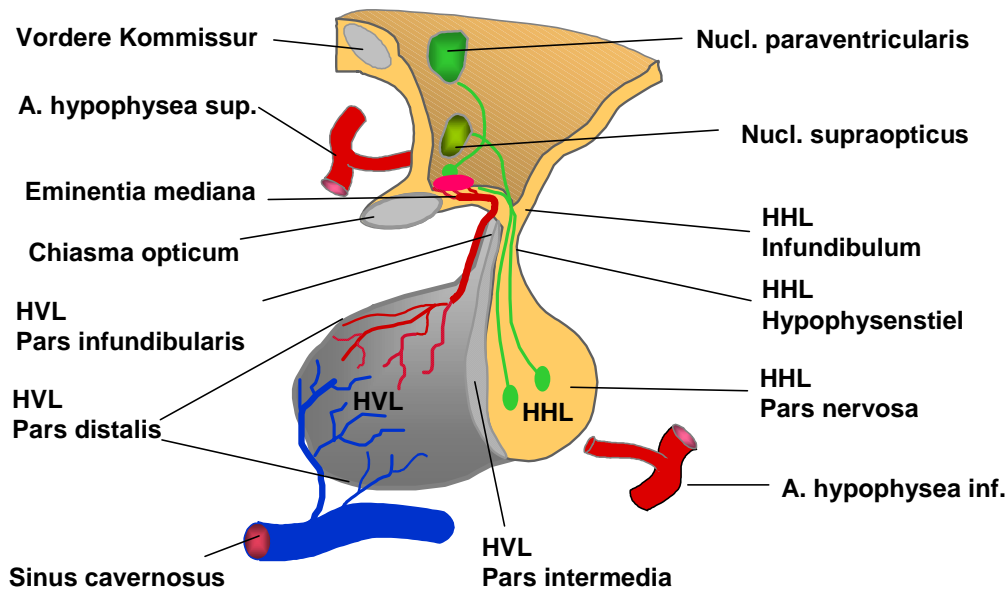


Abbildung 1 Schema der Anatomie der Hypophyse. Der Hypophysenvorderlappen (HVL) untergliedert sich in einer Pars distalis, die aus dem vorderen Anteil der Rathke Tasche hervorgeht, eine Pars intermedia (oder Mittellappen), die aus dem hinteren Anteil der Rathke Tasche entspringt und der Pars infundibularis, welche dem Hypophysenstiel entspricht. Der Hypophysenhinterlappen (HHL) gliedert sich in die pars nervosa mit den axonalen Nervenendigungen hypothalamische Kerne, dem Hypophysenstiel und der Pars infundibularis. Die arterielle Versorgung des HVL erfolgt vor allem aus Ästen der A. hypophyseae sup. und zum Teil aus der A. hypophysialis inf., die Gefäßversorgung des HHL aus der A. hypophyseae inf.. Hypothalamische Releasing-Hormone werden über die Eminentia mediana in den hypophysären Portalkreislauf an die Zielzellen befördert.

Das durchschnittliche Gewicht der Hypophyse beim Erwachsenen beträgt etwa 600 mg, wobei es einer starken interindividuellen Schwankung (400 bis 900 mg) unterliegt. Frauen haben durchschnittlich ein etwas größeres Organ, speziell während und nach der Schwangerschaft, welches dann mehr als 1 g wiegen kann. Das Gewicht der Hypophyse beim Neugeborenen beträgt zumeist schon etwa 100 mg (Thorner et al. 1992). Da fast die Hälfte aller Zellen des Hypophysenvorderlappens somatotrophen Ursprungs sind, d.h. Wachstumshormon produzieren, gehen isolierte oder inkomplette Ausfälle der Wachstumshormonsekretion häufig mit einer deutlichen Verkleinerung des Hypophysenvorderlappens einher (Magalhaes et al. 1995). Die starken interindividuellen Unterschiede in der Größe und Form des Hypophysenvorderlappens verbieten jedoch in der Praxis zumeist Rückschlüsse von der Größe der Hypophyse auf die Funktionskapazität des

Organs. Die Diagnose einer Hypophyseninsuffizienz ergibt sich daher zunächst immer aus dem pathologischen Ergebnis eines Hypophysenstimulationstests.

Die reife Hypophyse setzt sich aus zwei Anteilen zusammen:

- dem Hypophysenvorderlappen (Adenohypophyse),
- dem Hypophysenhinterlappen (Neurohypophyse)

Anatomisch lässt sich die Adenohypophyse, die einen Großteil des Hypophysenvolumens und -gewichts ausmacht in 3 Anteile unterteilen: Pars distalis, Pars intermedia (auch Hypophysenmittellappen) und Pars infundibularis (siehe Abbildung 1.1). Beim Menschen finden sich die meisten hormonproduzierenden Zellen im Bereich der Pars distalis, während die Pars intermedia weitaus weniger differenziert ist. Multiple, von einem einschichtigen Zylinderepithel ausgekleidete zystische Strukturen durchsetzen diesen Anteil der Hypophyse (Asa u. Kovacs 1984; Asa et al. 1986; Asa et al. 1988). Die Pars intermedia produziert das sog. Proopiomelanocortin (POMC), das Vorläuferprotein für das Melanozyten stimulierende Hormon (MSH) und Endorphine (Hagan u. Brooks 1998). Hier finden sich auch MSH produzierende sog. melanotrophe Zellen. Die Pars intermedia setzt sich kranial in den Hypophysenstiel fort (Pars infundibularis).

Die **Adenohypophyse** enthält 5 Zelltypen, welche nach dem Hormon, das produziert wird, in somatotrophe- (GH-produzierende), laktotrophe- (Prolaktin produzierende), gonadotrophe- (LH- und FSH-produzierende), kortikotrophe- (ACTH-produzierende) sowie thyreotrophe- (TSH-produzierende) Zellen eingeteilt werden.

Der **Hypophysenhinterlappen** ist neuronalen Ursprungs und enthält die terminalen synaptischen Endungen von Neuronen, deren Zellkörper im Hypothalamus liegen und die Oxytozin und Vasopressin sezernieren. Der Hypophysenhinterlappen (HHL) setzt sich aus drei Anteilen zusammen, dem Infundibulum, dem Hypophysenstiel und der Pars nervosa der Hypophyse (Abb. 1.1).

Der HHL enthält verschiedene Nuclei mit neuronalen Projektionen in verschiedene Hirnregionen (Thorner et al. 1992).

Für die Funktion des Hypophysenvorderlappens hingegen sind vor allem hypothalamische Projektionen in den Bereich der **Eminentia mediana** wichtig. Die Eminentia mediana stellt ein portales Gefäßsystem dar, das Hormone von den Nervenendigungen in diesem Bereich zu ihren Zielzellen im Bereich des Hypophysenvorderlappens transportiert.

1.2. Embryologie der Hypophyse

In den letzten 20 Jahren ist das Verständnis über die Vorgänge, welche bei der Organogenese des Hypophysenvorderlappens eine Rolle spielen, immens gewachsen. Dies resultierte aus der Untersuchung von Mutationen beim Menschen, aber auch im Tiermodell sowie umfangreichen *invitro*-Untersuchungen von hypothalamisch-hypophysären Transkriptionsfaktoren, die während der Embryogenese in diesem Bereich nachgewiesen werden können.

Der Hypophysenvorderlappen mit der Pars intermedia entwickelt sich embryonal aus der Rathke-Tasche, welche ursprünglich eine Ausstülpung des oralen Ektoderms darstellt. Anschließend kommt es im Regelfall zur vollständigen Separation vom oralen Ektoderm und zur Anlagerung der Rathke-Tasche an das Infundibulum, einer Ausstülpung des ventralen Diencephalon.

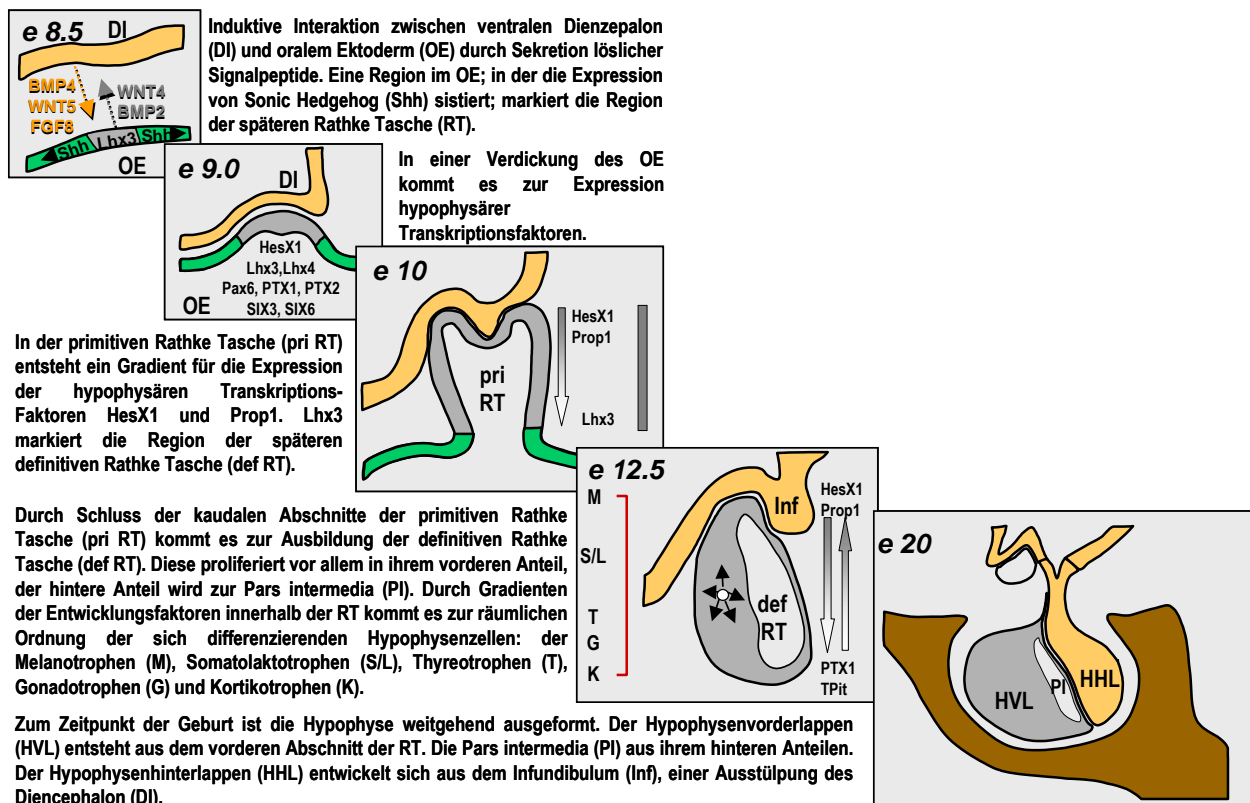


Abbildung 2 Schema der Hypophysentwicklung am Beispiel der Maus. In der frühen Phase am Embryonaltag (e) 8.5 kommt es durch Sekretion von Signalpeptiden zur Induktion einer Zone des oralen Ektoderms (OE), die sich später verdickt und zur Rathke Tasche evaginiert. Diese Zone ist zuvor gekennzeichnet dadurch, dass hier die Expression von Sonic Hedgehog (Shh) sistiert. Im weiteren Verlauf formt sich zunächst eine primitive Rathke Tasche (pri RT) und unter dem Einfluss hypophysärer Transkriptionsfaktoren die definitive Rathke Tasche (def RT) aus. Eine Kaskade von Entwicklungsfaktoren führen schließlich zur Ausformung des endgültigen Organs und zur Differenzierung der unterschiedlichen hormonproduzierenden Zelllinien.

Während der Embryonalentwicklung findet sich die Rathke-Tasche bereits in der 3. Woche bei einem 3 mm langen menschlichen Embryo ; die wachstumshormonproduzierenden, somatotrophen Zellen entwickeln sich gemeinsam mit den prolaktinproduzierenden, laktotrophen Zellen aus der somatolaktotrophen Zelllinie (Simmons et al. 1990b). Differenzierte wachstumshormonproduzierende Zellen sind beim Embryo etwa in der 9. Lebenswoche erkennbar. Etwa zum gleichen Zeitpunkt bildet sich die komplexe Gefäßversorgung des Hypophysenvorderlappens aus, welche dann das hypothalamo-hypophysäre Portalgefäßsystem ausmacht.

Zu Beginn ist die Rathke-Tasche eine noch rudimentäre Ausstülpung, die sich in ihren kaudalen Abschnitten zunehmend ausformt und später schließt, um sich dann vom Stomodeum zu trennen (Abbildung 1.2-1).

Die Zellen des ventralen Anteils der Tasche proliferieren und differenzieren sich dabei, um

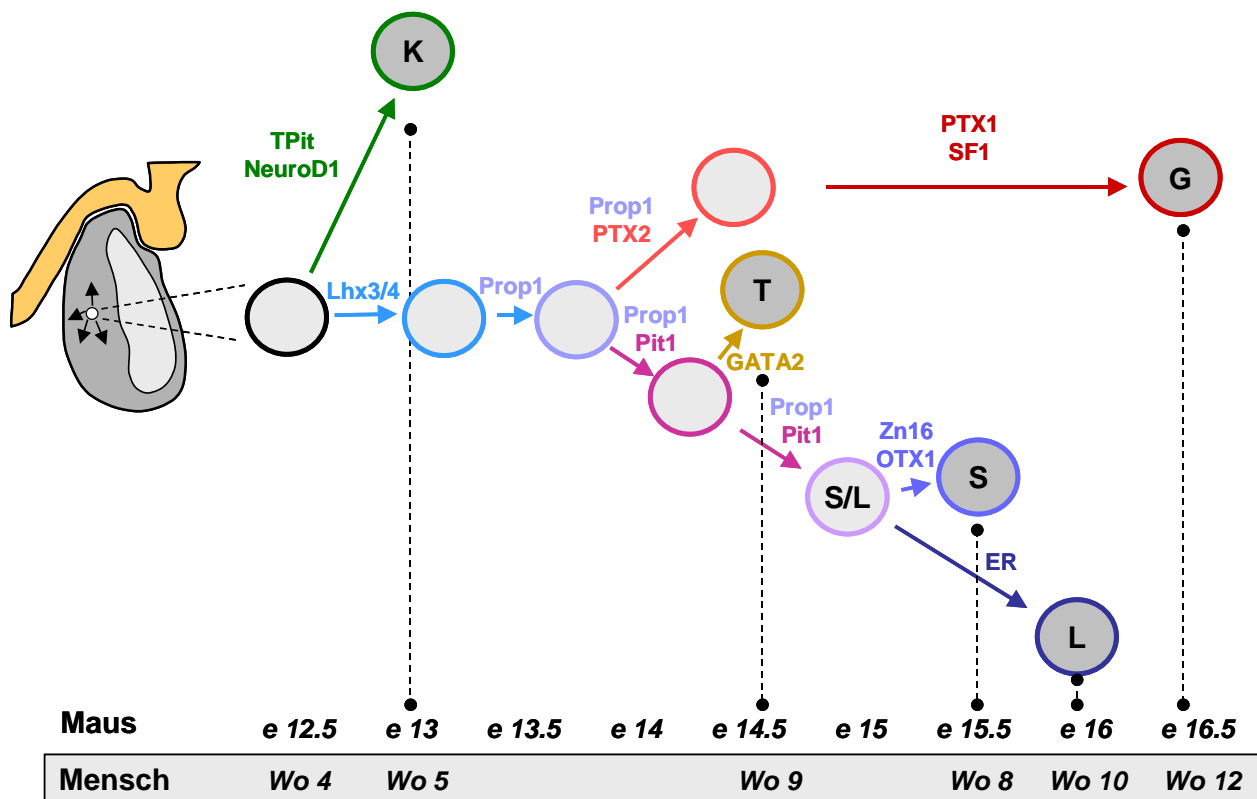


Abbildung 3 Fünf unterschiedlich differenzierte Zelllinien prägen den Hypophysenvorderlappen (HVL). Sie entstehen unter dem Einfluß einer Reihe sukzessive exprimierter hypophysärer Transkriptionsfaktoren (hier nur zum Teil dargestellt), die alleine oder in Kombination die Identität der kortikotrophen (K), thyreotropen (T), somatolaktotrophen (S/L), somatotrophen (S), aktotrophen (L) und gonadotropen (G) Zelllinien festlegen. Die Zeitpunkte während der Embryonalentwicklung der Maus, an denen diese Faktoren erstmalig nachweisbar sind, sind dargestellt. Analog ist das grobe Zeitraster der Embryonalentwicklung bei Menschen wiedergegeben. Beachte dass das Auftreten der Thyreotropen beim Menschen verhältnismäßig später erfolgt.

später den Hypophysenvorderlappen zu formen. Die Zellen des dorsalen Anteils zeigen eine geringere Proliferationsrate und bilden schließlich den Hypophyse mittellappen (Pars intermedia).

Während der Entwicklung des Hypophysenvorderlappens differenzieren sich hormonproduzierende Zellen nach einem festen Zeitplan, welcher bislang am besten im Mausmodell untersucht ist (Simmons et al. 1990a; Japon et al. 1994).

Interessanterweise entstehen die unterschiedlichen Zelltypen in spezifischen Regionen des entwickelnden Hypophysenvorderlappens (Abb 1.2-1):

Kortikotrophe Zellen finden sich in den dorsalen Anteilen des Vorderlappens an seinem rostralen Ende, gonadotrophe Zellen bilden sich in den ventralen Anteilen, thyreotrophe Zellen werden in zentralen Abschnitten nachgewiesen, während somatotrophe und laktotrophe Zellen, die sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelllinie entwickeln, die dorsalen Anteile des Hypophysenvorderlappens ausmachen (Dasen u. Rosenfeld 1999a; Kioussi et al. 1999e). Eine nur vorübergehend nachzuweisende Zellpopulation von Thyreotrophen werden in den rostralen Anteilen des Hypophysenvorderlappens der Maus nachgewiesen (Lin et al. 1994b). Einschränkend muss man hinzufügen, dass diese räumliche Aufteilung in der adulten Hypophyse von Säugetieren nicht mehr so klar umrissen nachweisbar ist.

2. SIGNALE DES HYPOTHALAMUS AN DIE SICH ENTWICKELNDE HYPOPHYSE

Die Zellen, die später die Rathke Tasche und damit die Hypophyse formen, stammen ursprünglich aus den vordersten Abschnitten der Neuralleiste. Dieser Abschnitt knickt während der embryonalen Kopfentwicklung nach ventral ab und bildet den Abschnitt des späteren oralen Epithels aus, welches das Rachendach und seine daraus abgeleiteten Strukturen einschließlich der Rathke Tasche bildet (Couly u. Le Douarin 1988; Rubenstein et al. 1998). Der eigentliche Beginn der Hypophysenentwicklung wird aber durch eine Verdickung dieser zunächst gleichmäßig dicken Epithelzone markiert (bei der Maus am Embryonaltag 8.5) (Abb1.2-1). Jedoch bereits am Embryonaltag 9 der Maus ist dort die Invagination der Rathke Tasche zu erkennen. Fast zeitgleich evaginiert ein Abschnitt des ventralen Diencephalons (das spätere Infundibulum) und nimmt Kontakt zu den dorsalen Abschnitten der Rathke Tasche auf.

Während diesem frühen Stadium der Hypophysenentwicklung spielen Interaktionen des ventralen Diencephalons mit der Rathke-Tasche eine wichtige Funktion auch bei der Ausdifferenzierung des Organs. Klassische embryologische Experimente konnten nachweisen, dass dieser Kontakt für die Festlegung der hypophysären Zelllinien von Bedeutung ist (Daikoku et al. 1982; Watanabe 1982; Gleiberman et al. 1999).

Diese Interaktion zwischen Infundibulum und Rathke Tasche erfolgt in beidseitiger Richtung und wird durch lösliche Signalpeptide vermittelt (Ericson et al. 1998; Takuma et al. 1998c; Treier et al. 2001b). Diese Signalträger scheinen vor allem die Expression hypophysärer Transkriptionsfaktoren zu initiieren, welche damit das Programm der Organentwicklung im Folgenden festlegen.

Zu diesen Signalpeptiden gehören der Fibroblastenwachstumsfaktor (**FGF**), das Bone Morphogenic Protein 4 (**BMP4**) und **WNT5**, welche alle im Bereich des ventralen Diencephalon sezerniert werden sowie **BMP2** und **WNT4** aus der Rathke-Tasche (Treier et al. 1998b; Dasen u. Rosenfeld 1999c; Kioussi et al. 1999d; Treier et al. 2001a).

2.1. BMP4

BMP4 (OMIM 112262) gehört zu den Signalpeptiden der transforming-growth-factor beta Familie (Hogan 1996). BMP4 wird im ventralen Diencephalon aber auch in weiteren embryonalen Geweben exprimiert. Wird die Wirkung von BMP4 im Bereich des Hypothalamus des Mausembryo gezielt antagonisiert, so bleibt die Hypophysenentwicklung am Entwicklungstag 10 stehen und es kommt zum vollständigen Verlust aller hypophysären Zelllinien (Treier u. Rosenfeld 1996; Treier et al. 1998a). Auch Embryos mit einem Knockout für BMP4 weisen keine Hypophysenanlage auf, diese Embryos sterben jedoch zum Zeitpunkt der initialen Hypophysendifferenzierung ab (Takuma et al. 1998b).

2.2. Sonic Hedgehog (SHH)

Sonic Hedgehog (SHH) (OMIM 600725) spielt eine entscheidende Rolle während der frühen Entwicklungsphase einer ganzen Reihe von Organsystemen. In der Frühphase der Hypophysenentwicklung wird SHH im gesamten Bereich des oralen Ektoderms exprimiert, wobei kurz vor Invagination der Rathke Tasche genau der Bezirk im oralen Ektoderm in seiner Expression ausgespart bleibt, der zur Rathke Tasche invaginiert (Abb 1.2-1). SHH scheint daher in den Prozess der Hypophysenentwicklung einzugreifen, indem es die Region des oralen Ektoderms in der die Interaktion zwischen Hypothalamus und Rathke-Tasche stattfindet, festlegt (Treier et al. 2001c). Die Folgen eines Defekts im SHH-Gen sind

phänotypisch sehr variabel, am markantesten jedoch präsentieren sie sich im klinischen Bild der Holoprosenzephalie (Roessler et al. 1996; Belloni et al. 1996). Auffälligkeiten der Hypophyse sind ein möglicher, aber eher selten zu beobachtender Bestandteil des Symptomenkomplexes, der durch SHH-Mutationen bedingt werden kann (Nanni et al. 1999).

3. WICHTIGE TRANSKRIPTIONSFAKTOREN WÄHREND DER ENTWICKLUNG DES HYPOPHYSENVORDERLAPPENS

Es gibt eine lange Liste von Transkriptionsfaktoren, welche sich während der Hypophysenentwicklung innerhalb des Organs nachweisen lassen (siehe Tabelle 3.1) Zum großen Teil sind sie in ihrer genauen Funktion noch nicht bekannt und es sind entsprechende Tier-Knockout-Modelle noch nicht untersucht. Im Folgenden werden vor allem regulatorische Proteine beschrieben, die eine herausragende Rolle während der Hypophysenentwicklung spielen, und bei denen die klinisch assoziierten Krankheitsbilder im Tiermodell oder beim Menschen bereits bekannt sind.

3.1. Die PTX-Genfamilie

PTX-Proteine enthalten eine Homöodomäne, welche sich der Untergruppe der BICOID-Homöodomänen zuordnen lässt.

3.1.1. PTX1

Ptx1 (OMIM 602149) wurde zunächst charakterisiert als ein Aktivator des POMC-Gens und als ein Interaktionspartner von Pit1 (Lamonerie et al. 1996a; Szeto et al. 1996b). Mäuse mit Ptx1-Defekten zeigen Auffälligkeiten in der Entwicklung der Hypophyse, an ihren unteren Extremitäten und oral im Bereich des Gesichtsschädels (Szeto et al. 1999; Lanctot et al. 1999a)

Ptx1 wird in einem relativ frühen Stadium der Hypophysenentwicklung in der Rathke-Tasche exprimiert gefunden (siehe Abb. 1.2-1). Eine transaktivierende Eigenschaft auf eine Reihe von Hypophysenvorderlappenhormonen und Transkriptionsfaktoren ist nachgewiesen (Szeto et al. 1996a; Lamonerie et al. 1996b; Tremblay et al. 1998; Lanctot et al. 1999b).

3.1.2. PTX2

Ptx2 (OMIM 601542) ist mit PTX1 nahe verwandt und wird in der Maushypophyse während eines frühen Entwicklungsstadiums exprimiert gefunden (Gage u. Camper 1997a). Mäuse mit einem Ptx2-Defekt zeigen ein weites Spektrum von Entwicklungsstörungen, wie Links-Rechts-Asymmetrien und Defekte im Bereich der Hypophyse, des Herzens, der Augen sowie der Zahn- und Schädelentwicklung (Gage u. Camper 1997b; Suh et al. 2002b). Ptx2 zeigt seine Wirkung während der Induktion der Rathke Tasche sowie bei der folgenden Differenzierung der gonadotropen, thyreotropen, somatotropen und laktotropen Zellen in der Hypophyse (Suh et al. 2002a).

Die Wirkung von Ptx2 wird über die Aktivierung von Zielgenen wie Cyclin D2 oder C-Myc vermittelt, was eine hypophysäre Zellproliferation zur Folge hat (Kiousi et al. 1999c). Ptx2 kann jedoch auch die Expression von FSH- β und Prolaktin direkt steigern, was seine Funktion auch innerhalb der ausdifferenzierten Zellen des Hypophysenvorderlappens unterstreicht (Amendt et al. 1999; Suszko et al. 2003).

Mutationen innerhalb des PTX2-Gens wurde bei Patienten mit Rieger-Syndrom, Iridodysgenese, Irishypoplasie und der so genannten Peter-Anomalie gefunden (Amendt et al. 1998; Saadi et al. 2001).

3.2. LIM-Homödomän –Transkriptionsfaktoren

Bei Säugetieren sind mindestens 12 verschiedene LIM-Homödomän-Transkriptionsfaktoren nachweisbar. Das Protein beinhaltet eine charakteristische Homödomäne, welche die DNA-Bindung des Faktors vermittelt sowie 2 so genannte LIM-Domänen mit Zinkfingerstruktur, die die DNA-Bindung und Transkriptionsaktivierung durch Interaktion mit anderen Proteinen modulieren. LIM-Homödomänfaktoren finden sich in einer Reihe von endokrinen Geweben, aber auch im zentralen Nervensystem (Hobert u. Westphal 2000). Auch in der Hypophyse finden sich mehrere LIM-Faktoren wie ISL1, ISL2, LHX2, LHX3 und LHX4 (Fujii et al. 1994; Bach et al. 1995; Appel 1999).

3.3. LHX3

LHX3 (OMIM 600577) ist ein Mitglied der Transkriptionsfaktoren, die eine Homödomäne tragen. LIM-Homöoboxproteine gehören zu der Familie der Transkriptionsfaktoren, die neben einer Homödomäne zwei Zinkfingerdomänen (LIM-Domänen) in ihrem c-terminalen Anteil besitzen (Abb. 3.3). Der Name leitet sich als Akronym der drei ursprünglichen Mitglieder

Transkriptionsfaktoren der Entwicklung der Adenohypophyse			
Faktor	Alternative Namen	DNA-bindende Domäne	Funktion bzw. Expressionsmuster
AP1	Fos + Jun Heterodimer	Basic zipper	Funktion in der basalen Genregulation
AP2		bHLH	Funktion in der basalen Genregulation
BRN4	POU3F4	POU-HD	Ventral induziert während der Hypophysenentwicklung
DAX1	NR0B1	Nukleärer Rezeptor-like	Entwicklung der gonadotropen Zelllinien
EGR1	KROX24, NGFIA, ZIF268	Zink Finger	Entwicklung der gonadotropen u. somatotropen Zelllinien
ER α	ESR1, ESRA	Nukleärer Rezeptor	Wichtig für die Genexpression von PRL und Gonadotropinen sowie laktotropes Zellwachstum
Er β	ESRZ,ESRB	Nukleärer Rezeptor	Expression in der Hypophyse
ETS1		ETS	Wichtig für die PRL-Genexpression
FOXL2	PFRK	Winged helix / forkhead box	Expression in der frühen Hypophysenentwicklung
GATA2	NF-E1b	Zink Finger	Regulation der gonadotropen und thyreotropen Zelldifferenzierung
ISL1		LIM-HD	Expression in der frühen Hypophysenentwicklung
ISL2		LIM-HD	Expression in der frühen Hypophysenentwicklung
LHX2	LH2, LH-2A	LIM-HD	Expression in der frühen Hypophysenentwicklung
LHX3	P-LIM, LIM3	LIM-HD	Notwendig für Entwicklung des Hypophysenvorder- und mittellappens Sowie Differenzierung der GH, PRL, TSH, LH, FSH produzierenden Zellen
LHX4	GSH4	LIM-HD	Notwendig für Entwicklung des Hypophysenvorder- und mittellappens
MSX1	HOX7, MSH	HD	Expression in thyreotropen Zellen; kann das α GSU-Gen aktivieren
NEUROD1	BETA2	bHLH	Wichtig für POMC Genregulation in kortikotropen Zellen
NFY	CBF, CP1	Heterotrimeric	Wichtig für die Regulation der LH β und FSH β Gene
NHLH2	NSCL2, HEN2	bHLH	Entwicklung der gonadotropen Zelllinien
NZF1	MyT1	Zink Finger	Expression in der Hypophyse; kann das PIT1-Gen regulieren
OCT1	OTF1, POU2F1	POU-HD	Wichtig für die Transkription des GH-Gens
OTX1		Bicoid-related HD	Entwicklung der gonadotropen u. somatotropen Zelllinien
PAX6		Paired-HD	Ermöglicht die frühe Verbindung zwischen dorsalen und ventralen Hypophysenzellen
PIT1	GHF1, POU1F1	POU-HD	Entwicklung der thyreotropen, laktotropen u. somatotropen Zelllinien
PREB		WD Motiv	Unterdrückt GH und PRL-Gene in Nicht-Hypophysen-Zellen
PROP1		Paired-like HD	Entwicklung der thyreotropen, laktotropen, gonadotropen u. somatotropen Zelllinien
PITX1	P-OTX/PTX1/OTLX1/BFT	Bicoid-related HD	Wichtig für die frühe Hypophysenentwicklung und die spätere Aktivierung der Hormon-Gene
PITX2	RIEG/PTX2/OTLX21/ARP1	Bicoid-related HD	Wichtig für die frühe Hypophysenentwicklung und die spätere Aktivierung der Hormon-Gene
PITX3	PTX3	Bicoid-related HD	Expression in der Hypophyse
RARs	Retinolsäurerezeptoren	Nukleärer Rezeptor	PIT1 und GH Genregulation
HESX1	RPX	Paired-like HD	Wichtig in der frühen Hypophysenentwicklung
SF1	Ad4BP, Nr5a1, FtzF1	Nukleärer Rezeptor	Entwicklung der gonadotropen Zelllinien
SIX3		Sine oculis HD	Expression in der Hypophysenentwicklung
SIX6	OPTX2	Sine oculis HD	Notwendig für die Proliferation hypophysärer Prekursorzellen
SP1		Zink Finger	Funktion in der basalen Genregulation
SP3		Zink Finger	Funktion in der basalen Genregulation
T3Rs	Schilddrüsenhormon-rezeptoren	Nukleärer Rezeptor	Regulation der thyreotropen Zellfunktion
TEF		PAR bZIP	Kann das TSH β -Gen aktivieren
TPIT	TBX19	T box	Wichtig für POMC Genexpression in kortikotropen u. melanotropen Zellen
ZFHEP		Zink Finger/ Homöodomäne	Wichtig für die Regulation des GH-Gens
ZN16	ZN15, ZFP15	Zink Finger	Aktivator des GH-Gens

Tabelle 1 Auflistung von Transkriptionsfaktoren, welche einen Einfluss auf die Entwicklung des Hypophysenvorderlappens haben. (Savage et al. 2003c).

dieser Subfamilie ab, nämlich der Lin-11, Islet-1 und Mec-3 (Sheng et al. 1996e). Die LIM-Domänen, d.h. die Zinkfingerproteinanteile von LHX3 scheinen an der DNA-Bindung dieses

Transkriptionsfaktors nicht unmittelbar beteiligt zu sein (Bridwell et al. 2001). Hierfür ist in erster Linie die Homödomäne des Proteins verantwortlich. Die LIM-Domänen hingegen spielen eine wichtige Rolle bei der Interaktion mit weiteren Transkriptionsfaktoren. Das menschliche LHX3-Gen wird auf Chromosom 9q34.3 codiert und besteht aus 6 Exons (Mbikay et al. 1995; Sloop et al. 2000) (OMIM 600577). Exon 1 wird in zwei unterschiedlichen Formen (1A und 1B) an das zweite Exon gespliced (Sloop et al. 1999b). Die daraus resultierenden Genprodukte differieren an ihrem aminoterminalen Ende und resultieren in Proteinen von 397 bzw. 402 Aminosäuren (aa) Länge. Funktionelle Untersuchungen ergaben, dass LHX3a die aktivere Form des LHX3-Gens darstellt (Sloop et al. 1999a; Sloop et al. 2001a). Beide Isoformen werden während der embryonalen Entwicklung und in der adulten Hypophyse exprimiert (Zhadanov et al. 1995c; Sheng et al. 1996d).

Die hypophysären Gene, die durch LHX3 aktiviert werden, sind in ihrer Gesamtheit nicht bekannt. Nachgewiesen ist jedoch ein aktivierender und stimulierender Effekt auf die Transkription des Gens für die α -Untereinheit der hypophysären Glykoprotein hormone (TSH und LH/FSH). Zudem aktiviert es in Kombination mit Pit-1 den Prolaktin-Gen Promotor (Rhodes et al. 1996; Sloop et al. 2001b; Sloop et al. 2001c; Savage et al. 2003a; West et al. 2004).

Die Funktion von LHX3 ist jedoch sicher nicht auf die Transaktivierung von Zielgenen innerhalb der Hypophyse beschränkt. So kommt es im Mausmodell schon relativ früh während der Embryonalentwicklung zur Expression des Lhx3 in der Rathke Tasche (Zhadanov et al. 1995b; Sheng et al. 1996c) (Abb 1.2-1 und 1.2-2).

Sheng und Mitarbeiter konnten anhand von gezielten Mutationen innerhalb des Lhx3-Gens dokumentieren, dass es bei Lhx3 Knockout-Mäusen zu Auffälligkeiten der Hypophysenentwicklung im Stadium der Ausbildung der definitiven Rathke-Tasche kommt (Sheng et al. 1996b). In der Folge bleibt die Spezifizierung der somatotrophen-, laktotrophen-, thyreotropen- und gonadotropen Zellreihe aus. Lediglich die kortikotrope Zelllinie schien unbeeinträchtigt. Der Lhx3-Phänotyp war lediglich bei homozygoten Knockout-Mäusen zu beobachten, dann jedoch war er so schwer ausgeprägt, dass die Tiere schon früh postnatal verstarben.

3.3.1. LHX3 Mutationen beim Menschen

Aufgrund dieser Tatsache bestanden lange Zweifel, ob ein entsprechender Phänotyp beim Menschen beobachtet werden könnte. Netchine und Mitarbeiter beschrieben bei 2

unabhängigen Familien mit einer Hypophysenvorderlappeninsuffizienz für Wachstumshormon (GH), Prolaktin, TSH und die Gonadotropine LH und FSH eine Mutation im LHX3-Gen (Netchine et al. 2000) (OMIM 62600). Der Phänotyp war charakterisiert durch eine ausgeprägte Hypophysenvorderlappeninsuffizienz, welche sich bereits bei Geburt manifestierte. Im Weiteren waren die Patienten auffällig durch eine eingeschränkte Rotationsfähigkeit des Halses, welche klinisch als kurzer Hals mit hochstehenden Schulterblättern imponierte. Radiologisch sowie MR-tomographisch ließen sich jedoch keine Auffälligkeiten an der Halswirbelsäule nachweisen.

Dieses phänotypische Merkmal ist am ehesten mit einer fehlerhaften Innervation der Nackenmuskulatur in Zusammenhang zu bringen. LHX3 wird embryonal nicht nur in der Hypophyse sondern während der frühen Entwicklungsphase auch im Hypothalamus und entlang des Spinalkanals exprimiert gefunden (Zhadanov et al. 1995a). LHX3 scheint mit

Humane LHX3 Mutationen

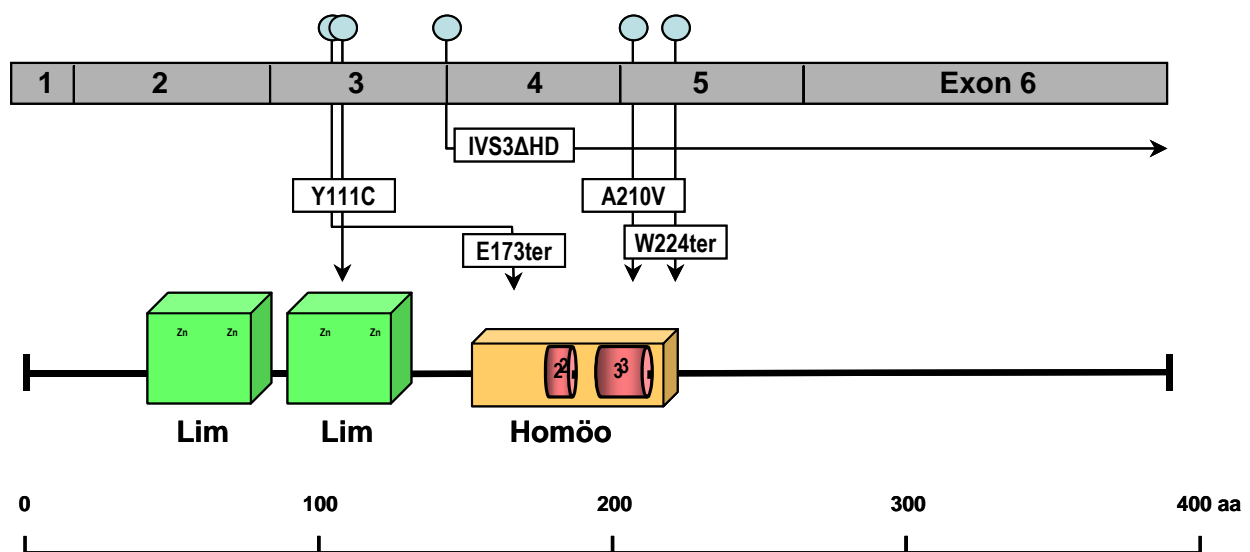


Abbildung 4 Humane LHX3-Mutationen. Das humane LHX3 wird in 6 Exons kodiert. Das Protein ist charakterisiert durch 2 aminoterminal gelegene LIM-Domänen (LIM) welche Zinkfinger motive enthalten. C-terminal davon liegt die DNA-bindende Homöodomäne (Homöo). Alle bislang beim Menschen beobachteten LHX3-Mutationen werden rezessiv vererbt (hellblaue Punkte). Sie betreffen sämtlich die Homöodomäne sowie die LIM-Domänen des Proteins.

anderen neuronalen Entwicklungsfaktoren eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Migration der synaptischen Fortsätze von alpha-Motoneuronen zu den innervierten Muskelgruppen zu spielen (Sharma et al. 1998). Warum Patienten mit LHX3-Mutationen diese Auffälligkeit nur im Bereich der Nackenmuskulatur aufweisen, ist noch unklar. So besteht ein Gradient der Expression für das LHX3-Protein entlang des Spinalkanals, der diese segmentale Ausprägung erklären könnte. Zu einem gewissen Teil könnte die Wirkung eines Funktionsverlusts von LHX3 auf die embryonale Migration und Differenzierung von Synapsen der alpha-Motoneurone im Spinalkanal durch andere strukturell ähnlich entwicklungs-faktoren wie das LHX4, die ebenfalls entlang eines spinalen Gradienten exprimiert werden, kompensiert werden.

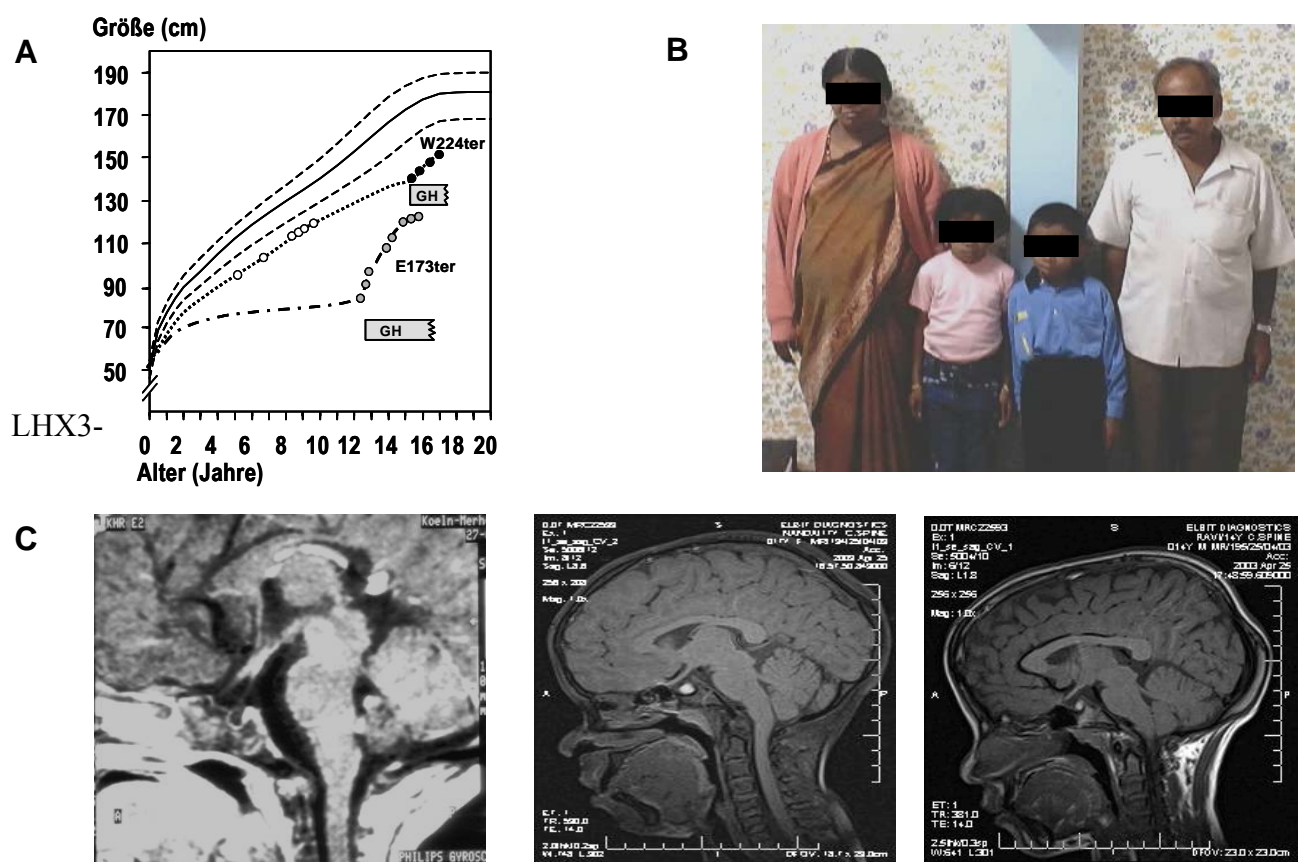


Abbildung 5 Phänotypische Variabilität von LHX3 Mutationen. **A.** Unterschiedliche Wachstumskurven bei Patienten mit LHX3 Mutationen (W224ter und A210V) vor Beginn einer Wachstumshormonsubstitutionstherapie (leere Kreise und unter Therapie (gefüllte Kreise). **B.** Familie mit zwei betroffenen Kindern (LHX A210V), welche eine ausgeprägten hypophysären Kleinwuchs, sowie einen kurzen Hals und eine eingeschränkte Nackenrotation aufwiesen. **C.** Variabilität auf in der Darstellung der Hypophysen von Patienten mit LHX3 Mutationen: Hypoplastischer Hypophysenvorderlappen mit normotop gelegener Neurohypophyse (Deletion des LHX3) Hyperplasie des Hypophysenvorderlappen bei zwei Patienten mit Punktmutation innerhalb der Homöodomäne (LHX3 A210V).

Mutationen scheinen insgesamt selten Ursache eines kombinierten Hypophysenvorderlappenausfalls zu sein. Unsere eigenen Untersuchungen bei über 200 Patienten mit einem kombinierten Hypophysenvorderlappenausfall zeigen in weniger als 2 % LHX3-Mutationen. Die Mehrzahl der Mutationen betrifft die LIM-Domänen bzw. die Homöodomäne des Proteins und führt zu einem Funktionsverlust des Faktors durch das vollständige Fehlen der DNA-Bindung der Mutanten (Abb. 3.3).

Ein Großteil der Patienten mit LHX3-Mutationen weist einen sehr ausgeprägten Hypopituitarismus auf, der sich bereits kurz nach Geburt als Zeichen eines neonatalen Wachstumshormonmangels, z.B. mit Hypoglykämien manifestiert. Die Patienten sprechen gut auf eine Substitutionstherapie mit Wachstumshormon und Schilddrüsenhormon an, sie müssen zum Zeitpunkt der Pubertät jedoch alle aufgrund eines hypogonatotropen Hypogonadismus mit Sexualsteroiden substituiert werden (Abb 3.3.1).

Bezüglich der langfristigen Funktionsfähigkeit der kortikotropen Zelllinie lässt sich aufgrund der wenigen bislang beobachteten Fälle keine endgültige Aussage treffen. Festzuhalten bleibt jedoch, dass ein ACTH-Mangel kein typisches Symptom eines LHX3-Defektes darstellt.

Alle Patienten mit dem schweren Phänotyp eines multiplen hypophysären Hormonausfalls aufgrund eines LHX3-Defektes wiesen auch eine eingeschränkte Nackenrotation mit der Anmutung eines kurzen Halses auf.

In Einzelfällen, in denen die Mutation des LHX3-Gens nicht direkt die Homöodomäne betraf (Mutation LHX3 W224ter), war ein deutlich schwächer ausgeprägter Phänotyp zu beobachten. Der multiple hypophysäre Hormonausfall wurde nicht direkt postnatal sondern wesentlich später diagnostiziert (mit 12 bis 15 Jahren), und eine eingeschränkte Beweglichkeit des Halses war nicht zu beobachten (Abb 3.3.1).

Funktionell ließ sich bei dieser Mutante des LHX3 eine Restbindung des Proteins *in vitro* an seine Zielsequenzen nachweisen, Kotransfektionsanalysen an den Zielgenpromotoren (α -Untereinheit (aGSU) und Prolaktin) zeigten jedoch einen vollständigen Funktionsverlust der Mutante an. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die Funktionen des LHX3-Protein in der frühembryonalen Entwicklung der Hypophyse vielfältig sind. Funktionelle Untersuchungen an den Zielgenen des differenzierten Hypophysengewebes geben aber wahrscheinlich nur einen Teil des Spektrums an Funktionen dieses Entwicklungsfaktors wider.

3.3.2. Vererbungsmodus von LHX3-Mutationen

LHX3-Mutationen wurden bislang nur in homozygoter Form beobachtet. Insgesamt sind sie verglichen mit Mutationen innerhalb des PROP1-Gens als Ursache eines multiplen hypophysären Hormonausfalls sehr selten. Bislang konnte auch noch kein Hotspot für Mutationen innerhalb des LHX3-Gens identifiziert werden (Abb 3.3).

3.3.3. Hypophysenmorphologie bei Patienten mit LHX3-Mutationen

Ähnlich wie bei den PROP1-Patienten zeigt sich eine auffällige Variabilität der Hypophysenmorphologie bei Patienten mit LHX3-Mutationen. Die Mehrzahl der Patienten zeigt eine ausgeprägte Hypoplasie des Hypophysenvorderlappens, wobei sich der Hypophysenhinterlappen an normaler Stelle nachweisen lässt (Netchine et al. 1998). In ca. 20 bis 30 % der Fälle wird jedoch auch eine Vergrößerung des Hypophysenvorderlappens beobachtet, ähnlich wie sie bei Patienten mit PROP1-Mutation beobachtet wurde (Abb 3.3.1). Über die Ätiologie dieser Hypophysenvorderlappenvergrößerung ist jedoch noch wenig bekannt. Bei den Patienten mit geringer ausgeprägtem Phänotyp und fehlender Beeinträchtigung der Nackenrotation wurden bei MR-tomographischen Untersuchungen des Schädels hingegen Hypophysen von normaler Größe beobachtet.

Aufgrund der wenigen bislang beobachteten Fälle ist das volle Spektrum der phänotypischen Manifestationen von LHX3-Mutationen noch nicht sicher. Festzuhalten bleibt, dass man von einer Variabilität der Manifestation der Hypophyseninsuffizienz als auch der Ausprägung assoziierter klinischer Symptome, wie das Zeichen des „kurzen Nackens“, ausgehen kann.

3.4. LHX4

LHX4 (OMIM 602146) ist strukturell dem LHX3 nahe verwandt. Die Aminosäuresequenz stimmt im Bereich der LIM-Domänen in 70 bis 80 % mit denen des LHX3-Gens überein. Das menschliche Gen ist auf Chromosom 1q25 lokalisiert, es kodiert für ein 390 Aminosäuren langes Protein, das wiederum c-terminal zwei LIM-Domänen und n-terminal eine, dem LHX3 nahe verwandte Homöodomäne, besitzt (Yamashita et al. 1997). An Knockout-Mäusen untersuchten Sheng und Mitarbeiter 1996 Mutationen, die zum vollständigen Funktionsverlust des LHX4-Proteins führten (Sheng et al. 1996a). LHX3 und LHX4 haben redundante Funktionen bei der Formation der so genannten definitiven Rathke-Tasche (Sheng et al. 1997b). Der Phänotyp der homozygoten LHX4-Maus zeigte sich nicht so ausgeprägt, wie der der LHX3-Knockout-Maus. Jedoch zeigten sich bei der Doppel-

Knockout-Maus für LHX3 und LHX4 die ausgeprägtesten Zeichen einer Hypophysenaplasie. Dies ließ vermuten, dass LHX3 und LHX4 zum Teil synergistische Funktionen bei der Induktion, Differenzierung und späteren Proliferation hypophysärer Zelllinien haben (Sheng et al. 1997a).

3.4.1. LHX4 Genmutationen beim Menschen

Mutationen innerhalb des LHX4-Gens sind extrem selten. Bisher gibt es die Beschreibung einer Familie aus Frankreich, in der die betroffenen Patienten mit heterozygoter LHX4-Mutation einen multiplen hypophysären Hormonausfall (MPHD) mit einem Mangel an GH, Prolaktin, TSH, Gonadotropinen und ACTH aufwiesen. Die Patienten hatten zusätzlich morphologische Auffälligkeiten im Bereich der Sella turcica sowie im Bereich des Kleinhirns im Sinne einer Arnold Chiari Malformation (Machinis et al. 2001). Veränderungen der Wirbelsäule bestanden jedoch nicht.

3.4.2. Vererbungsmodus und Häufigkeit von LHX4 Mutationen

Bisher konnten 3 verschiedene Mutationen innerhalb des LHX4 Gens in heterozygoter Form beobachtet werden. Alle Mutationen führten zu einem *in vitro*-Funktionsverlust des Proteins und wurden bei Patienten mit sehr variablen Formen einer Hypophysenvorderlappeninsuffizienz nachgewiesen. In den meisten Fällen bestand ein GH-Mangel, alle weiteren Zelllinien des Hypophysenvorderlappens waren unterschiedlich schwer betroffen. Auch waren die initial beobachteten Symptome einer Dysgenese der Sella turcica sowie zerebelläre Malformationen nicht konstant ausgeprägt.

Die Häufigkeit von LHX4 Gen Mutationen erscheint extrem selten. In einem eigenen untersuchten Patientenkollektiv von über 200 Familien mit multiplem hypophysärem Hormonausfall ließ sich eine LHX4 Genmutation nur bei einer Familie nachweisen.

Warum die LHX4 Mutationen nur in heterozygoter Form nachweisbar sind, d.h. homozygote Mutationen bisher nicht nachzuweisen waren, ist noch unklar. Dies überrascht insbesondere, weil sich der LHX4 Phänotyp der Maus nur bei homozygoten Tieren und dann schwächer ausgeprägt darstellte, als bei Knockout-Mäusen mit LHX3 Mutationen. Ein dominant negativer Effekt der von uns beobachteten Mutationen war in Kotransfektionsanalysen nicht nachweisbar. Dies und die Variabilität des Phänotyps der beobachteten Mutationen spricht für einen dosisabhängigen Effekt dieser Mutationen in den Phasen der maximalen Expression des LHX4-Moleküls in den frühen Stadien der Hypophysenentwicklung.

3.5. PROP1

Bei der Untersuchung einer Zwergmauslinie mit einem kombinierten Hypophysenvorderlappenausfall für Wachstumshormon, Prolaktin und TSH, der so genannten Ames-Zwergmaus (*dw*), ließen sich trotz der phänotypischen Ähnlichkeiten mit Zwergmäusen, die *Pit1* Mutationen aufweisen (Snell und Jackson *dw^S* und *dw^J*), keine *Pit1*-Mutationen nachweisen (Li et al. 1990c). Rückkreuzexperimente mit Ames-Zwergmäusen lokalisierten den Ursprung des hypophysären Defektes auch auf Mauschromosom 11 (Buckwalter et al. 1991; Lin et al. 1994a), wohingegen das *Pit1*-Gen der Maus auf Chromosom 16 lokalisiert ist (Ohta et al. 1992c). Zudem gab es auch einige auffällige phänotypische Unterschiede zwischen den Ames-Zwergmäusen (*dw*) und den Jackson- und Snell-Zwergmäusen (*dw^S* und *dw^J*). Während in der Hypophyse der *Pit-1* Mutanten keine somatotrophen Zellen nachweisbar waren, fanden sich in den Hypophysen von Ames-Zwergmäusen immerhin noch 0,1 bis 1 % der somatotrophen Zellen von Wildtypmäusen (Li et al. 1990b). Zudem ließ sich bei einem Teil der Ames-Zwergmäuse eine Form von sekundärem Hypogonadismus nachweisen, welcher bei den Snell- und Jackson-Zwergmäusen nicht zu beobachten war. Sornson und Mitarbeiter führten umfangreiche Untersuchungen zur Lokalisierung des Gens durch, welches für den Ames-Zwergwuchs verantwortlich war (Sornson et al. 1996c). Schließlich wurde ein Gen identifiziert, welches für einen hypophysär exprimierten Transkriptionsfaktor kodiert, welcher als DNA-Bindungsdomäne wiederum eine Homöodomäne enthält. Das an den Hypophysen von Mausembryonen erhobene Expressionsmuster dieses Faktors zeigte eine Expression vor allem innerhalb der Zelllinien, welche später *Pit1* exprimieren. Zusätzlich fand sich der neue Faktor jedoch auch in gonadotropen Zelllinien exprimiert. Die Expression erfährt zeitlich ihr Maximum vor der Expression von *Pit1* und sie zeigt anders als bei *Pit1* im weiteren Verlauf der Hypophysenvorderlappenentwicklung einen deutlichen Abfall an Intensität. Aufgrund dieses Musters wurde dieser neue Faktor **Prophet of Pit1** genannt (**PROP1**) (Sornson et al. 1996a; Dutour 1997a; Nakamura et al. 1999). Neuere Untersuchungen zum Expressionsmuster des *Prop1*-Moleküls bei Mäusen legen nahe, dass die Synthese von *Prop1* bis zur Geburt nicht vollständig versiegt, sondern unter Umständen auf einem relativ niedrigem Niveau auch in adulten Hypophysenzellen nachweisbar ist.

3.5.1. Aufbau des PROP1-Gens

Das murine Prop1-Gen codiert in 3 Exons, ein Protein von 223 Aminosäuren Länge. Das humane PROP1-Gen (OMIM 601538) liegt auf Chromosom 5q35.3. Das Peptid hat eine Länge von 226 Aminosäuren und beinhaltet ein Segment von 58 Aminosäuren, das strukturell einer so genannten Paired- Homödomäne zuzuordnen ist (Dutour 1997b; Duquesnoy et al. 1998). Ähnlich der POU-Homöodomäne im Pit1-Molekül enthält die Paired- Homödomäne ein so genanntes Helix-Turn-Helix-Motiv, das einen Großteil der DNA-Bindungseigenschaften dieses Proteins auszumachen scheint (Wilson et al. 1993; Wilson et al. 1995; Olson et al. 2003) (Abb 3.5.2-1). In der Hypophyse des Mausembryos lässt sich Prop1 vom Embryonaltag 10 an nachweisen (E10) (Sornson et al. 1996b). Eine maximale Expression erfolgt jedoch um den 12. Entwicklungstag in den mediokaudalen Abschnitten der Adenohypophyse. In diesen Anteilen des Hypophysenvorderlappens beginnt die Expression von Pit1 um den Entwicklungstag 12. Der Phänotyp der Ames-Zwergmaus resultiert aus einer Punktmutation innerhalb des Prop1-Gens, welche das Serin in Position 83 in Prolin verwandelt (S83P) (Andersen et al. 1995; Sornson et al. 1996d). Im Gegensatz zu dem mutierten Pit1 Molekül der Snell-Zwergmäuse, in deren Hypophysen keine Pit1-Expression mehr nachweisbar ist, lässt sich das S83-Prop1 in den Hypophysen der Ames-Zwergmaus nachweisen. Das mutierte Prop1 scheint im Vergleich zum Wildtyp Prop1 sogar länger exprimiert zu werden. Die Zielgene von Prop1 sind bislang noch nicht eindeutig identifiziert. Eine Autoamplifikation der Gentranskription durch Bindung an den eigenen Promoter, wie sie bei Pit1 nachweisbar ist (Chen et al. 1990), ist bei Prop1 nicht vorhanden.

3.5.2. PROP1-Mutation beim Menschen

Der Phänotyp der PROP1-Mutationen beim Menschen unterscheidet sich von dem der PIT1-Mutationen durch den zusätzlichen Ausfall der gonadotropen Zellenreihen (Wu et al. 1998). Zudem scheint der Phänotyp variabler angelegt. Eine retrospektive Analyse von Patienten mit nachgewiesenen PROP1-Mutationen zeigt, dass anders als bei Patienten mit PIT1-Mutationen eine Manifestation zum Zeitpunkt der Geburt eher selten ist (Fluck et al. 1998b; Mendonca et al. 1999b; Rosenbloom et al. 1999b). Auch scheint das vollständige Versiegen der Hormonproduktion der betroffenen Zellreihen variabel zu verlaufen (Bottner et al. 2004). So sind bei einem Teil der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eines Wachstumshormonmangels oder einer sekundären Hypothyreose noch normwertige Prolaktinkonzentrationen vorhanden. Die Wachstumshormonspiegel in den Stimulationstests

sind im Vergleich zu den Patienten mit PIT1 Mutationen signifikant höher, zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei allen Patienten jedoch im pathologischen Bereich (Pfäffle et al. 1993; Pfäffle et al. 1996). Ähnliche Befunde sieht man bei den so genannten TRH-Stimulationstests, bei denen sich maximale TSH-Werte finden, die zwar eine sekundäre Hypothyreose anzeigen, die aber gegen den vollständigen Verlust der thyreotropen Zellreihen sprechen. Beobachtet man Patienten mit einem PROP1-Gendefekt im Verlauf, so lässt sich jedoch ausnahmslos eine Progression des Funktionsverlustes der betroffenen Zellreihen nachweisen (Abb 3.5.2-2). Naturgemäß ist der eindeutige Nachweis der gonadotropen Unterfunktion erst zu einem relativ späten Zeitpunkt möglich. Während der präpubertären Phase lassen sich in so genannten GnRH-Tests keine signifikanten Steigerungen von LH und FSH induzieren. Patienten mit PROP1-Gendefekt unterscheiden sich hierin präpubertär nicht signifikant von ihren gesunden Altersgenossen. Zum Zeitpunkt der Pubertät jedoch wird ein sekundärer Hypogonadismus offensichtlich. Von einigen Ausnahmen abgesehen, in denen klinisch eine Ausprägung der frühen Pubertätsstadien beobachtet werden konnte, weisen alle Patienten mit

Humane PROP1 Mutationen

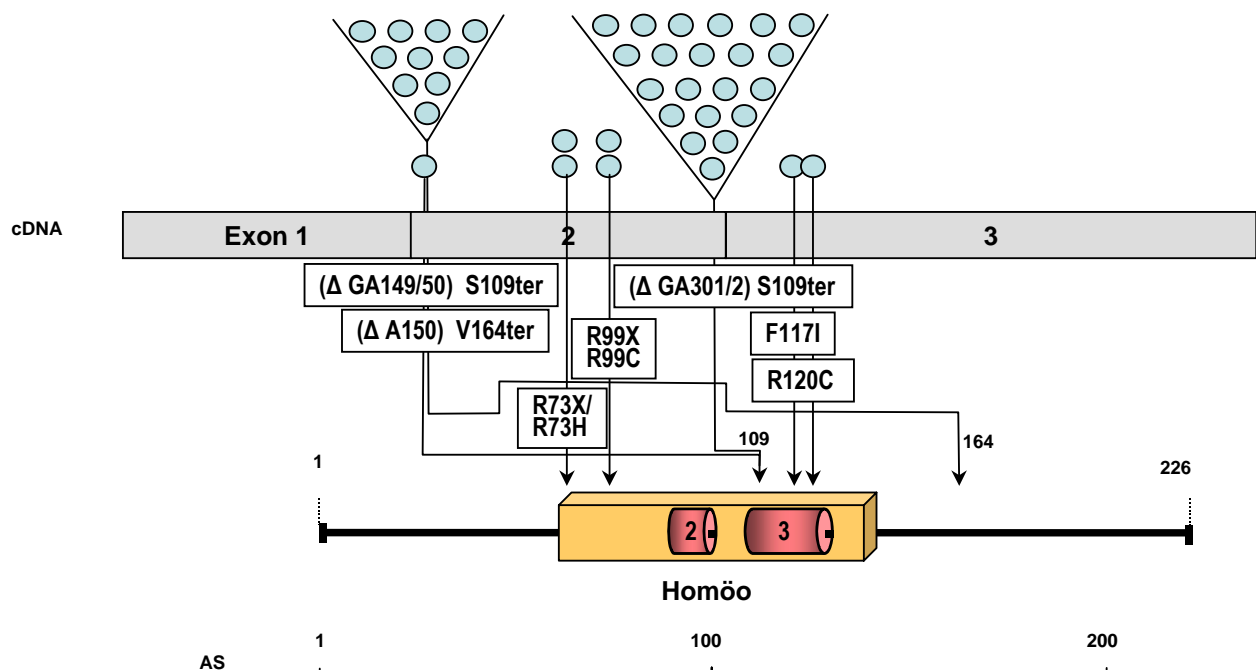


Abbildung 6 Humane PROP1 Mutationen. Das humane PROP1 Gen wird in drei Exons kodiert. Das Protein ist charakterisiert durch eine zentral gelegene Homöodomäne. Sämtliche bislang nachgewiesenen Mutationen wurden rezessiv vererbt. Die am häufigsten beobachteten Mutationen entsprechen Mikrodeletionen (ΔA150 und ΔGA301/302), welche zu einer Verschiebung des Leserasters ab dieser Position führen und durch Einführung früher Stopp-Kodons (V164ter bzw. S109ter) gekennzeichnet sind. Alle nachgewiesenen Mutationen betreffen die Homöodomäne des Moleküls

einem PROP1-Defekt einen hypogonadotropen Hypogonadismus auf, welcher einen infantilen Habitus und letztendlich eine Infertilität zur Folge hat.

Die häufigsten bislang entdeckten PROP1-Mutationen entsprechen Mikrodeletionen im PROP1-Gen (Cogan et al. 1998; Deladoey et al. 1999; Vallette-Kasic et al. 2001a). So scheint eine Zweibasenpaardeletion (Delta GA 301/302) und eine Einbasenpaardeletion (Delta A 150) zumindest in den kaukasischen Populationen besonders häufig zu sein (Abb 3.5.2-1). Beide Mutationen führen zu einer Verschiebung des Leserasters ab Aminosäure 50 bzw. 100, mit der Einführung eines frühen Stopp-Kodons in Position 109 bzw. 164. Die resultierenden PROP1-Moleküle verlieren ihre DNA-Bindungseigenschaften vollständig, da die beschriebene Paired-Homöodomäne in ihrer Struktur aufgelöst ist. Die beobachteten Deletionen in den PROP1-Molekülen liegen in Regionen mit so genannten GA-Repeats innerhalb des PROP1-Gens (Abb 3.5.2-3). Dies könnte ihr häufiges Auftreten erklären. Interessant ist jedoch, dass die Prävalenz dieser Mutationen in unterschiedlichen Populationen unterschiedlich häufig ist. Während sie in den Osteuropäischen Ländern eine hohe Prävalenz aufweist, ist sie in Japan sehr selten nachweisbar. Die übrigen, vor allem Punktmutationen innerhalb des PROP1-Gens, lassen sich dagegen sehr viel seltener nachweisen (Takamura et al. 1999; Rosenbloom et al. 1999a; Mody et al. 2002a; Paracchini et al. 2003; Kim et al. 2003; Park et al. 2004; Voutetakis et al. 2004c). Die bislang nachgewiesenen Punktmutationen betreffen ausschließlich Aminosäuren innerhalb der Paired-Homöodomäne (Abb 3.5.2-1).

3.5.3. Die Variabilität des Phänotyps von PROP1-Mutationen

Die Variabilität des Phänotyps von PROP1-Mutationen ist klinisch bei Diagnosestellung letztendlich relativ gering, da zu diesem Zeitpunkt meist alle vermuteten Hormonachsen, das Wachstumshormon, das Prolaktin, das TSH und die Gonadotropine betroffen sind (Abb 3.5.2-2). Andererseits ist das Spektrum der Manifestationsformen deutlich größer als das, was man bei Patienten mit PIT1-Mutationen beobachtet. Die beobachtete Restfunktion der hypophysären Zelllinien scheint für die Variabilität dieser Manifestationsform verantwortlich zu sein (Fluck et al. 1998a). Eine mögliche Erklärung für die Variabilität des Krankheitsbildes, welches durch PROP1-Mutationen verursacht wird ist die Tatsache, dass PROP1, anders als PIT1 nur vorübergehend eine differenzierende Rolle in der Hypophysenentwicklung spielt. Zudem scheint die Expression des mutanten Proteins durch den Funktionsverlust kaum beeinträchtigt. Das bedeutet, ist eine Restfunktion einer Mutante vorhanden, so hätte diese eine Auswirkung auf die Differenzierung eines gewissen Restes an Zellen innerhalb der Hypophyse. PIT1 hingegen entfaltet seine Wirkung nicht nur während

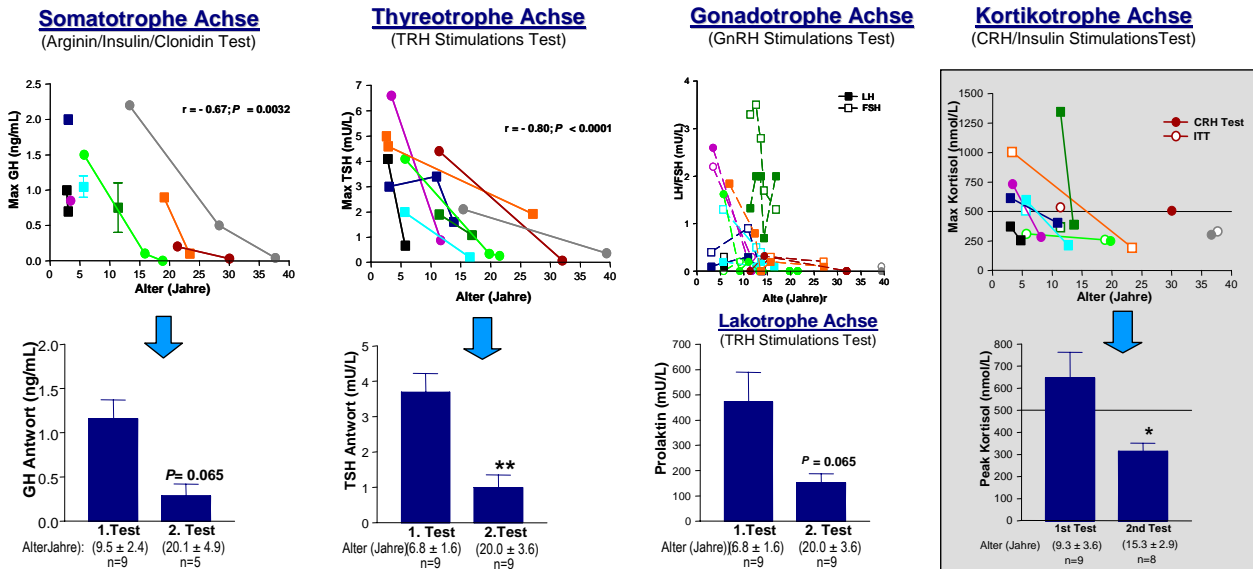


Abbildung 7 Progressiver Abfall der Hypophysenvorderlappenhormone bei 9 Patienten mit PROP1 Mutationen (unterschiedliche Linienfarben) in wiederholten Stimulationstests. Es zeigt sich ein statistisch signifikanter Abfall der maximal erreichten Werte für GH und TSH während Kindheit und Adoleszenz, wobei jedoch die Werte für GH und TSH schon beim ersten Test in einem pathologisch niedrigen Bereich liegen. Die Interpretation der Gonadotropine in der Vorpubertät fällt naturgemäß schwer, während Adoleszenz und Erwachsenenalter ist jedoch ein hypogonadotroper Hypogonadismus eindeutig nachweisbar. Der Ausfall der kortikotropen Zellreihe erfolgt später, Die Mehrzahl der Patienten hat zunächst noch normale Kortisolspiegel, die Entwicklung eines Hypokortikolismus scheint jedoch nur eine Frage der Zeit zu sein. Untere Reihe: Mittelwert der maximalen Hormonspiegel in dem ersten und zweiten durchgeführten Tests.

der Embryonalentwicklung der Hypophyse, hier ist auch ein anhaltender Funktionsverlust als Stimulationsfaktor der Hormonsysteme innerhalb der ausdifferenzierten Zellen anzunehmen. Nach dem im Mausmodell beobachteten hypophysären Ausfallmuster war ein weiteres Merkmal bei Patienten mit PROP1-Mutationen unerwartet. Neben ihren Ausfällen für GH, TSH, Prolaktin und Gonadotropinen weisen sie mit zunehmendem Alter auch eine steigende Rate einer sekundären Nebennierenrindeninsuffizienz auf (Agarwal et al. 2000; Lamesch et al. 2002; Mody et al. 2002b; Kim et al. 2003). Aufgrund des Expressionsmusters von PROP1 während der Embryonalentwicklung schien eine Beteiligung der kortikotropen Zellreihe zunächst unwahrscheinlich. Dennoch wurde bei Patienten mit PROP1-Gendefekten regelmäßig eine sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz beobachtet, die sich jedoch deutlich später manifestierte als die Insuffizienz der übrigen Hormonachsen. Zum Teil fand sich diese Nebennierenrindeninsuffizienz erst im Erwachsenenalter, dann jedoch zum Teil als schwere adrenale Krisen (Lamesch et al. 2002) (Abb 3.5.2-2). Die Ursache dieses mit langer Latenz auftretenden Ausfalls der kortikotropen Zellreihe bleibt bislang spekulativ.

Letztendlich bleibt zu vermuten, dass der Ausfall der kortikotropen Zelllinien an den vollständigen Funktionsverlust der übrigen hormonproduzierenden Zellreihen des

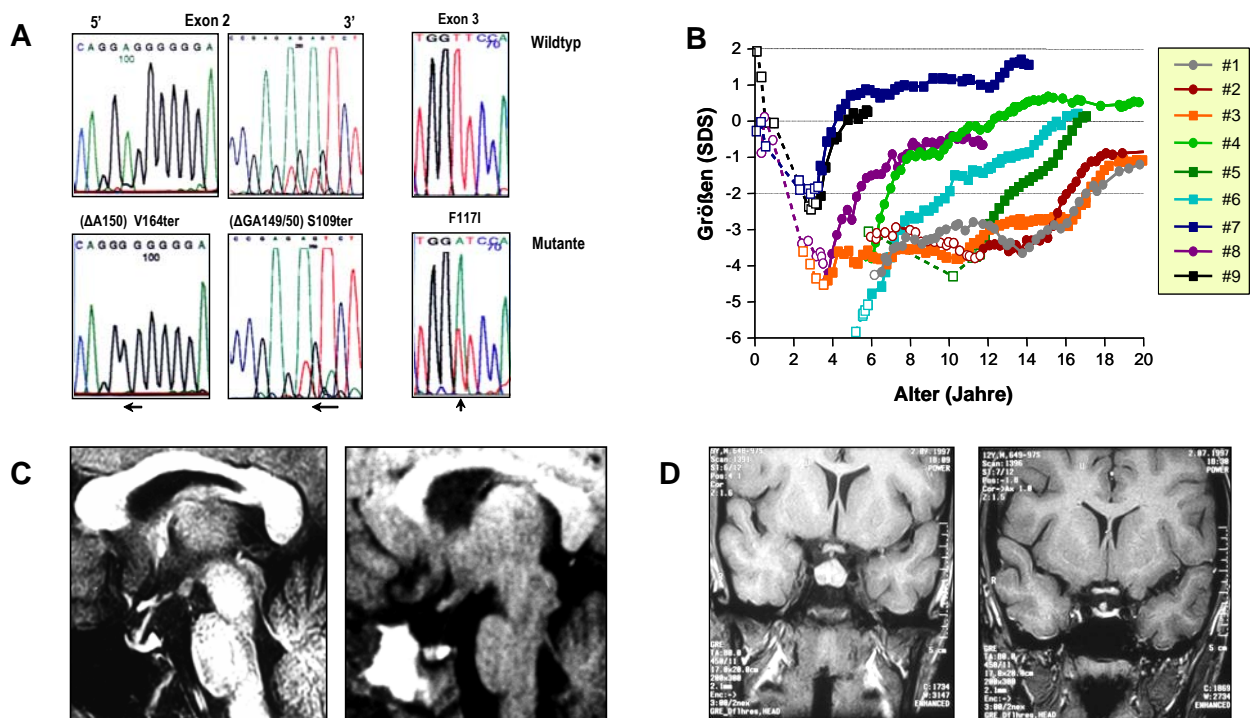


Abbildung 8 **A.** Nachweis von Prop1 Mutationen beim direkten Sequenzieren von PCR-Fragmenten. Die am häufigsten nachweisbaren $\Delta A150$ und $\Delta GA301/302$ PROP1 Mutationen (jeweils homozygot) im Vergleich zum Wildtyp und die F117I Mutation (heterozygot). **B.** Wachstumsverlauf von 9 Patienten mit Prop-1 Mutationen. Bei normaler Geburtslänge kommt es postnatal zu einem zunehmenden Kleinwuchs solange die Patienten noch unbehandelt sind (offene Symbole), Dieser Kleinwuchs normalisiert sich unter einer Wachstumshormonbehandlung (geschlossene Symbole). **C.** Hypophysenmorphologie von Patienten mit PROP1 Mutationen. Typischerweise zeigt sich ein hypotropher Hypophysenvorderlappen mit normaler Neurohypophyse. **D.** Bei einem Teil der Patienten zeigt sich jedoch eine pathologische Vergrößerung der Hypophyse (linke Abbildung), welche zumeist jedoch eine spontane Regredienz aufweist. Abgebildet zwei Geschwister mit identischer PROP1 Mutation, multiplem hypophysärem Hormonausfall, aber unterschiedlicher Hypophysenmorphologie.

Hypophysenvorderlappens gekoppelt ist, andererseits ist nicht auszuschließen, dass sich die kortikotrophen Zellen aufgrund des PROP1-Gendefektes frühzeitig erschöpfen oder apoptotisch untergehen.

3.5.4. Morphologie der Hypophyse bei Patienten mit PIT1 und PROP1-Genmutation

Die Hypophysen der Patienten mit Pit-1-Mutationen zeigen MR-tomographisch einen Hypophysenhinterlappen, der in normaler Position zu finden ist (Pfaffle et al. 1992b; Ohta et al. 1992b; Tatsumi et al. 1992b; Irie et al. 1995; de Zegher et al. 1995d; Pernasetti et al. 1996; Pfaffle et al. 1996; Pellegrini-Bouiller et al. 1996a; Fofanova et al. 1997; Holl et al. 1997; Brown et al. 1998; Fofanova et al. 1998; Pernasetti et al. 1998a; Hendriks-Stegeman et al.

2001; Vallette-Kasic et al. 2001b). Andererseits findet sich ein auffällig kleiner Hypophysenvorderlappen, welcher wahrscheinlich vor allem bedingt ist durch die Hypoplasie bzw. Aplasie der somatotrophen Zelllinie.

Bei der Mehrzahl der PROP1-Patienten findet sich ein ähnlicher Befund, jedoch zeigten schon frühe Untersuchungen von Patienten mit PROP1-Gendefekten, dass hier, oft als Zufallsbefund, eine Vergrößerung des Hypophysenvorderlappens nachweisbar sein kann (Mendonca et al. 1999a; Fofanova et al. 2000; Riepe et al. 2001c; Voutetakis et al. 2004b). Diese Vergrößerung ist vor allem während der Kindheit und der Adoleszenz nachweisbar und sie zeigt eine spontane Regressionstendenz (Riepe et al. 2001b; Teinturier et al. 2002; Osorio et al. 2002; Voutetakis et al. 2004a). Die Vergrößerung der Hypophyse ist nicht gekoppelt an das Vorhandensein bestimmter Mutationen innerhalb des PROP1-Gens. So wurden oft diskordante Befunde selbst bei Angehörigen einer Familie mit identischer PROP1-Mutation gefunden (Riepe et al. 2001a) (Abb 3.5.2-3). In der Mehrzahl der Fälle ist die Vergrößerung der Hypophyse relativ gering ausgeprägt, sie stellt somit keine Indikation zur operativen Intervention dar. In Einzelfällen jedoch fand sich die Hypophysenvergrößerung so ausgeprägt, dass eine Kompression der Sehnerven vorhanden war. Die histologischen Untersuchungen der operativ entfernten Tumorpräparate konnten jedoch die Genese dieser Gewebeformationen nicht klären. Histologisch handelt es sich um undifferenziertes myxoides Gewebe.

Es lässt sich spekulieren, dass durch Mutation im PROP1 eine unzureichende Repression von hypothalamo-hypophysären Entwicklungsfaktoren wie LHX3 oder HESX1 vorhanden ist, deren fortgesetzte Expression zur Proliferation undifferenzierten Gewebes Anlass geben könnten. Andererseits ist hiermit kaum erklärbar, dass solche Gewebeproliferationen oft nur passageren Charakter haben.

3.6. PIT1

Pit1 (OMIM 173110) wurde bei der Suche nach hypophysären Transkriptionsfaktoren identifiziert, die in der Lage sind, die GH-Gen-Transkription zu modellieren (Ingraham et al. 1988). Neben seinen stimulierenden Eigenschaften am Promotor für das GH-Gen findet sich jedoch auch ein stimulierender Effekt am Prolaktin-Gen-Promoter (Mangalam et al. 1989) sowie am Promotor der β -Untereinheit für das TSH-Gen (Steinfeldt et al. 1991). Neben diesen 3 hypophysären Zielgenen fanden sich jedoch auch Bindungsstellen dieses Transkriptionsfaktors im Promoter des Pit1-Gens selbst (Pfaffle et al. 1992a), sowie im Gen des Wachstumshormon-Releasing-Hormonrezeptors (Petersenn et al. 1998). Die so genannten Zielsequenzen des Pit1 sind innerhalb des Genoms durch AT-reiche Sequenzabschnitte

charakterisiert, welche alle einen gemeinsamen Sequenzabschnitt (TATNCAT) als Kernmotiv aufweisen. Das Wachstumshormon enthält insgesamt zwei dieser Sequenzmotive in seinem Promoter während der Prolaktin-Gen-Promoter vier solcher Pit1-bindenden Stellen aufweist (Fox et al. 1990). Die Art der Bindung des Pit1-Faktors an seinen Zielsequenzen ist inzwischen durch verschiedene *invitro*-Experimente aber auch MR-spektrometrisch genau untersucht worden (Ingraham et al. 1990). Pit-1 bildet Homodimere im Bereich der DNA-Doppelhelix aus und kann dann meist durch Interaktion mit weiteren Proteinen des Transkriptionsapparates die Aktivierung des Zielgens vornehmen.

3.6.1. Aufbau von PIT1

PIT1 ist ein 317 Aminosäuren langes Protein mit einem Molekulargewicht von 35668 Da. Das menschliche Gen besteht aus 6 Exons, welche auf Chromosom 3 (3p11.2) codiert sind (Pfäffle et al. 1992) (Abb. 3.6.1-1). Untersuchungen zur Sequenzhomologie von Pit1 bei verschiedenen Spezies zeigen einen hohen Grad von Konservierung an, welcher im Bereich der DNA-bindenden Anteile des Proteins am ausgeprägtesten ist. Nahe seinem c-terminalen Ende besitzt das Protein eine so genannte Homöodomäne (Gehring 1987). N-terminal hiervon, nur durch wenige Aminosäuren getrennt, findet sich eine weitere Subdomäne, die zum Zeitpunkt der Identifizierung von Pit1 durch die hohe Homologie zu 2 weiteren, damals identifizierten Entwicklungsfaktoren gekennzeichnet war (Herr et al. 1988). Bei diesen Proteinen handelt es sich um **Oct1** sowie **Unc86**, ein Transkriptionsfaktor der in *Caenorhabditis elegans* identifiziert wurde. Das Akronym der 3 Faktoren **Pit1**, **Oct1** und **Unc86** verlieh daher dieser Region den Namen POU-spezifisch. Mutationsanalysen sowie funktionelle Studien haben erwiesen, dass sich POU-spezifische und POU-Homöodomäne als der eigentlich DNA-bindende Abschnitt des Pit1 Moleküls darstellt. Die Tertiärstruktur dieser DNA-bindenden Domäne weist eine Abfolge so genannter Helix-Motive auf, welche für die Auffaltung dieser Proteindomäne entscheidend sind und welche den direkten Kontakt zu der DNA-Doppelhelix herstellen (Jacobson et al. 1997).

3.6.2. Funktion des Pit1-Moleküls

Die Funktion des Pit1-Moleküls beschränkt sich nicht allein auf die Transaktivierung seiner Zielgene. Pit1 hat wie viele andere Transkriptionsfaktoren eine Schlüsselrolle bei der Spezifizierung und später der Proliferation von Zelllinien während der Embryogenese. So kommt es unter der Expression von Pit1 zur Differenzierung der somatotrophen-, der laktotrophen- und thyreotropen Zelllinien im Hypophysenvorderlappen (Simmons et al.

1990c). Fehlt die Pit1-Expression während der Hypophysenentwicklung, so werden diese 3 Zelllinien nicht oder nur unzureichend angelegt. Zudem ist die Funktion der 3 Zelllinien durch das Fehlen dieses Transkriptionsfaktors tiefgreifend gestört.

3.6.3. Tiermodelle zu Pit1-Defekten

Anhand des Expressionsmusters von Pit1 in der Maushypophyse ließ sich annehmen, dass Mäuse mit Pit1-Mutationen eine Fehlfunktion dieser 3 Zelllinien aufweisen. Zwei natürlich beobachtete Zwergmausstämme (Snell und Jackson) weisen Veränderungen im Pit1-Gen auf (Li et al. 1990a). Bei der Jackson-Maus (dw^J) liegt eine Deletion eines größeren Anteils des Pit1-Gens vor, wohingegen die so genannte Snell-Maus eine Punktmutation innerhalb des Pit1-Gens aufweist, welche jedoch zu einem Aminosäureaustausch innerhalb eines hochkonservierten Abschnitts der POU-Homödomäne führt.

3.6.4. PIT1-Mutation beim Menschen

Der Phänotyp, der aus Mutationen innerhalb des menschlichen PIT1-Gens resultiert, ist

Humane PIT1 Mutationen

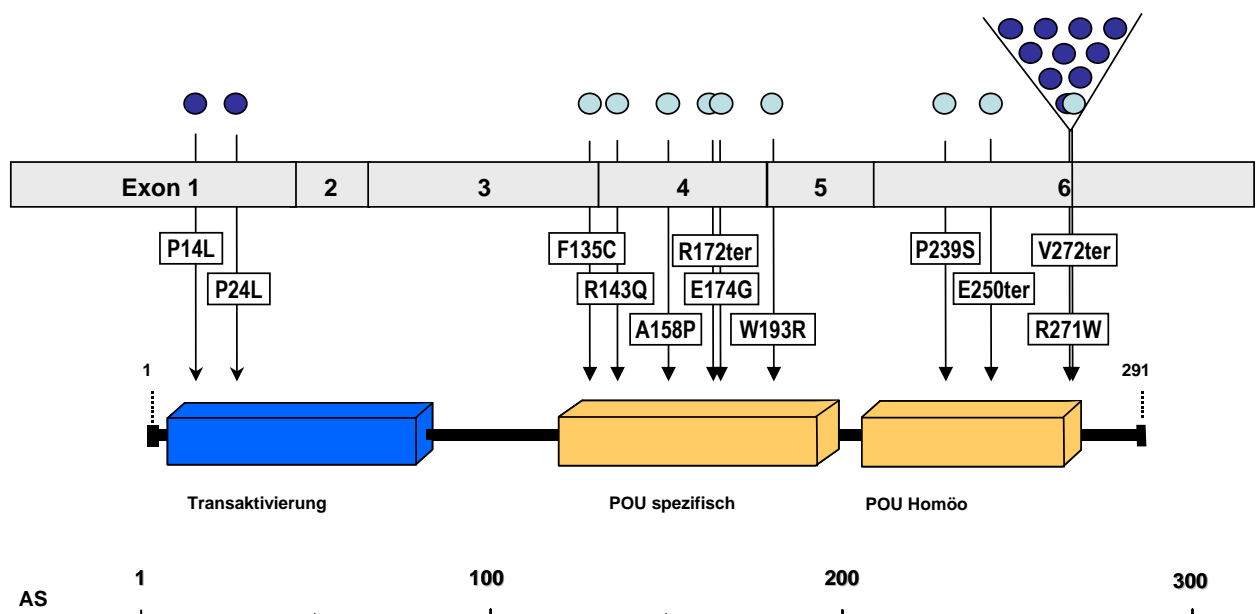


Abbildung 9 Aufbau des humanen PIT1. PIT1 wird in 6 Exons kodiert. C-terminal findet sich die Homödomäne, zentral die für POU-Homödomän-Proteine typische POU-spezifische Domäne, Am N-terminalen Ende liegt eine sog. Transaktivierungsdomäne. Mutationen mit einem dominanten Vererbungsmodus sind dunkelblau, solche mit rezessivem Vererbungsmodus hellblau dargestellt. Einen sog „hotspot“ stellt die dominant vererbte R271W-Mutation dar.

relativ konstant. Ein kompletter Wachstumshormonmangel ist kombiniert mit einer sekundären Hypothyreose sowie einem eindeutigen Prolaktinmangel (Pfäffle et al. 1993) (Abb. 3.6.4). Die übrigen Zelllinien des Hypophysenvorderlappens, d.h. die gonadotrophen- und kortikotrophen Zelllinien sind nicht beeinträchtigt. Die Patienten zeigen eine normale Fertilität, der Prolaktinmangel fällt bei den Müttern mit einem PIT1-Gendefekt durch Laktationsstörungen auf (Pfäffle et al. 1996).

Die Wachstumshormon- und Prolaktinwerte finden sich bei den Patienten sowohl basal als auch stimuliert stark erniedrigt bzw. im unteren Bereich der Nachweisgrenze moderner immunometrischer Assays. Im Gegensatz hierzu finden sich häufig noch nachweisbare Serumspiegel für TSH, obgleich in allen bislang untersuchten Patientenfällen eine sekundäre Hypothyreose nachweisbar war (Pfäffle et al. 1997). Eine mögliche Erklärung für diese beobachtete Restsekretion von TSH ist die Beobachtung aus dem Tiermodell, dass sich ein kleiner Anteil der thyreotropen Zellen unabhängig von der PIT1-Expression im Hypophysenvorderlappen entwickelt.

3.6.5. Variabilität des Phänotyps bei PIT1-Mutation

Alle Patienten mit PIT1-Mutationen zeigen einen Ausfall von Wachstumshormon, Prolaktin

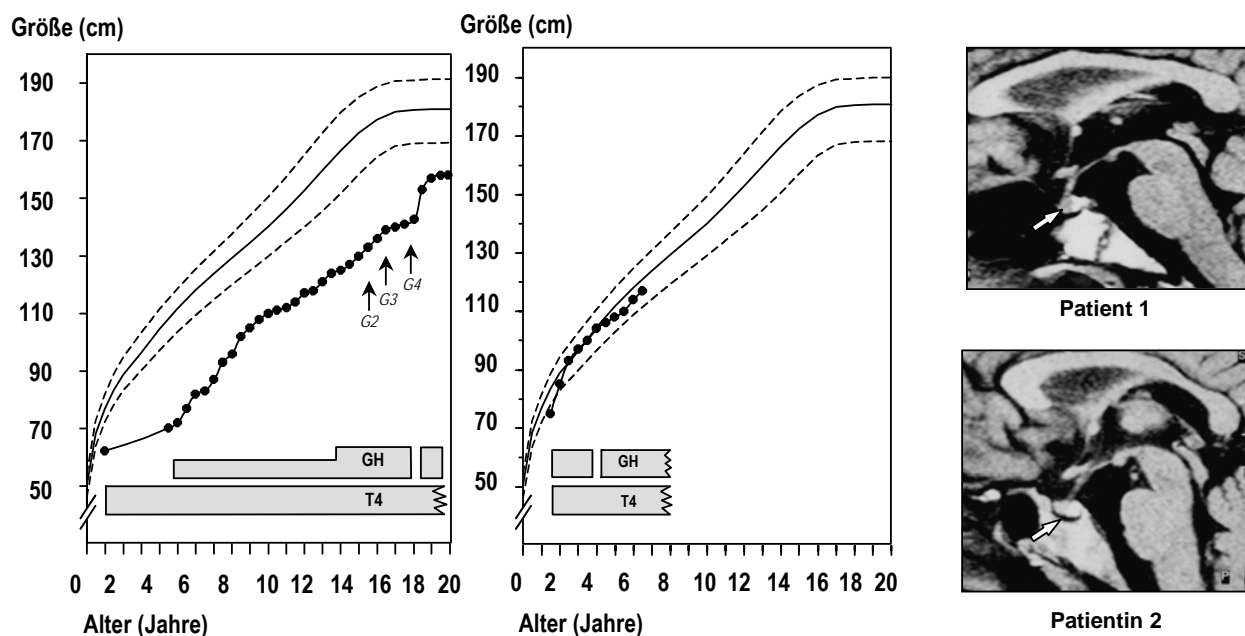


Abbildung 10 Wachstumsverlauf von 2 Geschwistern mit PIT1 Mutationen. Gutes Aufholwachstum bei frühem Beginn der Substitutionstherapie mit Wachstumshormon (GH) und Thyroxin T4). Die Pubertät tritt relativ spät aber spontan auf. Rechte Bilder: Relativ gering ausgeprägte Hypoplasie des Hypophysenvorderlappens bei den beiden Patienten.

und TSH. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung jedoch, die bei der Mehrzahl der Patienten im Kleinkindesalter erfolgt, kann das klinische Bild variieren. Bei einzelnen Patienten ist die sekundäre Hypothyreose bei Geburt bereits so ausgeprägt vorhanden (Pfaffle et al. 1993; de Zegher et al. 1995b; de Zegher et al. 1995c; Brown et al. 1998; Blankenstein et al. 2001), dass sie klinisch im Vordergrund steht und vor dem GH- und Prolaktinmangel diagnostiziert wird. In einzelnen Fällen führte diese ausgeprägte Hypothyreose zu so schweren perinatalen Krankheitsverläufen, dass eine langwierige, intensivmedizinische Betreuung der Patienten notwendig wurde (de Zegher et al. 1995a). Andererseits gibt es Patienten, deren Perinatalperiode relativ unauffällig verläuft und die erst nach Vollendung des 1. Lebensjahres aufgrund des zunehmenden Kleinwuchses auffallen (Pfaffle et al. 1992). Bei einem Teil der Patienten wurde daher zunächst der Wachstumshormonmangel diagnostiziert und die sekundäre Hypothyreose erst unter einer GH-Substitutionstherapie manifest. Eine ausreichende Erklärung für die unterschiedlichen klinischen Verläufe, welche vor allem die Manifestation der sekundären Hypothyreose betreffen, gibt es noch nicht. Sie lassen sich auch nicht unterschiedlichen Mutationen innerhalb des PIT1-Gens zuordnen, denn Patienten mit einem identischen Genotyp zeigen durchaus unterschiedliche klinische Verläufe.

3.6.6. Vererbungsmodus von PIT1-Gen-Mutationen

Die ersten Familien, bei denen PIT1-Gen-Mutationen beschrieben wurden, wiesen einen autosomal rezessiven Vererbungsmodus für den multiplen hypophysären Hormonausfall (MPHD) auf (Pfaffle et al. 1992; Tatsumi et al. 1992a). Andere PIT1-Gen-Mutationen folgen jedoch einem autosomal dominanten Vererbungsmuster (Radovick et al. 1992b; Cohen et al. 1995b).

Autosomal rezessive PIT1-Gen-Mutationen

Die meisten der bislang bekannten PIT1-Gen-Mutationen lassen sich innerhalb der DNA-Bindungsdomäne des Transkriptionsfaktors nachweisen (Pfaffle et al. 1996; Pellegrini-Bouiller et al. 1996b; Bakker et al. 1997; Fofanova et al. 1997; Arnhold et al. 1998; Pernasetti et al. 1998b; Gat-Yablonski et al. 2002; Salemi et al. 2003; Hashimoto et al. 2003). Diese werden ausnahmslos autosomal rezessiv vererbt. Diese Tatsache erklärt sich vor allem daraus, dass Mutationen innerhalb der DNA-Bindungsdomäne mit hoher Wahrscheinlichkeit das Helix-Turn-Helix Motiv verändern und somit die DNA-Bindungsfähigkeit des Transkriptionsfaktors an seine Zielsequenzen beeinträchtigen. Bei Individuen, die heterozygot für solche Mutationen sind, ist das mutierte PIT1-Molekül nicht in der Lage, mit

dem Wildtyp PIT1-Molekül um die DNA-Bindung zu konkurrieren. Innerhalb eines Komplexes verschiedener Transkriptionsfaktoren an den Zielgensequenzen kommt daher die negative Wirkung eines solchen PIT1-Moleküls nicht zur Wirkung. Heterozygote Personen mit diesen Mutationen zeigen daher keine Auffälligkeit ihrer Hypophysenentwicklung oder -funktion. Viele der beobachteten Mutationen lassen ihre Auswirkungen relativ einfach voraussagen. Die so genannten Nonsense-Mutationen, die innerhalb der DNA-Bindungsdomäne zu einem Translationsabbruch führen, besitzen keine Möglichkeit zur DNA-Bindung mehr. Punktmutationen innerhalb der DNA-Bindungsdomäne die zu einem einfachen Aminosäureaustausch führen, erfordern jedoch eine sorgsame funktionelle Analyse (Abb. 3.6.1-1). Bei den meisten nachgewiesenen Mutationen wurde durch die Analyse der beobachteten Mutanten *in vitro* ein vollständiger oder teilweiser Verlust der DNA-Bindungsfähigkeit an den Zielsequenzen nachweisbar. Zudem lässt sich in so genannten Kotransfektions-Experimenten der Verlust der transaktivierenden Eigenschaften von PIT1 nachweisen. Das Protein ist diesbezüglich ausführlich untersucht (Pfäffle et al. 1992).

Autosomal-dominante PIT1-Mutation

Bald nach den ersten Publikationen über PIT1-Mutationen bei Patienten mit einem multiplen hypophysären Hormonausfall wurde von Radovick und Mitarbeitern der erste Patient beschrieben, bei dem lediglich eine heterozygote Mutation im PIT1-Gen nachweisbar war (Radovick et al. 1992a). Sie fanden eine Mutation einer Base, welche den Austausch einer Aminosäure am c-terminalen Ende der Homöodomäne zur Folge hatte (R271W) (Abb. 3.6.1-1). Die Autoren konnten nachweisen, dass das mutierte PIT1-Molekül seine DNA-Bindungsfähigkeit beibehält, innerhalb des Komplexes von Transkriptionsfaktoren am Zielgenpromotor jedoch zu einer verringerten Expression der Zielgene führte. Dieser dominant negative Effekt wurde durch eine sterische Behinderung des Transkriptionsapparates erklärt, welcher das mutante PIT1-Molekül enthielt. Die R271W-Mutation hat sich inzwischen als ein Hotspot für Mutationen innerhalb des PIT1-Gens herausgestellt (Cohen et al. 1995a). Außerhalb dieser Region wurden jedoch noch weitere Mutationen innerhalb des PIT1-Moleküls mit einem dominant negativen Effekt nachgewiesen (P14L) (Ohta et al. 1992a).

3.7. PAX6

PAX6 (OMIM 607108) gehört zu den Homedomainproteinen mit einer so genannten Paired-DNA-Bindungsdomäne und einer Paired-Homöodomäne. PAX6 scheint wichtig für die

Entwicklung von Augen, zentralem Nervensystem, Pankreas und der Hypophyse zu sein (Bentley et al. 1999; Kioussi et al. 1999b; Spieler et al. 2004). PAX6 findet sich an der Grenze zwischen den dorsalen und ventralen Anteil der Rathke Tasche. Mäuse mit einem Knockout für Pax6 haben eine reduzierte Anzahl von Somatotrophen und Laktotrophen zeigen aber gleichzeitig eine Hyperplasie der ventralen Thyreotrophen und Gonadotrophen (Kioussi et al. 1999a).

3.8. SIX3 und SIX6

SIX3 (OMIM 603714) und **SIX6** (OMIM 606326) stellen Homologe zu dem Drosophila Homeoboxgen *Sine Oculis* dar. Sowohl **SIX3** als auch **SIX6** werden in der embryonalen Hypophyse exprimiert und werden daher mit wichtigen Entwicklungsschritten dieses Organs in Zusammenhang gebracht (Oliver et al. 1995; Bovolenta et al. 1998; Leppert et al. 1999; Wallis et al. 1999b).

SIX3-Genmutationen werden bei Patienten mit Formen von Holoprosenzephalie gefunden; dies weist auf eine wichtige Rolle von **SIX3** auch bei der Entwicklung der vorderen Neuralplatte hin (Wallis et al. 1999a).

Die Expression von **SIX6** beschränkt sich auf den sich entwickelnden Hypothalamus, die Hypophyse, die Augen sowie den Sehnerven (Jean et al. 1999).

Six6-Knockoutmäuse haben Defekte an Retina und Sehnerv sowie hypoplastische Hypophysen (Li et al. 2002). Zusätzlich konnten bei Patienten mit Mikrophthalmie und einer gestörten Hypophysenentwicklung heterozygote Mutationen innerhalb des **SIX6**-Gens nachgewiesen werden (Gallardo et al. 2004).

3.9. HESX1

Das **HESX1**-Gen (OMIM 601802) kodiert für ein weiteres Mitglied der so genannten *Paired-Homeodomäne* Transkriptionsfaktoren. Es wird in der sich entwickelnden Neuralplatte und anschließend in der Rathke-Tasche exprimiert (Thomas et al. 2001a; Hermes et al. 2003). Bei der Maus wird **HesX1** im Hypophysenvorderlappen bis Entwicklungstag (e12) exprimiert. Hiernach lässt seine Expression in dem Maße nach, wie sich die Hypophysenzellen funktionell differenzieren. Seine Expression wird am Entwicklungstag 13.5 (e13.5) nicht mehr nachweisbar. Die Expression von **HESX1** im Hypophysenvorderlappen erfordert die Expression von **LHX3** in frühen Entwicklungsstadien (Sheng et al. 1997c). Die Expression von **PROP1** hingegen scheint die Expression von **HESX1** zurückzudrängen (Hermes et al. 1996; Gage et al. 1996).

Gezielte genetische Inaktivierungen des HesX1-Gens bei der Maus führten zu morphologischen Defekten im Mausembryo, die vom Entwicklungstag 9 (e9) an nachweisbar waren. Die Mäuse zeigten eine auffällig verringerte Kopfgröße, kraniofaziale Dysmorphien mit einer kurzen Nase und einer schweren Mikrophthalmie. Alle homozygoten Tiere waren betroffen, jedoch auch eine geringe Anzahl (1 %) der heterozygoten Tiere (Dattani et al. 1998b). Die sehr variablen Mittelliniendefekte im Bereich des Prosenzephalons sowie die Abnahme der Größe des Hypophysenvorderlappens bei den mutanten Mäusen erinnerte an das Syndrom der septooptischen Dysplasie beim Menschen (De Morsier Syndrom; OMIM 182230).

Das menschliche HESX1-Gen wurde auf dem Chromosom 3 p21.1-21.2 lokalisiert. Es umfasst 1,7 Kilobasen in 4 kodierenden Exons. Humanes HESX1 besteht aus 185 Aminosäuren und es enthält nahe dem Aminoterminus eine Homöodomäne, welche der Familie in *Engrailed* und *Gooseoid* angehört. Die ersten Mutationen beim Menschen wurden bei einer Familie nachgewiesen, in der 2 Geschwister eine septooptische Dysplasie sowie eine Hypoplasie des Hypophysenvorderlappens mit Panhypopituitarismus aufwiesen (Dattani et al. 1998a).

Ursache war eine homozygote Missensmutation in der Homeobox von HESX1 bei den 2 betroffenen Geschwistern der Familie, bei der ein hochkonserviertes Arginin in Position 160 in ein Cystein umgewandelt war (R160C). Die heterozygoten Eltern dieser Familie sowie weitere heterozygote Mitglieder zeigten keine Auffälligkeiten. DNA-Bindungsexperimente konnten nachweisen, dass die Mutation zu einem vollständigen DNA-Bindungsverlust führt. Bei anschließenden umfangreichen Untersuchungen konnten 5 weitere heterozygote Missensmutationen im HESX1-Gen bei Kindern mit einer sehr variablen Form eines Hypophysenvorderlappenausfalls und septooptischer Dysplasie nachgewiesen werden (S170L, T181A, Q6H, N125S) (Thomas et al. 2001b). Die funktionellen Konsequenzen dieser scheinbar dominant negativen Mutationen sind jedoch noch nicht vollständig erforscht.

4. WEITERE TRANSKRIPTIONSFAKTOREN

4.1. SF1

Steroidogenic factor 1 (SF1, Fushi Tarazu Factor, FTZF1) (OMIM*184757) beteiligt sich bei der embryonalen Entwicklung einer Reihe von endokrinen Geweben. Gezielte Mutationen innerhalb des SF1-Gens bei Mäusen führen zum schnellen postnatalen Tod, wobei bei den Tieren eine Agenesie von Gonaden und Nebennieren auffällt. Zusätzlich finden sich jedoch

auch Defekte hypothalamischer Nuclei sowie das vollständige Fehlen der gonadotropen Zellreihe in der Hypophyse (Ingraham et al. 1994; Sadovsky et al. 1995; Asa et al. 1996; Luo et al. 1999). Eine organspezifische Deletion des SF1-Gens in der Hypophyse von Mäusen führt zu einem hypogonadotropen Hypogonadismus. Dies bestätigt die wichtige Rolle von SF1 für die embryonale Differenzierung der Gonadotrophen. Mutationen innerhalb des SF1-Gens beim Menschen führen zur primären Nebennierenrindeninsuffizienz sowie einem XY-Sex-Reversal mit persistierenden Müllerschen Strukturen (Achermann et al. 1999; Achermann et al. 2001).

4.2. TPIT

TPit (T Box 19, TBX) (OMIM*604614), welches im Hypophysenmittel- und -vorderlappen exprimiert gefunden wird, gehört zu der Klasse der T-Box-Proteine. Hier findet es sich in den Kortikotrophen und Melanotrophen (Lamolet et al. 2001). TPit trägt am POMC-Gen-Promotor synergistisch mit PTX zur Transaktivierung des Gens bei. Untersuchungen an TPit-Knockoutmäusen zeigen, dass dieser Faktor während der Embryonalentwicklung eine komplexe Rolle sowohl bei der Festlegung der Identität (Spezifizierung) der später POMC exprimierenden Zelllinien als auch bei der Regulation der kortikotropen Zellreihe spielt (Lamolet et al. 2004). TPit hingegen scheint bei der initialen Festlegung der kortikotropen Zellreihe selbst nicht direkt beteiligt zu sein, so wie dies für NeuroD1 der Fall ist (Pulichino et al. 2003d).

Mäuse mit Knockout für das TPit-Gen zeigen nur sehr wenige ACTH positive Zellen in ihren Hypophysenvorderlappen (Pulichino et al. 2003a). Im Gegensatz hierzu finden sich bei den Mäusen gonadotrophe und thyreotrophe Zelllinien im Hypophysenzwischenlappen, welche dort normalerweise nicht nachweisbar sind. Dies zeigt, dass TPit ein Repressor der gonadotropen Differenzierung und dahingehend vermutlich ein Antagonist der SF1-Wirkung ist (Pulichino et al. 2003c).

Inzwischen wurden mehrere Mutationen innerhalb des TPit-Gens beschrieben, welche zu einer isolierten Defizienz der kortikotropen Zellreihe im Hypophysenvorderlappen führen (Pulichino et al. 2003b; Atasay et al. 2004). Die Patienten fielen zumeist durch eine neonatale Hypoglykämie mit ACTH-Mangel auf. Bei einem Teil der Patienten bestand ein Ikterus prolongatus, alle Patienten zeigten deutlich erniedrigte ACTH-Spiegel mit resultierendem Hypokortisolismus. Weitere hypophysäre Hormonmängel waren bei den Patienten nicht nachweisbar. Es fanden sich Missensmutationen, Nonsensmutationen sowie jeweils eine

Makro- und eine Mikrodeletion innerhalb des TPit-Gens. Bislang ließ sich noch kein Hotspot für das Auftreten von TPit-Mutationen identifizieren.

4.3. SOX3

SOX3 (OMIM 313430) ist Mitglied einer Familie von 20 Genen, denen eine enge Verbindung zum SRY-Gen gemeinsam ist. Von diesem leitet sich auch der Name SOX „SRY related homebox“ ab. Die SOX Gene besitzen eine in Säugetieren hochkonservierte DNA-bindende Domäne, die sogenannte „high mobility group“ (HMG) mit einer Länge von 79 Aminosäuren (Collignon et al. 1996). SOX3 befindet sich auf dem X-Chromosom (Xq26.3) und besteht aus einem einzigen Exon mit einer Länge von etwa 2 Kb, welches ein Protein von 446 Aminosäuren kodiert (OMIM*313430).

Insbesondere SOX1, SOX2 und SOX3 weisen hohe Homologien zum SRY-Gen auf, welches für die Geschlechtsdifferenzierung des männlichen Embryos mitverantwortlich ist (Sinclair et al. 1990). Daher wurde ursprünglich vermutet, SOX3 habe ebenfalls eine Funktion in der Geschlechtsdifferenzierung des Feten (Graves 1998). Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass es zwar für die Funktion, jedoch nicht für die Differenzierung der männlichen und weiblichen Gonaden wichtig ist (Weiss et al. 2003).

Eine Expressionsaktivität von SOX3 findet sich nicht nur in den Gonaden, sondern auch im Gehirn bereits ab der frühen Embryogenese (Wood u. Episkopou 1999). Knockout Mäuse für Sox3 zeigen schwere phänotypische Auswirkungen, wie kraniofazialen Missbildungen, Mittelliniendefekte, ausgeprägten Wachstumshormonmangel, männlichen Hypogonadismus und einer erhöhten Letalität. Dennoch scheint auch hier der Phänotyp zu variieren (Rizzoti et al. 2004b).

Obwohl in der Hypophyse keine Expression von SOX3 nachgewiesen werden kann, zeigen SOX3 Mutanten im Mäusemodell eine hypoplastische Adenohypophyse mit Ausfall von GH, TSH und LH/FSH. Eine mögliche Erklärung hierfür ist eine induktive Wirkung der neuroektodermalen Strukturen der Rathke Tasche auf die Differenzierung der hypophysären Zelllinien, möglicherweise vermittelt durch FGF8 und BMP4, die abhängig von SOX3 gebildet werden (Takuma et al. 1998a; Rizzoti et al. 2004a).

Mutationen beim Menschen wurden bereits bei Patienten mit X-chromosomal vererbter mentaler Retardierung und Wachstumshormonmangel beschrieben (Hol et al. 2000; Laumonier et al. 2002).

Turton et al. (2004) fanden kürzlich zwei Geschwister mit einer 600 Kb großen Duplikatur im Bereich des SOX3-Genlokus sowie drei Brüder mit einer Verlängerung der Polyalanin-

Sequenz um sieben Alanin-Reste. Alle Patienten zeigten einen Kleinwuchs ohne mentale Retardierung mit Ausfällen von GH, TSH, LH/FSH und ACTH. Zudem fielen eine Hypoplasie der Adenohypophyse bei fehlendem Infundibulum, eine ektope Neurohypophyse und Mittelliniendefekte verschiedenen Ausmaßes auf. Funktionelle Analysen legten die Vermutung eines so genannten Dosiseffektes der Polyalaninsequenz nahe. Dies ist ein Phänomen, welches bereits bei mehreren anderen Genen beschrieben wurde (Albrecht et al. 2004). Albrecht et al. zeigten, dass Transkriptionsfaktoren mit einer Verlängerung der Polyalaninsequenz zur Bildung amorpher Aggregate außerhalb des Zellkerns neigen und damit zum Funktionsverlust der betroffenen Zelle führen. Dieser Effekt ist umso größer je länger die Polyalaninsequenz wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Der Hypophysenvorderlappen als zentrales und integrierendes Organ für eine Reihe von vital wichtigen hormonellen Regelkreisen vereint mindestens 5 verschieden differenzierte Zellreihen auf engstem Raum. Alle entwickeln sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelllinie unter dem Einfluss von „extrinsischen Signalpeptiden“ (vor allem aus dem Hypothalamus) und in Folge aus einer sich gegenseitig regulierenden Kaskade von hypophysär exprimierten Entwicklungsfaktoren, welche in einem engem Zeitschema exprimiert werden.. Dies geschieht innerhalb eines engen Zeitschemas. Störungen in diesem Netzwerk von Entwicklungsfaktoren führen zu Defekten der Hypophyse, die durch das Expressionsmuster dieser Faktoren nur zum Teil erklärbar sind.

Entwicklungsfaktoren, die zu einem relativ späten Zeitpunkt der embryonalen Hypophysenentwicklung exprimiert werden und die eine Expression in der adulten Hypophyse zeigen, weisen bei genetischen Defekten (Mutationen) einen klar umrissenen Phänotyp auf, der dem Expressionsmuster dieser Faktoren folgt. Beispiel: Pit1.

Je früher hingegen die Expression des Faktors innerhalb der Ontogenie der Hypophyse erfolgt, umso variabler wird das Ausfallmuster, welches durch die beobachteten Defekte solcher Entwicklungsfaktoren hervorgerufen wird. Während der nur passager exprimierte Transkriptionsfaktor Prop1 ein klinisch uniformes aber in seiner Ausprägung variables Bild des Hypophysenvorderlappenausfalls hervorruft, kommt es bei Mutationen innerhalb der früh exprimierten Transkriptionsfaktoren (HesX1 oder Lhx3 und Lhx4) zu unterschiedlichen Ausprägungen des Phänotyps, die zusätzlich assoziiert sind mit weiteren

Entwicklungsauffälligkeiten (septooptischer Dysplasie oder Mittelliniendefekten im Falle des HesX1 und Störungen der Innervation der Nackenmuskulatur im Falle von LHX3).

Murine Knockout-Modelle für die identifizierten Transkriptionsfaktoren können wichtige Hinweise auf die möglichen Manifestationsformen von Mutationen innerhalb der entsprechenden Entwicklungsfaktoren beim Menschen liefern. Identisch sind sie erwartungsgemäß nicht (Tabelle 3.5).

Ist der Phänotyp der Prop1 mutanten Ames-Maus geprägt durch einen Hypophysenvorderlappenausfall für GH, TSH und Prolaktin, so ist der entsprechende hormonelle Phänotyp beim Menschen ein kombinierter Hypophysenvorderlappenausfall für GH, TSH, Prolaktin und Gonadotropine, der kompliziert wird durch eine sich zusätzlich wenn auch erst spät, manifestierende Insuffizienz der kortikotrophen Zellreihe.

LHX3 Knockout Mäuse zeigen einen so ausgeprägten Phänotyp, dass sie postnatal nicht lebensfähig sind, während die beim Menschen beobachteten Formen einer LHX3 Mutation

Vom Mausmodell zum menschlichen Krankheitsbild						
Gen	Genlokus	Phänotyp Maus		Phänotyp Mensch		Vererbungsmodus
Maus/ Mensch	Maus/ Mensch	Zelllinien	Morphologie	Zelllinien Hormonausfälle	Morphologie	Maus/ Mensch
Pit1/ PIT1 Pou1f1/POU1F1)	16C1/ 3p11	Somato-, Lakto-, Thyreotrophe	Hypoplasie des HVL	GH, TSH, Prl	Hypoplasie des HVL	rez / rez, dom
Prop1/ PROP1	11B1/ 5q34	Somato-, Lakto-, Thyreo-, Gonadotrophe	Hypoplasie des HVL	GH, TSH, Prl, LH/FSH, später ACTH	Hypoplasie oder Hyperplasie des HVL	rez / rez
Hesx1/ HESX1	14B/ 3p14.3	Somato-, Lakto-, Thyreo-, Gonadotrophe, POMC-Zellen	Anophthalmie, Mikrophthalmie, Mittellinien- defekte, Hypoplasie oder Aplasie des HVL	GH, (TSH),(Prl), (LH/FSH),(ACTH)	Hypoplasie des HVL,SOD, ektope Neurohypophyse	rez / rez, dom
Lhx3/ LHX3	2A3/ 9q34.3	Somato-, Lakto-, Thyreo-, Gonadotrophe,	Hypoplasie der Rathke-Tasche	GH, Prl, TSH, LH/FSH	Hypoplasie oder Hyperplasie des HVL, kurzer Hals mit Rotationsdefizit	rez / rez
Lhx4/LHX4	1G3/ 1q25.2	Somato-, Lakto-, Thyreo-, Gonado-, Corticotrophe	Milde Hypoplasie des HVL	GH, (Prl), (TSH), (LH/FSH),(ACTH)	MR-Auffälligkeiten	rez / dom
Sox3/SOX3	XA5/ Xq27.1	Gonaden- entwicklung und -wachstum, Hypophysen- entwicklung	Hypoplasie der Rathke-Tasche, Mittellinien- defekte	GH, TSH, LH/FSH, ACTH	Hypoplasie des HVL, ektope Neurohypophyse, Mittellinien- defekte	/ x-chrom.

Tabelle 2 Vergleich von Gendefekten hypophysärer Transkriptionsfaktoren zwischen Maus und Mensch. (HVL- Hypophysenvorderlappen, SOD= septooptische Dysplasie)

Gen	POU1F1	PROP1	HESX1	LHX3	LHX4	SOX3
GH	x	x	(x)	x	x	x
TSH	x	x	(x)	x	x	x
PRL	x	x	(x)	x	x	x
LH/FSH		x	(x)	x	?	x
ACTH		(x)	(x)		x	x
ADH			(x)			
Hypophyse	Hypoplasie des HVL	Hypoplasie oder Hyperplasie des HVL	Hypoplasie des HVL und z.T. ektopter HHL	Hypoplasie oder Hyperplasie des HVL	Variable Hypoplasie des HVL	Hypoplasie des HVL und z.T. ektopter HHL
Zusätzliche Auffälligkeiten			SOD, Mittellinien-defekte	kurzer Hals mit Rotationsdefizit	veränderte Kleinhirntonsillen	(ment. Retardierung)
Vererbung	rez., dom.	rez.	rez., dom.	rez.	dom.	x-chrom.

Tabelle 3 Muster der Hormonausfälle des Hypophysenvorderlappens sowie assoziierte Symptome bei humanen Mutationen hypophysärer Transkriptionsfaktoren

zwar in den meisten Fällen eine schwere, sich meist schon bei Geburt manifestierende Form eines Hypopituitarismus aufweisen, in einzelnen Fällen jedoch eine klinisch eher milde Form eines Panhypopituitarismus aufweisen. Schließlich manifestieren sich LHX4 Mutationen bei Mäusen nur in der homozygoter Form, während sie beim Menschen bislang nur als heterozygote Mutationen nachweisbar waren.

Dies alles weist darauf hin, dass die Untersuchungen im Tiermodell zwar unschätzbare wertvolle Hinweise auf die Funktion der beteiligten Faktoren der Hypophysenvorderlappenentwicklung geben können, ihre Gewichtung aber sehr speziesspezifisch sein kann.

In vitro Funktionsanalysen der mutanten Transkriptionsfaktoren in Form von Kotransfektionsanalysen an Zielgenpromotoren, können die funktionellen Auswirkungen der beobachteten Mutationen oft gut erklären, häufig jedoch spiegeln sie nicht das volle Spektrum der beobachteten Symptome wider. Zu vielfältig sind die Aspekte, die die Transkriptionsfaktoren für die Hypophysenentwicklung haben.

Transkriptionsfaktoren stimulieren nicht nur die in der ausdifferenzierten Hypophysenvorderlappenzelle spezifischen Zielgene, sondern sie legen wie im Fall von HesX1 oder Lhx3, während der frühen Embryonalphasen Entwicklungsschritte wie die definitive Ausformung der Rathke Tasche induktiv fest. Verschiedene Mutationen innerhalb dieser Faktoren können diese unterschiedlichen Teilfunktionen verschieden stark beeinflussen. Die Vorhersage eines spezifischen Phänotyps aus der Art und Lokalisation der Mutation fällt daher trotz Zuhilfenahme multipler *in vitro* Funktionsanalysen schwer. Zudem zeigen selbst Patienten mit identischer Mutation oft eine unterschiedlich starke Ausprägung

ihres hormonellen Phänotyps. Ursache hierfür sind vermutlich modifizierende Faktoren, die die endgültige Ausprägung festlegen. Im Fall von LHX3 und LHX4 ist aufgrund ihrer starken Homologie und ihres ähnlichen Expressionsprofils zu vermuten, dass sie einen Anteil ihrer entwicklungsphysiologisch relevanten Funktionen überlappen und sie daher Ausfälle zumindest zum Teil kompensieren können. Bei anderen Faktoren wie HesX1 fällt eine Erklärung für die Variabilität des Phänotyps deutlich schwerer.

Es scheint daher keine wirkliche Alternative zur systematischen und umfassenden Untersuchung dieser Faktoren bei Patienten mit angeborenen Formen eines Hypophysenvorderlappenausfalls zu geben, wenn man das vollständige Funktionsspektrum dieser Entwicklungsfaktoren erfassen will.

6. AUSBLICK:

Die molekulargenetische Untersuchung von hypophysären Transkriptionsfaktoren bei Patienten mit einem Hypopituitarismus kann nicht nur über den zu erwartenden Phänotyp bei den Patienten Aussagen leisten. Neben dem Umfang des Hormonausfalls können vor allem auch die zu erwartenden morphologischen Veränderungen für den Patienten und Therapeuten hilfreich sein. So werden neben der zu erwarteten Hypoplasie auch tumoröse Vergrößerungen der Hypophyse bei deren Funktionsausfall beobachtet, welche zu Fehlinterpretationen und falschen Therapieentscheidungen Anlass geben können. Die molekulargenetische Untersuchung dieser Faktoren hat daher schon heute einen wichtigen und klinisch relevanten Stellenwert.

Ein besseres Verständnis der Funktionsweise der beteiligten Entwicklungsfaktoren auf dem Weg einer Anhäufung undifferenzierter Zellen zu einem komplexen innerhalb unterschiedlich wirksamer Regelkreise funktionierenden Organs hat zudem Modellcharakter für das Verständnis der embryonalen Entwicklung komplexer Organsysteme überhaupt. So zeigt sich, dass oft die Untersuchung von Faktoren lohnt, die aufgrund ihres Expressionsmusters nicht unmittelbar an der Ausformung eines Organs beteiligt zu sein scheinen. Des Weiteren ist bemerkenswert, dass sich genetische Störungen innerhalb früher Entwicklungsphasen eines Organs nicht regelhaft schon bei Geburt ausprägen, sondern dass die daraus resultierenden Krankheitsbilder durchaus einen dynamischen Charakter aufweisen können, welcher nicht sofort an einen genetischen Ursprung denken lässt.

Obwohl einige der Schlüsselfaktoren der embryonalen Entwicklung der Hypophyse identifiziert und in großen Teilen ihrer Funktion charakterisiert sind, ist das Netzwerk der Interaktionen dieser Faktoren bislang nur schemenhaft charakterisiert. Funktionsanalysen

dieser Faktoren und ihrer beobachteten Mutanten sind ein wichtiger Aspekt bei der weiteren Erforschung dieses Gebietes, eine anderer bleibt die gute klinische Charakterisierung von Patienten mit Panhypopituitarismus aufgrund von Mutationen hypophysärer oder hypothalamischer Transkriptionsfaktoren.

Literatur:

Achermann JC, Gu WX, Kotlar TJ, Meeks JJ, Sabacan LP, Seminara SB, Habiby RL, Hindmarsh PC, Bick DP, Sherins RJ, Crowley WF, Jr., Layman LC, Jameson JL. (1999) Mutational analysis of DAX1 in patients with hypogonadotropic hypogonadism or pubertal delay. *J Clin Endocrinol Metab* 84:4497-4500

Achermann JC, Meeks JJ, Jameson JL. (2001) Phenotypic spectrum of mutations in DAX-1 and SF-1. *Mol Cell Endocrinol* 185:17-25

Agarwal G, Bhatia V, Cook S, Thomas PQ. (2000) Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel PROP1 deletion. *J Clin Endocrinol Metab* 85:4556-4561

Albrecht AN, Kornak U, Boddlich A, Suring K, Robinson PN, Stiege AC, Lurz R, Stricker S, Wanker EE, Mundlos S. (2004) A Molecular Pathogenesis for Transcription Factor Associated Poly-Alanine Tract Expansions. *Hum Mol Genet*

Amendt BA, Sutherland LB, Russo AF. (1999) Multifunctional role of the Pitx2 homeodomain protein C-terminal tail. *Mol Cell Biol* 19:7001-7010

Amendt BA, Sutherland LB, Semina EV, Russo AF. (1998) The molecular basis of Rieger syndrome. Analysis of Pitx2 homeodomain protein activities. *J Biol Chem* 273:20066-20072

Andersen B, Pearse RV, Jenne K, Sornson M, Lin SC, Bartke A, Rosenfeld MG. (1995) The Ames dwarf gene is required for Pit-1 gene activation. *Dev Biol* 172:495-503

Appel B. (1999) LIMless combinations? *Neuron* 22:3-5

Arnhold IJ, Nery M, Brown MR, Voss TC, VanderHeyden TC, Adess ME, Hurley DL, Wajchenberg BL, Parks JS. (1998) Clinical and molecular characterization of a Brazilian patient with Pit-1 deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab* 11:623-30

Asa SL, Bamberger AM, Cao B, Wong M, Parker KL, Ezzat S. (1996) The transcription activator steroidogenic factor-1 is preferentially expressed in the human pituitary gonadotroph. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2165-2170

Asa SL, Kovacs K. (1984) Functional morphology of the human fetal pituitary. *Pathol Annu* 19 Pt 1:275-315

Asa SL, Kovacs K, Horvath E, Losinski NE, Laszlo FA, Domokos I, Halliday WC. (1988) Human fetal adenohypophysis. Electron microscopic and ultrastructural immunocytochemical analysis. *Neuroendocrinology* 48:423-31

Asa SL, Kovacs K, Laszlo FA, Domokos I, Ezrin C. (1986) Human fetal adenohypophysis. Histologic and immunocytochemical analysis. *Neuroendocrinology* 43:308-16

Atasay B, Aycan Z, Evliyaoglu O, Adiyaman P, Gunlemez A, Unal S, Arsan S, Ocal G, Berberoglu M. (2004) Congenital early onset isolated adrenocorticotropin deficiency associated with a TPIT gene mutation. *J Pediatr Endocrinol Metab* 17:1017-1020

- Bach I, Rhodes SJ, Pearse RV2, Heinzl T, Gloss B, Scully KM, Sawchenko PE, Rosenfeld MG. (1995) P-Lim, a LIM homeodomain factor, is expressed during pituitary organ and cell commitment and synergizes with Pit-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:2720-4
- Bakker B, Jansen M, Hendriks-Stegeman B. (1997) A new mutation in the Pit-1 gene, discovered by the neonatal congenital hypothyroidism (CH) screening program (abstract). *Horm Res* 48:1-201
- Belloni E, Muenke M, Roessler E, Traverso G, Siegel-Bartelt J, Frumkin A, Mitchell HF, Donis-Keller H, Helms C, Hing AV, Heng HH, Koop B, Martindale D, Rommens JM, Tsui LC, Scherer SW. (1996) Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nat Genet* 14:353-356
- Bentley CA, Zidehsarai MP, Grindley JC, Parlow AF, Barth-Hall S, Roberts VJ. (1999) Pax6 is implicated in murine pituitary endocrine function. *Endocrine* 10:171-177
- Blankenstein O, Muhlenberg R, Kim C, Wuller S, Pfaffle R, Heimann G. (2001) A new C-terminal located mutation (V272ter) in the PIT-1 gene manifesting with severe congenital hypothyroidism. Possible functionality of the PIT-1 C-terminus. *Horm Res* 56:81-86
- Bottner A, Keller E, Kratzsch J, Stobbe H, Weigel JF, Keller A, Hirsch W, Kiess W, Blum WF, Pfaffle RW. (2004) PROP1 Mutations Cause Progressive Deterioration of Anterior Pituitary Function including Adrenal Insufficiency: A Longitudinal Analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5256-5265
- Bovolenta P, Mallamaci A, Puelles L, Boncinelli E. (1998) Expression pattern of cSix3, a member of the Six/sine oculis family of transcription factors. *Mech Dev* 70:201-203
- Bridwell JA, Price JR, Parker GE, McCutchan SA, Sloop KW, Rhodes SJ. (2001) Role of the LIM domains in DNA recognition by the Lhx3 neuroendocrine transcription factor. *Gene* 277:239-250
- Brown MR, Parks JS, Adess ME, Rich BH, Rosenthal IM, Voss TC, VanderHeyden TC, Hurley DL. (1998) Central hypothyroidism reveals compound heterozygous mutations in the Pit-1 gene. *Horm Res* 49:98-102
- Buckwalter MS, Katz RW, Camper SA. (1991) Localization of the panhypopituitary dwarf mutation (df) on mouse chromosome 11 in an intersubspecific backcross. *Genomics* 10:515-26
- Chen RP, Ingraham HA, Treacy MN, Albert VR, Wilson L, Rosenfeld MG. (1990) Autoregulation of pit-1 gene expression mediated by two cis-active promoter elements. *Nature* 346:583-586
- Cogan JD, Wu W, Phillips JA, III, Arnhold IJ, Agapito A, Fofanova OV, Osorio MG, Bircan I, Moreno A, Mendonca BB. (1998) The PROP1 2-base pair deletion is a common cause of combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3346-3349
- Cohen LE, Wondisford FE, Salvatoni A, Maghnie M, Brucker-Davis F, Weintraub BD, Radovick S. (1995a) A "hot spot" in the Pit-1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency: clinical and molecular correlates. *J Clin Endocrinol Metab* 80:679-684

- Cohen LE, Wondisford FE, Salvatoni A, Maghnie M, Brucker-Davis F, Weintraub BD, Radovick S. (1995b) A "hot spot" in the Pit-1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency: clinical and molecular correlates. *J Clin Endocrinol Metab* 80:679-684
- Collignon J, Sockanathan S, Hacker A, Cohen-Tannoudji M, Norris D, Rastan S, Stevanovic M, Goodfellow PN, Lovell-Badge R. (1996) A comparison of the properties of Sox-3 with Sry and two related genes, Sox-1 and Sox-2. *Development* 122:509-520
- Couly G, Le Douarin NM. (1988) The fate map of the cephalic neural primordium at the presomitic to the 3-somite stage in the avian embryo. *Development* 103 Suppl:101-113
- Daikoku S, Hisano S, Maki Y. (1982) Immunohistochemical demonstration of LHRH-neurons in young rat hypothalamus: light and electron microscopy. *Arch Histol Jpn* 45:69-82
- Dasen JS, Rosenfeld MG. (1999c) Combinatorial codes in signaling and synergy: lessons from pituitary development. *Curr Opin Genet Dev* 9:566-574
- Dasen JS, Rosenfeld MG. (1999a) Combinatorial codes in signaling and synergy: lessons from pituitary development. *Curr Opin Genet Dev* 9:566-574
- Dasen JS, Rosenfeld MG. (1999b) Combinatorial codes in signaling and synergy: lessons from pituitary development. *Curr Opin Genet Dev* 9:566-574
- Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Martensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JK, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RS, Robinson IC. (1998b) Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nat Genet* 19:125-133
- Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Martensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JK, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RS, Robinson IC. (1998a) Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nat Genet* 19:125-133
- de Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den BG, Martial JA. (1995a) The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3127-3130
- de Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den BG, Martial JA. (1995b) The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3127-3130
- de Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den BG, Martial JA. (1995c) The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3127-3130
- de Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den BG, Martial JA. (1995d) The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3127-3130
- Deladoey J, Fluck C, Buyukgebiz A, Kuhlmann BV, Eble A, Hindmarsh PC, Wu W, Mullis PE. (1999) "Hot spot" in the PROP1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1645-1650

- Duquesnoy P, Roy A, Dastot F, Ghali I, Teinturier C, Netchine I, Cacheux V, Hafez M, Salah N, Chaussain JL, Goossens M, Bougneres P, Amselem S. (1998) Human Prop-1: cloning, mapping, genomic structure. Mutations in familial combined pituitary hormone deficiency. *FEBS Lett* 437:216-220
- Dutour A. (1997b) A new step understood in the cascade of tissue-specific regulators orchestrating pituitary lineage determination: the Prophet of Pit-1 (Prop-1). *Eur J Endocrinol* 137:616-617
- Dutour A. (1997a) A new step understood in the cascade of tissue-specific regulators orchestrating pituitary lineage determination: the Prophet of Pit-1 (Prop-1). *Eur J Endocrinol* 137:616-617
- Ericson J, Norlin S, Jessell TM, Edlund T. (1998) Integrated FGF and BMP signaling controls the progression of progenitor cell differentiation and the emergence of pattern in the embryonic anterior pituitary. *Development* 125:1005-1015
- Fluck C, Deladoey J, Rutishauser K, Eble A, Marti U, Wu W, Mullis PE. (1998a) Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a PROP1 gene mutation resulting in the substitution of Arg-->Cys at codon 120 (R120C). *J Clin Endocrinol Metab* 83:3727-3734
- Fluck C, Deladoey J, Rutishauser K, Eble A, Marti U, Wu W, Mullis PE. (1998b) Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a PROP1 gene mutation resulting in the substitution of Arg-->Cys at codon 120 (R120C). *J Clin Endocrinol Metab* 83:3727-3734
- Fofanova O, Takamura N, Kinoshita E, Vorontsov A, Vladimirova V, Dedov I, Peterkova V, Yamashita S. (2000) MR imaging of the pituitary gland in children and young adults with congenital combined pituitary hormone deficiency associated with PROP1 mutations. *AJR Am J Roentgenol* 174:555-559
- Fofanova O, Takamura N, Kinoshita E, Yoshimoto M, Tsuji Y, Yamashita S, Peterkova V, Dedov I, Evgrafov O. (1997) A novel Pit-1 gene mutation in a russian girl with combined pituitary hormone deficiency (abstract). *Horm Res* 48:1-201
- Fofanova OV, Takamura N, Kinoshita E, Yoshimoto M, Tsuji Y, Peterkova VA, Evgrafov OV, Dedov I, Goncharov NP, Yamashita S. (1998) Rarity of PIT1 involvement in children from Russia with combined pituitary hormone deficiency. *Am J Med Genet* 77:360-5
- Fox SR, Jong MT, Casanova J, Ye ZS, Stanley F, Samuels HH. (1990) The homeodomain protein, Pit-1/GHF-1, is capable of binding to and activating cell-specific elements of both the growth hormone and prolactin gene promoters. *Mol Endocrinol* 4:1069-1080
- Fujii T, Pichel JG, Taira M, Toyama R, Dawid IB, Westphal H. (1994) Expression patterns of the murine LIM class homeobox gene *lim1* in the developing brain and excretory system. *Dev Dyn* 199:73-83
- Gage PJ, Camper SA. (1997a) Pituitary homeobox 2, a novel member of the bicoid-related family of homeobox genes, is a potential regulator of anterior structure formation. *Hum Mol Genet* 6:457-464

Gage PJ, Camper SA. (1997b) Pituitary homeobox 2, a novel member of the bicoid-related family of homeobox genes, is a potential regulator of anterior structure formation. *Hum Mol Genet* 6:457-464

Gage PJ, Roller ML, Saunders TL, Scarlett LM, Camper SA. (1996) Anterior pituitary cells defective in the cell-autonomous factor, *df*, undergo cell lineage specification but not expansion. *Development* 122:151-160

Gallardo ME, Rodriguez dC, Schneider AS, Dwyer MA, Ayuso C, Bovolenta P. (2004) Analysis of the developmental *SIX6* homeobox gene in patients with anophthalmia/microphthalmia. *Am J Med Genet* 129A:92-94

Gat-Yablonski G, Lazar L, Pertzalan A, Phillip M. (2002) A novel mutation in *PIT-1*: phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiencies. *J Pediatr Endocrinol Metab* 15:325-330

Gehring WJ. (1987) Homeo boxes in the study of development. *Science* 236:1245-52

Gleiberman AS, Fedtsova NG, Rosenfeld MG. (1999) Tissue interactions in the induction of anterior pituitary: role of the ventral diencephalon, mesenchyme, and notochord. *Dev Biol* 213:340-353

Graves JA. (1998) Interactions between *SRY* and *SOX* genes in mammalian sex determination. *Bioessays* 20:264-269

Hagan DM, Brooks AN. (1998) Ontogeny of pro-opiomelanocortin (*POMC*) gene expression and translated products adrenocorticotrophin (*ACTH*) and alpha-melanocyte stimulating hormone (*alpha-MSH*) in the ovine fetal pituitary gland. *Reprod Fertil Dev* 10:233-239

Hashimoto Y, Cisternino M, Cohen LE. (2003) A novel nonsense mutation in the *Pit-1* gene: evidence for a gene dosage effect. *J Clin Endocrinol Metab* 88:1241-1247

Hendriks-Stegeman BI, Augustijn KD, Bakker B, Holthuisen P, van der Vliet PC, Jansen M. (2001) Combined pituitary hormone deficiency caused by compound heterozygosity for two novel mutations in the *POU* domain of the *Pit1/POU1F1* gene. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1545-1550

Hermesz E, Mackem S, Mahon KA. (1996) *Rpx*: a novel anterior-restricted homeobox gene progressively activated in the prechordal plate, anterior neural plate and Rathke's pouch of the mouse embryo. *Development* 122:41-52

Hermesz E, Williams-Simons L, Mahon KA. (2003) A novel inducible element, activated by contact with Rathke's pouch, is present in the regulatory region of the *Rpx/Hesx1* homeobox gene. *Dev Biol* 260:68-78

Herr W, Sturm RA, Clerc RG, Corcoran LM, Baltimore D, Sharp PA, Ingraham HA, Rosenfeld MG, Finney M, Ruvkun G, . (1988) The *POU* domain: a large conserved region in the mammalian *pit-1*, *oct-1*, *oct-2*, and *Caenorhabditis elegans unc-86* gene products. *Genes Dev* 2:1513-1516

Hobert O, Westphal H. (2000) Functions of *LIM*-homeobox genes. *Trends Genet* 16:75-83

- Hogan BL. (1996) Bone morphogenetic proteins in development. *Curr Opin Genet Dev* 6:432-438
- Hol FA, Schepens MT, van Beersum SE, Redolfi E, Affer M, Vezzoni P, Hamel BC, Karnes PS, Mariman EC, Zucchi I. (2000) Identification and characterization of an Xq26-q27 duplication in a family with spina bifida and panhypopituitarism suggests the involvement of two distinct genes. *Genomics* 69:174-181
- Holl RW, Pfaffle R, Kim C, Sorgo W, Teller WM, Heimann G. (1997) Combined pituitary deficiencies of growth hormone, thyroid stimulating hormone and prolactin due to Pit-1 gene mutation: a case report. *Eur J Pediatr* 156:835-837
- Ingraham HA, Chen RP, Mangalam HJ, Elsholtz HP, Flynn SE, Lin CR, Simmons DM, Swanson L, Rosenfeld MG. (1988) A tissue-specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype. *Cell* 55:519-529
- Ingraham HA, Flynn SE, Voss JW, Albert VR, Kapiloff MS, Wilson L, Rosenfeld MG. (1990) The POU-specific domain of Pit-1 is essential for sequence-specific, high affinity DNA binding and DNA-dependent Pit-1-Pit-1 interactions. *Cell* 61:1021-1033
- Ingraham HA, Lala DS, Ikeda Y, Luo X, Shen WH, Nachtigal MW, Abbud R, Nilson JH, Parker KL. (1994) The nuclear receptor steroidogenic factor 1 acts at multiple levels of the reproductive axis. *Genes Dev* 8:2302-2312
- Irie Y, Tatsumi K, Ogawa M, Kamijo T, Preeyasombat C, Suprasongsin C, Amino N. (1995) A novel E250X mutation of the PIT1 gene in a patient with combined pituitary hormone deficiency. *Endocr J* 42:351-354
- Jacobson EM, Li P, Leon-del-Rio A, Rosenfeld MG, Aggarwal AK. (1997) Structure of Pit-1 POU domain bound to DNA as a dimer: unexpected arrangement and flexibility. *Genes Dev* 11:198-212
- Japon MA, Rubinstein M, Low MJ. (1994) In situ hybridization analysis of anterior pituitary hormone gene expression during fetal mouse development. *J Histochem Cytochem* 42:1117-1125
- Jean D, Bernier G, Gruss P. (1999) Six6 (Optx2) is a novel murine Six3-related homeobox gene that demarcates the presumptive pituitary/hypothalamic axis and the ventral optic stalk. *Mech Dev* 84:31-40
- Kim SS, Kim Y, Shin YL, Kim GH, Kim TU, Yoo HW. (2003) Clinical characteristics and molecular analysis of PIT1, PROP1, LHX3, and HESX1 in combined pituitary hormone deficiency patients with abnormal pituitary MR imaging. *Horm Res* 60:277-283
- Kioussi C, O'Connell S, St Onge L, Treier M, Gleiberman AS, Gruss P, Rosenfeld MG. (1999d) Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14378-14382
- Kioussi C, O'Connell S, St Onge L, Treier M, Gleiberman AS, Gruss P, Rosenfeld MG. (1999c) Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14378-14382

- Kioussi C, O'Connell S, St Onge L, Treier M, Gleiberman AS, Gruss P, Rosenfeld MG. (1999a) Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14378-14382
- Kioussi C, O'Connell S, St Onge L, Treier M, Gleiberman AS, Gruss P, Rosenfeld MG. (1999b) Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14378-14382
- Kioussi C, O'Connell S, St Onge L, Treier M, Gleiberman AS, Gruss P, Rosenfeld MG. (1999e) Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:14378-14382
- Lamesch C, Neumann S, Pfaffle R, Kiess W, Paschke R. (2002) Adrenocorticotrope deficiency with clinical evidence for late onset in combined pituitary hormone deficiency caused by a homozygous 301-302delAG mutation of the PROP1 gene. *Pituitary* 5:163-168
- Lamolet B, Poulin G, Chu K, Guillemot F, Tsai MJ, Drouin J. (2004) Tpit-independent function of NeuroD1(BETA2) in pituitary corticotroph differentiation. *Mol Endocrinol* 18:995-1003
- Lamolet B, Pulichino AM, Lamonerie T, Gauthier Y, Brue T, Enjalbert A, Drouin J. (2001) A pituitary cell-restricted T box factor, Tpit, activates POMC transcription in cooperation with Pitx homeoproteins. *Cell* 104:849-859
- Lamonerie T, Tremblay JJ, Lanctot C, Therrien M, Gauthier Y, Drouin J. (1996a) Ptx1, a bicoid-related homeo box transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene. *Genes Dev* 10:1284-1295
- Lamonerie T, Tremblay JJ, Lanctot C, Therrien M, Gauthier Y, Drouin J. (1996b) Ptx1, a bicoid-related homeo box transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene. *Genes Dev* 10:1284-1295
- Lanctot C, Gauthier Y, Drouin J. (1999b) Pituitary homeobox 1 (Ptx1) is differentially expressed during pituitary development. *Endocrinology* 140:1416-1422
- Lanctot C, Gauthier Y, Drouin J. (1999a) Pituitary homeobox 1 (Ptx1) is differentially expressed during pituitary development. *Endocrinology* 140:1416-1422
- Laumonier F, Ronce N, Hamel BC, Thomas P, Lespinasse J, Raynaud M, Paringaux C, Van Bokhoven H, Kalscheuer V, Fryns JP, Chelly J, Moraine C, Briault S. (2002) Transcription factor SOX3 is involved in X-linked mental retardation with growth hormone deficiency. *Am J Hum Genet* 71:1450-1455
- Leppert GS, Yang JM, Sundin OH. (1999) Sequence and location of SIX3, a homeobox gene expressed in the human eye. *Ophthalmic Genet* 20:7-21
- Li S, Crenshaw EB, III, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. (1990a) Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. *Nature* 347:528-533
- Li S, Crenshaw EB, III, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. (1990b) Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. *Nature* 347:528-533

- Li S, Crenshaw EB, III, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. (1990c) Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. *Nature* 347:528-533
- Li X, Perissi V, Liu F, Rose DW, Rosenfeld MG. (2002) Tissue-specific regulation of retinal and pituitary precursor cell proliferation. *Science* 297:1180-1183
- Lin SC, Li S, Drolet DW, Rosenfeld MG. (1994a) Pituitary ontogeny of the Snell dwarf mouse reveals Pit-1-independent and Pit-1-dependent origins of the thyrotrope. *Development* 120:515-522
- Lin SC, Li S, Drolet DW, Rosenfeld MG. (1994b) Pituitary ontogeny of the Snell dwarf mouse reveals Pit-1-independent and Pit-1-dependent origins of the thyrotrope. *Development* 120:515-522
- Luo X, Ikeda Y, Lala D, Rice D, Wong M, Parker KL. (1999) Steroidogenic factor 1 (SF-1) is essential for endocrine development and function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 69:13-18
- Machinis K, Pantel J, Netchine I, Leger J, Camand OJ, Sobrier ML, Dastot-Le Moal F, Duquesnoy P, Abitbol M, Czernichow P, Amselem S. (2001) Syndromic short stature in patients with a germline mutation in the LIM homeobox LHX4. *Am J Hum Genet* 69:961-968
- Magalhaes AC, Uehara KC, Iezzi D, Lo LS, Mathias SC, Salgado LR, Ramos MA, Mendonca BB, Liberman B, Wajchenberg BL. (1995) MRI of congenital pituitary insufficiency. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 50:182-184
- Mangalam HJ, Albert VR, Ingraham HA, Kapiloff M, Wilson L, Nelson C, Elsholtz H, Rosenfeld MG. (1989) A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev* 3:946-958
- Mbikay M, Tadros H, Seidah NG, Simpson EM. (1995) Linkage mapping of the gene for the LIM-homeoprotein LIM3 (locus Lhx3) to mouse chromosome 2. *Mamm Genome* 6:818-819
- Mendonca BB, Osorio MG, Latronico AC, Estefan V, Lo LS, Arnhold IJ. (1999b) Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301,G302 in the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84:942-945
- Mendonca BB, Osorio MG, Latronico AC, Estefan V, Lo LS, Arnhold IJ. (1999a) Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301,G302 in the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84:942-945
- Mody S, Brown MR, Parks JS. (2002a) The spectrum of hypopituitarism caused by PROP1 mutations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16:421-431
- Mody S, Brown MR, Parks JS. (2002b) The spectrum of hypopituitarism caused by PROP1 mutations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16:421-431
- Nakamura Y, Usui T, Mizuta H, Murabe H, Muro S, Suda M, Tanaka K, Tanaka I, Shimatsu A, Nakao K. (1999) Characterization of Prophet of Pit-1 gene expression in normal pituitary and pituitary adenomas in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1414-1419

- Nanni L, Ming JE, Bocian M, Steinhaus K, Bianchi DW, Die-Smulders C, Giannotti A, Imaizumi K, Jones KL, Campo MD, Martin RA, Meinecke P, Pierpont ME, Robin NH, Young ID, Roessler E, Muenke M. (1999) The mutational spectrum of the sonic hedgehog gene in holoprosencephaly: SHH mutations cause a significant proportion of autosomal dominant holoprosencephaly. *Hum Mol Genet* 8:2479-2488
- Netchine I, Sobrier ML, Krude H, Schnabel D, Maghnie M, Marcos E, Duriez B, Cacheux V, Moers A, Goossens M, Gruters A, Amselem S. (2000) Mutations in LHX3 result in a new syndrome revealed by combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet* 25:182-186
- Netchine I, Talon P, Dastot F, Vitaux F, Goossens M, Amselem S. (1998) Extensive phenotypic analysis of a family with growth hormone (GH) deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 83:432-6
- Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Fujimoto S, Matsuo N, Inagaki H, Endo F, Matsuda I. (1992b) Mutations in the Pit-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 189:851-855
- Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Fujimoto S, Matsuo N, Inagaki H, Endo F, Matsuda I. (1992a) Mutations in the Pit-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 189:851-855
- Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Ohta T, Tohma T, Jinno Y, Endo F, Matsuda I. (1992c) Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, Pit-1. *Gene* 122:387-388
- Oliver G, Mailhos A, Wehr R, Copeland NG, Jenkins NA, Gruss P. (1995) Six3, a murine homologue of the sine oculis gene, demarcates the most anterior border of the developing neural plate and is expressed during eye development. *Development* 121:4045-4055
- Olson LE, Dasen JS, Ju BG, Tollkuhn J, Rosenfeld MG. (2003) Paired-like repression/activation in pituitary development. *Recent Prog Horm Res* 58:249-261
- Osorio MG, Marui S, Jorge AA, Latronico AC, Lo LS, Leite CC, Estefan V, Mendonca BB, Arnhold IJ. (2002) Pituitary magnetic resonance imaging and function in patients with growth hormone deficiency with and without mutations in GHRH-R, GH-1, or PROP-1 genes. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5076-5084
- Paracchini R, Giordano M, Corrias A, Mellone S, Matarazzo P, Bellone J, Momigliano-Richiardi P, Bona G. (2003) Two new PROP1 gene mutations responsible for compound pituitary hormone deficiency. *Clin Genet* 64:142-147
- Park JK, Ozata M, Chorich LP, Cheng L, Bick DP, Sherins RJ, Ozdemir IC, Bolu E, Cogan JD, Phillips JA, Layman LC. (2004) Analysis of the PROP1 gene in a large cohort of patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60:147-149
- Pellegrini-Bouiller I, Belicar P, Barlier A, Gunz G, Charvet JP, Jaquet P, Brue T, Vialettes B, Enjalbert A. (1996a) A new mutation of the gene encoding the transcription factor Pit-1 is responsible for combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2790-2796
- Pellegrini-Bouiller I, Belicar P, Barlier A, Gunz G, Charvet JP, Jaquet P, Brue T, Vialettes B, Enjalbert A. (1996b) A new mutation of the gene encoding the transcription factor Pit-1 is

responsible for combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2790-2796

Combined pituitary hormone deficiency caused by a new Pit-1 mutation (abstract P3-804). June 12-13; San Francisco: 1996.

Pernasetti F, Milner RD, al Ashwal AA, de Zegher F, Chavez VM, Muller M, Martial JA. (1998a) Pro239Ser: a novel recessive mutation of the Pit-1 gene in seven Middle Eastern children with growth hormone, prolactin, and thyrotropin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2079-2083

Pernasetti F, Milner RD, al Ashwal AA, de Zegher F, Chavez VM, Muller M, Martial JA. (1998b) Pro239Ser: a novel recessive mutation of the Pit-1 gene in seven Middle Eastern children with growth hormone, prolactin, and thyrotropin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2079-2083

Petersenn S, Rasch AC, Heyens M, Schulte HM. (1998) Structure and regulation of the human growth hormone-releasing hormone receptor gene. *Mol Endocrinol* 12:233-247

Pfaffle R, Kim C, Otten B, Wit JM, Eiholzer U, Heimann G, Parks J. (1996) Pit-1: clinical aspects. *Horm Res* 45 Suppl 1:25-28

Pfaffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Van der Nat H, Van den Brande JL, Rosenfeld MG, Ingraham HA. (1992) Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 257:1118-21

Pfaffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Van der NH, Van den Brande JL, Rosenfeld MG, Ingraham HA. (1992a) Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 257:1118-1121

Pfaffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Van der NH, Van den Brande JL, Rosenfeld MG, Ingraham HA. (1992b) Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 257:1118-1121

Pfaffle RW, Kim C, Otten B, Wit JM, Eiholzer U, Heimann G, Parks J. (1996) Pit-1: clinical aspects. *Horm Res* 45:25-28

Pfaffle RW, Martinez R, Kim C, Frisch H, Lebl J, Otten B, Heimann G. (1997) GH and TSH deficiency. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 105 Suppl 4:1-5

Pfaffle RW, Parks JS, Brown MR, Heimann G. (1993) Pit-1 and pituitary function. *J Pediatr Endocrinol* 6:229-233

Pfaffle RW, Parks JS, Brown MR, Heimann G. (1993) Pit-1 and pituitary function. *J Pediatr Endocrinol* 6:229-33

Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Couture C, Gauthier Y, Brue T, David M, Malpuech G, Deal C, Van Vliet G, De Vroede M, Riepe FG, Partsch CJ, Sippell WG, Berberoglu M, Atasay B, Drouin J. (2003b) Human and mouse TPIT gene mutations cause early onset pituitary ACTH deficiency. *Genes Dev* 17:711-716

Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Couture C, Gauthier Y, Brue T, David M, Malpuech G, Deal C, Van Vliet G, De Vroede M, Riepe FG, Partsch CJ, Sippell WG, Berberoglu M, Atasay B,

- Drouin J. (2003a) Human and mouse TPIT gene mutations cause early onset pituitary ACTH deficiency. *Genes Dev* 17:711-716
- Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Tsai JP, Couture C, Gauthier Y, Drouin J. (2003d) Tpit determines alternate fates during pituitary cell differentiation. *Genes Dev* 17:738-747
- Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Tsai JP, Couture C, Gauthier Y, Drouin J. (2003c) Tpit determines alternate fates during pituitary cell differentiation. *Genes Dev* 17:738-747
- Radovick S, Nations M, Du Y, Berg LA, Weintraub BD, Wondisford FE. (1992b) A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. *Science* 257:1115-1118
- Radovick S, Nations M, Du Y, Berg LA, Weintraub BD, Wondisford FE. (1992a) A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. *Science* 257:1115-1118
- Rhodes SJ, Kronen A, Nelson C, Rosenfeld MG. (1996) Function of the conserved Pit-1 gene distal enhancer in progenitor and differentiated pituitary cells. *Mol Cell Endocrinol* 124:163-172
- Riepe FG, Partsch CJ, Blankenstein O, Monig H, Pfaffle RW, Sippell WG. (2001c) Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to PROP1 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4353-4357
- Riepe FG, Partsch CJ, Blankenstein O, Monig H, Pfaffle RW, Sippell WG. (2001b) Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to PROP1 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4353-4357
- Riepe FG, Partsch CJ, Blankenstein O, Monig H, Pfaffle RW, Sippell WG. (2001a) Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to PROP1 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4353-4357
- Rizzoti K, Brunelli S, Carmignac D, Thomas PQ, Robinson IC, Lovell-Badge R. (2004b) SOX3 is required during the formation of the hypothalamo-pituitary axis. *Nat Genet* 36:247-255
- Rizzoti K, Brunelli S, Carmignac D, Thomas PQ, Robinson IC, Lovell-Badge R. (2004a) SOX3 is required during the formation of the hypothalamo-pituitary axis. *Nat Genet* 36:247-255
- Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, Jay P, Berta P, Scherer SW, Tsui LC, Muenke M. (1996) Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 14:357-360
- Rosenbloom AL, Almonte AS, Brown MR, Fisher DA, Baumbach L, Parks JS. (1999a) Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84:50-57

- Rosenbloom AL, Almonte AS, Brown MR, Fisher DA, Baumbach L, Parks JS. (1999b) Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84:50-57
- Rubenstein JL, Shimamura K, Martinez S, Puelles L. (1998) Regionalization of the prosencephalic neural plate. *Annu Rev Neurosci* 21:445-477
- Saadi I, Semina EV, Amendt BA, Harris DJ, Murphy KP, Murray JC, Russo AF. (2001) Identification of a dominant negative homeodomain mutation in Rieger syndrome. *J Biol Chem* 276:23034-23041
- Sadovsky Y, Crawford PA, Woodson KG, Polish JA, Clements MA, Tourtellotte LM, Simburger K, Milbrandt J. (1995) Mice deficient in the orphan receptor steroidogenic factor 1 lack adrenal glands and gonads but express P450 side-chain-cleavage enzyme in the placenta and have normal embryonic serum levels of corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:10939-10943
- Salemi S, Besson A, Eble A, Gallati S, Pfaffle RW, Mullis PE. (2003) New N-terminal located mutation (Q4ter) within the POU1F1-gene (PIT-1) causes recessive combined pituitary hormone deficiency and variable phenotype. *Growth Horm IGF Res* 13:264-268
- Savage JJ, Yaden BC, Kiratipranon P, Rhodes SJ. (2003a) Transcriptional control during mammalian anterior pituitary development. *Gene* 319:1-19
- Savage JJ, Yaden BC, Kiratipranon P, Rhodes SJ. (2003b) Transcriptional control during mammalian anterior pituitary development. *Gene* 319:1-19
- Savage JJ, Yaden BC, Kiratipranon P, Rhodes SJ. (2003c) Transcriptional control during mammalian anterior pituitary development. *Gene* 319:1-19
- Sharma K, Sheng HZ, Lettieri K, Li H, Karavanov A, Potter S, Westphal H, Pfaff SL. (1998) LIM homeodomain factors Lhx3 and Lhx4 assign subtype identities for motor neurons. *Cell* 95:817-828
- Sheng HZ, Moriyama K, Yamashita T, Li H, Potter SS, Mahon KA, Westphal H. (1997a) Multistep control of pituitary organogenesis. *Science* 278:1809-1812
- Sheng HZ, Moriyama K, Yamashita T, Li H, Potter SS, Mahon KA, Westphal H. (1997c) Multistep control of pituitary organogenesis. *Science* 278:1809-1812
- Sheng HZ, Moriyama K, Yamashita T, Li H, Potter SS, Mahon KA, Westphal H. (1997b) Multistep control of pituitary organogenesis. *Science* 278:1809-1812
- Sheng HZ, Zhadanov AB, Mosinger B, Jr., Fujii T, Bertuzzi S, Grinberg A, Lee EJ, Huang SP, Mahon KA, Westphal H. (1996b) Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene Lhx3. *Science* 272:1004-1007
- Sheng HZ, Zhadanov AB, Mosinger B, Jr., Fujii T, Bertuzzi S, Grinberg A, Lee EJ, Huang SP, Mahon KA, Westphal H. (1996e) Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene Lhx3. *Science* 272:1004-1007

Sheng HZ, Zhadanov AB, Mosinger B, Jr., Fujii T, Bertuzzi S, Grinberg A, Lee EJ, Huang SP, Mahon KA, Westphal H. (1996a) Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene Lhx3. *Science* 272:1004-1007

Sheng HZ, Zhadanov AB, Mosinger B, Jr., Fujii T, Bertuzzi S, Grinberg A, Lee EJ, Huang SP, Mahon KA, Westphal H. (1996d) Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene Lhx3. *Science* 272:1004-1007

Sheng HZ, Zhadanov AB, Mosinger B, Jr., Fujii T, Bertuzzi S, Grinberg A, Lee EJ, Huang SP, Mahon KA, Westphal H. (1996c) Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene Lhx3. *Science* 272:1004-1007

Simmons DM, Voss JW, Ingraham HA, Holloway JM, Broide RS, Rosenfeld MG, Swanson LW. (1990c) Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes Dev* 4:695-711

Simmons DM, Voss JW, Ingraham HA, Holloway JM, Broide RS, Rosenfeld MG, Swanson LW. (1990b) Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes Dev* 4:695-711

Simmons DM, Voss JW, Ingraham HA, Holloway JM, Broide RS, Rosenfeld MG, Swanson LW. (1990a) Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes Dev* 4:695-711

Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. (1990) A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346:240-244

Sloop KW, Dwyer CJ, Rhodes SJ. (2001b) An isoform-specific inhibitory domain regulates the LHX3 LIM homeodomain factor holoprotein and the production of a functional alternate translation form. *J Biol Chem* 276:36311-36319

Sloop KW, Dwyer CJ, Rhodes SJ. (2001a) An isoform-specific inhibitory domain regulates the LHX3 LIM homeodomain factor holoprotein and the production of a functional alternate translation form. *J Biol Chem* 276:36311-36319

Sloop KW, Meier BC, Bridwell JL, Parker GE, Schiller AM, Rhodes SJ. (1999a) Differential activation of pituitary hormone genes by human Lhx3 isoforms with distinct DNA binding properties. *Mol Endocrinol* 13:2212-2225

Sloop KW, Meier BC, Bridwell JL, Parker GE, Schiller AM, Rhodes SJ. (1999b) Differential activation of pituitary hormone genes by human Lhx3 isoforms with distinct DNA binding properties. *Mol Endocrinol* 13:2212-2225

Sloop KW, Parker GE, Hanna KR, Wright HA, Rhodes SJ. (2001c) LHX3 transcription factor mutations associated with combined pituitary hormone deficiency impair the activation of pituitary target genes. *Gene* 265:61-69

Sloop KW, Showalter AD, Kap-Herr C, Pettenati MJ, Rhodes SJ. (2000) Analysis of the human LHX3 neuroendocrine transcription factor gene and mapping to the subtelomeric region of chromosome 9. *Gene* 245:237-243

Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gleiberman AS, Andersen B, Beamer WG, Rosenfeld MG. (1996b) Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 384:327-333

Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gleiberman AS, Andersen B, Beamer WG, Rosenfeld MG. (1996a) Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 384:327-333

Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gleiberman AS, Andersen B, Beamer WG, Rosenfeld MG. (1996d) Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 384:327-333

Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gleiberman AS, Andersen B, Beamer WG, Rosenfeld MG. (1996c) Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 384:327-333

Spieler D, Baumer N, Stebler J, Kopranner M, Reichman-Fried M, Teichmann U, Raz E, Kessel M, Wittler L. (2004) Involvement of Pax6 and Otx2 in the forebrain-specific regulation of the vertebrate homeobox gene ANF/Hesx1. *Dev Biol* 269:567-579

Steinfelder HJ, Hauser P, Nakayama Y, Radovick S, McClaskey JH, Taylor T, Weintraub BD, Wondisford FE. (1991) Thyrotropin-releasing hormone regulation of human TSHB expression: role of a pituitary-specific transcription factor (Pit-1/GHF-1) and potential interaction with a thyroid hormone-inhibitory element. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:3130-3134

Suh H, Gage PJ, Drouin J, Camper SA. (2002a) Pitx2 is required at multiple stages of pituitary organogenesis: pituitary primordium formation and cell specification. *Development* 129:329-337

Suh H, Gage PJ, Drouin J, Camper SA. (2002b) Pitx2 is required at multiple stages of pituitary organogenesis: pituitary primordium formation and cell specification. *Development* 129:329-337

Suszko MI, Lo DJ, Suh H, Camper SA, Woodruff TK. (2003) Regulation of the rat follicle-stimulating hormone beta-subunit promoter by activin. *Mol Endocrinol* 17:318-332

Szeto DP, Rodriguez-Esteban C, Ryan AK, O'Connell SM, Liu F, Kiousi C, Gleiberman AS, Izpisua-Belmonte JC, Rosenfeld MG. (1999) Role of the Bicoid-related homeodomain factor Pitx1 in specifying hindlimb morphogenesis and pituitary development. *Genes Dev* 13:484-494

Szeto DP, Ryan AK, O'Connell SM, Rosenfeld MG. (1996b) P-OTX: a PIT-1-interacting homeodomain factor expressed during anterior pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:7706-7710

Szeto DP, Ryan AK, O'Connell SM, Rosenfeld MG. (1996a) P-OTX: a PIT-1-interacting homeodomain factor expressed during anterior pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:7706-7710

- Takamura N, Fofanova OV, Kinoshita E, Yamashita S. (1999) Gene analysis of PROP1 in dwarfism with combined pituitary hormone deficiency. *Growth Horm IGF Res* 9 Suppl B:12-17
- Takuma N, Sheng HZ, Furuta Y, Ward JM, Sharma K, Hogan BL, Pfaff SL, Westphal H, Kimura S, Mahon KA. (1998a) Formation of Rathke's pouch requires dual induction from the diencephalon. *Development* 125:4835-4840
- Takuma N, Sheng HZ, Furuta Y, Ward JM, Sharma K, Hogan BL, Pfaff SL, Westphal H, Kimura S, Mahon KA. (1998c) Formation of Rathke's pouch requires dual induction from the diencephalon. *Development* 125:4835-4840
- Takuma N, Sheng HZ, Furuta Y, Ward JM, Sharma K, Hogan BL, Pfaff SL, Westphal H, Kimura S, Mahon KA. (1998b) Formation of Rathke's pouch requires dual induction from the diencephalon. *Development* 125:4835-4840
- Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, Kohno H. (1992a) Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. *Nat Genet* 1:56-58
- Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, Kohno H. (1992b) Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. *Nat Genet* 1:56-58
- Teinturier C, Vallette S, Adamsbaum C, Bendaoud M, Brue T, Bougneres PF. (2002) Pseudotumor of the pituitary due to PROP-1 deletion. *J Pediatr Endocrinol Metab* 15:95-101
- Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson IC, Beddington RS. (2001a) Heterozygous HESX1 mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. *Hum Mol Genet* 10:39-45
- Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson IC, Beddington RS. (2001b) Heterozygous HESX1 mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. *Hum Mol Genet* 10:39-45
- Thorner MO, Vance ML, Horvath E, Kovacs K. The Anterior Pituitary. In: Wilson JD, Foster DW (Hrsg). *Textbook of Endocrinology*, W.B. Saunders, Philadelphia, S 201-310
- Treier M, Gleiberman AS, O'Connell SM, Szeto DP, McMahan JA, McMahan AP, Rosenfeld MG. (1998a) Multistep signaling requirements for pituitary organogenesis in vivo. *Genes Dev* 12:1691-1704
- Treier M, Gleiberman AS, O'Connell SM, Szeto DP, McMahan JA, McMahan AP, Rosenfeld MG. (1998b) Multistep signaling requirements for pituitary organogenesis in vivo. *Genes Dev* 12:1691-1704
- Treier M, O'Connell S, Gleiberman A, Price J, Szeto DP, Burgess R, Chuang PT, McMahan AP, Rosenfeld MG. (2001c) Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* 128:377-386
- Treier M, O'Connell S, Gleiberman A, Price J, Szeto DP, Burgess R, Chuang PT, McMahan AP, Rosenfeld MG. (2001a) Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* 128:377-386

Treier M, O'Connell S, Gleiberman A, Price J, Szeto DP, Burgess R, Chuang PT, McMahon AP, Rosenfeld MG. (2001b) Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* 128:377-386

Treier M, Rosenfeld MG. (1996) The hypothalamic-pituitary axis: co-development of two organs. *Curr Opin Cell Biol* 8:833-843

Tremblay JJ, Lanctot C, Drouin J. (1998) The pan-pituitary activator of transcription, Ptx1 (pituitary homeobox 1), acts in synergy with SF-1 and Pit1 and is an upstream regulator of the Lim-homeodomain gene Lim3/Lhx3. *Mol Endocrinol* 12:428-441

Turton JPG, Woods KS, Cundall M, Palmer R, Al-Zyoud M, Al-Ali M, Otonkoski T, Woodward K, Dattani MT. (2004) Abstracts of the Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE). Basel, Switzerland, September 10-13, 2004. *Horm Res* 62 Suppl 2:1-215

Valette-Kasic S, Barlier A, Teinturier C, Diaz A, Manavela M, Berthezene F, Bouchard P, Chaussain JL, Brauner R, Pellegrini-Bouiller I, Jaquet P, Enjalbert A, Brue T. (2001a) PROP1 gene screening in patients with multiple pituitary hormone deficiency reveals two sites of hypermutability and a high incidence of corticotroph deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4529-4535

Valette-Kasic S, Pellegrini-Bouiller I, Sampieri F, Gunz G, Diaz A, Radovick S, Enjalbert A, Brue T. (2001b) Combined pituitary hormone deficiency due to the F135C human Pit-1 (pituitary-specific factor 1) gene mutation: functional and structural correlates. *Mol Endocrinol* 15:411-420

Voutetakis A, Argyropoulou M, Sertedaki A, Livadas S, Xekouki P, Maniati-Christidi M, Bossis I, Thalassinos N, Patronas N, Dacou-Voutetakis C. (2004a) Pituitary magnetic resonance imaging in 15 patients with Prop1 gene mutations: pituitary enlargement may originate from the intermediate lobe. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2200-2206

Voutetakis A, Argyropoulou M, Sertedaki A, Livadas S, Xekouki P, Maniati-Christidi M, Bossis I, Thalassinos N, Patronas N, Dacou-Voutetakis C. (2004b) Pituitary magnetic resonance imaging in 15 patients with Prop1 gene mutations: pituitary enlargement may originate from the intermediate lobe. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2200-2206

Voutetakis A, Maniati-Christidi M, Kanaka-Gantenbein C, Dracopoulou M, Argyropoulou M, Livadas S, Dacou-Voutetakis C, Sertedaki A. (2004c) Prolonged jaundice and hypothyroidism as the presenting symptoms in a neonate with a novel Prop1 gene mutation (Q83X). *Eur J Endocrinol* 150:257-264

Wallis DE, Roessler E, Hehr U, Nanni L, Wiltshire T, Richieri-Costa A, Gillessen-Kaesbach G, Zackai EH, Rommens J, Muenke M. (1999a) Mutations in the homeodomain of the human SIX3 gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 22:196-198

Wallis DE, Roessler E, Hehr U, Nanni L, Wiltshire T, Richieri-Costa A, Gillessen-Kaesbach G, Zackai EH, Rommens J, Muenke M. (1999b) Mutations in the homeodomain of the human SIX3 gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 22:196-198

Watanabe YG. (1982) Effects of brain and mesenchyme upon the cytotogenesis of rat adenohypophysis in vitro. I. Differentiation of adrenocorticotropes. *Cell Tissue Res* 227:257-266

- Watkins-Chow DE, Camper SA. (1998) How many homeobox genes does it take to make a pituitary gland? *Trends Genet* 14:284-290
- Weiss J, Meeks JJ, Hurley L, Raverot G, Frassetto A, Jameson JL. (2003) Sox3 is required for gonadal function, but not sex determination, in males and females. *Mol Cell Biol* 23:8084-8091
- West BE, Parker GE, Savage JJ, Kiratipranon P, Toomey KS, Beach LR, Colvin SC, Sloop KW, Rhodes SJ. (2004) Regulation of the Follicle-Stimulating Hormone Beta Gene by the LHX3 LIM-Homeodomain Transcription Factor. *Endocrinology*
- Wilson D, Sheng G, Lecuit T, Dostatni N, Desplan C. (1993) Cooperative dimerization of paired class homeo domains on DNA. *Genes Dev* 7:2120-34
- Wilson DS, Guenther B, Desplan C, Kuriyan J. (1995) High resolution crystal structure of a paired (Pax) class cooperative homeodomain dimer on DNA. *Cell* 82:709-19
- Wood HB, Episkopou V. (1999) Comparative expression of the mouse Sox1, Sox2 and Sox3 genes from pre-gastrulation to early somite stages. *Mechanisms of Development* 86:197-201
- Wu W, Cogan JD, Pfaffle RW, Dasen JS, Frisch H, O'Connell SM, Flynn SE, Brown MR, Mullis PE, Parks JS, Phillips JA, III, Rosenfeld MG. (1998) Mutations in PROP1 cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet* 18:147-149
- Yamashita T, Moriyama K, Sheng HZ, Westphal H. (1997) Lhx4, a LIM homeobox gene. *Genomics* 44:144-146
- Zhadanov AB, Bertuzzi S, Taira M, Dawid IB, Westphal H. (1995a) Expression pattern of the murine LIM class homeobox gene Lhx3 in subsets of neural and neuroendocrine tissues. *Dev Dyn* 202:354-364
- Zhadanov AB, Bertuzzi S, Taira M, Dawid IB, Westphal H. (1995b) Expression pattern of the murine LIM class homeobox gene Lhx3 in subsets of neural and neuroendocrine tissues. *Dev Dyn* 202:354-364
- Zhadanov AB, Bertuzzi S, Taira M, Dawid IB, Westphal H. (1995c) Expression pattern of the murine LIM class homeobox gene Lhx3 in subsets of neural and neuroendocrine tissues. *Dev Dyn* 202:354-364