

Gleichzeitig war die Homozygotiefrequenz des Allels HLA-DQB1*0301 sowohl unter weiblichen Patienten (RR = 20,5; $p = 0,01$) als auch unter weiblichen spät erkrankten Patienten (11,1 % vs. 0,0 %; RR = 27,0; $p = 0,01$) gegenüber weiblichen Kontrollen signifikant erhöht. Die Analyse der erwarteten Homozygotiefrequenzen demonstrierte, dass die unter weiblichen ($pf_{\text{erw}} = 7,6\%$ vs. $pf = 8,9\%$) und männlichen ($pf_{\text{erw}} = 4,7\%$ vs. $pf = 1,8\%$) Patienten beobachtete Zahl an HLA-DQB1*0301-Homozygotien weitgehend der Erwartungsfrequenz entsprach. Dagegen lag die beobachtete Frequenz bei weiblichen ($pf_{\text{erw}} = 8,5\%$ vs. $pf = 0,0\%$) und männlichen Kontrollen ($pf_{\text{erw}} = 12,5\%$ vs. $pf = 4,8\%$) unter den erwarteten Werten.

Für das Merkmal HLA-Cw*06 wurde ein Frequenzunterschied zwischen weiblichen und männlichen Kontrollen beobachtet ($p = 0,03$). Dieser trug zu einem signifikanten Unterschied der Frequenzen dieses Merkmals bei Patienten und Kontrollen männlichen Geschlechts bei (RR = 3,6; $p = 0,007$), ohne dass Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Patienten auftraten (Tab. 22).

5. Diskussion

5.1. PCR-SSO-Typisierung der HLA-DPB1-Allele

Zahlreiche neuere Untersuchungen unterstreichen die Relevanz der Typisierung der HLA-DPB1-Allele im Rahmen der Transplantationsmedizin sowie der Untersuchung HLA-assoziiierter Erkrankungen (Nomura et al., 1991; Petersdorf et al., 1993; Sada et al., 1992a). Die Methode der PCR-SSO ist dabei für eine exakte und zeitsparende HLA-DPB1-Typisierung geeignet. Sie ermöglicht die Bestimmung der Basensequenz in genomischer DNA mit der Genauigkeit von bis zu einer Basenfehlpaarung (Fugger et al., 1990; Saiki et al., 1986) und wurde von verschiedenen Autoren für die Sequenzanalyse von β -Globin, HLA-DQA (Saiki et al., 1986), HLA-DR (Angelini et al., 1986) und HLA-Cw (Kennedy et al., 1995) angewandt. Ihr Vorteil besteht darin, dass bei entsprechender Zahl an SSO-Sonden die gesamte Sequenz eines Genabschnittes analysiert werden kann, während sequenzspezifische PCR und RFLP nur Aussagen über die Bereiche der Primer- bzw. Restriktionssequenzen zulassen. Die exakte Typisierung der HLA-DPB1-Allele erfordert die Bestimmung der Nukleotidsequenzen in allen sechs hypervariablen Regionen des zweiten HLA-DPB1-Exons (Bugawan et al., 1988). Zum Zeitpunkt des Beginns der Studie lagen bereits von mehreren Autoren Protokolle zur HLA-DPB1-Typisierung mittels PCR-SSO vor (Bugawan et al., 1990; Bugawan et al., 1988; Howell et al., 1991b; Tiercy et al., 1993). Um eine zuverlässige Typisierung der wachsenden Zahl an HLA-DPB1-Allelen zu ermöglichen, wurden diese Protokolle modifiziert.

Entscheidend für die Typisierungsqualität war die Anpassung der Reaktionsbedingungen der SSO-Hybridisierung. Trotz der Verwendung von TMAC als Hybridisierungslösung mussten für Oligonukleotide gleicher Länge unterschiedliche Waschttemperaturen gewählt werden, um eine Hybridisierung ohne Basenfehlpaarungen zu erreichen. Diese Beobachtung, die auch von anderen Autoren berichtet wurde (Bugawan et al., 1990; Kennedy et al., 1995) deutet darauf hin, dass die Dissoziationstemperatur neben der Länge auch von der spezifischen Sequenz des Oligonukleotids abhängig ist. Wood et al. berichteten, dass zwischen der Oligonukleotidlänge und der Dissoziationstemperatur kein kontinuierlich linearer Zusammenhang besteht (Wood et al., 1985). Für Oligonukleotide mit einer Länge von mehr als 15 Basen liegen die Dissoziationstemperaturen wesentlich höher, als dies bei einer linearen Abhängigkeit zu erwarten wäre. Ursächlich kann dabei die Ausbildung einer bindungsstabilisierenden Tertiärstruktur des Dimers aus Oligonukleotid und DNA-Amplifikat ab einer bestimmten Oligonukleotidlänge vermutet werden. Fugger et al. konnten zeigen, dass die Lage der Basenfehlpaarungen innerhalb des Oligonukleotids die Spezifität der Hybridisierung beeinflusst (Fugger et al., 1990). Dies verdeutlicht, dass die für die Typisierungsqualität der PCR-SSO-Methode kritische Dissoziationstemperatur der SSO-Sonden von der spezifischen Nukleotidsequenz der Sonden abhängt und für jede Sonde empirisch ermittelt werden muss. Im Fall der HLA-DPB1-Typisierung ist dies insbesondere für SSO-Sonden wichtig, die im Bereich der hypervariablen Region B und D hybridisieren. In diesen Regionen unterscheiden sich die Sequenzen meist nur in einem Nukleotid und für einige der für diese Regionen verwendeten Sonden wurden falsch positive Kreuzreaktionen berichtet (Tait et al., 1992). Die Sequenzen der in dieser Arbeit verwendeten SSO-Sonden wurden daher gegenüber anderen Protokollen teilweise modifiziert und zeigten nach Optimierung der Hybridisierungsbedingungen keine Kreuzreaktionen.

Für die vorliegende Studie wurde das dot-blot-Verfahren gewählt. Dabei werden mehrere Amplifikate auf einer Nylonmembran immobilisiert und anschließend mit einem markierten Oligonukleotid hybridisiert. Gegenüber dem reverse-dot-blot-Verfahren, bei dem die SSO-Sonden auf der Membran immobilisiert sind (Bugawan et al., 1990), erlaubt das dot-blot-Verfahren unterschiedliche Hybridisierungs- und Waschbedingungen für jede Sonde. Dies ermöglicht eine exaktere Einstellung der Hybridisierungsbedingungen. Als Negativ- und Positivkontrolle ist eine parallele Typisierung von DNA bekannten HLA-DPB1-Genotyps erforderlich (Erllich et al., 1991). Das in dieser Arbeit verwendete Panel der DNA B-lymphoblastoider Zelllinien erlaubt sowohl die Kontrolle falsch positiver und falsch negativer Reaktionen für alle verwendeten Sonden als auch Rückschlüsse auf das quantitative Ausmaß falsch positiver Reaktionen (Bugawan et al., 1990).

Während für die eindeutige Typisierung aller bis 1990 bekannten 14 HLA-DPB1-Allele 14 SSO-Sonden notwendig waren (Müller und Eiermann, 1991), erfordert eine vollständige Typisierung aller derzeit bekannten Sequenzen der sechs hypervariablen Regionen 40 Sonden (ASHI Webpage: www.anthonynolan.com/HIG/seq/nuc/text/dpb1.nt.txt; Stand 01.08.1999). Im Fall der Homozygotie können damit alle bis 1999 offiziell beschriebenen 85 HLA-DPB1-Allele eindeutig identifiziert werden. Angesichts der Zahl von ca. 20 HLA-DPB1-Allelen die in der kaukasoiden Bevölkerung mit einer phänotypischen Frequenz von mehr als einem Prozent auftreten, erscheint der hohe Zeit- und Kostenaufwand einer Typisierung mit 40 Sonden nicht sinnvoll. Im Gegensatz zu den von anderen Autoren verwendeten 16 oder 17 Sonden (Bugawan et al., 1990; Tiercy et al., 1993) wurden für die vorliegende Studie 22 Sonden verwendet. Diese erlauben die Typisierung eines hohen Prozentsatzes der jeweils bekannten HLA-DPB1-Allele. Zum Zeitpunkt des Beginns der Studie waren 93 % der damals bekannten 58 HLA-DPB1-Allele mit diesen 22 Sonden eindeutig differenzierbar (Bodmer et al., 1995); 1999 waren ebenfalls 93 % der bis dahin identifizierten 85 Allele eindeutig typisierbar (www.anthonynolan.com/HIG/seq/nuc/text/dpb1.nt.txt; Stand 01.08.1999). Die gegenüber den Studien von Bugawan et al. und Tiercy et al. zusätzlich oder mit modifizierter Sequenz verwendeten Sonden für die Regionen B und F ermöglichten eine genauere Unterscheidung der Allele HLA-DPB1*0202, -DPB1*0501, -DPB1*1501 und -DPB1*1801 und deren heterozygoter Kombinationen. Gegenüber dem Protokoll des 11th IHW wurde auf zusätzliche Sonden im Bereich der Regionen A und D verzichtet. Zum einen konnte die ursprünglich in der Region A beschriebene Sequenz des Allels HLA-DPB1*02011 nicht bestätigt werden (Bodmer et al., 1997) und die Sonde DPB0906 des Referenzprotokolls (Kimura und Sasazuki, 1992) erübrigte sich. Andererseits betreffen die in der vorliegenden Studie nicht typisierten Sequenzen der D-Region seltene Allele, für die keine Referenz-Zelllinie existierte (Kimura et al., 1992) und deren Typisierung aufgrund falsch positiver Kreuzreaktion erschwert ist (Tait et al., 1992). Eine Differenzierung zwischen den HLA-Allelen -DPB1*11011 und -DPB1*11012, -DPB1*20011 und -DPB1*20012, -DPB1*0201 und -DPB1*4101, -DPB1*0501 und -DPB1*3801 sowie zwischen HLA-DPB1*0402, -DPB1*6001 und -DPB1*7701 war mit dem verwendeten SSO-Set nicht möglich. Diese Ungenauigkeiten betreffen jeweils eine Kombination eines häufigen und eines seltenen Allels. In Anlehnung an andere Studien scheint es gerechtfertigt, in einem solchen Fall das Vorliegen des in der kaukasoiden Bevölkerung häufiger auftretenden Allels (HLA-DPB1*0201, -DPB1*0501 und -DPB1*0402) anzunehmen bzw. auf eine Subtypisierung der Merkmale HLA-DPB1*1101 und -DPB1*2001 zu verzichten (Tiercy et al., 1993).

Ein Problem aller derzeit angewandten HLA-DPB1-Typisierungsmethoden ist die eindeutige Differenzierung bestimmter heterozygoter Allelkombinationen. Die PCR-SSO bestimmt ausge-

wählte Sequenzen des polymorphen zweiten HLA-DPB1-Exons, erlaubt jedoch keine Aussage, ob sich diese Sequenzen auf dem gleichen Chromosom befinden. Selbst bei einer Typisierung aller bekannten Sequenzen mittels 40 SSO-Sonden ist eine Differenzierung zwischen bestimmten Allelkombinationen, wie z. B. zwischen HLA-DPB1*0401/DPB1*0901 und HLA-DPB1*3301/DPB1*3501 nicht möglich (eigene Untersuchungen). Eine Erweiterung des verwendeten Sets von 22 SSO-Sonden erschien daher nicht sinnvoll. Darüber hinaus wurde in dieser Studie für kaukasoiden Probanden empirisch gezeigt, dass dieses Problem zumeist die Differenzierung zwischen einer Kombination häufiger Allele und einer Kombination seltener Allele betrifft. Somit ist auch hier eine Typisierung für die jeweils in der kaukasoiden Bevölkerung häufigeren Allele gerechtfertigt. Diese eingeschränkte Aussagekraft der Typisierung ist nicht auf die Methode der PCR-SSO beschränkt. Eine seit 1997 erhältliche kommerzielle PCR-SSP-Methode zur HLA-DPB1-Typisierung erlaubte eine Identifizierung aller bis dahin bekannten 67 HLA-DPB1-Allele mittels 48 Primer-Paaren (Dynal DPB1-SSP, Dynal, Oslo, Norwegen). Jedoch sind fünf Prozent der heterozygoten HLA-DPB1-Kombinationen nicht zu differenzieren. Auch bei der Verwendung eines erweiterten Sets von 95 Primer-Paaren ist mit der PCR-SSP-Methode eine Unterscheidung verschiedener heterozygoter Allelkombinationen nicht möglich (Gilchrist et al., 1998). Dieses Problem resultiert aus der 'patchwork' Struktur des zweiten HLA-DPB1-Exons und kann weder mit der PCR-SSO noch mittels der PCR-SSP gelöst werden. Nur eine komplette Sequenzierung des zweiten HLA-DPB1-Exons oder eine zeit- und kosten-aufwendige Kombination von gruppenspezifischer PCR und SSO-Hybridisierung (Fernandez-Vina et al., 1991; Rani et al., 1995) bietet eine Möglichkeit der eindeutigen Typisierung aller heterozygoten HLA-DPB1-Allelkombinationen. Von den in dieser Studie typisierten 363 DNA-Proben gelang nur in einem Fall keine sofortige Typisierung. Erst der Vergleich mit neu identifizierten HLA-DPB1-Sequenzen ergab das Vorliegen des erst seit kurzem beschriebenen, seltenen Allels HLA-DPB1*5901. Damit wird deutlich, dass die Methode der PCR-SSO im Gegensatz zur PCR-SSP die Bestimmung der Sequenzen der hypervariablen Regionen auch von bis zu diesem Zeitpunkt unbekanntem HLA-DPB1-Allelen ermöglicht.

Ein anderer Ansatz der HLA-DPB1-Typisierung beruht auf der Beobachtung, dass die Aminosäure-Positionen 55 - 87 des HLA-DP β - Moleküls für die Interaktion mit dem TCR entscheidend sind (Cesbron et al., 1993; Diaz et al., 1998; Naruse et al., 1995). Diese Aminosäuren werden durch die dritte, vierte, fünfte und sechste hypervariable Region (C, D, E, F) des zweiten HLA-DPB1-Exons kodiert (Bugawan et al., 1990; Kelly und Trowsdale, 1985). Für das Risiko einer Transplantatabstoßung oder einer Graft-versus-host-disease scheinen demzufolge die HLA-DP β -Aminosäure-Sequenzen 55 - 87 von Spender und Empfänger entscheidend zu sein (Cesbron et al., 1993). Eine vollständige Typisierung dieser Sequenzen wäre mit einer PCR-SSP

mit nur 24 Primer-Paaren möglich und daher auch für die Typisierung im Rahmen der Nierentransplantation geeignet (eigene Untersuchungen). Eine Differenzierung der relevanten HLA-DP β -Epitop-Strukturen erlaubt auch die Methode der Monoklonalen-Antikörper-Spezifischen-Immobilisierung-Lymphozytärer-Antigene (MAILA) (Mueller-Eckhardt et al., 1990). Beide Methoden liefern allerdings keine ausreichende Aussage über das vorliegende HLA-DPB1-Allel und sind somit ungeeignet für die Untersuchung einer Assoziation zwischen HLA-DPB1-Allelen und Erkrankungssuszeptibilität.

Die in dieser Studie verwendete PCR-SSO-Methode erlaubt eine zuverlässige Typisierung der Mehrzahl der HLA-DPB1-Allele und ihrer heterozygoten Allelkombinationen in der kaukasoiden Bevölkerung. Nur wenige seltene Allele und Allelkombinationen konnten in der vorgelegten Studie nicht eindeutig differenziert werden. Die spezifischen Hybridisierungsbedingungen der Sonden stellen den wesentlichen kritischen Parameter dieser Methode dar.

5.2. Verteilung der HLA-DPB1-Allele in der Bevölkerung Sachsen-Anhalts

Die beobachtete Verteilung der HLA-DPB1-Allele unter kaukasoiden Probanden aus der mitteleuropäischen Region von Sachsen-Anhalt bestätigen die von verschiedenen Autoren demonstrierte Verteilung in kaukasoiden Populationen. HLA-DPB1*0401 stellt mit einer phänotypischen Frequenz von 60 - 70 % das mit Abstand häufigste HLA-DPB1-Allel in kaukasoiden Bevölkerungen dar. Vier weitere Allele (HLA-DPB1*0101, -DPB1*0201, -DPB1*0301 und -DPB1*0402) finden sich bei jeweils 10 - 20 % aller kaukasoiden Probanden. Alle anderen HLA-DPB1-Allele treten mit einer Frequenz von weniger als 10 % auf. Damit unterscheidet sich die HLA-DPB1-Verteilung in kaukasoiden Populationen deutlich von der Verteilung in anderen ethnischen Gruppen (Tait et al., 1992). In der mongoloiden Bevölkerung Japans und Nord-Chinas ist das Allel HLA-DPB1*0501 mit einer phänotypischen Frequenz von 60 % das häufigste Allel (Gao et al., 1991b), während in der negroiden Bevölkerung der USA, Brasiliens, Nigerias und Liberias HLA-DPB1*0101 mit einer Frequenz von 50 - 60 % das am häufigsten auftretende Allel darstellt (Fernandez-Vina et al., 1991; May et al., 1998; Moraes et al., 1993). In diesen Bevölkerungen findet sich das Allel HLA-DPB1*0401 nur mit einer phänotypischen Frequenz von maximal 15 %. Dieses Phänomen eines populationspezifischen Polymorphismus deutet darauf hin, dass die Vererbung der HLA-DPB1-Allele einem Selektionsdruck unterliegt. Entsprechend der immunologischen Funktion der HLA-Moleküle ist dabei insbesondere die Fähigkeit zur Präsentation spezifischer Antigene als Selektionsmerkmal zu vermuten. Dies wird durch die Beobachtungen einer HLA-DP-restringierten T-Zell-Aktivierung durch virale (Celis et al., 1990) und bakterielle (Hermann et al., 1992) Antigene unterstützt. Die Tatsache, dass in

den untersuchten Populationen 90 % aller bekannten HLA-DPB1-Allele mit sehr geringen Frequenzen oder gar nicht auftreten, ist mit der Hypothese einer fortwährenden Entstehung neuer Allele vereinbar (Bodmer, 1972). Ein möglicher Mechanismus der Generierung neuer HLA-DPB1-Allele besteht im Austausch von Gensegmenten der hypervariablen Regionen während der Keimzellreifung (Kuhner und Peterson, 1992; Ohta, 1991).

Für HLA-Klasse-II-Merkmale wurden in Bevölkerungen gleicher ethnischer Abstammung unterschiedliche Frequenzen in Abhängigkeit von der geographischen Herkunft der Probanden beobachtet (Baur et al., 1984; Sanchez-Velasco et al., 1999; Shaw et al., 1999). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen vermuten, dass die Verteilung der HLA-DPB1-Allele auch in kaukasoiden Populationen regionale Unterschiede aufweist. Die beobachtete phänotypische Frequenz der HLA-DPB1-Allele in der kaukasoiden Bevölkerung Sachsen-Anhalts entspricht weitgehend der Verteilung unter kaukasoiden Probanden in der Bevölkerung Nord-Irlands (Savage et al., 1992), Nord-Amerikas (Cerna et al., 1992), Frankreichs (al-Daccak et al., 1991; Perdriger et al., 1996), Spaniens (Yelamos et al., 1994) und Deutschlands (Mella et al., 1995). Dagegen findet sich z. B. in der Bevölkerung Sachsen-Anhalts für das Allel HLA-DPB1*0402 eine gegenüber der kaukasoiden Bevölkerung Tschechiens (Cerna et al., 1992) deutlich niedrigere phänotypische Frequenz (23 % vs. 38 %). Alle anderen HLA-DPB1-Allele zeigen unter Probanden aus Sachsen-Anhalt und Tschechien eine jeweils nahezu identische Frequenz. Gegenüber kaukasoiden Probanden franko-kanadischer Herkunft ist in der Bevölkerung Sachsen-Anhalts insbesondere eine höhere phänotypische Frequenz des Allels HLA-DPB1*0201 (27,4 % vs. 7,7 %) festzustellen (Howell et al., 1991a). Im Vergleich mit einer kaukasoiden Kontrollgruppe aus Norditalien (Mantovani et al., 1992) treten in der Bevölkerung Sachsen-Anhalts die Allele HLA-DPB1*0101 (10,2 % vs. 5,5 %) und -DPB1*0401 (68,8 % vs. 50,0 %) mit höherer phänotypischer Frequenz, das Allel HLA-DPB1*0301 (11,5 % vs. 25,0 %) dagegen mit niedrigerer Frequenz auf. Differenzen in der Verteilung mehrerer HLA-DPB1-Allele bestehen auch zwischen der Bevölkerung Sachsen-Anhalts und einer von Baisch und Capra untersuchten Gruppe kaukasoider nordamerikanischer Probanden (Baisch und Capra, 1993). Diese Unterschiede zwischen Gruppen gesunder kaukasoider Probanden unterschiedlicher geographischer Herkunft könnten auf den Einfluss regionaler Umweltfaktoren in der Evolution des HLA-DPB1-Polymorphismus hindeuten. Dagegen sind aus Sicht des Autors die Unterschiede zwischen den HLA-DPB1-Allelfrequenzen der mitteldeutschen Kontrollgruppe und den in anderen Studien typisierten deutschen kaukasoiden Probanden als Folge unterschiedlicher Auswahlkriterien der Probanden zu bewerten. Gegenüber den Untersuchungen von Eiermann et al. (Eiermann et al., 1991), Ferencik und Grosse-Wilde (Ferencik und Grosse-Wilde, 1998) sowie von Rihs et al. (Rihs et al., 1996) fand sich für das Allel HLA-DPB1*0301 in der Bevölkerung

Sachsen-Anhalts eine deutlich geringere phänotypische Frequenz, während für alle weiteren Allele jeweils eine ähnliche Verteilung in den erwähnten Untersuchungen beobachtet wurde. Im Vergleich zu einer Studie von Seidl et al. (Seidl et al., 1997) waren zusätzlich Unterschiede in der Verteilung der Allele HLA-DPB1*0101 und -DPB1*0201 auffällig. Als Erklärung dieser Differenzen kommen zunächst regionale Unterschiede in der HLA-DPB1-Verteilung in Betracht. Während bei Rihs et al. und Seidl et al. Angaben zur Herkunft der Kontrollprobanden fehlen, untersuchten Ferencik und Grosse-Wilde sowie Eiermann et al. Probanden aus einer westdeutschen bzw. südwestdeutschen Region. Für die Studie von Mella et al. (Mella et al., 1995), deren Ergebnisse vollständig mit der unter Probanden aus Sachsen-Anhalt beobachteten Verteilung übereinstimmen, liegen keine Angaben zur Herkunft der Probanden vor. Es kann daher keine endgültige Aussage über eine regional unterschiedliche HLA-DPB1-Allelverteilung in der deutschen Bevölkerung getroffen werden. Auffällig waren dagegen die unterschiedlichen Kriterien für die Auswahl der Kontrollprobanden in den verglichenen Untersuchungen. Während für die Kontrollgruppe aus Sachsen-Anhalt nichtverwandte Probanden zufällig rekrutiert wurden, erfolgte in den zum Vergleich herangezogenen Studien eine Typisierung von Blut- (Ferencik und Grosse-Wilde, 1998; Rihs et al., 1996; Seidl et al., 1997) bzw. Thrombozytenspendern (Eiermann et al., 1991) oder Nierenspendern (Ferencik und Grosse-Wilde, 1998). Aufgrund der Selektion von Blut- und Organspendern nach medizinischen Gesichtspunkten entsprechen diese Gruppen nicht den Kriterien einer Normalverteilung. Interessanterweise findet sich auch im Vergleich mit einer Studie unter britischen Knochenmark- und Thrombozytenspendern bzw. Nierenspendern (Howell et al., 1993) eine gegenüber der Kontrollgruppe aus Mitteldeutschland deutlich erhöhte Frequenz des Allels HLA-DPB1*0301 (11,5 % vs. 20,0 %). Inwieweit sich damit ein mit HLA-DPB1*0301 assoziiertes Selektionsmerkmal manifestiert, bleibt ungeklärt. Allerdings wird deutlich, dass im Rahmen von Untersuchungen zur Krankheitsassoziation von HLA-DPB1-Allelen eine Typisierung zufällig ausgewählter, gesunder Kontrollprobanden mit gegenüber den Patienten gleicher geographischer Herkunft und ethnischer Abstammung notwendig ist. Erst der Vergleich und die Gesamtanalyse mehrerer Studien wird eine Aussage über mögliche regionale Unterschiede der HLA-DPB1-Allelverteilung in der deutschen kaukasoiden Bevölkerung erlauben. Die weiterhin beobachteten Frequenzunterschiede zwischen Kontrollprobanden und gesunden IgA-Mangel-Probanden stellen den ersten Bericht über eine Assoziation von IgA-Mangel mit HLA-DPB1 dar (Schönermarck, 1998).

Im Rahmen der Untersuchung einer Assoziation zwischen HLA-Merkmalen und der CLL erfolgte in der Gruppe gesunder Kontrollen aus Sachsen-Anhalt eine Analyse der Kombinationen von Allelen verschiedener HLA-Gene mittels der Formeln der Haplotyp-Analyse. Übereinstimmend mit früheren Untersuchungen wurde nur für wenige Kombinationen zwischen

HLA-DPB1 und Allelen anderer Klasse-I- und -II-Merkmale eine signifikante Kopplung beobachtet (Baisch und Capra, 1993; Howell et al., 1993). Die Kopplungen mit der kleinsten Irrtumswahrscheinlichkeit innerhalb der MHC-Klasse-II-Region bestanden für die Kombinationen HLA-DRB1*0301:DPB1*0101 und HLA-DQB1*0201:DPB1*0101. Für die Kombination HLA-DRB1*0301:DPB1*0101 wurde bereits ein Kopplungsungleichgewicht unter kaukasoiden Probanden beschrieben (Howell et al., 1993; Tait et al., 1992). Vor dem Hintergrund der bekannten Kopplung zwischen HLA-DR3 und HLA-DQ2 lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie auf eine Kopplung von HLA-DPB1*0101 mit HLA-DR- und -DQ-Allelen innerhalb eines erweiterten Haplotypes HLA-DRB1*03:DQB1*02:DPB1*0101 schließen. Die Kopplungen zwischen HLA-DPB1-Allelen und HLA-Klasse-I-Merkmalen waren nur gering ausgeprägt. Das Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-DPB1*0101 und HLA-B*8 sowie -Cw*07 ist durch den innerhalb der kaukasoiden Population häufigen, erweiterten Haplotyp HLA-B8:Cw7:DR3:DQ2 zu erklären (Ikaheimo et al., 1996). Dagegen ist die beobachtete Kopplung des Allels HLA-DPB1*1701 mit den Merkmalen HLA-Cw*06 und HLA-DRB1*0701 schwierig zu interpretieren. Allerdings kann in Anlehnung an Untersuchungen unter nicht-kaukasoiden Probanden (Bugawan et al., 1994; Trachtenberg et al., 1995) eine spezifische Kopplung für die Bevölkerung Mitteldeutschlands vermutet werden. Insgesamt wird damit die Existenz eines Kopplungsungleichgewichtes zwischen den HLA-DP- und HLA-DR- sowie -DQ-Merkmalen bestätigt. Diese Kopplungsungleichgewichte sind schwächer als die in der kaukasoiden Bevölkerung zwischen HLA-DRB1 und -DQB1 beobachteten Kopplungen (Tait et al., 1992). Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass für die Allele der im MHC zwischen den HLA-DR- und -DP-Genen befindlichen TAP1- und TAP2-Loci kein Kopplungsungleichgewicht existiert (Djilali-Saiah et al., 1996). Dieses Phänomen eines fehlenden Kopplungsungleichgewichtes innerhalb eines begrenzten Chromosomenabschnittes bei gleichzeitigem Kopplungsungleichgewicht zwischen den diesen Abschnitt flankierenden Genen ist einzigartig für den MHC und lässt eine im Bereich der TAP-Gene befindliche Zone hoher Rekombinations- bzw. Gen-Konversionsrate vermuten (Klitz et al., 1995). Die Ergebnisse der Arbeit unterstützen somit die Hypothese einer hohen genetischen Variabilität des MHC.

Die Frequenzen der HLA-DPB1-Allele in der kaukasoiden Bevölkerung Sachsen-Anhalts entsprechen der typischen kaukasoiden Verteilung. Sowohl der Vergleich mit anderen Populationen als auch die Analyse der Kombinationen von HLA-DPB1-Allelen mit anderen HLA-Merkmalen unterstützen die Hypothese, dass eine genetische Variabilität sowie eine natürliche Selektion die Populationsgenetik des MHC bestimmen. Dabei wird deutlich, dass für die Untersuchung der Krankheitsassoziationen von HLA-DPB1 die Typisierung einer Kontrollgruppe mit gegenüber den Patienten gleicher ethnischer und geographischer Herkunft notwendig ist.

5.3. HLA-Assoziation der CLL

Die vorgelegten Resultate unterstreichen die Bedeutung der DNA-Typisierung für die Untersuchung von HLA-Krankheitsassoziationen. Mittels serologischer Methoden war unter den untersuchten Patienten keine HLA-Assoziation der CLL nachweisbar, während anhand der DNA-Typisierung für mehrere HLA-Allele eine Assoziation demonstriert wurde. Frühere serologische Untersuchungen ergaben verschiedene HLA-Assoziationen der CLL, ohne dass ein eindeutiger Zusammenhang bestätigt werden konnte (Cuttner et al., 1994; Delmas-Marsalet et al., 1974; Dyer et al., 1986; Jones und Whittaker, 1991; Kilpatrick et al., 1984; Linet et al., 1988; Nunez-Roldan et al., 1982; Richter et al., 1973). Keine der beschriebenen Assoziationen konnte durch die vorliegende Studie bestätigt werden. Dagegen wurden Unterschiede in der Verteilung der HLA-Merkmale unter CLL-Patienten und gesunden Probanden aus Sachsen-Anhalt insbesondere für Allele der HLA-Klasse-II-Gene beobachtet. Die unter CLL-Patienten erhöhte Frequenz des Allels HLA-DRB4*0103 war bei Vergleich der Gesamtgruppen der einzige auch nach Korrektur signifikante Unterschied. Gleichzeitig bestand ein deutlicher, allerdings nach Korrektur nicht signifikanter Frequenzunterschied für HLA-DRB1*0401. Dies kann in Anlehnung an frühere Beobachtungen durch Dorak et al. als positive Assoziation der CLL mit dem Haplotyp HLA-DR4:DR53 interpretiert werden (Dorak et al., 1996). Diese Annahme wird durch das CLL-spezifische Kopplungsungleichgewicht der Kombination HLA-DRB1*0401:DRB4*0103 unterstützt, die möglicherweise auch der Beobachtung von Dorak et al. zugrunde lag.

Für die Allelkombination HLA-DRB1*0401:DQB1*0302 wurde sowohl eine positive Assoziation mit der CLL als auch ein gegenüber den Kontrollen stärkeres Kopplungsungleichgewicht unter CLL-Patienten beobachtet. Diese Allele sind Bestandteil des Haplotyps HLA-DR4:DQ8, für den eine Kopplung unter kaukasoiden Probanden beschrieben ist (Baur et al., 1984; Ikaheimo et al., 1996). Ausgehend von der positiven Assoziation der CLL mit der Allelkombination HLA-DRB1*0401:DRB4*0103 führt dies zu der Schlußfolgerung, dass die beobachtete CLL-Assoziation von HLA-DQB1*0302 das Resultat einer positiven Assoziation der CLL mit dem erweiterten Haplotyp HLA-DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 ist. Eine Assoziation dieses Haplotyps sowohl mit Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (IDDM) als auch mit Rheumatoider Arthritis (RA) wurde berichtet (Taneja et al., 1996; Yasunaga et al., 1996). Der Haplotyp HLA-DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 ist Bestandteil des kaukasoiden Haplotypes HLA-Cw3:B62:DR4:DQ8 (Ikaheimo et al., 1996). Es wurde jedoch in dieser Studie keine Assoziation der CLL mit den Merkmalen HLA-Cw*03 und -B*62 beobachtet. Die erhöhte Frequenz der Allelkombination HLA-Cw*03:B*62:DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 unter CLL-Patienten ist daher auf ein Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-Klasse-I- und

-II-Merkmalen innerhalb des Haplotypes HLA-Cw3:B62:DR4:DQ8 zurückzuführen. Auch für diesen Haplotyp wurde eine positive Assoziation mit IDDM und spezifischen Formen der RA berichtet (Ollier et al., 1984; Tienari et al., 1992). Die für die ALL, AML und CML beschriebene Assoziation mit HLA-Cw3 (Bortin et al., 1987; De Moor et al., 1988) konnte in der vorliegenden Untersuchung für die CLL nicht bestätigt werden. Allerdings erfolgte in den früheren Studien keine DNA-Typisierung und Haplotypanalyse. Eine Assoziation dieser Leukämieformen mit HLA-Cw3-gekoppelten Klasse-II-Allelen des Haplotyps HLA-Cw*03:B*62:DR4:DR52:DQ8 blieb dadurch möglicherweise unentdeckt.

Auffällig war die Assoziation der CLL mit HLA-Merkmalen und Haplotypen, für die auch eine Assoziation mit Autoimmunerkrankungen besteht. In diesem Zusammenhang ist die erhöhte Rate an lymphoproliferativen Erkrankungen und Leukämien unter RA-Patienten bemerkenswert (Cibere et al., 1997; Prior, 1985). Bei keinem der untersuchten CLL-Patienten war eine Erkrankung an IDDM, RA oder eine zytotoxische Behandlung im Rahmen einer Autoimmunerkrankung bekannt. Eine Überschneidung dieser HLA-assoziierten Erkrankungen oder eine Ätiologie der CLL infolge Medikamenten-induzierter Immunsuppression ist daher unwahrscheinlich. Es kann geschlussfolgert werden, dass für die CLL, IDDM und RA eine Assoziation mit identischen HLA-DRB- und -DQB1-Allelen des HLA-Cw3:B62:DR4:DR53:DQ8-Haplotyps besteht. Dies lässt vermuten, dass ähnliche Mechanismen an der Pathogenese dieser unterschiedlichen Krankheiten beteiligt sind. Diese Schlussfolgerung steht im Einklang mit der bekannt hohen Rate an Autoimmunphänomenen der CLL-Erkrankung (Dighiero et al., 1991).

Eine gegenüber der Kontrollgruppe im Sinne einer negativen Assoziation verringerte Frequenz wurde unter CLL-Patienten nur für das Allel HLA-DQB1*0202 beobachtet. Da dieser Unterschied nach Korrektur seine Signifikanz verlor, ist zu vermuten, dass die untersuchten MHC-Gene keinen protektiven Einfluss in der Pathogenese der CLL besitzen. Dieses Ergebnis belegt zugleich die Qualität der Typisierungsergebnisse, da bei einem systematischen Fehler eine gleichmäßige Streuung der positiven und negativen Assoziationen zu erwarten gewesen wäre.

In einer serologischen Untersuchung beschrieben Pawelec et al. (Pawelec et al., 1989) eine verringerte Frequenz des Merkmals HLA-DPw1 und eine erhöhte Frequenz der PLT-Spezifität HLA-DPw-blank unter CLL-Patienten. Dies kann für die in dieser Arbeit untersuchte Patientengruppe nicht bestätigt werden. Die nach Korrektur nicht signifikante Frequenzerhöhung des Allels HLA-DPB1*0301 war der einzige Unterschied in der Verteilung der erstmals in einer Gruppe von CLL-Patienten typisierten HLA-DPB1-Allele. Angesichts der bereits diskutierten hohen Varianz der Frequenz des Allels HLA-DPB1*0301 in kaukasoiden Bevölkerungen ist

eine Interpretation dieses Ergebnisses schwierig. Für den Morbus Hodgkin konnte eine schwache positive Assoziation mit HLA-DPB1*0301 in mehreren Studien belegt werden (Bateman und Howell, 1999; Klitz et al., 1994; Oza et al., 1994). Analog zur HLA-Assoziation des M. Hodgkin erhöht HLA-DPB1*0301 das Risiko einer CLL-Erkrankung um den Faktor Zwei. Für HLA-DPB1*0301 wurde darüber hinaus eine positive Assoziation mit seronegativer RA (Gao et al., 1991a), IDDM bei Patienten aus Mexiko (Erlich et al., 1996), Zöliakie (Bugawan et al., 1989) sowie mit Primärer biliärer Zirrhose (Mella et al., 1995) beschrieben. Analog zu den HLA-DR- und -DQ-Assoziationen scheinen somit für CLL und Autoimmunerkrankheiten Assoziationen mit identischen HLA-DPB1-Allelen zu bestehen. Zahlreiche Untersuchungen lassen jedoch vermuten, dass die relativ schwachen Assoziationen dieser Autoimmunerkrankungen mit HLA-DPB1*0301 auf Krankheitssubtypen beschränkt sind oder nur in bestimmten Populationen vorliegen. So wurde z. B. von Perdringer et al. eine Assoziation von HLA-DPB1*0401 mit ausschließlich seropositiver RA berichtet (Perdringer et al., 1992). Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchung von Erlich et al. unter mexikanischen Patienten fanden Yamagata et al. keine Assoziation von HLA-DPB1-Allelen mit IDDM in einer Gruppe japanischer Patienten (Yamagata et al., 1991). Darüber hinaus existierte in der vorliegenden Studie für keine der Kombinationen zwischen HLA-DPB1*0301 einerseits und den weiteren CLL-assoziierten Allelen andererseits ein signifikantes Kopplungsungleichgewicht. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass das mit HLA-DPB1*0301 verbundene erhöhte Erkrankungsrisiko für CLL unabhängig von den anderen CLL-assoziierten Allelen vorliegt. Abschließend ist festzustellen, dass sich die CLL hinsichtlich ihrer HLA-Assoziation von der mit HLA-A11 (Orgad et al., 1988), -B40 (Cameron et al., 1990), und -DPB1*0201 (Taylor et al., 1995) assoziierten Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) unterscheidet. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der unterschiedlichen Pathologie und Ätiologie dieser beiden lymphoproliferativen Erkrankungen.

Für keines der CLL-assoziierten Merkmale wurde eine phänotypische Frequenz von 100 % unter CLL-Patienten beobachtet. Es ist daher wahrscheinlich, dass diese HLA-Merkmale keinen notwendigen Faktor in der Pathogenese der CLL darstellen, sondern die Erkrankungssuszeptibilität erhöhen. Dabei sind mehrere pathogenetische Mechanismen vorstellbar. Zum einen ist eine HLA-assoziierte infektiöse Pathogenese möglich, wie sie z. B. im Falle der Ankylosierenden Spondylitis aufgrund einer Sequenzhomologie zwischen *Klebsiella-pneumoniae*-Proteinen und dem assoziierten HLA-Merkmal B*27 vermutet wird (MacLean, 1992). Es wurde demonstriert, dass HLA-Moleküle Viren als Rezeptor für eine Infektion der Zelle dienen können (Helenius et al., 1978). Allerdings ist eine viral induzierte maligne Transformation nur für murine und bovine Leukämie-Modelle (van Eijk et al., 1992; Zijlstra und Melief, 1986) nachgewiesen, während für die humane CLL bisher keine virale Pathogenese belegt ist (Faguét, 1994).

Eine andere Erklärung zur HLA-Assoziation von Tumorerkrankungen basiert auf der Beobachtung, dass maligne Zellen eine reduzierte Expression von MHC-Molekülen aufweisen (Finke et al., 1999; Vegh et al., 1993). Dazzi et al. konnten zeigen, dass CLL-B-Lymphozyten eine reduzierte Fähigkeit zur Antigenpräsentation besitzen, die allerdings nicht mit der HLA-Klasse-II-Expressionsdichte korreliert (Dazzi et al., 1995). Eine mögliche Erklärung besteht in dem gegenüber normalen B-Lymphozyten erhöhten Anteil der p35-Form der Invarianten Kette in CLL-Lymphozyten. Diese scheint mit den α - und β -Ketten der MHC-Moleküle stabile Trimere zu bilden und so eine Peptidpräsentation zu behindern (Veenstra et al., 1996). Ungeklärt ist allerdings, ob diese Anti-Tumor-Anergie der CLL an spezifische HLA-Allele gekoppelt ist, wie dies z. B. für die spezifisch mit HLA-B*07 assoziierte, reduzierte Präsentation von Tumorantigenen bei Zervixkarzinomen bekannt ist (Ellis et al., 1995). Neuere Untersuchungen zeigen, dass HLA-Klasse-I-Moleküle als inhibitorische Liganden für Natural-Killer-Lymphozyten fungieren und eine durch diese induzierte Zelllyse verhindern (Colonna et al., 1993). Eine ähnliche Funktion wurde für die von Lymphom-Zelllinien exprimierte HLA-Klasse-II-Moleküle nachgewiesen (Lobo und Patel, 1994). Allerdings ist auch für diesen HLA-assozierten Mechanismus der Tumorphogenese ein allelspezifischer Zusammenhang nicht belegt.

Die dargestellten pathogenetischen Mechanismen der HLA-Krankheitsassoziationen sind an das exprimierte HLA-Molekül gebunden und müssen daher mit den Strukturmerkmalen der HLA-Moleküle in Zusammenhang stehen. So ist z. B. für den IDDM eine Abhängigkeit der HLA-assozierten Suszeptibilität von der elektrischen Ladung der Aminosäureposition 57 der HLA-DQ β -Kette belegt (Horn et al., 1988). Aus der Aminosäuresequenz der HLA-DRB- und -DQB-Allele lässt sich eine Assoziation der CLL sowohl mit der spezifischen Besetzung der Aminosäureposition 67 und 70 - 71 der HLA-DR β 1-Kette als auch mit der Aminosäureposition 57 der HLA-DQ β 1-Kette vermuten. Diese Aminosäurepositionen liegen im Bereich der Peptidbindenden-Grube und sind daher entscheidend für die Fähigkeit zur Antigenpräsentation. Eine Relevanz der Peptidpräsentation und T-Zell-Aktivierung für die CLL-Pathogenese ist daher denkbar. Dagegen besteht im Fall des CLL-assozierten HLA-DRB4*0103-Allels kein offensichtlicher Zusammenhang mit der Fähigkeit zur Antigenpräsentation. Die Allele HLA-DRB4*0101 und -DRB4*0103 unterscheiden sich nur in der Sequenz der Aminosäureposition 135 im Bereich der β 2-Domäne, die nicht an der Bildung der Peptidbindenden-Grube beteiligt ist. Inwiefern diese Aminosäureposition die Interaktion mit dem Korezeptor CD4 bestimmt, ist ungeklärt. Einschränkend ist festzuhalten, dass die für die Typisierung der HLA-DRB- und -DQB1-Merkmale verwendete PCR-SSP keine definitive Aussage über die HLA-DR β - und -DQ β -Sequenzen außerhalb der Primeregionen erlaubt. Dagegen wurde bei der PCR-SSO-Typisierung der HLA-DPB1-Allele eine unter CLL-Patienten erhöhte Frequenz von Allelen

gefunden, die an Position 69 für die basische Aminosäure Lysin anstatt der neutralen Aminosäure Glycin kodieren und zugleich an Position 65 ein für Isoleucin kodierendes Codon aufweisen. Díaz et al. konnten zeigen, dass der Position 69 der HLA-DP β 1-Kette eine entscheidende Bedeutung bei der Peptidpräsentation und der Aktivierung von T-Zellen zukommt (Díaz et al., 1998). Dies lässt auf eine Rolle der HLA-DP-restringierten T-Zell-Aktivierung in der Pathogenese der CLL als auch der mit HLA-DPB1*0301 assoziierten Autoimmunkrankheiten schließen. Dabei ist auch eine infektiöse Genese, wie sie im Falle der Assoziation von HLA-DPB1*0201 mit juveniler common-ALL vermutet wird, denkbar (Taylor et al., 1995).

Eine prinzipiell andere Hypothese zur Erklärung der HLA-Assoziation von Krankheiten basiert auf der Kopplung von HLA-Allelen mit anderen, noch nicht identifizierten, pathogenetisch relevanten Genen. Dabei ist insbesondere ein Kopplungsungleichgewicht mit den LMP-, TAP-, HLA-DM- und MHC-Klasse-III-Genen interessant. So wurde bereits eine Assoziation des polymorphen LMP2-Gens mit bestimmten Formen der RA demonstriert (Pryhuber et al., 1996). Einen Ansatz zur Erklärung des pathogenetischen Hintergrundes des beobachteten Zusammenhangs zwischen CLL und MHC-Allelen bietet die beschriebene Assoziation der CLL mit dem Allel TNF1 des polymorphen MHC-Klasse-III-Merkmals TNF- α (Demeter et al., 1997). Einerseits sind haplotypische Kopplungen zwischen HLA-Merkmalen und TNF-Allelen bekannt (Wilson et al., 1993). Andererseits ist für CLL-Lymphozyten eine autokrine Sekretion von TNF- α mit nachfolgender Stimulation der malignen klonalen Proliferation nachgewiesen (Hoffbrand et al., 1993). Somit wäre eine mit bestimmten HLA-Allelen assoziierte Expression spezifischer TNF- α -Allele denkbar, die eine maligne klonale Proliferation begünstigen.

Neben einer direkten Beteiligung an der Pathogenese der CLL ist auch eine Assoziation von HLA-Merkmalen mit Unterschieden in der Ausprägung und Progression der CLL-Erkrankung in Betracht zu ziehen. Sowohl das Geschlecht als auch das Alter der Patienten stehen in Zusammenhang mit der Prognose der CLL-Erkrankung (Catovsky et al., 1989). Männliche Patienten sowie früh erkrankte Patienten besitzen ein höheres Risiko, an den Folgen der CLL zu versterben. Die beobachteten Assoziationen zwischen HLA und CLL in Abhängigkeit vom Geschlecht und Alter der Patienten bei Erstdiagnose lassen darauf schließen, dass der HLA-Typ des Patienten im Zusammenhang mit der Prognose der Krankheit steht. Auffällig war, dass die Assoziation mit HLA-DRB4*0103 sich in allen Patientengruppen unabhängig vom Geschlecht und Alter bei Erstdiagnose widerspiegelte. Dies ist auch als ein Hinweis zu werten, dass die beobachtete Assoziation mit dem Haplotyp HLA-DRB1*0401:DRB4*0103:DQB1*0302 insbesondere durch das HLA-Allel DRB4*0103 geprägt wird. Inwiefern die fehlende Assoziation für HLA-DRB1*0401 und -DQB1*0302 unter früh erkrankten männlichen Patienten im Zusam-

menhang mit der schlechteren Prognose dieser Patienten steht, bedarf weiterer Untersuchungen. Ebenso ist die ausschließlich unter spät erkrankten Patienten verringerte Frequenz von HLA-DQB1*0201 schwierig zu interpretieren. Allerdings wird mit dem Auftreten der Frequenzunterschiede für HLA-DQB1*0201 und -DQB1*0302 in unterschiedlichen Patientengruppen deutlich, dass es sich bei den für diese Allele in der Gesamtgruppe beobachteten Differenzen nicht um kompensatorische Unterschiede infolge von Typisierungsfehlern handelte. Interessant ist die positive Assoziation der Merkmale HLA-Cw*06 und -B*18 in Abhängigkeit vom Erkrankungsalter der Patienten. Es kann einerseits vermutet werden, dass die in früheren Studien unter kaukasoiden Patienten beschriebene positive Assoziation der CLL mit den Antigenen HLA-Cw6 (Linnet et al., 1988) und -B18 (Richter et al., 1973) durch einen hohen Anteil von früh bzw. spät erkrankten Patienten in der jeweiligen Studie resultierte. Andererseits war zum Zeitpunkt der Studie von Richter et al. eine Typisierung von HLA-Cw6 nur unzureichend möglich. Angesichts der bekannten Kopplung zwischen HLA-B18 und -Cw6 (Ikäheimo et al. 1996) bleibt es daher offen, inwiefern den Ergebnissen von Richter et al. möglicherweise eine Frequenzerhöhung von HLA-Cw6 zugrunde lag. Die Aussagefähigkeit der in der vorliegenden Arbeit beobachteten Ergebnisse hinsichtlich des Erkrankungsalters der Patienten ist jedoch eingeschränkt, da die Kontrollgruppe nicht die Altersstruktur der gesunden Bevölkerung widerspiegelte. Dies ist von Bedeutung, da über Assoziationen zwischen HLA-Merkmalen und der menschlichen Lebenserwartung berichtet wurde (Dorak et al., 1994b).

Auffällig war der auch nach Korrektur signifikant höhere Anteil an HLA-DRB3/4/5- und -DQB1-Homozygotien unter weiblichen CLL-Patienten. Diese Beobachtung erinnert an die von Dorak et al. berichtete Frequenzerhöhung von HLA-DR53-Homozygotien bei an Chronisch Myeloischer Leukämie (CML) erkrankten Patienten und bei an juveniler common-ALL erkrankten männlichen Patienten (Dorak et al., 1994a; Dorak et al., 1995). Die Hypothese einer Assoziation von MHC-Klasse-II-Homozygotie mit erhöhtem CLL-Risiko wird durch weitere Beobachtungen gestützt. Der erhöhte Anteil von CD5⁺ B-Lymphozyten bei H-2^Z-homozygoten New-Zealand-Mäusen deutet auf einen Zusammenhang zwischen MHC-Homozygotie und dem Risiko der klonalen Proliferation von CD5⁺ Lymphozyten hin (Okamoto et al., 1993). Weiterhin wurde über eine erhöhte Frequenz von viral induzierten B-Zell-Lymphomen bei H-2 homozygoten Mäusen berichtet (Lilly et al., 1964; Vasmel et al., 1988). Ausgehend vom murinen Modell könnte für die CLL eine virale Infektion oder deren unzureichende immunologische Abwehr bei infolge einer HLA-Homozygotie vermindertem Spektrum der Antigenpräsentation pathogenetisch relevant sein. Andererseits kann ebenfalls ein Kopplungsungleichgewicht von HLA-Allelen mit benachbarten, für die Prognose der CLL relevanten rezessiven MHC-Genen vorliegen. So wurde für Non-Hodgkin Lymphome, zu denen auch die CLL gezählt wird, gezeigt, dass

eine enge Assoziation der Prognose der Erkrankung sowohl mit der TNF- α -Expression als auch mit dem Allel-Polymorphismus des TNF- α -Gens besteht (Salles et al., 1996; Warzocha et al., 1998). Weiterhin ist auch ein Zusammenhang zwischen HLA-assoziierten, geschlechtsabhängigen Hormonspiegeln und der Pathogenese von Leukämien zu berücksichtigen. So wurde eine Assoziation von HLA-Cw3 mit erhöhten Transcortinwerten bei Patienten mit lymphatischen Leukämien und Non-Hodgkin-Lymphomen berichtet (De Moor et al., 1988).

Diese Überlegungen verdeutlichen die Komplexität der nur unvollständig verstandenen Pathogenese der CLL. Aus Sicht des Autors stellen die CLL-assoziierten HLA-Merkmale keinen für die Erkrankung notwendigen pathogenetischen Faktor dar, sondern prägen auf bisher nicht verstandene Weise das Erkrankungsrisiko sowie den Krankheitsverlauf. Die zahlreichen und zumeist schwachen HLA-Assoziationen der CLL sowie die Analogien mit der HLA-Assoziation von Autoimmunerkrankungen stimmen mit der Hypothese überein, dass bei der Pathogenese der CLL eine initiale Antigen-vermittelte Proliferation von B-Lymphozyten vorliegt, die nach einem mehrstufigen Mutationsprozess in einer malignen, monoklonalen Transformation resultiert (Gale et al., 1994). Gleichzeitig unterstützen die vorgelegten Ergebnisse auch die These, dass es sich bei der CLL um eine heterogene Erkrankung handeln könnte (Schroeder und Dighiero, 1994).

Zusammenfassend wird deutlich, dass:

- 1.) Die für alle Patienten beobachtete positive Assoziation der CLL mit HLA-DRB4*0103 und die CLL-spezifischen Kopplungen von Allelen des HLA-DR4:DR53:DQ8-Haplotypes auf eine Beteiligung der HLA-Merkmale an der Pathogenese der CLL hindeuten.
- 2.) Die für weibliche Patienten festgestellte positive Assoziation von HLA-DRB3/4/5- und HLA-DQB1-Homozygotie auf einen Zusammenhang zwischen MHC-Genen und geschlechtsspezifischem Erkrankungsrisiko hinweist.
- 3.) Die Assoziation von HLA-DPB1*0301 eine von den HLA-DR- und -DQ-Merkmalen unabhängigen Suszeptibilitätsfaktor in der zentromeren Region des MHC vermuten lässt.
- 4.) Die Assoziationen von CLL und Autoimmunerkrankungen mit identischen HLA-Merkmalen auf eine Immunpathogenese der CLL schließen lassen.

6. Zusammenfassung

Für verschiedene Krankheiten gilt ein Zusammenhang zwischen HLA-Merkmalen und Erkrankungsrisiko als gesichert. Die Entwicklung und Aktivierung spezifischer zellulärer und humoraler Effektormechanismen der erworbenen Immunität ist von der selektiven Präsentation antige-