

Fibromatose der Schilddrüsenregion

Eine elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Studie

Bernhard Schwarzmüller und Ferdinand Hofstädter

Pathologisches Institut der Universität Innsbruck (Vorstand: Prof. Dr. A. Propst)
Müllerstr. 44, 1, A-6020 Innsbruck, Austria

Fibromatosis of the Thyroid Gland Region

An Electron-Microscopic and Enzyme-Histochemical Study

Summary. Two cases of aggressive fibromatosis of the thyroid gland region were studied by histological, immunohistological and electron-microscopic methods. Contractile cells can be found in all tissue preparations using human serum containing antibodies to smooth muscle, especially in the periphery of the tumor. These cells have the characteristics of myofibroblasts by electron microscopy. The central areas of the tumor are composed of hyalin thickened bundles of collagen fibres with few cellular elements. The myofibroblast is thus considered to be the characteristic cell type of the tumor, and the pathogenesis and histogenesis of the lesion are discussed.

Key words: Aggressive Fibromatosis – Myofibroblast – Immunoperoxidase Method – Electron Microscopy.

Zusammenfassung. Zwei Fälle von aggressiver Fibromatose der Schilddrüsenregion werden mit histologischen, immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Methoden untersucht. Mit Hilfe von menschlichem Serum gegen glatte Muskulatur können kontraktile Zellen in sämtlichen Präparaten, vornehmlich aber in den Randbezirken der Wucherung nachgewiesen werden. Elektronenoptisch werden alle diese Zellen als Myofibroblasten identifiziert. Die zentralen Bezirke der Wucherung zeigen hyalin verdickte und gequollene Kollagenfaserbündel mit nur wenigen zellulären Elementen. Somit wird der Myofibroblast als der für die Wucherung charakteristische Zelltyp erkannt. Die sich daraus für Pathogenese und Histogenese ergebenden Schlüsse werden diskutiert.

Einleitung

Der Begriff Fibromatose wird von Mackenzie (1972) definiert als infiltrativ wachsende Proliferation von Fibroblasten. Die häufigste Form ist die aggressive Fibromatose. Die sehr vielfältige Nomenklatur für dieses Krankheitsbild (Des-

moid bzw. extraabdominelles Desmoid, muskuloaponeurotische Fibromatose, fibrosarcoma grade I) weist darauf hin, daß über Histogenese, Pathogenese und Dignität dieser Wucherung noch große Unklarheit herrscht. Wir haben zwei Fälle von aggressiver Fibromatose der Schilddrüsenregion mit histologischen, immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Methoden untersucht.

Material und Methode

Fall 1. 34jährige Frau. In der Kindheit Verletzung am Hals (Stacheldraht). Im Alter von 29 Jahren Strumaresektion wegen Verdacht auf Struma maligna. Histologische Diagnose: Aggressive Fibromatose. Rezidivoperationen zwei bzw. vier Jahre nach der Erstoperation. Histologisch in den Rezidiven keine Hinweise auf maligne Entartung.

Fall 2. 68jährige Frau mit langjähriger Kropfanamnese. Strumaresektion wegen eines derben kalten Knoten. Aggressive Fibromatose.

Lichtmikroskopie

Formolfixierung, Paraffineinbettung, Färbungen: HE, van Gieson, PAS-Reaktion, Azai.

Immunhistochemie

Immunperoxydasereaktion (modifiziert nach Nakane und Pierce, 1967): Formolfixierung, Paraffineinbettung (Vorversuche an Schnitten von formolfixierten Myomen ergaben keine Verminderung der antigenen Reaktionsbereitschaft der nachzuweisenden Substanz nach Fixierung bis zu einer Dauer von 12 h).

Inkubation mit Serum gegen glatte Muskulatur von Patienten mit chronisch-aggressiver Hepatitis (Paronetto und Popper, 1976). Titerbestimmung an Mägen von Mäusen mit der Immunfluoreszenzmethode: positive Reaktion bis zu einer Verdünnung von 1:256.

Inkubation 30 min, 20 °C, Verdünnung in PBS (Pphosphat Buffered Saline) pH 7.2 1:16 und 1:32.

Spülen mit PBS pH 7.2.

Inkubation mit peroxydase-markiertem Antihuman IgG, IgA, IgM-Immunglobulin vom Kaninchen (Fa. Medac, Hamburg, Nr. P 1009), 20 min, 20 °C, Verdünnung in PBS pH 7.2.

Spülen mit PBS pH 7.2.

Peroxydasereaktion nach Graham und Karnovsky (1966).

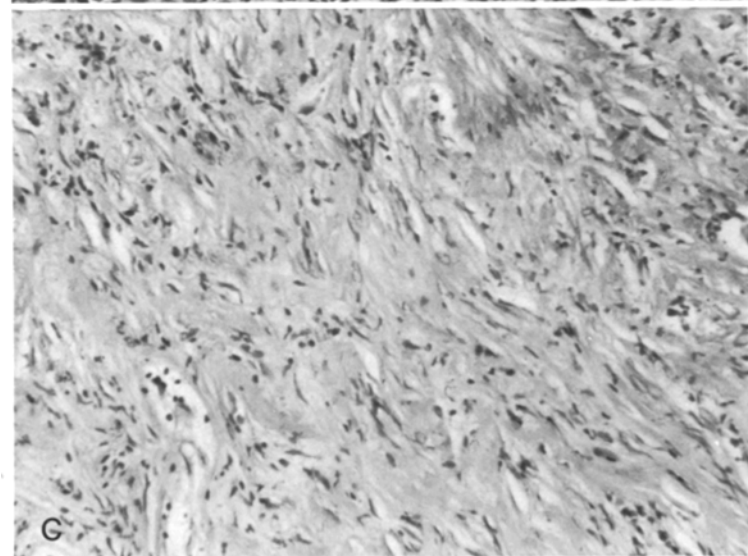
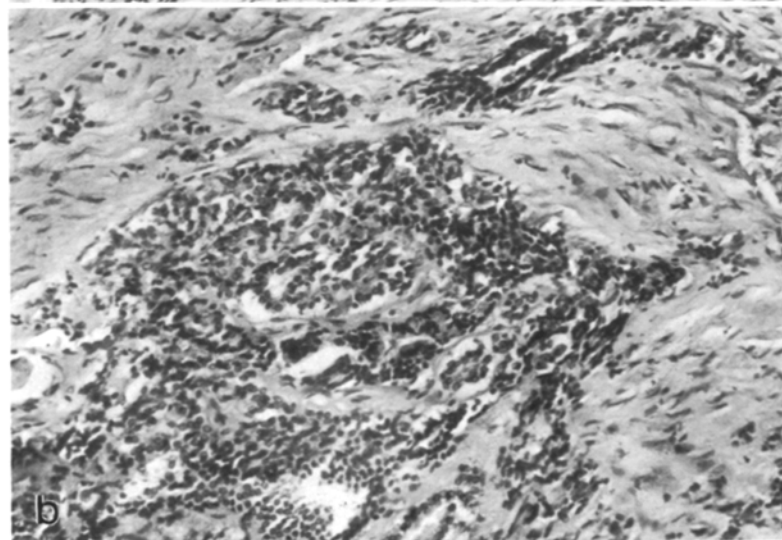
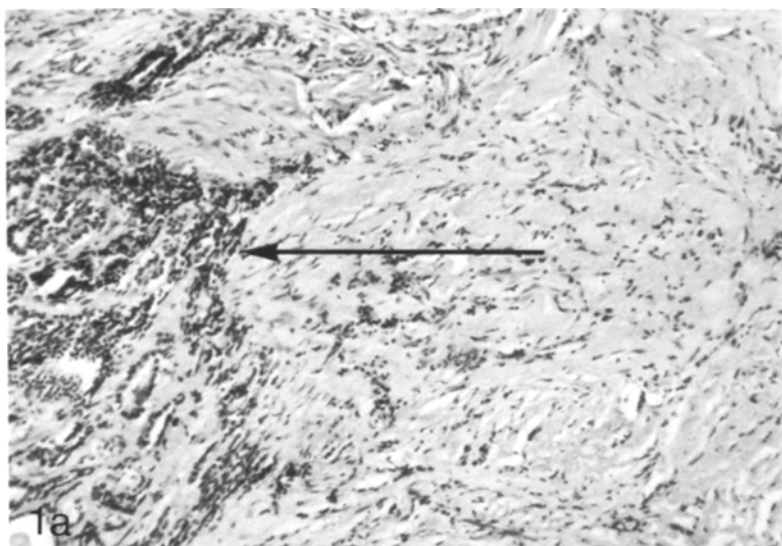
Kontrollen. 1) Inkubation mit peroxydase-markiertem anti-Human IgG, IgA, IgM-Immunglobulin mit anschließender Peroxydasereaktion.

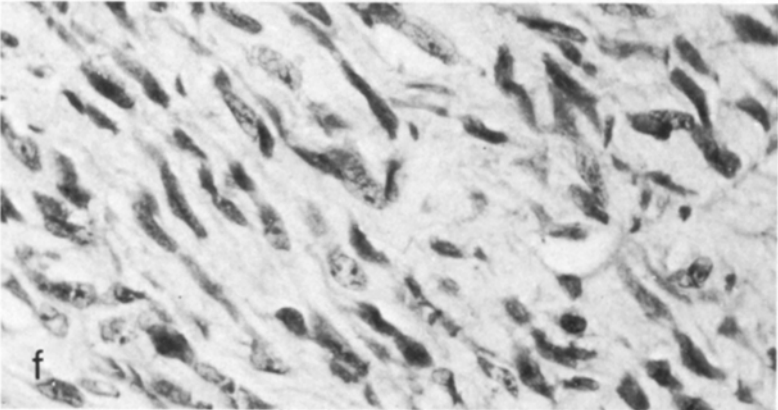
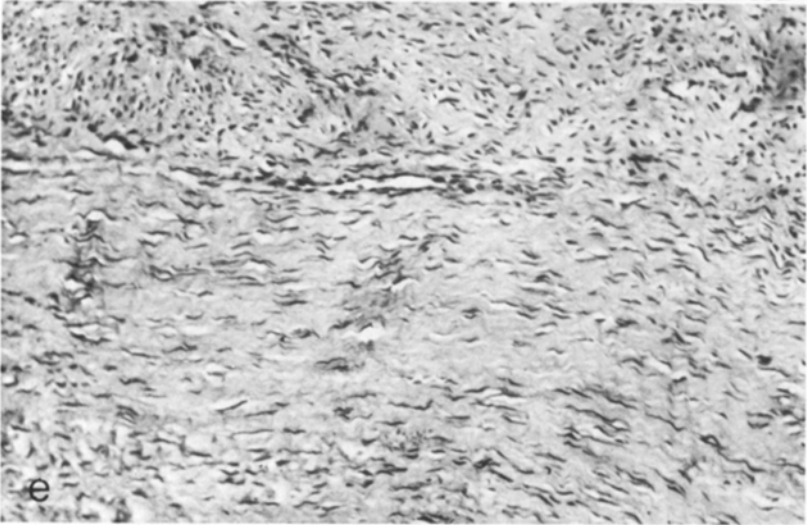
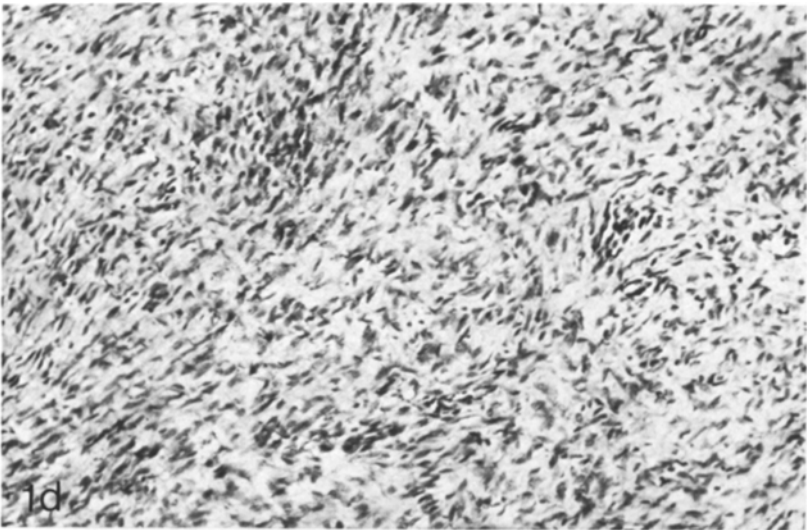
2) Peroxydasereaktion allein.

3) Reaktion mit menschlichen Leber-, Nieren-, und Schilddrüsenpräparaten.

4) Reaktion mit Skelettmuskulatur, Magen- und Dickdarmwand, Herzmuskel und Uterusmyomen.

Abb. 1a–f. Histologie. **a** Infiltratives Wachstum der Fibromatose in der Schilddrüse. Der Pfeil markiert von der Wucherung umschlossenes, komprimiertes Schilddrüsenparenchym. Formalin, Paraffin, PAS. Obj. Vergr. 10×. Fall Nr. 2 (EN 10271/76). **b** Detail aus Abbildung 1a: Einzelne Follikel in den Kollagenfasern der Wucherung eingeschlossen. Obj. Vergr. 40×. Fall Nr. 2 (EN 10271/76). **c** Zentraler Abschnitt der Fibromatose mit langen schmalen Kernen und großem Faserreichtum. Obj. Vergr. 40×. Fall Nr. 2 (EN 10271/76). **d** Kernreiche Formationen an der Peripherie der Fibromatose. Formalin. Paraffin. HE. Obj. Vergr. 40×. Fall Nr. 1 (EN 1929/76). **e** Faserreiche, kernarme zentrale Abschnitte. Obj. Vergr. 40×. Fall Nr. 1 (EN 1929/76). **f** Große fibroblastenähnliche Kerne mit deutlichen Nucleolen. Kerne vielfach fein septiert. Obj. Vergr. 100×. Fall Nr. 1 (EN 1929/76).





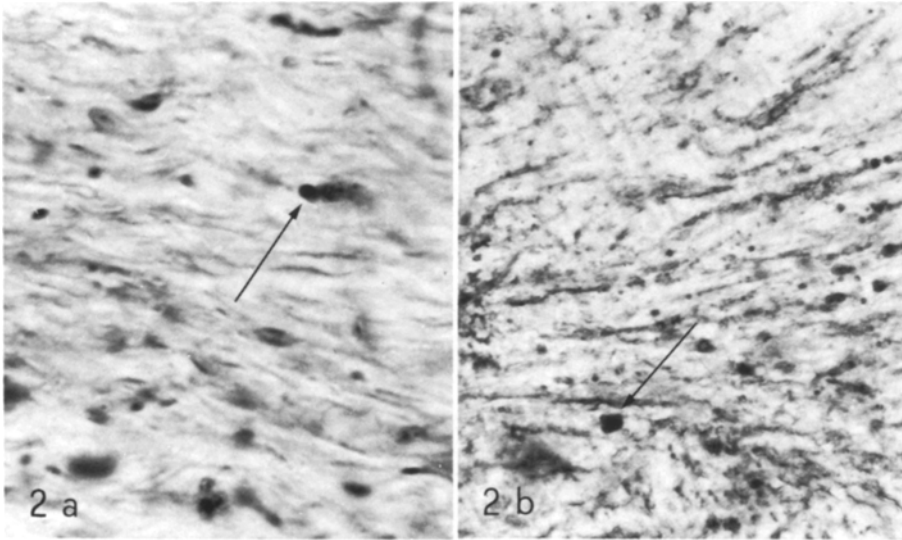


Abb. 2a u. b. Immunhistochemie. **a** Zentraler Anteil der Wucherung. Einzelne zarte, manchmal wellige, braunschwarze Niederschläge. Pfeile markieren die Reaktion ortsständiger Peroxydase und unspezifische Färbungen. Formalin. Paraffin. Immunperoxydase- (Zwei-Schichten-) Methode. Obj. Vergr. 40 \times . Fall Nr. 1. **b** Peripherer (zellreicher) Abschnitt der Fibromatose. Zahlreiche kräftige, wellige braunschwarze Niederschläge. Formalin. Paraffin. Immunperoxydase-(Zwei-Schichten-) Methode. Obj. Vergr. 40 \times . Fall Nr. 2

5) Inkubation mit an Myomhomogenisaten absorbiertem Serum.

Inkubation mit peroxydase-markiertem anti-Human IgG, IgA, IgM-Immunglobulin und folgender Peroxydasereaktion (Kontrolle 1) ergab undeutliche Anfärbung des Inhalts der Gefäßlumina sowie von Erythrocyten und Leukocyten. Peroxydasereaktion allein (Kontrolle 2) zeigte nur eine Reaktion von Leukocyten und Erythrocyten sowie des Kolloids in den Schilddrüsenfollikeln. Durchgeführte Untersuchungen an menschlichen Leber-, Nieren-, und Schilddrüsenpräparaten ließen bei den gewählten Verdünnungen der Seren den Ausschluß der Reaktion weiterer Antikörper zu. Die Inkubation von verschiedenen Muskulatur enthaltenden Präparaten (Kontrolle 4) zeigte nur bei glatter Muskulatur eine positive Reaktion. An Myomhomogenisaten absorbiertes Serum reagierte nicht (Kontrolle 5).

Somit erscheint die Erhaltung der Antigenität und die Spezifität der Reaktion ausreichend gesichert und ein Vergleich der immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Befunde ermöglicht.

Elektronenmikroskopie

Formolfixierung, Durcupaneinbettung.

OTO-Kontrastierung (Seligman et al., 1966).

Durch die Formolfixierung traten unterschiedliche Schäden der zellulären Membranen auf; die anderen Zellbestandteile sind gut beurteilbar.

Ergebnisse

Makroskopisch imponierten in sämtlichen Präparaten unscharf begrenzte, faserige, äußerst derbe, glänzend grauweiße Bezirke. Die Hauptmasse der Verände-

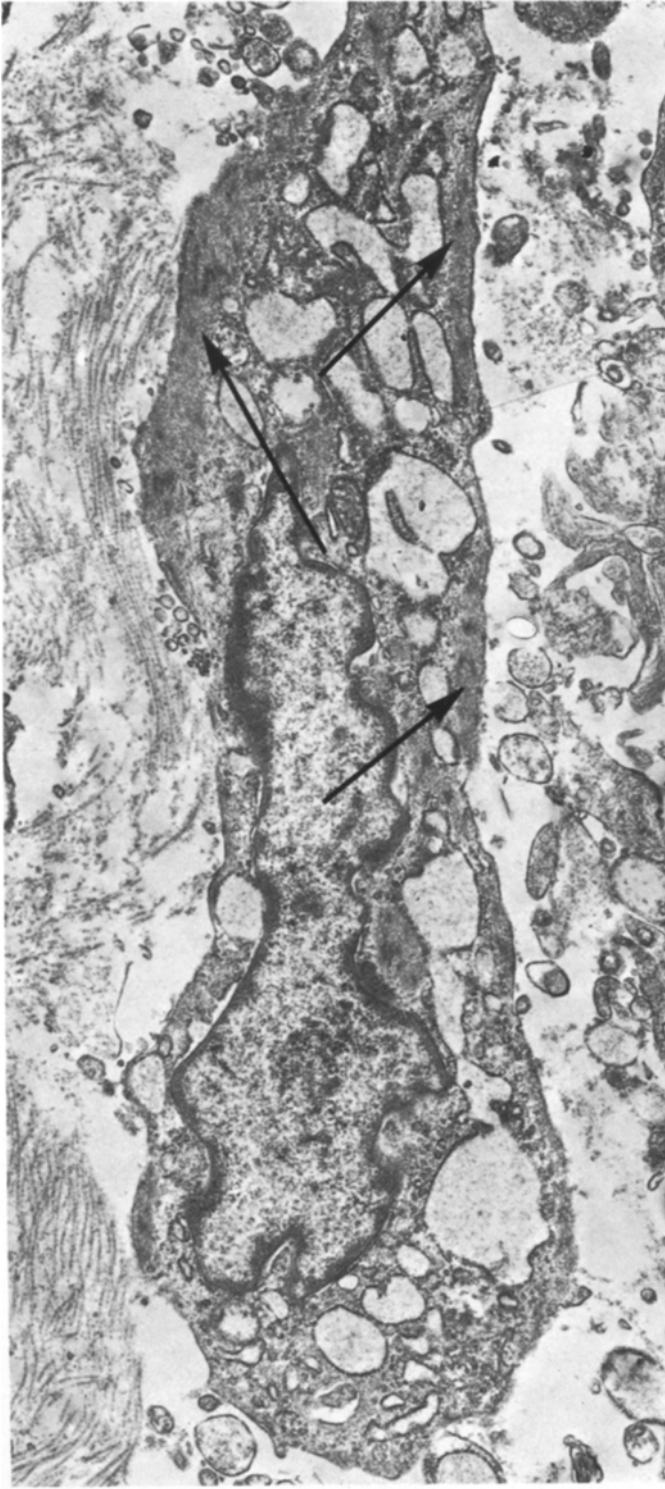


Abb. 3a u. b. Elektronenmikroskopie. **a** Myofibroblast mit eingedelltem Kern. Im Cytoplasma neben reichlich entwickelten Cisternen des endoplasmatischen Reticulum parallel zur Längsachse der Zelle verlaufende Bündel von Mikrofilamenten mit rhythmischen opaken Verdichtungsstellen (Pfeile). Extracellulär reichlich Kollagen. Formalin. Durcupan. OTO-Kontrastierung. Elektronenmikroskopische Vergrößerung $\times 4600$. Fall Nr. 2. **b** Mikrofilamente mit opaken Verdichtungsstellen (*Pfeile*). Rechts unten der angeschnittene Kern. Formalin. Durcupan. OTO-Kontrastierung. Elektronenmikroskopische Vergrößerung $\times 28000$. Fall Nr. 1

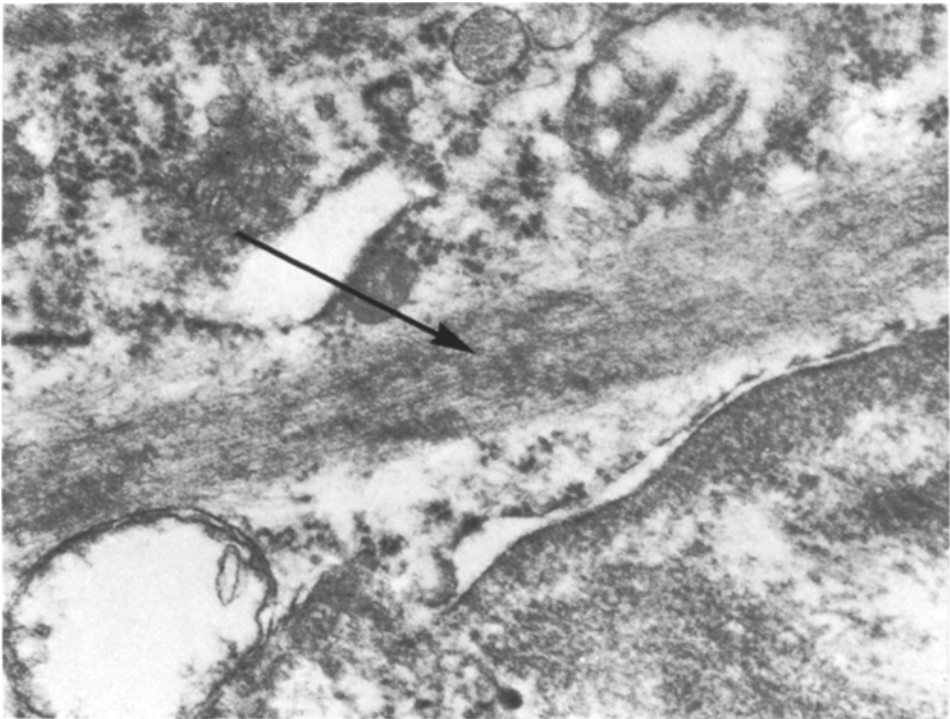


Fig. 3b

rung betraf in beiden Fällen zweifellos die Schilddrüse. Es konnte jedoch bereits makroskopisch ein Übergreifen auf die benachbarten Regionen (Lymphknoten, Halsmuskulatur, Speicheldrüsen) festgestellt werden. Trachea, Ösophagus und große Halsgefäße waren aus der Sicht des Operateurs nicht betroffen. In einem Präparat von Fall Nr. 1 (stammend von der ersten Rezidivoperation) wurde ein 5 mm langer und 0,5 mm breiter Metallsplitter gefunden, der sich in der chemischen Analyse als Eisen erwies.¹

Histologisch (Abb. 1) fand sich eine kompakte Wucherung aus dicken Kollagenfaserbündeln. Im Zentrum waren die Faserbündel hyalin verdickt und gequollen, die Kerne schlank und gering an der Zahl (Abb. 1c und e). In den peripheren Abschnitten zeigte sich ein infiltratives Wachstum sowohl in angrenzende Schilddrüsenanteile (Abb. 1a) als auch in Muskulatur, Fettgewebe, Lymphknoten und Speicheldrüsen. Dort war die Faserstruktur lockerer mit vielfachen Durchflechtungen und Kreuzungen der Bänder; die Kerne waren rhomboid bis oval, mit deutlichen Nucleolen, insgesamt zahlreicher (Abb. 1a, b und d). Die Kernpolymorphie war gering, Mitosen wurden nur wenige gezählt, sie zeigten keine Abweichungen vom normalen Bild. In den erhaltenen Arealen der Schilddrüse fand sich kein Anhalt für vorausgegangene oder bestehende Thyreoiditis, insbesondere für Thyreoiditis Riedel. In den Präparaten von Fall Nr. 2 fanden sich

¹ Wir danken dem Institut für Medizinische Chemie der Universität Innsbruck (damaliger supplie-render Leiter: Prof. Dr. H. Wachter)

mehrere mikro- und makrofollikulär gebaute, weitgehend regressiv abgeänderte Adenomknoten. Die Fibromatose war hier unilateral entwickelt.

Mit der Immunperoxydasereaktion (Abb. 2) konnten wir vorwiegend in den peripheren Abschnitten kontraktile Substanzen durch feinkörnige Niederschläge im Cytoplasma der proliferierenden Zellen nachweisen.

Elektronenmikroskopisch (Abb. 3) fanden wir dichte Bündel von Kollagenfasern mit typischer Struktur. Dazwischen wenige Gefäße und Entzündungszellen, normale Fibrocyten und Fibroblasten. Daneben in allen untersuchten Arealen, vorzüglich aber in den Proben aus den lockeren Randbezirken Zellen mit deutlichen Nukleolen. Im Cytoplasma dieser Zellen fand sich eine auffallend reichliche Ausbildung des endoplasmatischen Reticulum, manchmal in Reihen und Bändern geordnet. Außerdem fanden wir im Cytoplasma meist parallel zur Längsachse der Zellen gelegene Bündel von Mikrofilamenten (Durchmesser ca. 70 Å), die mehrfach rhythmische Verdichtungszone aufwiesen. Diese Filamente standen oft mit Kerneinschnürungen bzw. mit der Zellmembran in Beziehung. Somit wiesen diese Zellen Charakteristika sowohl von glatten Muskelzellen als auch von Fibroblasten auf und wurden von uns im Einklang mit den Befunden von Ryan et al. (1973) und Feiner und Kaye (1976) als Myofibroblasten klassifiziert.

Diskussion

Die Aggressive Fibromatose wird zur großen Gruppe der Fibromatose gerechnet (Mackenzie, 1972). Dazu zählen weiter Keloid, noduläre Faszitis, Bestrahlungsfibrose, palmare und plantare Fibromatose, kongenitale generalisierte Fibromatose etc. Es besteht nach den Angaben der Literatur (Stout und Lattes, 1967; Mackenzie, 1972) keine Veranlassung zur Trennung der aggressiven Fibromatose von Desmoid (bzw. extraabdominellem Desmoid) und muskuloaponeurotischer Fibromatose. Sie sind histologisch nicht klar voneinander zu unterscheiden und bieten einen gleichartigen klinischen Verlauf. Auch die manchmal verwendete Bezeichnung Fibrosarkom Grad I (Anderson, 1971) erscheint uns auf Grund des morphologischen Aussehens und des klinischen Verhaltens nicht gerechtfertigt. Auch zellreichere Abschnitte lassen in unserem Material durchaus eine Abgrenzung gegen ein Fibrosarkom auch höheren Differenzierungsgrades zu.

Als häufigste extraabdominelle Lokalisation der aggressiven Fibromatose werden der Becken- und Schultergürtel angegeben (Enzinger und Shiraki, 1967). Von Masson und Soule (1966) werden sechs Fälle in der vorderen Halsregion beschrieben, wovon einmal eine anatomische Beziehung zur Schilddrüse besteht. Auffallend ist die Angabe von Enzinger und Shiraki (1967), daß in 19 von 30 Fällen ein Trauma in der Anamnese vorliege. Im Gegensatz dazu konnten Conley et al. (1966) nur in einem von 40 Fällen ein adäquates Trauma erheben.

In der Literatur liegen keine einheitlichen Angaben über die Histogenese der Wucherung vor. Nach Conley et al. (1966) können Schwann'sche Zellen, Histiocyten, mesotheliale Zellen, Lipoblasten, Rhabdomyoblasten und Synovioblasten funktionell als Fibroblasten auftreten.

Auch in unseren Fällen ist makroskopisch und histologisch kein endgültiges Urteil über den tatsächlichen Ausgangspunkt möglich, obwohl in beiden Fällen eine enge topographische Beziehung zur Schilddrüse besteht.

Nach den experimentellen Untersuchungen von Ryan et al. (1973) liegt es nahe, daß Myofibroblasten, wie wir sie in unseren Fällen elektronenoptisch und immunhistochemisch in allen Geschwulstzonen fanden, von monucleären Zellen abstammen können. Vielfach wurden Myofibroblasten in Granulationsgewebe nachgewiesen (Gabbiani und Majno, 1972; Montadon et al., 1973). Beim Morbus Dupuytren konnten Gabbiani und Majno (1972) Myofibroblasten elektronenmikroskopisch nachweisen und schlossen auf eine Rolle dieser kontraktile Zellen bei der Pathogenese der Kontraktur. Meister et al. (1976) und Gokel et al. (1976) konnten diese Ergebnisse bestätigen und durch Untersuchung des Vorkommens der Myofibroblasten während der drei Stadien des Morbus Dupuytren vertiefen. In unserem Material würden demnach die zellreichen, peripheren invasiven Anteile der Fibromatose den Stadien I bzw. II des Morbus Dupuytren entsprechen (Proliferations- bzw. Involutionsstadium), die zentralen, faserreichen Bezirke ähneln dem Bild bei Stadium III (zellarme Residualphase). Im Einklang mit dieser Vorstellung beobachteten Meister et al. (1973) eine Abnahme der Zellzahl mit Verquellung der Fasern nach Jahren bei einem Fall von rezidivierender Fibromatose.

Das in der Anamnese angegebene Trauma in unserem Fall Nr. 1 deutet auf die Möglichkeit einer traumatisch induzierten Pathogenese der Fibromatose hin. Die Schilddrüse stellt offensichtlich einen Prädispositionsort für das Entstehen fibromatöser Proliferationen dar. Wir verweisen auf die fibröse Thyreoiditis Riedel, die nach Woolner et al. (1957) durch die entzündliche Komponente leicht von der Fibromatose abgrenzbar ist. Diese fehlt in unseren Fällen. Die Ausbreitungsart der Wucherung in unseren Fällen mit Befall der oberflächlichen Halsregionen (Muskulatur, Speicheldrüsen, Lymphknoten) unterscheidet sich von dem für fibröse Thyreoiditis typischen Bild der Verwachsung des Tumors mit den tiefen Halsgefäßen, Trachea und Ösophagus (Riedel, 1896). Die bei dieser Erkrankung beschriebenen Gefäßveränderungen (Hardmeier und Hedinger, 1964; Bogomoletz, 1966) fehlen in unseren Fällen. Das von uns beobachtete Übergreifen der Fibromatose auf Lymphknoten und Speicheldrüsen ist in der uns zugänglichen Literatur noch nicht beschrieben.

Auch im biologischen Verhalten unterscheidet sich die Fibromatose, wie in unserem Fall Nr. 1 dokumentiert, von der fibrösen Thyreoiditis Riedel durch ihre hartnäckige Rezidivneigung.

Als weitere fibromatöse Proliferation der Schilddrüsenregion ist die Stimulation von unüblichen Stromareaktionen mit exzessiver Proliferation von Fasergerewebe bei Schilddrüsenkarzinomen bekannt (Meissner und Warren, 1969).

Als der charakteristische Zelltyp der aggressiven Fibromatose ist nach unseren elektronenoptischen und immunhistochemischen Befunden der Myofibroblast anzusehen. Bei anderen Erkrankungsformen aus der Gruppe der Fibromatosen konnte der gleiche Befund erhoben werden, so von Wirman (1976) bei der nodulären Faszitis und von Feiner und Kaye (1976) bei einer umschriebenen posttraumatischen Fibromatose des Rückens.

An der kontraktile Natur besteht aufgrund der Reaktion mit Serum gegen glatte Muskulatur und des charakteristischen ultrastrukturellen Bildes kein Zweifel. Montadon et al. (1973) konnten mittels Serum gegen glatte Muskulatur (ebenfalls von Patienten mit chronischer Hepatitis stammend) mit der Immunfluoreszenzmethode ähnliche Resultate erzielen. Auch durch in-vitro-Tests der Kontraktilität (Ryan et al., 1973) und durch Bildung charakteristischer „Speer-spitzen-Komplexe“ mit schwerem Meromyosin (Ishikawa et al., 1969) wurde die kontraktile Potenz der beschriebenen Mikrofilamente bewiesen. Eine endgültige Abklärung der Herkunft dieses Zelltyps im Falle der aggressiven Fibromatose ist nach Conley et al. (1966) nur durch Untersuchungen in Gewebekultur möglich. Dies und gleichermaßen die Abklärung verwandter fibromatöser Veränderungen der Schilddrüse (fibröse Thyreoiditis Riedel, echtes Fibrosarkom und fibröse Stromreaktion bei Schilddrüsenkarzinomen) soll Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Wir danken Frau Ursula Matthes und Frau Margarethe Schennach für ihre hervorragende Mitarbeit.

Literatur

- Anderson, W.A.D.: Pathology. St. Louis: Mosby 1971
- Bogomoletz, W.: Aspects vasculaires de la thyroïdite de Riedel. *Frankf. Z. Path.* **75**, 237–242 (1966)
- Conley, J., Healey, W.V., Stout, A.P.: Fibromatosis of the head and neck. *Am. J. Surg.* **112**, 609–614 (1966)
- Enzinger, F.M., Shiraki, M.: Musculoaponeurotic fibromatosis of the shoulder girdle (extra-abdominal desmoid). *Cancer* **20**, 1131–1140 (1967)
- Feiner, H., Kaye, G.I.: Ultrastructural evidence of Myofibroblasts in circumscribed fibromatosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **100**, 265–268 (1976)
- Gabbiani, G., Majno, G.: Dupuytren's Contracture: Fibroblast Contraction? *Am. J. Pathol.* **66**, 131–146 (1972)
- Gokel, J.M., Huebner, G., Meister, P., Remberger, K.: Zur formalen Pathogenese des Morbus Dupuytren. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **60**, 474 (1976)
- Graham, R.C., Karnovsky, M.J.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 291–302 (1966)
- Hardmeier, Th., Hedinger, Chr.: Die eisenharte Struma Riedel – eine primäre Gefäßerkrankung? *Virchows Arch. path. Anat.* **337**, 547–554 (1964)
- Ishikawa, M., Bischoff, R., Holtzer, H.: Formation of arrowhead complexes with heavy meromyosin in a variety of cell types. *J. Cell Biol.* **43**, 312–328 (1969)
- Mackenzie, D.M.: The fibromatoses: A clinico-pathological concept. *Brit. Med. J.* **4**, 277–281 (1972)
- Masson, J.K., Soule, E.H.: Desmoid tumors of the head and neck. *Am. J. Surg.* **112**, 615–622 (1966)
- Meissner, W.A., Warren, S.: Tumors of the thyroid gland. Atlas of Tumor Pathology. Washington: Armed Forces Institut of Pathology 1969.
- Meister, P., Hübner, G., Gokel, M., Remberger, K., Wilhelm, K., Baumeister, R., Röckl, C., Gay, S.: Zur Pathogenese der Kontraktur beim Morbus Dupuytren. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **60**, 352 (1976)
- Meister, P., Walcher, K., Grabiger, A.: Desmoidfibrom (=aggressive Fibromatose) Problematik von Behandlung und Verlauf. *Münch. med. Wschr.* **115**, 2025–2032 (1973)
- Montadon, D., Gabbiani, G., Ryan, G.B., Majno, G.: The contractile Fibroblast. *Plast. & Reconstr. Surg.* **52**, 286–290 (1973)

- Nakane, P.K., Pierce, G.B., jr.: Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J. Cell Biol.* **33**, 307–318 (1967)
- Paronetto, F., Popper, H.: Hetero-, iso-, and autoimmune phenomena in the liver. *Textbook of Immunopathology*. Eds. Miescher, P.A., Müller-Eberhard, H.J. New York: Grune and Stratton 1976
- Riedel, B.: Die chronische, zur Bildung eisenharter Tumoren führende Entzündung der Schilddrüse. *Verh. Dtsch. Ges. Chir.* **25**, 101–105 (1896)
- Ryan, G.B., Cliff, W.J., Gabbiani, G., Irle, C., Statkov, P.R., Majno, G.: Myofibroblasts in an avascular fibrous tissue. *Lab. Invest.* **29**, 197–206 (1973)
- Seligman, A.M., Wasserkrug, H.L., Hanker, J.S.: A new staining method (OTO) for enhancing contrast of lipid containing membranes and droplets in osmium tetroxide-fixed tissue with osmophilic thiocarbohydrazide (TCH). *J. Cell. Biol.* **30**, 424–432 (1966)
- Stout, A.P., Lattes, R.: Tumors of the soft tissues. *Atlas of Tumor Pathology*. Washington: Armed Forces Institute of Pathology 1967
- Wirman, J.A.: Nodular fasciitis, a lesion of myofibroblasts. *Cancer* **38**, 2378–2389 (1976)
- Woolner, L.B., McConahey, W.M., Beahrs, O.H.: Invasive fibrous thyroiditis (Riedel's struma). *J. clin. Endocr.* **17**, 201–220 (1957)

Eingegangen am 10. Juni 1977