

9. Thesen

1. Die HLA-Merkmale sind durch einen hohen Polymorphismus charakterisiert, dessen Verteilung populationsspezifische Unterschiede aufweist. Die Bestimmung der HLA-Frequenzen in verschiedenen Bevölkerungsgruppen ist Voraussetzung für die Untersuchung einer möglichen Immunpathogenese HLA-assoziiierter Erkrankungen.
2. Eine Typisierung des HLA-DP-Merkmales, dessen Polymorphismus durch die Kombination von polymorphen Sequenzen der sechs hypervariablen Regionen des zweiten Exons des HLA-DPB1-Gens bestimmt wird, ist mit serologischen Methoden nur unzureichend möglich. Zu Beginn der vorliegenden Studie lagen nur wenige Daten zur HLA-DPB1-Verteilung in der deutschen Bevölkerung und zu HLA-DPB1-Krankheitsassoziationen vor.
3. Die Chronisch Lymphatische Leukämie (CLL) ist eine maligne Erkrankung, die durch eine klonale Proliferation von Lymphozyten gekennzeichnet ist. Die Ätiologie und Pathogenese dieser Erkrankung sind bisher nur wenig verstanden. Für die CLL wurde eine Assoziation mit verschiedenen, serologisch typisierten HLA-Merkmalen beschrieben, ohne dass eine definitive Assoziation als gesichert gilt. Daten zur HLA-DPB1-Verteilung bei CLL-Patienten liegen bisher nicht vor.
4. Erstes Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer Methode der HLA-DPB1-Typisierung auf der Basis der PCR-SSO. Das zweite Ziel der Studie bestand in der Bestimmung der HLA-DPB1-Verteilung mittels dieser Methode in einer Gruppe von 157 kaukasoiden Kontrollprobanden aus dem mitteldeutschen Bundesland Sachsen-Anhalt und in einer Gruppe von 101 kaukasoiden CLL-Patienten aus Sachsen-Anhalt. Darüber hinaus sollte die Verteilung weiterer, mittels serologischer und molekulargenetischer Methoden typisierter HLA-Merkmale und deren Allelkombinationen in beiden Gruppen verglichen werden.
5. Als kritisch für die HLA-DPB1-Typisierungsqualität erwies sich die Temperatur des spezifischen Waschschrilles sowie die Digoxigenin-Markierung der SSO-Sonden. Das für die endgültige Typisierung verwendete Set von 22 SSO-Sonden enthielt sechs neu entwickelte SSO-Sonden und erlaubte auch bei Berücksichtigung der zwischenzeitlich neu beschriebenen HLA-DPB1-Allele bei allen Probanden eine eindeutige Typisierung.

6. Die unter den kaukasoiden Kontrollprobanden aus Sachsen-Anhalt beobachtete HLA-DPB1-Frequenzverteilung entsprach weitgehend der für kaukasoiden Populationen typischen Verteilung. Der Vergleich mit anderen Populationen unterstützte die Annahme, dass die Vererbung des HLA-DPB1-Merkmales durch eine genetische Variabilität und Selektion charakterisiert ist.
7. Für die erstmalig bei CLL-Patienten untersuchten HLA-DPB1-Allele war eine erhöhte Frequenz von HLA-DPB1*0301 und der für dieses Allel typischen Sequenzen der Aminosäurepositionen 8 - 12, 55 - 57 und 65 - 69 der HLA-DPB1-Kette auffällig. Keiner dieser Unterschiede behielt jedoch seine Signifikanz nach Korrektur für multiple Vergleiche bei.
8. Die Frequenz der Allele HLA-DRB4*0103, -DRB1*0401 und -DQB1*0302 sowie die Frequenz der HLA-DQB1-Homozygoten war unter CLL-Patienten erhöht, während für das Allel HLA-DQB1*0202 eine verringerte Frequenz beobachtet wurde. Der Unterschied für HLA-DRB4*0103 behielt seine Signifikanz nach Korrektur für multiple Vergleiche bei und war sowohl unabhängig vom Vorliegen des supertypischen Merkmales HLA-DRB4 (DR53) als auch unabhängig vom Geschlecht und Alter bei Erstdiagnose der Patienten. Damit besteht für die CLL eine positive Assoziation mit Allelen des Haplotypes HLA-DR4:DR53:DQ8, für den auch zahlreiche Assoziationen mit Autoimmunerkrankungen nachgewiesen sind.
9. Die Ergebnisse der Kopplungsanalyse bestätigten das schwache Kopplungsungleichgewicht zwischen den Allelen des HLA-DPB1-Gens und den benachbarten HLA-Klasse-II-Genen. Nur für das Allel HLA-DPB1*0101 wurde unter Kontrollprobanden eine signifikante Kopplung mit Merkmalen des erweiterten Haplotypes HLA-B8:Cw7:DR3:DQ2 beobachtet. Dagegen bestand unter CLL-Patienten ein Kopplungsungleichgewicht für die Kombination HLA-DRB1*0701:DPB1*1701.
10. Für die Allelkombinationen HLA-DRB4*0103:DQB1*0302 und HLA-DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 sowie für die erweiterte Kombination HLA-Cw*03:B*62:DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 fand sich eine positive Assoziation mit der CLL. Dies resultierte in einem CLL-spezifischen, auch nach Korrektur für multiple Vergleiche signifikanten Kopplungsungleichgewicht für die Kombinationen HLA-DRB1*0401:DRB4*0103 und HLA-DRB4*0103:DQB1*0302. Es bestanden keine Kopplungsungleichgewichte für Kombinationen des CLL-assoziierten Allels HLA-DPB1*0301 mit anderen HLA-Merkmalen. Diese Resultate unterstützen die Annahme einer Assoziation der CLL

mit Allelen des erweiterten Haplotyps HLA-Cw3:B62:DR4:DR53:DQ8 sowie einer von diesem Haplotyp unabhängigen Assoziation mit HLA-DPB1*0301.

11. Eine in früheren Untersuchungen beschriebene Assoziation der CLL mit HLA-Klasse-I-Antigenen konnte sowohl durch die serologische als auch durch die niedrigauflösende molekulargenetische Typisierung der HLA-A-, -B- und -Cw-Merkmale in dieser Studie nicht bestätigt werden. Allerdings fand sich eine erhöhte Frequenz des Merkmals HLA-Cw*06 unter früh erkrankten Patienten sowie des Merkmals HLA-B*18 unter Patienten mit einem Alter > 72 Jahre bei Erstdiagnose. Dies deutet auf einen Einfluss der HLA-Merkmale auf den Verlauf der Erkrankung hin.
12. Unter weiblichen Patienten wurde eine erhöhte Frequenz von Homozygotien der Merkmale HLA-DRB1/3/4/5- sowie von HLA-DQB1-Homozygotien festgestellt. Damit werden frühere Untersuchungen bestätigt, in denen ein mit MHC-Homozygotie assoziiertes Risiko monoklonaler Lymphozytenproliferation beschrieben wurde.
13. Die beobachteten HLA-Assoziationen lassen vermuten, dass die HLA-Merkmale für die komplexe Pathogenese der CLL nicht entscheidend sind, jedoch das Risiko der malignen Lymphozytenproliferation wie auch den Krankheitsverlauf prägen. Dabei sind die Parallelen zu HLA-Assoziationen von Autoimmunkrankheiten auffällig. Die möglichen pathogenetischen Mechanismen bestehen sowohl in einer HLA-abhängigen infektiösen Ätiologie und in einer herabgesetzten, HLA-restringierten Anti-Tumoraktivität als auch in einer Kopplung zwischen Genen der HLA-Merkmale und anderen, pathogenetisch relevanten Genen.