

(Bortin et al., 1987). Bisherige Untersuchungen zur Assoziation von HLA und CLL basierten vorrangig auf der serologischen HLA-Typisierung und lieferten keine einheitlichen Resultate. Eine demonstrierte Assoziationen mit HLA-B18 (Richter et al., 1973) und -DR5 (Winchester et al., 1983) konnte durch andere Studien nicht bestätigt werden (Tiwari und Terasaki, 1985). In späteren Untersuchungen wurde eine erhöhte Frequenz von HLA-Cw6 (Linnet et al., 1988), HLA-A1 und -B8 (Kilpatrick et al., 1984) sowie HLA-B35 (Cuttner et al., 1994) unter CLL-Patienten beobachtet. Weiterhin wurde eine Assoziation von HLA-B8 sowie des Haplotypes HLA-A2:B12(44):DR7 mit leichtem bzw. schwerem Krankheitsverlauf beschrieben (Dyer et al., 1986). Trotz dieser unterschiedlichen Ergebnisse besteht die Vermutung, dass HLA-Merkmale an einer multifaktoriellen Pathogenese der CLL beteiligt sind. Diese Hypothese wird durch die Assoziation von MHC-Allelen mit boviner, viral-induzierter Lymphozytose (van Eijk et al., 1992) sowie mit B-Zell-CLL in Mäusen (Okamoto et al., 1993) unterstützt. Ebenfalls bei Mäusen wurde eine Assoziation zwischen spezifischen MHC-Merkmalen und viral induzierten Leukämien (Lilly et al., 1964) und B-Zell-Lymphomen (Vasmel et al., 1988) beschrieben.

Eines der Modelle zur Krankheitsassoziation von HLA-Merkmalen basiert auf einem Kopplungsungleichgewicht von krankheitsassoziierten HLA-Allelen mit pathogenetisch relevanten Genen. Die Abklärung dieser Hypothese erfordert die molekulargenetische Typisierung von HLA-Allelen. In der nach Kenntnis des Autors einzigen molekulargenetischen Untersuchung zur Verteilung von HLA-Merkmalen bei CLL-Patienten wurde eine Assoziation mit HLA-DRB1\*0401 beschrieben (Dorak et al., 1996). Gleichfalls lag zu Beginn der Arbeit nur eine Studie zur Assoziation zwischen HLA-DP und CLL vor. In dieser, mittels PLT durchgeführten serologischen Untersuchung beschrieben Pawelec et al. unter 51 CLL-Patienten eine gegenüber den Kontrollprobanden erhöhte Frequenz der PLT-Spezifität HLA-DP-blank sowie eine erniedrigte Frequenz von HLA-DPw1 (Pawelec et al., 1989). Während für den Morbus Hodgkin (Klitz et al., 1994) und die ALL (Taylor et al., 1995) eine Assoziation mit HLA-DPB1-Allelen gezeigt werden konnte, liegt nach Kenntnis des Verfassers derzeit keine molekulargenetische Untersuchung zur Verteilung der HLA-DPB1-Merkmale bei CLL-Patienten vor.

## **2. Problem- und Zielstellung**

Die Typisierung der HLA-Merkmale hat eine große Bedeutung für die Erforschung der Pathogenese HLA-assoziiierter Erkrankungen. Zu Beginn der vorliegenden Studie lagen nur wenige Untersuchungen sowohl zur Verteilung der HLA-DPB1-Allele in der deutschen Bevölkerung als auch zu Krankheitsassoziationen des HLA-DP-Merkmals vor. Gleichzeitig war kein kommerzielles Verfahren zur Typisierung aller bis dahin bekannten HLA-DPB1-Allele erhältlich.

Das erste Ziel der Arbeit bestand daher darin, eine Methode zur HLA-DPB1-Typisierung auf der Basis des PCR-SSO-Verfahrens zu entwickeln. Mit dieser Methode sollte dann die Frequenz der HLA-DPB1-Allele in einer größeren Gruppe von gesunden, kaukasoiden Probanden aus Mitteldeutschland bestimmt und mit den Ergebnissen anderer Studien verglichen werden.

Die CLL ist eine häufige, maligne Erkrankung, für die eine multifaktorielle Ätiologie unter Beteiligung prädisponierender genetischer Faktoren vermutet wird. In wenigen, zumeist serologischen Studien wurde für verschiedene HLA-Merkmale eine Assoziation mit der CLL beschrieben, ohne dass bisher ein Zusammenhang als gesichert gilt. Molekulargenetische Methoden ermöglichen eine differenziertere HLA-Typisierung und könnten helfen, die Bedeutung des HLA-Systems für die Pathogenese der CLL zu klären.

Zweites Ziel dieser Studie war es deshalb, mit der entwickelten Methode die Verteilung der unter CLL-Patienten noch nicht untersuchten HLA-DPB1-Allele in einer größeren Gruppe von kaukasoiden CLL-Patienten aus dem mitteldeutschen Raum zu bestimmen und mit der Verteilung in der Kontrollgruppe zu vergleichen. Diese Studie wurde als Teil des Forschungsprojektes „HLA und Leukämie“ am Interdisziplinären HLA-Labor des Institutes für Medizinische Immunologie der Martin-Luther-Universität Halle durchgeführt. Im Rahmen dieses Projektes sollten weiterhin die Frequenzen anderer HLA-Merkmale und deren Kopplung mit HLA-DPB1-Allelen in beiden Gruppen verglichen werden. Hierfür wurden die Ergebnisse der für alle Probanden beider Gruppen erfolgten serologischen und molekulargenetischen Typisierung der Merkmale HLA-A, -B, -Cw, -DRB1, -DRB3/4/5/, -DQB1 ausgewertet. Der statistische Vergleich der Frequenzen dieser HLA-Merkmale sollte die Frage nach einer HLA-Assoziation der CLL beantworten helfen und dabei insbesondere die Rolle der erstmals in einer Gruppe von CLL-Patienten typisierten HLA-DPB1-Allele berücksichtigen. Anhand der molekulargenetischen Typisierung konnte auch eine Aussage über die Assoziation der CLL mit HLA-Homozygotien getroffen werden. Abschließend sollte die Verteilung der typisierten HLA-Merkmale in Abhängigkeit der Prognosefaktoren Geschlecht und Alter der Patienten bei Erstdiagnose verglichen werden.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Probanden und Referenz-DNA**

Die Kontrollgruppe umfasste 157 gesunde kaukasoiden Probanden mit Wohnsitz in Sachsen-Anhalt und setzte sich aus 94 Frauen (59,9 %) und 63 Männern (40,1 %) zusammen. Bis zum Abschluss der Studie 1997 war bei keinem der Probanden eine relevante, insbesondere mit HLA-Merkmalen assoziierte Krankheit bekannt. Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Typisie-