

Aus der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haumerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand : Prof. Dr. med. D. Reinhardt

***MIKROSATELLITENANALYSE BEI DER
JUVENILEN CHRONISCHEN ARTHRITIS***

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alina Isabell Werner

aus

Augsburg

2002

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. E.D. Albert
Mitberichterstatter	Prof. Dr. S. Stengel-Rutkowski Prof. Dr. S. Schewe
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	17.10.2002

Inhaltsverzeichnis

I. Theoretische Grundlagen

I.A. Das Krankheitsbild der Juvenilen Chronischen Arthritis (JCA)	S.1
I.A.1. Geschichtliches	S.1
I.A.2. Pathogenese der JCA	S.1
I.A.3. Diagnose der JCA	S.3
I.A.3.1. Nach EULAR/ WHO Kriterien	
I.A.3.2. Laboruntersuchungen	
I.A.4. Einteilung der JCA	S.5
I.A.4.1. Systemische JCA	
I.A.4.2. Seropositive Polyarthritis (SPP-JCA)	
I.A.4.3. Seronegative Polyarthritis (SNP-JCA)	
I.A.4.4. Oligoarthritische JCA mit frühkindlichem Krankheitsbeginn (EOPA-JCA)	
I.A.4.5. Juvenile Ankylosierende Spondarthritis (JAS)	
I.A.5. Therapie und Prognose der JCA	S.8
I.B. Der Major Histokompatibilitäts Komplex (MHC)	S.9
I.B.1. Historisches	S.9
I.B.2. Lage und Nomenklatur	S.9
I.B.3. HLA-Klasse I	S.13
I.B.3.1. Genort	
I.B.3.2. Molekularstruktur des Antigens	
I.B.3.3. Funktion	
I.B.4. HLA-Klasse II	S.15
I.B.4.1. Genort	
I.B.4.2. Molekularstruktur des Antigens	
I.B.4.3. Funktion	
I.B.5. HLA-Klasse III	S.16
I.B.6. Vererbungsmodus der HLA-Gene	S.16
I.B.7. Häufigkeitsverteilung der einzelnen HLA-Gene	S.17
I.B.8. Kopplungsungleichgewichte	S.17
I.B.9. Klinische Anwendung des MHC	S.17
I.B.9.1. Transplantationsmedizin	
I.B.9.2. MHC und Krankheitsassoziationen	
I.C. Mikrosatelliten	S.20
I.C.1. Allgemeines	S.20
I.C.2. MICA	S.21
I.C.3. D6S 265	S.23
I.C.4. D6S 273	S.24
I.C.5. D6S 291	S.24
I.C.6. MOGa	S.24

I.D. Zielsetzung	S.25
------------------	------

II. Material und Methoden

II.A. Material	S.25
II.A.1. Patienten	S.25
II.A.2. Kontrollen	S.26
II.B. Methoden	S.26
II.B.1. Klasse-I-Typing	S.26
II.B.2. Klasse-II-Typing	S.27
II.B.3. Mikrosatellitenanalyse	S.27
II.B.3.1. DNA Extraktion	
II.B.3.2. Konzentrationsbestimmung	
II.B.3.3. Polymerase-Chain-Reaction	
II.B.3.3.1. Ansatz	
II.B.3.3.2. Primer	
II.B.3.3.3. Cyclebedingungen	
II.B.4. Kontrolle auf Agarose-Gel	S.31
II.B.5. Genscanning	S.32
II.B.5.1. Herstellung des Acrylamid-Gels	
II.B.5.2. Vorbereitung der Proben	
II.B.5.3. Genscanning im Sequenzer	
II.C. Statistische Auswertung	S.35
II.C.1. Voraussetzungen	
II.C.2. Tests	
II.C.2.1. Chi ² -Test	
II.C.2.2. Relatives Risiko (RR)	
II.C.2.3. Ethiologische Fraktion (EF)	
II.C.2.4. Fisher-Exakt-Test	
II.C.2.5. Genfrequenzen	
II.C.2.6. Haplotypenberechnungen und Kopplungsungleichgewichte	
II.C.2.6.1. Zwei-Punkt-Haplotypenberechnungen und Kopplungsungleichgewichte	
II.C.2.6.2. Drei-Punkt-Haplotypenberechnungen und Kopplungsungleichgewichte	

III. Ergebnisse

III.A. Allelfrequenzen	S.42
III.A.1. MICA	
III.A.2. D6S 265	
III.A.3. D6S 273	
III.A.4. D6S 291	
III.A.5. MOGa	

III.B. Zwei-Punkt-Assoziationen	S.51
III.B.1. Zwei-Punkt-Assoziationen von MICA	
III.B.2. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 265	
III.B.3. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 273	
III.B.4. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 291	
III.B.5. Zwei-Punkt-Assoziationen von MOGa	
III.C. Drei-Punkt-Assoziationen	S.57
III.D. Segregationsanalyse	S.64
IV. Diskussion	S.86
V. Zusammenfassung	S.94
VI. Literaturverzeichnis	S.96
VII. Abkürzungen	S.104
VIII. Hersteller- und Firmennachweis	S.105
IX. Danksagung	S.106
X. Lebenslauf	S.107
XI. Anhang	S.108

I.Theoretische Grundlagen

I.A. Das Krankheitsbild der Juvenilen Chronischen Arthritis (JCA)

I.A.1. Geschichtliches

Seit Charcot 1853 den Begriff der “primären chronischen Polyarthritits“ prägte, hat es viele verschiedene Versuche zur Beschreibung dieses Krankheitsbildes gegeben. Die ersten Veröffentlichungen von Cornil (1864) und Diamantberger (1890) erkannten bereits die Ursache der Erkrankung in einer Entzündung der Synovialmembran der Gelenke. Still äußerte sich in einer 1897 veröffentlichten Arbeit mehr über die systemischen Anzeichen der juvenilen Arthritis. In der nachfolgenden Zeit machten sich vor allem Baywaters, Ansell und Stoeber einen Namen auf dem Gebiet der Rheumaforschung, bis schließlich 1977 in Oslo eine Konferenz der European League of Antirheumatism, kurz EULAR, den Diskussionen um eine einheitliche Bezeichnung der Krankheit ein Ende machte, und man sie nun fortan im europäischen Raum “Juvenil Chronische Arthritis (JCA)“ nannte. Auch einigte man sich in Oslo auf drei Kriterien, die die Diagnosestellung der JCA erleichtern sollten. Sie basieren auf den von Ansell und Baywaters 1959 entwickelten „Taplow Kriterien“, und werden weiter unten beschrieben.

I.A.2. Pathogenese der JCA

Man geht heute davon aus, dass es sich bei der JCA um eine der sog. Autoimmunerkrankungen handelt, auch wenn die dabei ablaufenden Mechanismen bis heute nicht geklärt sind.

Am Beginn steht eine, wahrscheinlich immunologisch ausgelöste Entzündung der Synovialmembran, bei der ein sog. Pannus im Gelenksraum entsteht. Dabei handelt es sich um proliferierendes Granulationsgewebe, das weitgehend aus Fibroblasten und Monozyten besteht. Der Gelenkspalt füllt sich weiterhin mit einem serofibrösen Exudat, worauf es in der Folge dieser chronischen Entzündung zunächst zu einer Zerstörung des Knorpels und dann des Gelenkknorpels kommt. Symptomatisches Korrelat sind die Überwärmung, Schwellung, Schmerzen und Bewegungseinschränkung des betroffenen Gelenks. Im weiter fortgeschrittenen Stadium kann das Gelenk völlig zerstört werden. Es bildet sich unter

Umständen zunächst eine Pseudoarthrose mit nachfolgendem knöchernen Umbau zur Ankylose, die eine totale Versteifung des Gelenks bedeuten würde.

Von immunologischer Seite weiß man, dass die Ursache für diese destruiierende Entzündung in einer Reaktion der veränderten Synovialzellen gegen eigenes Gewebe, eine sog. autologe Entzündung liegt.

Man geht dabei vom Zusammenspiel verschiedener immunologischer Prozesse aus.

Verschiedene Publikationen vermuteten einen Zusammenhang, wie bei der reaktiven Arthritis, mit bestimmten Erregern. So ist es, z. B. erwiesen, dass viele der Patienten erhöhte Antikörpertiter für das Epstein-Barr-Virus, bestimmte Influenza-Stämme oder Coxsackie B haben. Bei einigen JCA-Patienten fand man Rubella-Antigene auf den B-Lymphozyten, und eine weitere Studie zeigte eine erhöhte T-Zell-Aktivität gegen ein Membranprotein von Mykobakterien. Man schloss deshalb zumindest eine gewisse Mitbeteiligung dieser Erreger am Ausbruch der Krankheit nicht aus. (86,107)

In Bezug auf die zelluläre Immunität fand man einige bemerkenswerte Zusammenhänge bei der Untersuchung der rheumakranken Kinder. So ist die Zahl der T-Lymphozyten insgesamt zwar nicht erhöht, die Zahl der CD8+ im Vergleich zu den CD4+ T-Zellen jedoch um ein Vielfaches. Des weiteren scheint die Zahl der HLA-Klasse II exprimierenden T-Zellen erhöht zu sein, und wieder andere Zellen, wie z. B. Makrophagen, dendritische Zellen, Endothelzellen und transformierte Synovialzellen exprimieren HLA-Antigene, was gerade die beiden letzteren beim Gesunden nicht tun. Die Zahl der Natürlichen Killerzellen (NK) ist beim JCA-Kranken erhöht, sowohl im Gelenkpunktat als auch im peripheren Blut. Die Zahl korreliert wie auch die Konzentration von Interleukin 1 mit dem Krankheitsverlauf. (46)

IL 1 wird bei nahezu allen Patienten in erhöhten Konzentrationen gefunden, es vermittelt die Bildung von Akut-Phasen-Proteinen und Prostacyclin 2, aktiviert das Amyloidose Protein SAA und führt zusammen mit PGI 2 zur Freisetzung von proteolytischen Enzymen und Radikalen, die wiederum die Zerstörung der Proteoglykoaminoglykansubstanz des Gelenkknorpels zur Folge hat. Die beiden Zytokine stimulieren außerdem den Knochenabbau durch osteoklastenaktivierende Faktoren. (58)

IL 2 ist dagegen im Serum der Patienten in geringeren Konzentrationen als bei Gesunden vorhanden, was auf einen Defekt in der Reaktionskette der Kranken schließen lässt. Denn normalerweise stimuliert IL 1 die Bildung von IL 2. IL 2 stimuliert die Differenzierung und das Wachstum der T-Zellen, der niedrigere IL 2 Spiegel könnte also ein möglicher Grund für die verschobenen Verhältnisse bei den T-Zellen sein. Da IL 2 auch die Immunglobulinbildung

der B-Zellen fördert, und diese trotzdem bei gleichbleibender B-Zell-Zahl erniedrigt ist schließen Muraguchi und Tsokos, dass der JCA Kranke abnormale B-Zellen besitzt, während Nawata die hohe Konzentration an Immunglobulinen auf die gesteigerte IL 6 Produktion der Synovialmembran zurückführt. (138,139,96)

Bei den Interferonen ist lediglich in der Gruppe der Systemischen JCA das α -Interferon erhöht, während bei allen Patienten das γ -Interferon unverändert oder leicht erniedrigt ist.

Auch TNF- α ist bei den erkrankten Kindern erniedrigt im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen.

Die beschriebenen Veränderungen gerade bei der Expression der HLA-Antigene in den betroffenen Geweben lassen den Schluss auf eine genetische Determinante als Ursache der Krankheit zu. Verschiedene Arbeiten haben bereits den Nachweis für das überdurchschnittlich häufige Auftreten einiger HLA-Merkmale erbracht. (2,3,6,12,42,97,125) Es war das Ziel dieser Arbeit weitere spezifische genetische Marker für die JCA zu identifizieren.

I.A.3. Diagnose der JCA

I.A.3.1. Nach EULAR / WHO Kriterien

Die Diagnose einer JCA gilt nach der Definition der EULAR und der WHO als gesichert, wenn

1. der / die PatientIn bei Beginn der Krankheit unter 16 Jahre alt ist
2. eine persistierende oder rezidivierende Arthritis von einem oder mehreren Gelenken für mindestens drei Monate besteht, also folgende Symptome vorliegen: Gelenkschwellung und Schmerzen und / oder Bewegungseinschränkung und / oder Überwärmung
3. differentialdiagnostisch andere Krankheiten ausgeschlossen wurden

(3,135,144)

Darüber hinaus treffen auf die JCA viele der klassischen Symptome der Rheumatoiden Arthritis zu, wie z.B. die bekannte Morgensteifigkeit, der Schmerzgipfel in den Morgenstunden und die Besserung der Beschwerden unter Bewegung. Bei Kindern ist

außerdem besonders gefährlich, dass es aufgrund der starken Schonhaltung der betroffenen Gelenke schon im frühen Stadium zu chronischen Fehlstellungen der Gelenke kommen kann. Extraartikuläre Symptome, wie z.B. Exanthem, generalisierte Lymphadenopathie, Splenomegalie, Vaskulitiden oder die Iridozyklitis treten bei Kindern mit JCA häufiger auf, als bei der Erwachsenenform der RA.

1.A.3.2. Laboruntersuchungen

Serologisch erfolgt unterstützend die Bestimmung einiger Laborparameter, die jedoch je nach Form der JCA variieren. Relativ unspezifisch für die Diagnosestellung, aber ein guter Anhaltspunkt für den Verlauf der Krankheit, ist dabei die Erhöhung der Entzündungsparameter (BSG, CRP, C3, Leukozytose..). Eine wesentlich wichtigere Rolle spielen die immunologischen Parameter, wie z.B. antinukleäre Antikörper (ANA), zirkulierende Immunkomplexe (CIK) und DNA-Antikörper.

In diesem Zusammenhang sind auch die sog. Rheumafaktoren (RF) zu nennen, die der Struktur nach klassischerweise den Immunglobulinen der Klasse IgM angehören, aber auch den übrigen Immunglobulinklassen IgG, IgA und IgE. Sie stellen autologe Antikörper gegen den F_c-Teil von Immunglobulinen der Klasse IgG dar. Ihr Nachweis erfolgt aus dem Serum mit Hilfe des Latex Fixationstests (LFT). Die Aussagekraft der RF ist allerdings begrenzt, da etwa 5 % der Bevölkerung ohne ein rheumatoides Krankheitsbild für den Rheumafaktor positiv sind, und es speziell bei der JCA nur eine kleine Untergruppe gibt, die mit einem positiven RF einhergeht, nämlich die Seropositive Polyartikuläre JCA (5-10% Häufigkeit).

Neben der Diagnosestellung spielen diese immunologischen Marker auch in der Verlaufsbeschreibung eine wichtige Rolle. So findet man, z.B. beim Auftreten einer Iridozyklitis oft einen Anstieg der ANAs im Serum der Patienten.

Als weniger wichtig ist dagegen die Bestimmung von Zytokinen oder die Analyse des Gelenkpunktats einzuordnen, da diese Untersuchungen zum einen sehr aufwendig sind, und zum anderen bis heute noch keine festen Interpretationsschemata vorliegen. Neusten Untersuchungen zu Folge helfen sie jedoch bei der Klärung der Pathogenese der JCA.

Die bekannte Assoziation der JCA mit verschiedenen HLA-Antigenen (z.B. HLA- A2, DRB1*11, DRB1*08 und DPB1*0201) (50) ist der Grund für die gelegentlich durchgeführte HLA-Typisierung der Patienten.

I.A.4. Einteilung der JCA

Man kann die JCA in fünf Gruppen unterteilen, die sich nach der Symptomatik am Beginn der Erkrankung richten:

Systemische JCA (Still Syndrom)

Seropositive Polyarthritis (SPP-JCA)

Seronegative Polyarthritis (SNP-JCA)

Oligoarthritische JCA mit frühkindlichem Krankheitsbeginn (EOPA-JCA)

Juvenile Ankylosierende Spondarthritis (JAS)

I.A.4.1. Systemische JCA

Die Systemische JCA wurde 1897 zum ersten Mal durch Still beschrieben. Der Erkrankungsgipfel liegt bei 2-3 Jahren und das Verhältnis der Geschlechter ist ausgewogen. Mit 10 % Häufigkeit stellt sie eine kleinere Gruppe der JCA dar. Initial tritt charakteristisch einige Monate vor den Gelenksymptomen Fieber von mindestens 39,5 °C und ein typisches Exanthem (Erythema rheumaticum multiforme) auf. Danach kommt es bei 90 % der Kinder zu einer symmetrischen Arthritis, die bei 60 % polyartikulär und bei 40 % oligoartikulär abläuft. Sowohl kleine (Hände) als auch große Gelenke (Hüften) sind dabei gleichermaßen betroffen.

Die häufigsten systemischen Manifestationen sind: Fieber (93,5 %), Exanthem (71 %), Hepatomegalie (77 %), Splenomegalie (58 %), Lymphadenitis mit generalisierter Lymphknotenschwellung (35,8 %), Peri- bzw. Myokarditis (50,8 %), hypochrome Anämie (50 %) und Amyloidose, vor allem der Nieren (14 %). (71)

50 % der Patienten gehen nach diesem ersten Schub in die Remission, wobei dies meistens die Kinder mit oligoarthritischem Verlauf sind, die andere Hälfte leidet an rezidivierenden Schüben der Krankheit, oft mit progredienten Schäden an Organen und Gelenken. Ein Teil dieser Patienten wechselt in die Gruppe der SNP-JCA.

Die Systemische JCA weist mit 14 % die höchste Letalität aller Subgruppen der JCA auf. Die Kinder versterben meistens an Infektionen, z.B. Meningitis purulenta, Nierenversagen, bedingt durch die fortschreitende Amyloidose, oder Myokarditis.

I.A.4.2. Seropositive Polyarthritits (SPP-JCA)

Die Seropositive JCA ist überwiegend eine Krankheit der Mädchen. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt jenseits des 10. Lebensjahres. (40,51) Es tritt eine Polyarthritits von mindestens fünf Gelenken auf, wobei sowohl große (z.B. Knie, Hüfte, Schulter) als auch kleine Gelenke (Hand) betroffen sind. Oft ist auch das atlanto-axiale Gelenk und das Kiefergelenk involviert. (126) Bei dieser Form der JCA kommt es außerdem häufig zur Bildung von subkutanen Rheumaknoten, wie sie auch bei der Erwachsenenform der Polyarthritits auftreten. Man kann sagen, dass die Seropositive JCA sowohl aufgrund ihres klinischen Erscheinungsbildes, als auch durch die Gemeinsamkeit des positiven Rheumafaktornachweises wohl eine frühe Manifestation der RA darstellt. Sie macht 5-10 % der Gesamtzahl der JCA Patienten aus. Zwar haben ca. 90 % dieser Kinder auch ANAs, sie stellen sich allerdings nicht als prognostisch wichtig heraus. Als Komplikationen können unter anderem ein Sjörgen- oder Felty Syndrom oder eine Vaskulitis auftreten. Prognostisch ist die SPP-JCA eher ungünstig, da sie rasch gelenkzerstörend verläuft. (121)

Es bestehen HLA-Assoziationen insbesondere mit HLA-DR 1 und DR 4.(97)

I.A.4.3. Seronegative Polyarthritits (SNP-JCA)

Die Seronegative JCA stellt mit 75 % die häufigste Form der JCA da. Es erkranken zu 2/3 Mädchen, das Manifestationsalter ist breit gestreut, wobei ein früher Beginn prognostisch deutlich günstiger zu sein scheint, da es zu einer Art Selbstlimitierung mit teilweise kompletter Heilung kommen kann. Entsprechend unterteilt man diese Form in eine Gruppe mit Erstmanifestation vor oder nach dem 4. Lebensjahr. (9,14,79,136). Das Befallsmuster ähnelt der SPP-JCA mit mindestens fünf erkrankten Gelenken, große und kleine gleichermaßen, die Fingergelenke sind fast immer betroffen. Seltene Komplikationen sind Iridozyklitis (6-8%), Noduli rheumatici, subfebrile Temperaturen, Lymphadenopathien und hypochrome Anämie (14,51).

Charakteristisch ist außerdem ein verzögertes Längenwachstum der Kinder. Etwa 50% der Patienten entwickeln ANAs, deren Auftreten wiederum mit dem Beginn einer Iridozyklitis vergesellschaftet ist.

Es bestehen HLA-Assoziationen mit HLA-DR 1 und DR 4. (2)

I.A.4.4. Oligoarthritische JCA mit frühkindlichem Krankheitsbeginn (EOPA-JCA)

Der Krankheitsbeginn der early onset pauciarticular (EOPA) JCA liegt innerhalb der ersten sechs Lebensjahre. Es erkranken dreimal so viel Mädchen wie Jungen, und mit 40-50 % stellt sie die zeitgrößte Gruppe innerhalb der JCA dar. Der Rheumafaktor ist bei dieser Form negativ. Der Nachweis von ANA (Antinukleäre Antikörper) ist in dieser Gruppe sinnvoll, da ca. 70 % der Kinder ANA positiv sind, das Auftreten einer Iridozyklitis bei diesen Patienten wahrscheinlicher wird, und diese Gruppe die höchste Inzidenz der Iridozyklitis hat. (38,40) Es gilt durch regelmäßige ophtalmologische Kontrollen und entsprechende Behandlung die schlimmen Folgen, wie

z. B. Sekundärglaukome, Katarakte und Visusverlust bis zur Erblindung, zu verhindern. (76)

Charakteristisch für die EOPA-JCA ist der asymmetrische Befall von bis zu vier Gelenken, vor allem der Sprung- und Kniegelenke, was im fortgeschrittenen Stadium zu Achsenfehlstellungen, Längenwachstumsstörungen und damit zu schwersten Behinderungen führen kann. (92)

Im Verlauf teilt sich die Gruppe der EOPA-JCA in eine Gruppe (ca. 1/3), die in völlig Remission geht, eine Gruppe, die in das Bild der SNP-JCA wechselt und ein weiteres Drittel, das in der Gruppe verbleibt. (14)

HLA-Assoziationen ließen sich zu HLA A2, DR 5, DRw 8 und DPw 2 nachweisen. (2,12,127)

I.A.4.5. Juvenile Ankylosierende Spondarthritis (JAS)

Die JAS wird auch als Typ II der Oligoarthritischen JCA bezeichnet. Es erkranken hier im Gegensatz zur EOPA-JCA zu 70 % Jungen, und der Erkrankungsbeginn liegt jenseits des 6. Lebensjahres. (70) Auch hier ist der Rheumafaktor negativ, genauso wie der Nachweis von ANAs. Das Befallmuster zeichnet sich durch die überwiegende Erkrankung der großen Gelenke der unteren Extremität (Hüft-, Sprung- und Kniegelenk) vor allem zu Beginn aus. Im späteren Verlauf kommt dann oft der Befall der Iliosakralgelenke hinzu, der im schlimmsten Fall über eine Synostose zur vollständigen Ankylose des Gelenks führt. (92) Kennzeichnend für diese Gruppe ist das Auftreten von Insertionstendopathien bei ca. 50 % der Kinder. Seltener tritt eine Iridozyklitis (10-20 %) oder Uveitis anterior auf. (70,51,121) Das ähnliche klinische Bild zusammen mit der bei der JAS nachgewiesenen Assoziation mit HLA-B 27 lässt auf eine gemeinsame genetische Disposition schließen.(3,70)

Eine früh auftretende Form des beim Erwachsenen auftretenden Morbus Bechterew wird diskutiert.

Das wird auch durch das gehäufte Auftreten beider Krankheiten in einer Familie gestützt.

I.A.5. Therapie und Prognose der JCA

Bei der Therapie der JCA spielt die physikalische Therapie eine wesentliche Rolle, wenn es darum geht, die Fixierung der Gelenkfehlstellungen zu verhindern. Die regelmäßige Ausführung der Übungen, verbessert die Prognose und hilft die Beweglichkeit der erkrankten Gelenke zu erhalten, ein gerade für Kinder wichtiger Aspekt. (10,135) An Medikamenten bestimmen verschiedene Ansätze das Bild: Im akuten Schub versucht man die Entzündung mit Präparaten wie Naproxen oder Indometacin einzudämmen, die auch die Schmerzen mindern. (57) Hier kommen auch die neueren COX-2-Inhibitoren (COX=Cyclooxygenase) wegen des besseren Nebenwirkungsprofils zum Einsatz. Als Basistherapeutika werden immer noch längerfristig Sulfasalazin, Chloroquin und Goldsalze angewandt, um die Progression der Erkrankung zu verhindern. (51) Sehr ungern, deshalb nur bei besonders schweren Formen, bei denen die anderen Behandlungsmethoden nicht angeschlagen haben, unternimmt man Behandlungsversuchen mit Immunsuppressiva und Zytostatika, z.B. Methotrexat oder Azathioprin. (111,137) Strenge Indikationsstellung wegen der z.T. erheblichen Nebenwirkungen besteht auch für den Gebrauch von Glukokortikoiden wie z.B. Prednisolon (systemisch und lokal). Neuere Ansätze postulieren die Gabe TNF- α -Antagonisten und Inhibitoren, sowie die autologe Stammzelltransfusion als weitere Möglichkeit.

Die dritte Säule der Rheumatherapie bei Kindern ist die chirurgische Intervention, die in der Synektomie als Mittel der letzten Wahl, oder der operativen Behebung von Kontrakturen und Arthroplastiken besteht. (51)

Glücklicherweise gehen so ca. 75 % der Patienten früher oder später in die Remission und behalten kaum oder keine bleibenden Schäden zurück.(115,79).

Betrachtet man die einzelnen Subgruppen getrennt, so stellt die SJCA zwar die Gruppe mit der höchsten Letalitätsrate dar (14 %), auf der anderen Seite jedoch ist der Anteil der Kinder mit bleibenden Funktionseinschränkungen ungefähr so hoch wie bei den anderen Gruppen (43-55 %) (14,79). Die Seropositive JCA hat aufgrund der rasch fortschreitenden Destruktion der Gelenke eine etwas schlechtere Prognose, betrachtet man den Gelenkzustand.

70 % der Kinder haben Hüftgelenksschäden, die bei 39 % zum Einsetzen einer Prothese zwingt. Die Letalität liegt in dieser Gruppe bei 12 %. (11) Die Seronegative JCA und die Frühkindliche Oligoarthritis haben diesbezüglich eine bessere Heilungschance.

Generell verschlechtert ein früher Krankheitsbeginn (vor dem 5. Lebensjahr), eine lange Krankheitsdauer und u.U. der Nachweis bestimmter Laborparameter (z.B. ANAs) die Prognose und erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Komplikationen.

I.B. Der Mayor Histokompatibilitäts Komplex (MHC)

I.B.1. Historisches

1954 war es Dausset, der als Erster im menschlichen Blut Antikörper gegen Leukozyten entdeckte. Es handelte sich dabei um polytransfundierte Patienten. Er folgerte die Existenz eines entsprechenden Leukozytenantigens und gab ihm den Namen MAC. (46) Payne und van Rood untersuchten die Seren schwangerer Frauen und vermuteten mehrere Antigene, Payne und Bodmer identifizierten schließlich die Antigene LA1 und LA2, die in einer gemeinsamen Genregion kodiert werden. 1970 folgte die Beschreibung der Genorte HLA-A, HLA-B und HLA-C, wobei HLA für „Human Leukocyte Antigene“ steht.

Bald war jedoch klar, dass es noch eine vierte Gruppe an HLA-Antigenen geben musste, und so nannte man die von van Rood und van Leeuwen 1976, bei der Untersuchung von B-Zellen entdeckte Region HLA-DR (D-related), da sie in enger Beziehung zu den vorher mit Hilfe der Lymphozytenkultur definierten HLA-D Antigenen stand.

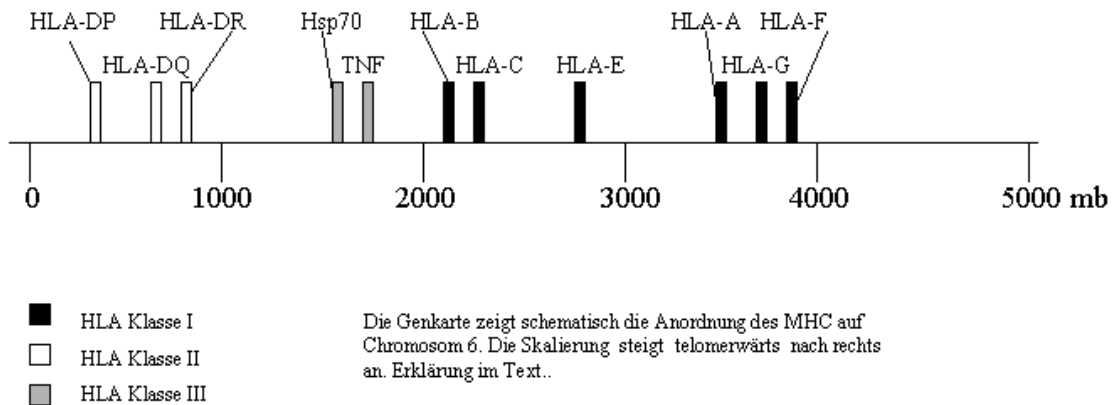
Diese zusammengehörenden Genorte wurden schließlich wegen der Bedeutung für die Transplantationsmedizin gemeinsam als Haupt (oder Mayor) Histokompatibilitätskomplex (MHC) bezeichnet.

I.B.2 Lage und Nomenklatur

Der MHC ist beim Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 lokalisiert, zwischen p21.1 und p21.3. Auf eine Länge von etwa 3500 kb sind 40-60 Gene und einige Pseudogene verteilt, die wichtige Funktionen des menschlichen Immunsystems kodieren. (29,84)

ABB. 1: Genetische Organisation des MHC auf Chromosom Nr. 6

Gesamtübersicht des MHC (mod. nach 53)



Eine neuere Nomenklatur teilt den MHC in drei Klassen ein:

Die Klasse I Region umfasst die HLA-A, B und C Genorte, die Klasse II Region die HLA-D, DR und DQ-Genorte und die Klasse III enthält die Gene für einige Komplementfaktoren und Zytokine, z.B. TNF- α und TNF- β , sowie einige Hormone und Peptide, die nicht direkt mit der Immunantwort zu tun haben.

Die Genorte der HLA-Region zeichnen sich dabei durch einen besonders starken Polymorphismus aus, und in regelmäßigen Abständen wird die Anzahl der vorkommenden Allele von internationalen Workshops korrigiert. ABB. 2 zeigt einige der zum heutigen Zeitpunkt bekannten Antigene der HLA-Klasse I und II.

ABB. 2: Nomenklatur der Antigenespezifitäten des HLA-Systems (142)

MHC-Klasse I Antigene*

HLA-A	HLA-B	HLA-C
A1	B5 Bw53	Cw1
A2	B7 Bw54(w22)	Cw2
A3	B8 Bw55(w22)	Cw3
A9	B12 Bw56(w22)	Cw4
A10	B13 Bw57(17)	Cw5
A11	B14 Bw58(17)	Cw6
Aw19	B15 Bw59	Cw7
A23(9)	B16 Bw60(40)	Cw8
A24(9)	B17 Bw61(40)	Cw9(w3)
A25(10)	B18 Bw62(15)	Cw10(w3)
A26(10)	B21 Bw63(15)	Cw11
A28	Bw22 Bw64(14)	
A29(w19)	B27 Bw65(14)	
A30(w19)	B35 Bw67	
A31(w19)	B37 Bw70	
A32(w19)	B38(16) Bw71(w70)	
Aw33(w19)	B39(16) Bw72(w70)	
Aw34(10)	B40 Bw73	
Aw36	Bw41 Bw75(15)	
Aw43	Bw42 Bw76(15)	
Aw66(10)	B44(12) Bw77(15)	
Aw68(28)	B45(12)	
Aw69(28)	Bw46 Bw4	
Aw74(w19)	Bw47 Bw6	
	Bw48	
	B49(21)	
	Bw50(21)	
	B51(5)	
	Bw52(5)	

*Nomenklatur Serolog. Typisierung

MHC-Klasse II Antigene*

HLA-DR	HLA-DQ	HLA-DP
DRB1*01	DQA1*01	DPA1*01
DRB1*03	DQA1*02	DPA1*02
DRB1*04	DQA1*03	DPA1*03
DRB1*07	DQA1*04	DPA1*04
DRB1*08	DQA1*05	DPB1*01
DRB1*09	DQA1*06	DPB1*02
DRB1*10	DQB1*02	DPB1*03
DRB1*11	DQB1*03	DPB1*04
DRB1*12	DQB1*04	DPB1*05
DRB1*13	DQB1*05	DPB1*06
DRB1*14	DQB1*06	DPB1*08
DRB1*15		DPB1*09
DRB1*16		DPB1*10
DRB3*01		DPB1*11
DRB3*02		DPB1*13-41
DRB3*03		DPB1*44-81
DRB4*01		
DRB4*02		
DRB4*03		
DRB5*01		
DRB5*02		

*Nomenklatur DNA-Typisierung

I.B.3. HLA-Klasse I

I.B.3.1. Genort

In die Gruppe der Klasse I fallen die HLA-A, B und C Gene. Sie sind vom Zentromer aus in der Abfolge B, C, und etwas weiter entfernt A, angeordnet. (s. ABB 1) Außerdem finden sich in diesem Bereich noch die Gene HLA-E, F, und G, deren Funktion man noch nicht genau kennt. (65) und einige weitere Pseudogene, also Gene, die nicht exprimiert werden.

Die Genorganisation der HLA Gene wird durch die Abfolge von Exons und zwischengeschalteten Introns bestimmt.

Die verschiedenen Exons kodieren für entsprechende HLA-Klasse I-Molekülabschnitte wie folgt: Exon 1 bildet die Leadersequenz, Exon 2, 3 und 4 kodieren für die extrazellulären Domänen der α -Kette und je nach Allel dienen 1-3 folgende Exons der Expressierung der transmembranen und zytoplasmatischen Anteile. (65)

Auch einige der Mikrosatelliten, die Gegenstand dieser Arbeit sind, hat man im Bereich des Klasse I Komplexes kartiert, doch dazu weiter unten mehr.

I.B.3.2. Molekularstruktur des Antigens

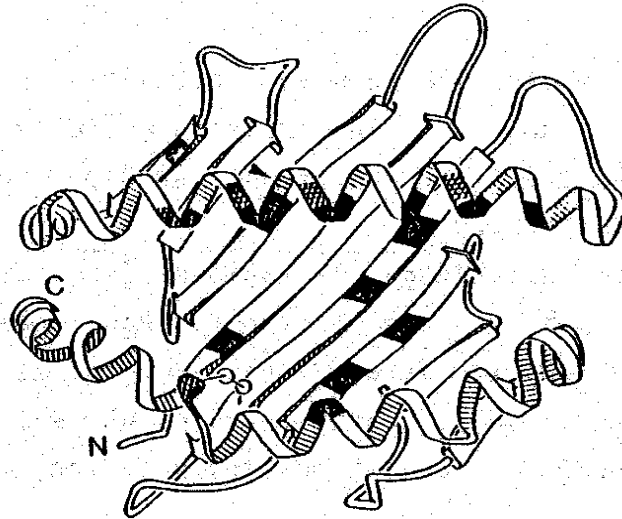
Die HLA-Klasse I Antigene stellen membranständige Glykoproteine dar, die aus einer 44 kd schweren α -Kette und einer nicht-kovalent gebundenen 12 kd schweren β_2 -Kette bestehen. Die β_2 -Kette (β_2 -Mikroglobulin) ist im Gegensatz zur α -Kette auf Chromosom 15 kodiert, und weist auch keinen Polymorphismus auf. Nach der Synthese der Proteine im Inneren der Zelle, werden die „Bausteine“ an die Zelloberfläche transportiert, und dort außen präsentiert. In die so entstehende „Molekültasche“ können sich die entsprechenden zu präsentierenden Antigene (im Inneren der Zelle) anlagern.(ABB.3) Danach erfolgt dann die Präsentation auf der Oberfläche der Zelle.

So lässt sich auch erklären, warum gerade die dieser Tasche anliegenden Domänen (α_1 und α_2) eine besonders große Variabilität aufweisen. Man sieht den Grund dafür mittlerweile in einer Vielzahl von evolutionären Mechanismen, wie z.B. Punktmutationen, reziproke Rekombination, Cross-over Phänomene und Genkonversion. (45,85,113,122)

ABB. 3 zeigt eine dreidimensionale Darstellung des HLA-A2-Rezeptors nach Bjorkman 1987. (27,28)

ABB. 3: 3D Modell des HLA-A2 Rezeptors (28)

Man erkennt eine Kombination von β -Faltblattstruktur (breite Pfeile) mit α -Helices. Dunkel gekennzeichnet sind die polymorphen Abschnitte des Rezeptors.



I.B.3.3. Funktion

HLA-Klasse I Gene werden auf der Zellmembran von fast allen kernhaltigen Zellen und den Thrombozyten exprimiert. Einzige Ausnahmen bilden Trophoblastenzellen der Plazenta und Spermien. (80,110)

Die HLA-Moleküle dienen der Antigenpräsentation, und helfen dadurch dem Immunsystem autologes von fremdem Material zu unterscheiden, sowie entartete und virusinfizierte Zellen zu erkennen. Entsprechend variiert die Anzahl der HLA-Moleküle von Zellart zu Zellart. Leukozyten weisen mit die höchste Dichte an HLA-Klasse I Molekülen auf der Zellmembran auf, während Fibroblasten, z.B. nur wenige Moleküle exprimieren. Polymorphe Promotoren regulieren die Expression der HLA-Antigene.(89)

I.B.4-HLA-Klasse II

I.B.4.1. Genort

Vom Zentromer in distaler Richtung gesehen ergibt sich eine Abfolge der Klasse II Gene wie folgt: DP, DN, DO, DQ und DR. Dann folgt die Region der HLA-Klasse I Gene. Insgesamt umfasst der Klasse-II-Komplex eine Länge von etwa 1000 kb.

Im Gegensatz zu den Klasse I Genen, werden bei Klasse II Genen sowohl die α als auch die β -Kette von zwei benachbarten Genorten der gleichen Region kodiert, und beide Ketten können polymorph gestaltet sein. Gemeinsam mit den Klasse-I-Genen hat der Genort der Klasse II die Genorganisation. Die Exons entsprechen dabei wieder den einzelnen Abschnitten des Proteins : Exon 1 steht für das Signalpeptid, Exon 2 und 3 für die Domänen α_1 und α_2 , bzw. β_1 und β_2 , die Exons 4, 5, und bei der β -Kette auch Exon 6, kodieren für die transmembranen und zytoplasmatischen Anteile des Rezeptors. Den stärksten Polymorphismus weist dabei Exon 2 mit einer großen Variabilität in der Expression der α_1 und β_1 -Domäne auf. (17,98) Verantwortlich scheinen bei den Klasse II Genen dafür vor allem Mechanismen der Punktmutationen und Genkonversion gewesen zu sein. (30)

I.B.4.2. Molekularstruktur des Antigens

Auch die Klasse II Antigene bestehen also aus einer α -Kette (33-34 kd schwer) und einer β -Kette (28-29 kd schwer). Wie die Klasse I Antigene bilden sie mit ihrem extrazellulären Anteil vier Domänen, wobei hier jeweils zwei von der α - und zwei von der β -Kette gebildet werden. Der transmembrane und zytoplasmatische Anteil zeigen kaum Varianz ebenso wie die α_2 und β_2 -Domäne. Wiederum befindet sich die Bindungstasche in der hoch polymorphen Region der α_1 und β_1 -Domäne.

I.B.4.3. Funktion

HLA-Klasse II Merkmale werden nur auf wenigen Zellen exprimiert so, z.B. auf B-Lymphozyten, aktivierten T-Zellen, Makrophagen, Monozyten und dendritischen Zellen.(52,74) Bis auf wenige weitere Ausnahmen sind die Zellen des Menschen also HLA-Klasse II negativ, zumindest solange, bis eine gezielte Stimulation z.B. mit Interferonen

erfolgt. Auch ist zu erwähnen, dass von den verschiedenen Zellarten die einzelnen Klasse II Moleküle in unterschiedlicher Dichte auf der Oberfläche exprimiert werden. (22)

HLA-Klasse II Moleküle übernehmen im menschlichen Immunsystem die Rolle der Antigenpräsentation von exogenen Antigenen, und lösen die CD4+ vermittelte Immunantwort der T-Helferzellen aus. Im Gegensatz dazu sind es bei den HLA-Klasse I Molekülen die CD8+ zytotoxischen T-Zellen, die bei der Immunantwort auf endogene Peptide stimuliert werden.

Die Klasse II Moleküle haben darüber hinaus anscheinend noch eine Bedeutung bei der Signalvermittlung über das Second-Messenger-System mit c-AMP, da es beim Fehlen der zytoplasmatischen Komponente des HLA-Moleküls zu Problemen in der Weitergabe von Signalen für die Produktion bestimmter Proteine kommt. (124)

I.B.5. HLA-Klasse III

Der Vollständigkeit halber soll hier auch kurz auf die sogenannten Klasse III eingegangen werden, auch wenn sie für diese Arbeit keine Relevanz hatten.

Die Gene befinden sich auf dem Chromosom 6 zwischen den Genorten für HLA-DR und HLA-B, und kodieren für verschiedene Komplementfaktoren (C2, C4, Bf), Enzyme (C21-Hydroxylasen), ein Hitzeschockprotein (HSP-70), die Tumornekrosefaktoren TNF- α und TNF- β und "B-associated transcripts" (BAT). (123)

I.B.6. Vererbungsmodus der HLA-Antigene

Für die Analyse der Segregation der verschiedenen Marker in Familien, wie sie einen Teil dieser Arbeit darstellt, ist es wichtig, sich den Vererbungsmodus des MHC klar zu machen. Es handelt sich um eine kodominante Vererbung, wobei jedes Kind je ein Allel von einem Elternteil vererbt bekommt, und die beiden elterlichen Allele nebeneinander erkennbar sind. Man hat gesehen, dass die HLA-Gene so nah nebeneinander liegen, dass sie gemeinsam, als sog. Kopplungsgruppe weitergegeben werden. Die Kopplungsgruppe bezeichnet man auch als Haplotyp, also besitzt jeder Mensch zwei solcher Haplotypen.

Die Rekombinationsrate innerhalb der Kopplungsgruppe ist sehr klein und liegt unter 1 % für den MHC Komplex. (5,18) Die Orte an denen Cross-over-Vorgänge vermehrt nachzuweisen ist, nennt man auch "hot spots". (84)

I.B.7. Häufigkeitsverteilung der einzelnen HLA-Antigene

Die Verteilung der einzelnen HLA-Antigene unterscheidet sich in den unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen.

Alle Personen dieser Studie gehörten der Bevölkerungsgruppe der Europiden (engl. Caucasians) an. (29,50)

I.B.8. Kopplungsungleichgewichte

Die Tatsache, dass manche HLA-Antigene, die durch verschiedene Gene kodiert werden, überdurchschnittlich häufig zusammen auftreten, bezeichnet man als Kopplungsungleichgewicht. Theoretisch müsste die Häufigkeit der Haplotypen dem Produkt der einzelnen Genfrequenzen entsprechen. In Wirklichkeit findet man jedoch Kombinationen, die häufiger auftreten als andere. Ein klassisches Beispiel ist in der Gruppe der Europiden das gemeinsame Auftreten von HLA-A1 mit HLA-B8, das etwa fünfmal so häufig vorkommt wie erwartet. (87) Als Grund für diese Phänomene wird ein Selektionsvorteil dieser Kombinationen vermutet. (29) Eine weitere Erklärung wäre auch der Verlust von "hot spots". (4)

Die Kopplungsungleichgewichte zwischen HLA-Genen und verschiedenen anderen Markern sind schon oft Thema von Untersuchungen gewesen, auch in dieser Studie beschäftigt sich ein Kapitel mit dem Auftreten von Kopplungsungleichgewichten zwischen HLA-Genen und den ausgewählten Mikrosatelliten.

I.B.9. Klinische Anwendungen des MHC

Klinische Bedeutung hat die Kenntnis des MHC-Komplexes und der dort kodierten HLA-Gene vor allem in der Transplantationsmedizin und bei der Diagnose von Erbkrankheiten.

I.B.9.1. Transplantationsmedizin

Das Wissen um das Bestehen eines individuellen HLA-Musters hat vor allem in der Transplantationsmedizin Folgen gehabt. Heute wird so gut wie keine Niere mehr ohne den Nachweis eines gewissen Grades an Übereinstimmung zwischen dem HLA-Muster des Empfängers und des Spenders transplantiert. Viele Studien haben gezeigt, dass die

Wahrscheinlichkeit einer Abstoßungsreaktion erheblich sinkt, wenn die HLA-Gene von Spender und Empfänger ähnlich sind. (8) In Zahlen bedeutet das, dass bei genauer Übereinstimmung von HLA-B und HLA-DR-Locus und postoperativer Behandlung mit Immunsuppressiva 88 % der Patienten nach einem Jahr noch funktionierende Transplantate hatten. (99)

Auch im Bereich der Knochenmarkstransplantation ist die HLA- Übereinstimmung wesentliches Kriterium für den Erfolg der Therapie. Das Auftreten einer „Graft-versus-host-Reaktion“ wird mit dem Grad der Übereinstimmung der HLA-Antigene unwahrscheinlicher. Auf der Suche nach Fremdspendern für Patienten, die in der Familie keine HLA-identischen Verwandten haben, hat man bereits große Dateien mit den HLA-Mustern spendewilliger unverwandter Personen angelegt.

1.B.9.2. MHC und Krankheitsassoziationen

Die Assoziation von verschiedenen Krankheiten mit bestimmten HLA-Antigenen ist schon lange Gegenstand der Forschung gewesen. Für viele Erkrankungen ist das bereits gelungen, und so ein neuer Weg in der Diagnosestellung und Früherkennung der Krankheiten gefunden worden.

Die entsprechenden HLA-Antigene werden dann als „krankheitsassoziiert“ bezeichnet, da die eindeutige Auslösung der Erkrankung durch ein HLA-Molekül bis jetzt noch nicht nachgewiesen worden ist.

ABB. 4 zeigt einige bekannte HLA-assozierte Krankheitsbilder

ABB. 4: Einige derzeit bekannte Krankheitsassoziationen mit dem HLA-System (130)

Erkrankung	HLA	Freq. in %		Rel. Risiko	Ethiol. Fraktion
		Pat.	Kontr.		
Morbus Hodgkin	A1	40	32.0	1.4	0.12
Akute Lymphatische Leukämie	A2	62	53.3	1.4	0.18
Idiopathische Hämochromatose	A3	76	28.2	8.2	0.67
	B14	16	3.8	4.7	0.13
Behcet'sche Krankheit	B5	41	10.1	6.6	0.34
Adrenogenitales Syndrom	B47	9	0.6	15.4	0.08
Spondylitis ankylosans	B27	90	9.4	87.4	0.89
Morbus Reiter	B27	79	9.4	37.0	0.77
Iridozyklitis	B27	52	9.4	10.4	0.47
Thyroiditis de Quervain	B35	70	14.6	13.7	0.65
Psoriasis vulgaris	Cw6	87	33.1	13.3	0.81
Dermatitis herpetiformis	DR3	85	26.3	15.4	0.80
Zöliakie	DR3	79	26.3	10.8	0.72
IgA Defizienz	DR3	64	26.3	5.0	0.51
Sjörgen Syndrom	DR3	78	26.3	9.7	0.70
Morbus Addison	DR3	69	26.3	6.3	0.58
Morbus Basedow	DR3	56	26.3	3.7	0.42
Diabetes mellitus Typ I	DR3,5	91	57.7	7.9	0.80
	DR2	10	30.5	0.2	-
Myastenia gravis	DR3	47	26.3	2.5	0.28
Syst. Lupus erythematoses	DR3	67	26.3	5.8	0.55
Idiopathische Nephropathie	DR3	75	20.0	12.0	0.69
Narkolepsie	DR2	100	25.8	-	1.00
Multiple Sklerose	DR2	59	25.8	4.1	0.45
Neuritis Nervi optici	DR2	46	25.8	2.4	0.27
Goodpasture Syndrom	DR2	88	32.0	15.9	0.82
Rheumatoide Arthritis	DR4	69	32.1	4.7	0.54
Pemphigus vulgaris	DR4	87	32.1	14.4	0.81
IgA Nephropathie	DR4	49	19.5	4.0	0.37
Erythematoses Syndrom	DR4	73	32.7	5.6	0.60
Hashimoto Thyroiditis	DR5	19	6.9	3.2	0.13
Perniziöse Anämie	DR5	25	5.8	5.4	0.20
Juvenile chronische Arthritis (RF neg)	DR8	23	7.5	3.6	0.1
	B27	25	9.4	3.2	0.17
Primäre Glomerulonephritis	C4B*2.9	25	1.5	22.0	0.24

Auch im rheumatischen Formenkreis sind HLA-Assoziationen bekannt, allen voraus das gehäufte Vorkommen von HLA-B27 bei an "Morbus Bechterew" erkrankten Patienten.

Für die einzelnen Formen der JCA, die Gegenstand dieser Arbeit ist, sind die bekannten HLA-Assoziationen bereits in vorhergehenden Kapiteln erwähnt worden.

Hierbei ist anzumerken, dass die Auswahl der Mikrosatelliten für diese Untersuchung aufgrund ihrer Lokalisation in der Nähe der bereits für Assoziationen mit JCA bekannten HLA-A Region getroffen wurde, da eine Assoziation bestimmter Untergruppen der JCA mit HLA-A2 bereits nachgewiesen wurde.

I.C. Mikrosatelliten

I.C.1. Allgemeines

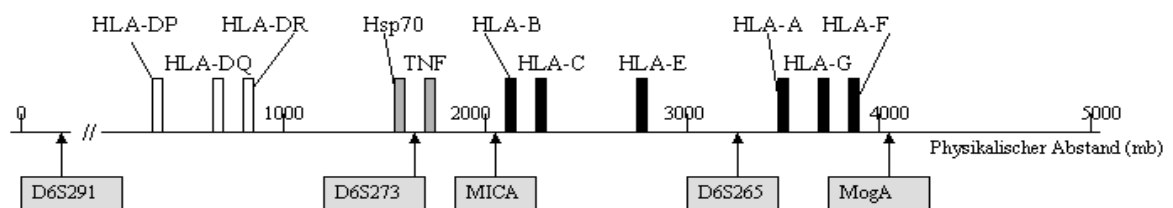
Mikrosatelliten sind DNA-Sequenzwiederholungen (z.B. ATCACACACACACAC...), von mindestens 2 Basen. Sehr oft handelt es sich dabei um CA-repeats, die bis zu 100 mal wiederholt werden können. Man findet diese repetitiven Sequenzen im gesamten menschlichen Genom verstreut, etwa alle 10 kb. Man hat aber die biologische Rolle der repetitiven Sequenzen noch nicht entschlüsseln können. Neuere Untersuchungen gehen von einer Beteiligung der Mikrosatelliten an Rekombinationsvorgängen und bei der Genregulation aus. (91) Große Bedeutung gewinnen die „short tandem repeats“ (STR), wie sie auch genannt werden, heute in der Populationsgenetik und der Genkartierung. Auch werden sie in Evolutionsstudien, Kopplungsuntersuchungen und der forensischen Medizin als Marker herangezogen.

Was alle Mikrosatelliten gleichermaßen charakterisiert, ist der hochgradige Polymorphismus. Die Vererbung folgt den Mendelschen Regeln und ist kodominant, wie auch die der HLA-Gene.

Seit 1991 sind allein im Bereich des HLA-Komplexes über 100 verschiedene Mikrosatelliten beschrieben worden (54). Eine neuere Studie der Arbeitsgruppe von H. Inoko hat jetzt die genaue Sequenz der HLA-Klasse-I-Region mit allen dort lokalisierten Mikrosatelliten veröffentlicht. (116) Derer fünf wurden in dieser Arbeit aufgrund Ihrer Lokalisation ausgesucht. Besonderes Interesse galt dabei dem MIC (MHC-class I chain related gene) A-Gen, bei dem man eine besondere Funktion in der Immunabwehr vermutet. Aber auch die

Mikrosatelliten D6S 265, D6S 273, D6S 291 und MOGA liegen im Bereich des MHC-Komplexes, ihre genaue Lokalisation, soweit bekannt, zeigt ABB. 5

ABB. 5: Lokalisation der verwendeten Mikrosatelliten im Bereich des MHC (nach 54,91)



I.C.2. MICA

Das MICA Gen ist eines der ungewöhnlichsten Gene im MHC-Komplex. Aufgrund von intensiven Arbeiten über die MIC Gene, fünf sind bisher beschrieben, weiß man einiges mehr über MICA, als über die anderen hier verwendeten Marker (s. unten). So ist man, z.B. zu der Erkenntnis gekommen, dass das MICA Gen vorwiegend auf der Oberfläche von gastrointestinalen Epithelzellen, Fibroblasten, Keratinozyten und Monozyten exprimiert wird (19,152), was zusammen mit dem Wissen um den hochgradigen Polymorphismus des Gens, eine immunologische Funktion implizieren könnte. (152)

Es liegen auch Anhaltspunkte dafür vor, dass die Proteinkette ähnlich wie die HLA Klasse I Moleküle gefaltet ist (ABB 6) und damit eine Bindungsmöglichkeit für Antigen-Peptide vorhanden sein könnte. Bisher hat man aber noch keine Peptidbindung und auch keine Assoziation mit β 2-mikroglobulin finden können. Einige Autoren vermuten jedoch darin eher alte oder vom MHC Komplex im Zuge der Evolution übernommene Funktionen. (19)

Neuere Erkenntnisse weisen eine Bindung von MICA an den NKG2D-Rezeptor nach, sowie eine Interaktion von MICA mit γ - δ -T-Zellen. Die Bedeutung dieser Vorgänge ist jedoch noch nicht geklärt, genauso wie das Vorkommen eines hitzeaktivierbaren Promotors im MICA Gen.

ABB. 6: Darstellung eines HLA-Rezeptors im Vergleich mit einem MICA-Rezeptor (53)

Links ist ein Modell des HLA-Moleküls dargestellt, daneben (B) ein Modell des MICA-Moleküls (A)

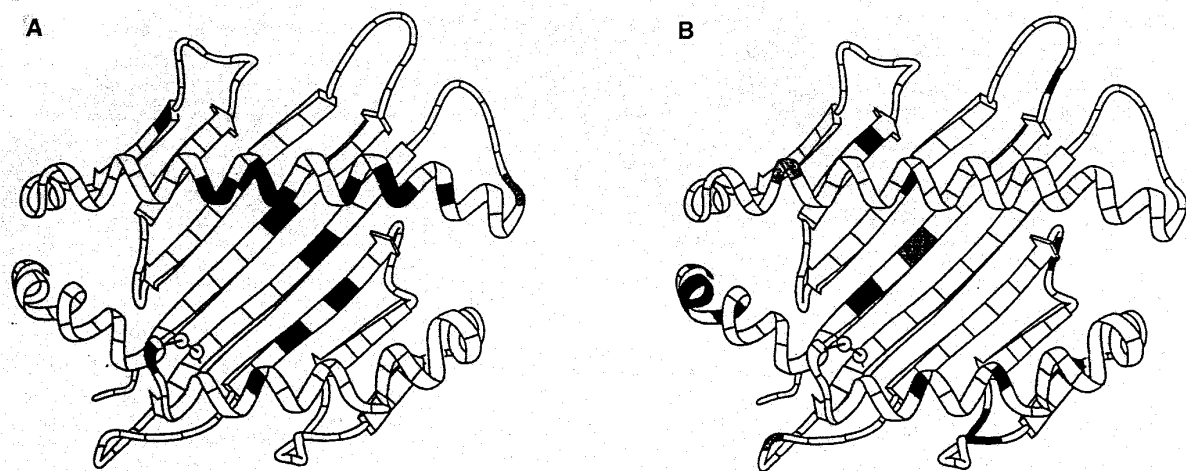
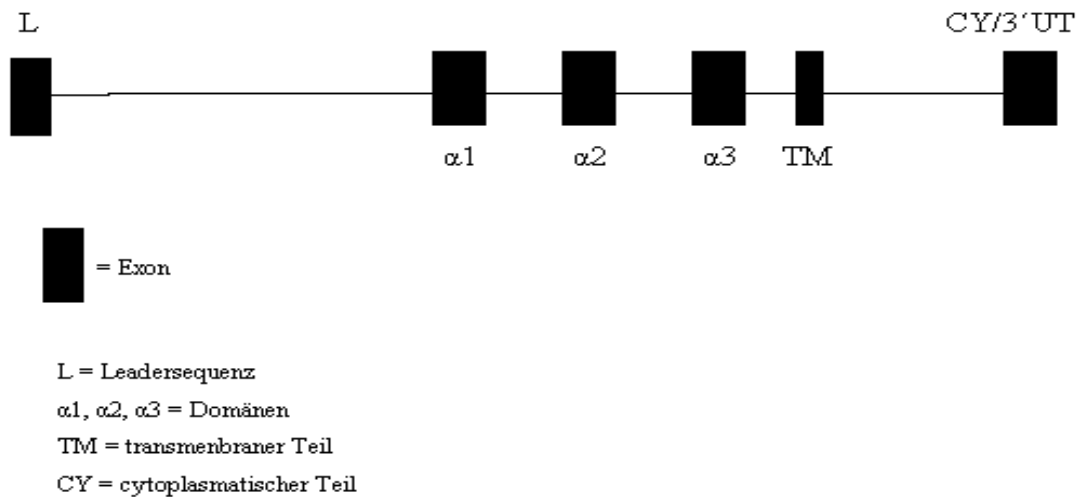


ABB. 7 zeigt die Intron / Exon Abfolge des MICA Gens. In dieser Arbeit wurde nur mit dem Exon 5 (TM= transmembrane Sequenz) des Gens gearbeitet, welches als Besonderheit die Insertion einer Base (GTC -> GGTC) mit der Folge eines verfrühten Kettenabbruchsignals hat. Dieser verfrühte Kettenabbruch hat Einfluss auf die Hydrophilie des Produkts und könnte dann zu dem Verlust der Membranständigkeit des Proteins führen. Das lösliche Molekül könnte dann evtl. eine immunologisch wichtige Bedeutung haben, wie einige Autoren vermuten.(53,152)

Die Sequenz des MICA Gens ist bereits 1994 von Bahram et al. publiziert worden, in dieser Studie wurde der Tripletrepeat (GCT) im Exon 5 untersucht. Die Lokalisation, 40 kb centromer des HLA-B-Locus (19,21) , zeigt ABB 5 .

ABB. 7: Intron/Exon Abfolge des MICA-Gens (19)



I.C.3. D6S 265

Die Lokalisation dieses Mikrosatelliten ist in ABB 5 dargestellt, er liegt 100-70 kb centromer des HLA- A Locus, 45 cM entfernt vom Teleomer auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. Bei diesem Mikrosatelliten handelt es sich um einen CA-repeat dessen erwartete Größe je nach Publikation entweder zwischen 122-138 bp oder 118-140 bp liegt. Es wurden bereits 7-9 Allele identifiziert, und die Heterozygotenrate auf 78 % festgelegt. (31,55,81,106,145) Dieser Mikrosatellit ist eng assoziiert mit HFE, und wurde deshalb auf der Suche nach dem Marker für die Hämochromatose verwendet. (39,81,106,109,145)

I.C.4. D6S 273

D6S 273 liegt zwischen HSP 70 und BAT 2 (ABB. 5) (52,54), und etwa 46 cM entfernt vom Telomer auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. Eine exakte Lokalisation war bis heute jedoch nicht möglich. Es handelt sich um einen CA-repeat. Der erwartete "size range" liegt zwischen 120-140 bp oder 130-140 bp. In früheren Studien fand man bereits 7-8 verschiedene Allele, und eine Heterozygotenrate von 75-76 %. (55)

I.C.5. D6S 291

Der mit 189-210 bp größte Marker dieser Studie liegt in der DPB1-Glo-Region und damit relativ weit entfernt vom MHC Genort auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. (ABB 5) Bei diesem CA-repeat hat man bisher 7-8 unterschiedliche Allele gefunden. Die Heterozygotenrate liegt bei 70 %. (55)

Er war ebenso Gegenstand verschiedener Assoziationsstudien, wie z.B. einer Asthma-Studie 1999. (143)

I.C.6. MOGa

MOGa ist einer der mittlerweile fünf bekannten Mikrosatelliten des **Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Locus (MOGa-e)**. Die Funktion des von diesem Genlocus kodierten Proteins ist nach wie vor nicht sicher bekannt, man vermutet jedoch, dass er für einen Teil der die Myelinscheiden bildenden und erhaltenden Faktoren kodiert. Des Weiteren fand man eine große Ähnlichkeit der MOG-Sequenzen mit den von zwei nicht-myelinen Proteinen. Ein Protein, das während der Laktation an Membranen der Brustdrüsen Interaktionsaufgaben übernimmt, und ein anderes, welches im Verdacht steht, modulierende Funktionen bei der Immunantwort zu besitzen.

Gerade die letztgenannte Tatsache macht MOG auch für Assoziationsstudien mit insbesondere Autoimmunkrankheiten, wie auch die JCA, interessant.

MOGa liegt 100 kb telomer der HLA-F-Region. (ABB. 5) Die Fragmente haben eine erwartete Größe von 124-134 bp, und bisher wurden von mehreren Autoren sechs verschiedene Allele dieses CA-repeats beschrieben. (90,112)

Die Heterozygotenrate liegt etwas niedriger als bei den anderen Markern, bei 59 %.

(55)

I.D Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist eine weitere Abklärung der Frage, ob neben den mit der Juvenilen Chronischen Arthritis assoziierten HLA- Allelen noch andere Genorte auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 Assoziationen zu diesem Krankheitsbild aufweisen. Dazu wird eine Gruppe von Mikrosatelliten, die in der Nähe des HLA-A Genortes lokalisiert sind auf Assoziationen mit der JCA untersucht.

Zur Validierung der Testmethoden wird des weiteren eine Gruppe von 17 Familien herangezogen, bei denen die Vererbung der HLA-Merkmale bereits bekannt ist. Damit besteht die Möglichkeit, die beobachtete Segregation der Marker mit der Erwartung zu vergleichen. Ein weiteres Ziel der Arbeit ist es, für die Gruppe der untersuchten Mikrosatelliten die Assoziationsbeziehungen zu den bekannten HLA-Genen in der Bevölkerung festzulegen. Solche Daten wie sie u.a. im Anhang als Tabellen aufgeführt sind, stellen eine Grundlage für die Feinkartierung von Krankheitsgenen in der HLA-Region dar.

II. Material und Methoden

II.A Material

II.A.1. Patienten

Für diese Arbeit wurde die DNA von insgesamt 254 Patienten mit verschiedenen Formen der Juvenilen Chronischen Arthritis untersucht, die Diagnosestellung erfolgte nach den EULAR/WHO Kriterien. (135) Die Hauptgruppe stellten dabei die Patienten mit Oligoarthritis (EOPA-JCA und JAS= Typ II) dar (179 Kinder), die übrigen verteilen sich auf die restlichen Untergruppen.

Davon stammen 102 aus der Universitätskinderklinik Prag, wobei 68 weiblichen, und 34 männlichen Geschlechts sind. Die Entnahme der Blutproben wurde von Dr. med. Peter Haas und Dr. med. Hermine Brunner in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Havelka (Institut für Rheumatologie, Karls Universität, Prag) und Dr. med. Hoza (Kinderklinik der Karls Universität, Prag) vorgenommen.

152 Patienten stammen aus der Rheumaklinik der Rummelsberger Anstalten, Garmisch. Von den Patienten sind 120 weiblichen und 32 männlichen Geschlechts. Die Entnahme der Blutproben leitete dort Prof. Dr. med. Truckenbrodt.

Die untersuchte Patientengruppe entspricht hinsichtlich der zu erwartenden Aufteilung in Haupt- und Subgruppen der JCA der epidemiologisch ermittelten Verteilung (14, 115) Die Zusammenfassung der deutschen und der czechischen Patienten zu einer Gruppe, ist möglich, da in früheren Studien bereits die gleiche Verteilung der HLA-Antigenfrequenzen in beiden Gruppen nachgewiesen und mehrfach publiziert wurde.(34, 35, 50, 66, 67, 68, 69) Aus diesem Grund ist auch ein statistischer Vergleich mit der deutschen Kontrollgruppe durchführbar.

II.A.2. Kontrollen

Die DNA der Kontrollen stammt aus dem Panel des Labors für Immungenetik. Es handelt sich dabei um insgesamt 238 getestete Personen aus dem Münchner Raum, ausschließlich Mitarbeiter des Labors für Immungenetik, Studenten, Zivildienstleistende und deren Familienangehörige. Keine dieser Personen leidet oder litt an JCA.. 64 Familienmitglieder wurden nicht in den statistischen Vergleich aufgenommen, da durch die Verwandtschaft der Kontrollen das Ergebnis verfälscht würde. Diese Personengruppe wurde jedoch für die Segregationsanalyse der einzelnen Marker herangezogen. Auch in der Kontrollgruppe entspricht die Verteilung der HLA- Merkmale den ermittelten Werten für die Kaukasische Bevölkerung.

II.B Methoden

II.B.1. Klasse-I-Typing

Die HLA-Merkmale der Klasse I wurden für die Prager Patienten durch das Immungenetische Labor der Universität Prag unter Leitung von Frau Dr. med. Ivaskova serologisch nach dem Mikro-Lymphozytotoxitäts-Test von Terasaki (132) bestimmt. Das Vorliegen von HLA-A2 wurde durch Paul et al. 1995 durch DNA-Typisierung bestimmt. (102,103)

Die HLA-Klasse I Typisierung der Garmischer Patienten erfolgt per DNA-Typisierung. Die Klasse I Typisierung der Personen der Kontrollgruppe, wurden im Labor für Immungenetik serologisch getestet.

II.B.2. Klasse-II-Typing

Das Klasse-II-Typing erfolgte für alle Personen im Labor für Immungenetik. Bei allen Personen der Kontrollgruppe und allen Patienten wurde HLA-DR auf DNA-Ebene mit Hilfe von Sequenzspezifischem Oligonukleotid Typing (SSO) untersucht. (34,69)

II.B.3. Mikrosatellitenanalyse

II.B.3.1. DNA Extraktion

Die Gewinnung der DNA erfolgte, nach Proteinaseneinwirkung zur Zerstörung der Zellmembranen, mittels Quiagen®- Säulen an einer Silikatmembran.(93)

II.B.3.2. Konzentrationbestimmung

Die Konzentration der gewonnenen DNA wird im Spektralphotometer durch die Messung der optischen Dichte (OD) bestimmt. Nach Eichung des Gerätes mit Aqua destillata wird der OD-Wert bei 260 nm und 280 nm gemessen.

Der bei 260 nm gemessene Wert ist der Konzentration der DNA proportional. Es gilt dabei:

$$\Delta OD_{260} = 0,02 \text{ entspricht } 1\mu\text{l} / \text{ml DNA}$$

Die Bestimmung des OD-Wertes bei 280 nm dient der Feststellung der Reinheit der DNA, das heißt, er erlaubt eine Aussage über den Gehalt der Verunreinigung der DNA mit Proteinen. Dies kann mit Hilfe des Quotienten von ΔOD_{260} und ΔOD_{280} geschehen. Idealerweise ist dabei:

$$\Delta OD_{260} / \Delta OD_{280} = 1,8$$

Die DNA wird nach der Konzentrationsbestimmung standardmäßig auf 250 ng / μl eingestellt, d.h. mit Aqua destillata verdünnt, da die Konzentrationen meistens über diesem Wert liegen.

Für unsere Testungen pipettierten wir die DNA in 96-Lot PCR-Trays vor, wobei jeweils 5 μl der DNA mit der Konzentration von 250 ng / μl mit 100 μl Aqua dest. verdünnt wurden, um

auf eine Endkonzentration von 11,6 ng / μ l zu kommen, die dann beim Einsetzen von je 5 μ l pro Lot, eine Menge von 58 ng DNA ergibt, was sich für die PCR als ausreichend herausgestellt hatte.

II.B.3.3. Polymerase-Chain-Reaction (PCR)

II.B.3.3.1. Ansatz

Der PCR-Ansatz besteht aus folgenden Komponenten (Menge pro Lot):

10 x PCR-Puffer II (ohne MgCl ₂)	1 μ l
MgCl ₂ (25 mM)	1 μ l
dNTP-Mix (2,5 mM)	1 μ l
Aqua dest.	0,9 μ l
3'Primer (7,5 pM)	0,5 μ l
5'Primer (7,5 pM)	0,5 μ l
Taq –Polymerase (5 U/ μ l)	<u>0,1 μl</u>
Insgesamt	5 μ l

Dazu werden pro Lot 5 μ l der eingestellten DNA pipettiert, sodass sich in jedem tube 10 μ l Volumen befinden. Das Zusammenpipettieren erledigt ein Roboter mit einem entsprechend dafür geschriebenen Programm.

Die Polymerasechainreaction (PCR) ist eine Methode, um bestimmte, mit entsprechenden Primern markierte, Abschnitte der DNA so oft zu vervielfältigen, dass sie später gut nachweisbar sind und weiter untersucht werden können. Die verwendeten Primer dienen dabei dem synthetisierendem Enzym als Anfangspunkt. Die Bausteine für die neuen DNA-Stränge stellen dNTPs dar, Puffer und Magnesiumchlorid sorgen für ein ideales Milieu für die Polymerase. (25,114)

II.B.3.3.2. Primer

Die benutzten Primer wurden von der Firma ABI, Weiterstadt synthetisiert, und markiert, entsprechend der gemachten Vorgaben (55).

Die Sequenzen der Primer sind wie folgt:

MICA (Exon 5): 3' TTCTTCTTACAACAACGGAC
5' 6-FAM-CAGAGTCATTGGCAGACA

Markierung: FAM (blau)

D6S 265: 3' ACGTTCGTACCCATTAACCT
5' HEX-ATCGAGGTAAAACAGCAGAAA

Markierung: HEX (gelb)

D6S 273: 3' GCAACTTTTCTGTCAATCCA
5' TET-ACCAAATTCAAATTTTCGG

Markierung: TET (grün)

D6S 291: 3' CTCAGAGGATGCCATGTCTAAAATA
5' TET-GGGGATGACGAATTATTCCTAACT

Markierung: TET(grün)

MOGa: 3' GTACAGCCAAAAGGTGACATC
5' FAM-ACCCTGTATTTGTGAGCGC

Markierung: FAM (blau)

Die Farben FAM / TET / HEX sind fluoreszierende Farbstoffe, mit denen die Primer markiert werden, und die später die Identifikation der einzelnen DNA-Stücke auf dem Acrylamid-Gel durch den Laser möglich machen. Dabei dürfen Fragmente mit ähnlicher Länge nicht mit der gleichen Farbe markiert werden.

II.B.3.3.3. Cyclebedingungen

Im Folgenden sind die Temperaturen und Zeiten angegeben, die sich nach ausführlicher Austestung als optimal für die Amplifizierung der entsprechenden DNA-Stücke herausgestellt haben. Diese Bedingungen werden in den PCR-Maschinen programmiert.

MICA: Denature : 95 °C , 5 min
Melt : 94 °C , 15 sec }
Anneal : 55 °C , 15 sec } 10 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
Melt : 89 °C , 15 sec }
Anneal : 55 °C , 15 sec } 20 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
final Step : 72 °C , 10 min

D6S 265: Denature : 95 °C , 5 min
Melt : 94 °C , 15 sec }
Anneal : 61 °C , 15 sec } 10 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
Melt : 89 °C , 15 sec }
Anneal : 61 °C , 15 sec } 20 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
final Step : 72 °C , 10 min

D6S 273: Denature : 95 °C , 5 min
Melt : 94 °C , 15 sec }
Anneal : 61 °C , 15 sec } 10 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
Melt : 89 °C , 15 sec }
Anneal : 61 °C , 15 sec } 20 x
Extend : 72 °C , 30 sec }
final Step : 72 °C , 10 min

D6S 291: Denature : 95 °C , 5 min
 Melt : 94 °C , 15 sec }
 Anneal : 63 °C , 15 sec } 10 x
 Extend : 72 °C , 30 sec }
 Melt : 89 °C , 15 sec }
 Anneal : 63 °C , 15 sec } 20 x
 Extend : 72 °C , 30 sec }
 final Step : 72 °C , 10 min

MOGa : Denature : 95 °C , 5 min
 Melt : 94 °C , 15 sec }
 Anneal : 61 °C , 15 sec } 10 x
 Extend : 72 °C , 30 sec }
 Melt : 89 °C , 15 sec }
 Anneal : 61 °C , 15 sec } 20 x
 Extend : 72 °C , 30 sec }
 final Step : 72 °C , 10 min

Danach werden die Proben zentrifugiert, um das Kondenswasser wieder in die Lösung zu bringen, und dann bis zur weiteren Verarbeitung bei -20 °C gelagert.

II.B.4. Kontrolle auf Agarose-Gel

Um das Funktionieren der PCR zu überprüfen, werden Stichproben aus jedem Lauf auf ein Agarose-Gel aufgetragen. Es sollten dann deutliche, der erwarteten Größe der Amplifikate entsprechende Banden zu erkennen sein. Entsprechende Längenstandards laufen auf jedem Gel mit.

Ist dies nicht der Fall, oder sind mehrere Banden in einer Spur vorhanden, muss die PCR wiederholt werden.

Agarose-Gel: 1,5 g Agarose
200 ml 1x TBE-Puffer
1,5 µl Ethidiumbromid

Die Reagenzien sollten vermischt werden, und unter Erwärmen so lange verrührt werden, bis keine Schlieren mehr im Gel zu erkennen sind, und die Agarose sich völlig aufgelöst hat.

Das Gel wird dann in die Gelkammer mit den eingehängten Kämmen gegossen, und eine halbe Stunde polymerisieren gelassen.

Nach dem Ziehen der Käme muss das Gel in die Elektrophoresekammer gelegt werden. Diese ist gefüllt mit 1 x TBE-Puffer.

Der TBE-Puffer wird in der Konzentration 10 x hergestellt, und zwar folgendermaßen :

108 g Tris, 55 g Borsäure, 8,3 g Na₂ EDTA, werden in 1 l Aqua dest. gelöst. Für die 1 x Konzentration dann noch 1 : 10 mit Aqua dest. verdünnen.

Je 5 µl der PCR-Produkte werden dann mit 3 µl eines Blaumarkers vermischt, um das Absinken der Proben sicherzustellen, und den Probenlauf sichtbar zu machen. Diese Mischung wird in die Geltaschen pipettiert. Dazu trägt man noch einen Molekulargewichtsmarker auf, der als Standard für die Länge der Amplifikate dient.

Dauer der Elektrophorese: 25 min bei 80 V (kleine Kammer), 555 mA

Das Gel wird dann unter einer UV-Lampe betrachtet und fotografiert.

II.B.5. Genscanning

II.B.5.1. Herstellung des Acrylamid-Gels

Zunächst müssen zwei Glasplatten gründlich mit einem nicht fluoreszierenden Spülmittel gereinigt und dann getrocknet werden. Die „Ohrenplatte“ wird nur im Bereich der Geltaschen silanisiert und zwar mit einem Gemisch aus 1 ml 99% EtOH, 250 µl Eisessigsäure und 4 µl Bindsilane . Die Mischung kann bei -20 °C gelagert werden. Durch das Silanisieren wird die Haltbarkeit der Taschen gewährleistet. Nach Zwischenlegen von zwei Spacern werden die Glasplatten zusammengebaut.

Zur Herstellung eines Acrylamid-Gels (6 %) löst man zunächst 20 g Harnstoff in 15,5 ml Aqua dest. und 4 ml 10 x TBE unter Erwärmen und dauerndem Rühren, geht der Harnstoff in Lösung.

Von dieser Lösung nimmt man 35 ml und addiert 6 ml Polyacrylamid (40 %) 29 : 1. Das Gemisch muss nun mit Hilfe einer Vakuumpumpe und speziellen Membranfiltern abfiltriert werden, denn eventuell vorhandene Harnstoffkristalle stören die gleichmäßige Konsistenz des Gels.

Jetzt wird noch 120 µ APS (10 %) und 60 µl TEMED zugegeben, kurz geschwenkt, und dann sofort zwischen die vorbereiteten Glasplatten gegossen. Es dürfen dabei keine Luftblasen im Gel entstehen.

Zum Schluss wird ein 36-oder 24-wells Kamm eingelegt, und das Gel sollte nun mindestens 30 min polymerisieren.

Dann wird der „Kamm“ entfernt, die Glasplatten nochmals gründlich von außen gewaschen, trocken gerieben und in den Sequenzer eingebaut.

II.B.5.2. Vorbereitung der Proben

Die DNA Proben können so gepoolt werden, dass pro Spur auf dem Acrylamid-Gel eine Person mit allen Markern läuft, da die Marker so ausgewählt wurden, dass sie sich hinsichtlich Farbe und Größe nicht überschneiden.

Man muss nun beachten, dass die Primer mit der Markierung FAM und TET im Verhältnis 1 : 20 und die HEX-markierten Primer im Verhältnis 1 : 10 verdünnt werden müssen, d.h. in diesem Fall nimmt man z.B. von den FAM-markierten Primern (MICA, MOGA) und den TET-markierten (D6S 273, D6S 291) je 1 µl , von dem HEX-markierten Mikrosatelliten D6S 265 2 µl und fügt zu diesen 6 µl noch 5 µl Aqua dest. hinzu, um die erwünschte Verdünnung zu erhalten.

Von der so eingestellten Probe werden jetzt 3,5 µl mit 1,5 µl eines Gemisches aus Formamid, Dextranblau , als Ladepuffer und zum Beschweren der Proben , und einem Größenstandard, in einer von den Primern nicht benutzten Farbe und der Größe der Amplifikate entsprechend (TAMRA 500) , vermischt:

für 350 µl:	Formamid : 250 µl
	Standard (TAMRA 500) : 50 µl
	Ladepuffer/Dextranblau : 50 µl

Diese Mischung kann bei 4 °C für zwei Wochen gelagert werden.

Dann müssen die so vorbereiteten Proben für 5 min in der PCR-Maschine bei 95 °C belassen werden, dies dient zur Denaturierung der Proben. Jetzt werden die Proben bis zum Auftragen auf das Gel bei 4 °C gekühlt .

II.B.5.3. Genscanning im Sequenzierer

Zur Vorbereitung des Scanvorgangs müssen am Sequenzer folgenden Bedingungen eingestellt werden:

Dauer : 5 h

Laserpower : 15 W , 2500 V

PMT-Volltage : so einstellen, dass die blaue Linie
beim Platecheck zwischen
800 –1000 V

Filterset : B

Mit Hilfe der Genescan Analysis® und Genescan Collection® Software programmiert man den Sequenzer.

Nach dem Aufrufen des Analyse-Programms muss man zunächst ein “sample sheet“ erstellen.

Danach werden die Bedingungen für den Lauf eingestellt:

- Standard und Farbe des Standards (TAMRA 500)
- Name und Scannertyp eintragen
- Electrical set up: standard
- Gel set up: Typ: Denature, 6 %, Thickness: 4 tenth of a mm
- Analyse Parameters: standard (Smooth options: none; Channel Averaging: Channels 3; Min Peak Half Width: 4; Split Peak Correction: none; Minimum Peak Height Per Dye: alle 50; Size Range: Allow all sizes; Size Calling Methode: Local Southern Method
- Preprocess Parameters: Matrix auswählen, Sample sheet auswählen; Estimated peak Height: 2000; Start at Scan: 200; End at Scan: 5000; Auto Lane Track; Baseline Data

Jetzt die Collection software aufrufen, Settings einstellen: Dauer 5 h, “name of collection file“ eintragen.

Die beiden Puffer-Kammern werden mit 1 x TBE Puffer gefüllt, nachdem die Platte durch die Maschine auf Gelreste oder Ähnliches auf der Außenseite geprüft wurde. Man benutzt dazu die Genescan Collection® Software.

Mit einer Spritze und dem TBE-Puffer spült man nun die Geltaschen, um den herausdiffundierten Harnstoff und eventuelle Gelstückchen zu entfernen, die das Auftragen der Proben behindern würden.

Man trägt jetzt 1,5 µl der DNA Proben pro Geltasche auf, wobei genauestens darauf zu achten ist, dass nichts aus den Taschen in benachbarte Taschen überläuft.

Dann wird der Scanvorgang gestartet, indem man am Sequenzer "Genescanrun" auswählt, und in der Collection software "Collect" anklickt. Der Gellauf dauert jetzt 5 h.

II.C Statistische Auswertung

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Populationsstudie, die den möglichen Zusammenhang zwischen einer Krankheit und dem Auftreten bestimmter Faktoren (hier bestimmte Mikrosatellitenmarker) untersucht. Man vergleicht dazu eine Patientengruppe mit einer gesunden Kontrollgruppe, und berechnet die Signifikanz der ermittelten Assoziationsstärke.

II.C.1. Voraussetzungen

Eine Voraussetzung um eine statistische Auswertung der Ergebnisse vornehmen zu können, ist eine entsprechend repräsentative Anzahl von Personen, in diesem Fall erlaubt die Anzahl von 492 getesteten Personen eine sinnvolle Anwendung verschiedener Tests.

Auch sollte die Zahl der Kontrollen ungefähr so groß sein wie die der Testgruppe.

Einzige Voraussetzung für die Kontrollgruppe war, dass keine/r dieser Personen an JCA erkrankt war oder ist. Verwandte Personen wurden für die Analyse ausgeschlossen, und nur für die Darstellung der Segregation der Marker benutzt.

Das Geschlechterverhältnis spielt für die Auswertung keine Rolle, da die untersuchten Merkmale auf dem Chromosom 6 liegen. Erwartungsgemäß überwiegt in der Patientengruppe das weibliche Geschlecht, was den Charakteristika der Krankheit entspricht.

Genauso ist die verschobene Altersverteilung (die Patientengruppe ist durchschnittlich jünger) irrelevant für die hier verwendeten statistischen Tests. (118)

Folgende 2 x 2 Tabelle findet im nachfolgenden Teil der Erklärung verwendeter statistischer Methoden Anwendung:

	<i>Patienten</i>	<i>Kontrollen</i>	<i>Summe</i>
<i>Positiv</i>	a	c	a + c
<i>Negativ</i>	b	d	b + d
<i>Summe</i>	a + b	c + d	a + b + c + d (= N)

II.C.2. Tests

II.C.2.1. Chi²-Test

Der Chi²-Test wird für die Feststellung eines signifikanten Unterschiedes zwischen den zu erwartenden Werten und den tatsächlichen Werten herangezogen. Man setzt dabei voraus, dass keinerlei Assoziationen zwischen diesen Werten bestehen. Die Signifikanz lässt sich in drei Niveaus ausdrücken:

1. Signifikanzniveau (5 %-Stufe) $3,84 \leq X^2 < 6,64$, bedeutet: wahrscheinlich signifikant
2. Signifikanzniveau (1 %-Stufe) $6,64 \leq X^2 < 10,83$, bedeutet: signifikant
3. Signifikanzniveau (0,1 %-Stufe) $10,83 \leq X^2$ bedeutet: hoch signifikant

Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel (Korrektur nach Yates):

$$X^2 = \frac{(ad - bc - \frac{N}{2})^2 N}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)}$$

$$N = a + b + c + d$$

Dabei besitzt der Test für eine 2 x 2 Tabelle einen Freiheitsgrad (df).

Auch sollten die Fallzahlen über fünf, und die Summe aller Häufigkeiten über 40 liegen.
(36,129)

II.C.2.2. Relatives Risiko (RR)

Das Relative Risiko ist in diesem Fall ein Maß für den Zusammenhang zwischen dem Auftreten bestimmter Allele und einer Krankheit. Ein Relatives Risiko von 1 bedeutet z.B., dass die Allele in beiden Gruppen (Kranke und gesunde Kontrollen) gleich häufig auftritt, also kein Zusammenhang mit den untersuchten Allelen besteht. Anders ausgedrückt, stellen aber auch bestimmte Allele keinen "Schutz" vor Erkrankung dar.

Ein negativer Wert bedeutet, das entsprechende Allel kommt in der Patientengruppe seltener vor, als in der Kontrollgruppe, ein positiver Wert drückt das seltenere Vorkommen in der Kontrollgruppe aus. Das Relative Risiko berechnet sich wie folgt:

$$RR = \frac{\text{Auftreten bestimmter Allele bei Kranken}}{\text{Auftreten bestimmter Allele bei Gesunden}}$$

oder

$$RR = \frac{ad}{bc} \quad (\text{Formel von Woolf})$$

Falls eines der Felder 0 wird, so muss die Formel von Haldane angewandt werden. (73)

$$RR = \frac{(a + \frac{1}{2})(d + \frac{1}{2})}{(b + \frac{1}{2})(c + \frac{1}{2})}$$

II.C.2.3. Etiologische Fraktion (EF)

Die Etiologische Fraktion findet ebenso Anwendung bei der Aussage der Assoziationsstärke bestimmter Allele. Es können Werte zwischen 0 , bedeutet keine Assoziation, und 1 , bedeutet maximale Assoziation angenommen werden.

Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel, unter der Bedingung $RR > 1$:

$$EF = \left(\frac{RR-1}{RR}\right) \cdot fp$$

Für $RR < 1$ berechnet man statt der Ethnologischen Fraktion die Präventive Fraktion (PF)

$$PF = \frac{(1-RR) \cdot fp}{RR \cdot (1-fp) + fp}$$

$$fp = \text{Frequenz des Merkmals in der Patientengruppe} = \frac{a}{a+b}$$

(133)

II.C.2.4. Fisher-Exakt-Test

Der Fisher-Exakt-Test ist eigentlich für kleinere Fallzahlen gedacht, er empfiehlt sich aber auch bei größeren Fallzahlen, soweit man einen Computer zu Verfügung hat. Das berechnete sog. p-value, oder der p-Wert drückt die Wahrscheinlichkeit aus, mit der die beobachtete Assoziation stärker ist, als dass sie zufällig sein könnte.

Man benutzt folgende Formel:

$$p_i = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{a!b!c!d!N!}$$

Man addiert also zu den in den Feldern einer 2 x 2 Tabelle angegebenen Werten so lange "unwahrscheinlichere" Verteilungen hinzu, bis ein Feld mit null besetzt ist. Dazu wird bei jedem Schritt der Wert im Feld a (falls $RR < 1$), oder im Feld c (für $RR \geq 1$) um eins erniedrigt, dabei bleiben die Randsummen gleich:

$$p = \sum_{i=0}^n p_i, \quad n = \min(a,d) \text{ für } RR < 1, \quad n = \min(c,d) \text{ für } RR \geq 1$$

Um die Zweiseitigkeit bei diesem einseitigen Test zu erreichen, multipliziert man das Ergebnis mit zwei.

Die entsprechenden Signifikanzstufen für die p-Werte lassen sich wiederum in drei Niveaus einteilen:

$0,05 \geq p > 0,01$ (entspr. 5 % Signifikanz, wahrscheinlich signifikant)

$0,01 \geq p > 0,001$ (entspr. 1 % Signifikanz, signifikant)

$0,001 \geq p$ (entspr. 0,1 % Signifikanz, höchst signifikant)

Um die bei jedem Vergleich bestehende zufällige Signifikanz auszuschließen, nimmt man eine Korrektur des p-Wertes vor. D.h. der errechnete p-Wert wird mit der Anzahl (n) der Vergleiche korrigiert werden: $p = 1-(1-p)^n$

Falls bei der Untersuchung nur bereits bekannte Assoziationen bestätigt werden sollen erübrigt sich die Korrektur des p-Wertes.

Für diese Arbeit wurden die signifikanten Assoziationen mit dem Fisher-Exakt-Test nachgerechnet, und die p-Werte entsprechend korrigiert.

II.C.2.5. Genfrequenzen

Die Genfrequenzen, oder Allelfrequenzen, berechnen sich nach folgender Formel:

$$f = \frac{n_a}{n_g}$$

wobei n_a = Anzahl eines Allels

n_g = Anzahl aller Allele

Man setzt weiter voraus, dass dabei alle Allele bekannt sind, und Individuen mit nur einem Allel homozygot für dieses Allel sind. (118)

Da die verwendeten Marker kodominant vererbt werden, gilt außerdem:

$$N_{\text{Allele}} = 2 N_{\text{Individuen}}$$

II.C.2.6.Haplotypenfrequenzberechnung und Kopplungsungleichgewichte

Die Haplotypen, oder die Stärke des Kopplungsungleichgewichtes zwischen zwei oder drei Allelen, werden nach den Formeln von Arnold (16), Baur (24) und Piazza mittels eines Computerprogramms berechnet. Man benutzt für die Berechnung der Haplotypenfrequenzen, die zuvor bereits berechneten Gen / Allelfrequenzen. (16,149)

II.C.2.6.1. Zwei-Punkt- Haplotypenfrequenzberechnung und Kopplungsungleichgewichte

Die Zwei-Punkt- Haplotypenfrequenzen, oder das Kopplungsungleichgewicht zwischen zwei Allelen errechnet sich dann nach folgender Formel:

$$\Delta(i,j) = p(i,j) - p(i) \cdot p(j)$$

wobei $p(i,j)$ = beobachtete Haplotypenfrequenz

$p(i), p(j)$ = Genfrequenz der Allele i und j

$p(i) \cdot p(j)$ = erwartete Haplotypenfrequenz

Um diese absoluten Delta-Werte miteinander vergleichen zu können, definiert man ein relatives Delta:

$$\Delta_{\text{rel}} = \frac{\Delta(i,j)}{\Delta_{\text{max}}(i,j)} \quad \text{mit} \quad \Delta_{\text{max}}(i,j) = p(i)(1-p(j))$$

oder $\Delta_{\text{max}}(i,j) = -p(i)p(j)$ für negative Assoziationen

$p(i)$ ist dabei die kleinere der beiden Genfrequenzen.

II.C.2.6.2. Drei-Punkt- Haplotypenfrequenzberechnung und Kopplungsungleichgewicht

Das absolute Delta für Drei-Punkt-Haplotypen, also die Assoziationsstärke von drei verschiedenen Merkmalen berechnet sich wie folgt:

$$\Delta(i,j,k) = p(i,j,k) - p(i) \cdot p(j) \cdot p(k) - p(i) \cdot \Delta(j,k) - p(j) \cdot \Delta(i,k) - p(k) \cdot \Delta(i,j)$$

entsprechend berechnet sich das relative Delta:

$$\Delta_r(i,j,k) = \frac{\Delta(i,j,k)}{\Delta_{\text{max}}(i,j,k)}$$

mit $\Delta_{\text{max}}(i,j,k) = p(i)(1-p(j)p(k)) - p(i)\Delta(j,k) - p(j)\Delta(i,k) - p(k)\Delta(i,j)$

für positive Assoziationen

und $\Delta_{\max}(i,j,k) = - p(i)p(j)p(k) - p(i)\Delta(j,k) - p(j)\Delta(i,k) - p(k)\Delta(i,j)$
für negative Assoziationen

$p(i)$ soll wieder die kleinste der Genfrequenzen sein.

Die Haplotypenberechnungen wurden mit einem Computerprogramm von G. Sierp erstellt, das sie anlässlich des 9th International Histocompatibility Workshops 1984 entwickelt hatte. (23,118)

III. Ergebnisse

Es folgen nun die Ergebnisse der statistischen Auswertung: Jeweils getrennt für Patienten und Kontrollgruppe zunächst die Allelfrequenzen der einzelnen Mikrosatelliten, danach die Zwei-Punkt- und Drei-Punkt-Haplotypenberechnungen ebenfalls für jeden Mikrosatelliten, und schließlich die Segregationsanalyse der 17 getesteten Familien des Kontrollpanels.

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde die Patientengruppe als eine Gruppe betrachtet, ohne die einzelnen Unterformen der JCA getrennt zu analysieren. Dabei könnte man anmerken, dass dadurch die spezifischere Auswertung der einzelnen Untergruppen der JCA verloren geht. Betrachtet man aber die Zusammensetzung unserer Patientengruppe zeigt sich, dass die Mehrzahl (n=179) einer Untergruppe angehört (der oligoarthritischen JCA) und der die restlichen Patienten sich auf die übrigen Untergruppen verteilen, jedoch erhält man in diesen Untergruppen dann zu kleine Fallzahlen für eine sinnvolle statistische Auswertung. Trotzdem zeigen wir im Folgenden exemplarisch für die Frequenzen des Markers MICA, dass die gesonderte Berechnung für die drei Untergruppen (n=179, n= 31, n= 25) in unserem Kollektiv zu nahezu gleichen Ergebnissen führt, wie die gemeinsame Berechnung aller Untergruppen in einer Patientengruppe. Anzumerken ist dabei, dass die seronegative und seropositive JCA zusammengefasst sind (als Polyarthritische JCA), ebenso wie die JAS, die ja oft als Typ II der EOPA-JCA angesehen wird, mit der Oligoarthritischen JCA (EOPA-JCA) zusammengefasst wurde, da es sich um zu wenige Patienten gehandelt hätte.

Zur Validierung der von uns identifizierten Allele und Haplotypen werden bereits publizierte Daten anderer Autoren zu den einzelnen Markern herangezogen.

III.A. Allelfrequenzen

III.A.1. MICA

Die Analyse der insgesamt 492 DNA Proben ergab für Exon 5 des MICA Gens 5 Allele (Tab.1).

Tab. 1

Marker- name	PATIENTEN(Gesamtgruppe)				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl		Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl		Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
	Haplo- typen	Indivi- duen			Haplo- typen	Indivi- duen					
MICA-95	88	83	0.347	0.184	32	29	0.196	0.108	8.06	1.86	0.09
MICA-98	55	48	0.201	0.115	35	28	0.189	0.118	0.02	0.97	0.00
MICA-99	174	135	0.565	0.364	113	89	0.601	0.382	0.25	0.93	-0.03
MICA-101	69	63	0.264	0.144	63	53	0.358	0.213	6.06	0.62	-0.09
MICA-110	90	79	0.331	0.188	51	45	0.304	0.172	0.31	1.11	0.02
MICA-X				0.004				0.007			
NCEL =	239				148						

Die folgenden Tabellen zeigen exemplarisch die Berechnung der Allelfrequenzen für MICA getrennt für die 3 Patientenuntergruppen: Die Oligoarthritische JCA (EOPA-JCA und JAS), die Polyarthritische JCA (seropos. und seroneg.) und die Systemische JCA.

Tab 1a.

Marker- name	PATIENTEN(Oligoarthr.)				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl		Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl		Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
	Haplo- typen	Indivi- duen			Haplo- typen	Indivi- duen					
MICA-95	69	66	0.369	0.193	29	26	0.211	0.118	6.01	1.79	0.08
MICA-98	38	33	0.184	0.106	32	25	0.203	0.130	0.82	0.79	-0.03
MICA-99	131	102	0.570	0.366	90	71	0.577	0.366	0.00	1.00	0.00
MICA-101	50	47	0.263	0.140	51	44	0.358	0.207	4.79	0.62	-0.09
MICA-110	69	61	0.341	0.193	42	38	0.309	0.171	0.47	1.16	0.03
NCEL =	179				122						

Tab. 1b.

Marker- name	PATIENTEN(Polyarthrit.)				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl		Antigen- Gen-		abs. Anzahl		Antigen- Gen-				
	Haplo- typen	Indivi- duen	Frequenz		Haplo- typen	Indivi- duen	Frequenz				
MICA-95	12	11	0.355	0.194	29	26	0.211	0.118	2.46	1.80	0.09
MICA-98	6	4	0.129	0.097	32	25	0.203	0.130	0.51	0.72	-0.04
MICA-99	24	20	0.645	0.387	90	71	0.577	0.366	0.10	1.09	0.03
MICA-101	10	8	0.258	0.161	51	44	0.358	0.207	0.66	0.74	-0.06
MICA-110	9	7	0.226	0.145	42	38	0.309	0.171	0.23	0.82	-0.03
MICA-X			0.016				0.000				
NCEL =		31				122					

Tab. 1c

Marker- name	PATIENTEN(System.)				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl		Antigen- Gen-		abs. Anzahl		Antigen- Gen-				
	Haplo- typen	Indivi- duen	Frequenz		Haplo- typen	Indivi- duen	Frequenz				
MICA-95	7	7	0.280	0.140	29	26	0.211	0.118	0.19	1.22	0.03
MICA-98	6	6	0.240	0.120	32	25	0.203	0.130	0.04	0.91	-0.01
MICA-99	18	15	0.600	0.360	90	71	0.577	0.366	0.01	0.98	-0.01
MICA-101	9	8	0.320	0.180	51	44	0.358	0.207	0.19	0.84	-0.03
MICA-110	10	9	0.360	0.200	42	38	0.309	0.171	0.25	1.21	0.04
NCEL =		25				122					

Wenn man die Tabellen 1a - 1c mit Tabelle 1 vergleicht, stellt man nahezu die gleiche Allelverteilung für MICA fest. Bei der Gesamtgruppe werden aufgrund der größeren Fallzahlen einzelne Werte deutlicher, wie z.B. das Chi² von 8,06 für MICA-95.

Signifikante Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollgruppe finden sich aber auch bei der getrennten Betrachtung der einzelnen Untergruppen nicht.

Auch für die übrigen Marker lassen sich die Frequenzen analog in jeder Untergruppe mit ähnlichem Ergebnis berechnen. Die Zusammenfassung der Patientengruppe zu einer Gruppe führt somit nicht zur Unterschlagung wichtiger Fakten für die Untergruppen der JCA, im Gegenteil werden einzelne Ergebnisse durch die erhöhte Fallzahl in einer Gruppe deutlicher.

Für die Berechnung der Allelfrequenzen der anderen Marker wird im folgenden deshalb nur mehr die Gesamttabelle gezeigt, und auf die Aufführung der einzelnen Untergruppen verzichtet.

Es folgt nun die Analyse der für MICA errechneten Frequenzen und der Literaturvergleich:

Das Allel MICA 99 ist das am häufigsten vorkommende Allel, sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe. Es ist außerdem das Allel, bei dem die Einfügung einer Base (GCT → GGCT) zu einem verfrühten Stopcodon führt, mit den bereits erwähnten Konsequenzen.

Nach Korrektur des p-Werts ergibt sich jedoch für dieses Allel kein signifikanter Unterschied in der Verteilung beim Vergleich Patienten / Kontrollen.

Für MICA-95 errechneten wir einen Chi²-Wert von 8.06 (Tab.1). Nach Korrektur des p-Wertes ergibt sich $p = 0,0045$ entsprechend der Signifikanzstufe 1% ($0,01 \geq p \geq 0,001$). Die Erklärung dafür ist evtl. im später dargelegten Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-B27, das in der Patientengruppe (krankheitsassoziiert) wesentlich häufiger auftritt, mit MICA-95 zu suchen. (siehe III.B.1.)

Die fünf von mir identifizierten Allele entsprechen auch den von anderen Autoren bereits identifizierten Allelen von MICA. So identifizierten M. Ota et al. 1997 fünf Allele, die sie A4 (179 bp), A5 (182 bp), A5.1 (183 bp), A6 (185 bp) und A9 (194 bp) nannten. (100)

Diese entsprechen den von mir identifizierten Allelen. Die von Ota amplifizierten Stücke sind je 84 bp länger, der Grund dafür liegt in der Auswahl der Primer.

Einige weitere Autoren bestätigen die von uns gefundenen Allele des MICA Genes, wie z. B. Kimura et al. (82), die in Japan den Zusammenhang zwischen MICA und der Takayasu Arthritis sowie zwischen MICA und dem M. Buerger untersuchten. Sie fanden sowohl die selben fünf MICA-Allele (1.1 – 1.5.), als auch die beschriebene Insertion bei Allel MICA-99 (→ 1.5.).

Neben dieser Studie lassen sich noch einige Ältere anführen, die zu den gleichen Allelen kamen, u.a. Mizuki et al. (94), Tamiya et al. (131), Vitani et al. (141), Goto et al. (62), Fodil et al. (53) sowie Bahram et al. (19,21), die als erste 1994 auch die Sequenz des MICA-Genes veröffentlichten. (21)

III.A.2. D6S 265

Bei der Analyse dieses Mikrosatelliten konnten insgesamt 8 verschiedene Allele gefunden werden. Ihre Frequenzen zeigt Tab. 2. Allel 9 (265-142) ist in der Tabelle nicht aufgeführt, da es nur in der Gruppe der verwandten Kontrollen vorkam, die wir für die Frequenzanalyse ausschließen mussten.

Tab. 2

Marker- name	PATIENTEN				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
265-122	32	30	0.132	0.070	39	34	0.227	0.130	7.61	0.51	-0.07
265-124	9	9	0.039	0.020	3	2	0.013	0.010	1.10	1.99	0.01
265-126	114	93	0.408	0.250	104	88	0.587	0.347	8.24	0.63	-0.15
265-128	70	60	0.263	0.154	30	29	0.193	0.100	4.51	1.63	0.06
265-130	147	123	0.539	0.322	84	70	0.467	0.280	1.53	1.22	0.06
265-132	68	61	0.268	0.149	28	28	0.187	0.093	5.08	1.70	0.06
265-134	7	7	0.031	0.015	6	6	0.040	0.020	0.23	0.76	0.00
265-138	5	5	0.022	0.011	0	0	0.000	0.000	3.31	0.00	0.01
265-140	0	0	0.000	0.000	2	2	0.013	0.007	****	*****	****
265-144	2	2	0.009	0.004	0	0	0.000	0.000	****	*****	****
265-X				0.004				0.013			
NCEL =		228				150					

Bei den Allelen 265-140 und 265-144 sowie einem weiteren Allel 265-142 (das in der Frequenzanalyse fehlt, da es nur bei einem der verwandten Panelpersonen vorkommt) handelt es sich entweder um sehr seltene Allele, da sie im Vergleich der Daten kaum in Erscheinung treten, oder um in Wirklichkeit gering kürzere Allele, da die Methode der Fragmentlängenanalyse, gelegentlich die DNA-Bruchstücke um eine oder zwei Basen verlängert.

Raha-Chowdhury et al. fanden 1995 im Rahmen eines Vergleiches von Hämochromatosepatienten mit gesunden Kontrollen für diesen Marker 9 publizierte Allele beginnend mit 122 bp und dann je um 2 bp ansteigend. (106).

Zu diesem Ergebnis kamen auch Worwood et al. in einer 1997 veröffentlichten Studie zu HLA-Assoziationen mit bestimmten Mikrosatelliten (147).

In der bereits 1994 veröffentlichten Studie über den Zusammenhang zwischen Hämochromatose und bestimmten Mikrosatelliten weist Worwood auf nur fünf häufige Allele hin (benannt 1, 3, 4, 5 und 6) mit einer Fragmentlänge zwischen 124 und 134 bp , und auf einige deutlich weniger häufige größere Allele. Dies deckt sich weitgehend mit den von uns gemachten Feststellungen. Das Allel 136 fehlt in der von uns untersuchten Gruppe.

Eine weitere Assoziationsstudie unter der Leitung von Jazwinska et al., die sich auch mit dem Zusammenhang von Hämochromatose und D6S 265 beschäftigt, publizierte wiederum insgesamt 9 Allele, wobei unter der Bezeichnung „ # „ diejenigen Allele zusammengefasst wurden, die einen Polymorphismus in der Bindungsregion der Primer aufwiesen. (81)

Auch Bouisou et al. arbeiteten 1995 im Rahmen einer Segregationsstudie mit dem Marker D6S 265, sie fanden bei der Untersuchung von insgesamt 11 Familien 7 Allele dieses Markers, des weiteren zwei Mutationen, d.h. neue Allele, deren Fragmentlänge allerdings nicht publiziert wurde. (31)

Die von M. Martin et al. veröffentlichte Anzahl von Allelen für diesen Marker beträgt ebenso 9. Die Länge der DNA-Stücke variierte dabei zwischen 176 und 218 bp. Es wurden jedoch zur Amplifikation andere Primer verwendet, wie man dem Artikel entnehmen kann. (91)

Abschließend kann man sagen, dass die Allelfrequenzen der Kontrollgruppe im Vergleich mit denen der Patienten mit JCA in unserem Fall keine signifikanten Unterschiede aufwiesen. Die Häufigkeitsverteilungen zeigten sich ähnlich.

III.A.3. D6S 273

Es folgen nun die Allelfrequenzen des Markers D6S 273 :

Tab. 3

Marker- name	PATIENTEN				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
273-128	21	20	0.084	0.044	14	13	0.088	0.047	0.04	0.93	0.00
273-130	20	20	0.084	0.042	29	28	0.189	0.098	9.61	0.40	-0.06
273-132	59	54	0.227	0.124	48	44	0.297	0.162	2.23	0.73	-0.05
273-134	190	155	0.651	0.399	75	67	0.453	0.253	17.21	1.96	0.20
273-136	141	122	0.513	0.296	92	80	0.541	0.311	0.18	0.93	-0.02
273-138	17	17	0.071	0.036	16	16	0.108	0.054	1.50	0.65	-0.02
273-140	27	26	0.109	0.057	20	18	0.122	0.068	0.38	0.83	-0.01
273-X				0.002				0.007			
NCEL =		238				148					

Das Merkmal 273-134 findet sich signifikant häufiger bei Patienten als bei den Kontrollen ($\text{Ch}^2 = 17,2 \rightarrow \text{p}(\text{korr.}) = 0,00067$, Signifikanzniveau 0,1%). Dagegen ist 273-130 bei den Patienten seltener als bei den Kontrollen ($\text{Chi}^2 = 9,6 \rightarrow \text{p}(\text{korr.}) = 0,0153$, Signifikanzniveau 5%).

Erklärungsmöglichkeiten bietet dabei erneut die Haplotypenanalyse, die das häufige Allel HLA-B27 assoziiert mit 273-134 zeigte. (III.B.3.) Im Sinne eines „Ausgleiches“ könnte man dann auch das signifikant seltenere Vorkommen eines anderen Allels (hier 273-130) bei den Patienten erklären.

Wir fanden für diesen Marker insgesamt 7 Allele, wobei 273-134 und 273-136 die häufigsten Allele sind. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen, die Grubic et al. in ihrer Studie in der Kroatischen Bevölkerung festgestellt haben. (64)

Sie fanden 7 Allele (128, 130, 132, 134, 136, 138 und 140 bp), und auch dabei kamen die Allele mit 134 und 136 bp am häufigsten vor. Die Fallzahl war jedoch wesentlich kleiner als in unserer Studie, nämlich 129 Individuen.

Die beiden häufigsten darunter waren die Allele mit der Fragmentlänge 132 und 134 bp. Allel D6S6-140 ist nicht aufgeführt, dafür aber ein weiteres mit einer Länge von 126 bp. Diese Tatsachen legen die Vermutung nahe, dass es sich bei den 7 von Singal gefundenen Allelen, um die selben handelt, die auch unsere Studie identifizierte, allerdings mit einer wohl methodenbedingten Verschiebung um zwei Basenpaare .

D'Alfonso et al. finden in der Recombinationsstudie zwischen HLA-Haplotypen und bestimmten Markern, für D6S 273 nur die Allele 132, 134 und 136. (43) Dies sind die auch in unserer Gruppe am häufigsten vorkommenden Allele, und da die Zahl der Individuen in D'Alfonso's Gruppe wesentlich geringer ist, kann man die geringere Anzahl an Allelen erklären.

In der großen Mikrosatellitenuntersuchung von M. Martin et al. aus dem Jahr 1998 findet die Gruppe für D6S 273 9 Allele zwischen 139 und 163 bp Fragmentlänge. (91) Die unterschiedliche Länge der amplifizierten Stücke, im Vergleich mit unserer Untersuchung, ist wohl auf die Verwendung anderer Primer zurückzuführen.

III.A.4. D6S 291

Auch für D6S 291 ließen die Ergebnisse eine Berechnung der Allelfrequenzen zu, die folgende Tabelle zeigt :

Tab. 4

Marker- name	PATIENTEN				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
291-198	2	2	0.008	0.004	1	1	0.007	0.003	****	****	****
291-200	115	104	0.432	0.239	76	68	0.447	0.250	0.13	0.94	-0.02
291-202	186	144	0.598	0.386	144	109	0.717	0.474	5.90	0.70	-0.17
291-204	34	33	0.137	0.071	16	16	0.105	0.053	1.00	1.37	0.02
291-206	31	31	0.129	0.064	13	13	0.086	0.043	1.64	1.54	0.02
291-208	30	29	0.120	0.062	13	11	0.072	0.043	1.37	1.49	0.02
291-210	80	68	0.282	0.166	39	35	0.230	0.128	2.06	1.35	0.04
291-212	3	3	0.012	0.006	0	0	0.000	0.000	****	****	****
291-X				0.002				0.007			
NCEL =		241				152					

Wir identifizierten 8 Allele dieses Markers, wie Tabelle 4 zeigt.

Die beiden Allele mit der höchsten Frequenz waren dabei deutlich zu erkennen, es handelt sich um 291-200 und 291-202. Die Allele mit 212 bzw. 198 bp sind extrem selten.

Gaýan et al. publizierten 1999 für D6S 291 eine Anzahl von 7 Allelen (59) ohne genaue Angaben über die Länge der Fragmente zu machen.

Wjst et al. untersuchten im Rahmen einer Asthma-Studie u. a . auch D6S 291. Sie kamen dabei auf 8 Allele zwischen 198 und 212 bp Länge. Dies stimmt mit unseren Ergebnissen überein, wenn auch die Häufigkeitsverteilungen in ihrer Untersuchungsgruppe sich anders darstellten. (143)

Martin et al. charakterisierten 1998 12 Mikrosatelliten im MHC-Komplex, und publizierten in diesem Zusammenhang für D6S 291 insgesamt 8 Allele zwischen 166 und 186 bp Länge.

Die unterschiedlichen Fragmentlängen lassen sich mit der Wahl anderer Primer erklären, deren Sequenzen in dem entsprechendem Artikel ebenfalls angegeben sind. (91)

III.A.5. MOGa

Die folgende Tabelle zeigt nun die Allelfrequenzen des Markers MOGa :

Tab. 5

Marker- name	PATIENTEN				KONTROLLEN				Chi ²	rel. Risiko	ethiol. Frakt.
	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz	abs. Anzahl Haplo- typen	abs. Anzahl Indivi- duen	Antigen- Frequenz	Gen- Frequenz			
MOGa-126	6	5	0.021	0.012	5	3	0.020	0.017	0.23	0.75	0.00
MOGa-128	258	185	0.768	0.535	143	115	0.762	0.474	2.83	1.28	0.12
MOGa-130	201	157	0.651	0.417	132	108	0.715	0.437	0.31	0.92	-0.04
MOGa-132	16	16	0.066	0.033	19	19	0.126	0.063	3.84	0.51	-0.03
MOGa-136	0	0	0.000	0.000	1	1	0.007	0.003	***	****	****
MOGa-140	0	0	0.000	0.000	0	0	0.000	0.000	****	****	****
MOGa-X				0.002				0.007			
NCEL =		241				151					

Wir identifizierten insgesamt 6 verschiedenen Allele.

MOGa weist eine relativ geringe Allelvariabilität auf, im Wesentlichen handelt es sich dabei um die Allele MOGa-128, MOGa-130 und MOGa-132.

Roth et al befassten sich in einem 1995 erschienenen Artikel mit dem MOG-Locus und seinen Allelen, dabei fanden sie für das MOGa-Gen sechs Allele zwischen 124 bp und 134 bp im Abstand von je zwei bp. (112)

Es ist anzunehmen, dass es sich dabei um die selben Allele handelt die auch wir identifiziert haben, da unser kürzestes Allel die Länge von 126 bp hat, und das längste 136 bp. Eine solche Verschiebung um zwei Basenpaare ließe sich z.B. mit der Wahl der Primer oder durch andere Störfaktoren erklären.

III.B. Zwei-Punkt-Assoziationen

In dieser Arbeit wird eine Gruppe von eng gekoppelten Mikrosatellitengenorten auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 für eine Assoziationsstudie untersucht. Um bei einer möglichen statistischen Assoziation eines oder mehrerer Marker einen Hinweis auf die Lokalisation des Krankheitsgens zu erhalten, ist eine Analyse von Zwei-Punkt- und Drei-Punkt-Haplotypen, deren Frequenzen und deren Kopplungsungleichgewicht mit bekannten Genorten (z.B. des HLA-Systems) in der Patienten und der Kontrollpopulation erforderlich.

Bei der Berechnung der Zwei-Punkt-Haplotypen Genfrequenzen wurden die bereits vorher typisierten Loci der HLA-Klasse I und II Antigene verwendet. Es wurde mit dem von G.Sierp (118) entwickelten Rechenprogramm gearbeitet.

Für jeden Mikrosatelliten ermittelten wir die Kopplungsungleichgewichte mit HLA-A, HLA-B, HLA-C und HLA-DRB1.

III.B.1. Zwei-Punkt-Assoziationen von MICA

Die Haplotypen von MICA und HLA-A, bzw. HLA-C ergaben wenige signifikante Assoziationen, die sich in Anlehnung an die sehr starken Assoziationen zwischen HLA-B und MICA-Allelen, und die Beziehung zwischen HLA-A und HLA-B, erklären ließen.

Tabelle 6 fasst nun die Haplotypen von HLA-B und MICA zusammen. Ausführliche Tabellen, auch zu den obengenannten Allelen finden sich im Anhang.

Tab. 6: Zwei-Punkt-Assoziationen: MICA und HLA-B

	PATIENTEN (N=94)	KONTROLLEN (N=187)
MICA-95	B18, B27, B55*, B56	B18, B27, B55*, B56*
MICA-98	B62	Bw61*, B62
MICA-99	B7, B8, B13*, B44*, B60	B7, B8, B13, B37*, B47*, B60
MICA-101	B14*, B41*, B44, B49*, B51*	B41*, B42*, B44, B49*, B50, B51
MICA-110	B35, B38*, B39, B58*	B35, B38, B39*, B57, B58*

* = nicht signifikant, wegen zu kleiner Anzahl

Beim Vergleich der Haplotypen von Patienten und Kontrollen sieht man, dass die Assoziationen von HLA-B mit MICA weitgehend parallel auftreten. Es treten fast keine Assoziationen bei der Patientengruppe auf, die bei der Kontrollgruppe fehlen.

Des Weiteren ist anzumerken, dass verschiedene verwandte Allele des B-Locus mit dem gleichen MICA-Allel assoziiert sind, wie z.B. B55 und B56 mit MICA 95, B38 und B39 mit MICA 110 und B49 und B51 mit MICA 101.

Auch bei der Analyse der Zwei-Punkt-Haplotypen mit DRB1 ergaben sich, besonders im Vergleich mit den starken B-Locus-Assoziationen, nur wenige signifikante Assoziationen, wie z. B. DRB1*01 mit MICA-110, DRB1*07 mit MICA-101 in der Kontrollgruppe.

Mit dem HLA-A-Locus fanden wir bei den Kontrollen HLA-A 3 stark mit MICA-101 assoziiert (höchstes Signifikanzniveau), und in der Kontrollgruppe MICA-101 mit HLA-A 23, MICA-110 mit HLA-A-11 (beide auf dem höchsten Signifikanzniveau).

HLA-C zeigt bei relativ hoher Anzahl der Individuen (n = 139 (Kontr.) und n = 99 (Pat.)) je zwei Haplotypen mit starker Assoziation.

Insgesamt ist das Kopplungsungleichgewicht von MICA besonders stark mit HLA-B, wie Tabelle 6 zeigt. Die ausführlichen Tabellen finden sich im Anhang.

Zu diesen oder ähnlichen Ergebnissen kommen auch Kimura et al., die in der bereits erwähnten Studie (82) neben einem Zusammenhang zwischen MICA und Takayasu Arthritis

bzw. M. Buerger verschiedene Assoziationen mit dem HLA- B Locus identifizierten. Für das längste MICA-Allel (1.1.), bei uns MICA-110, fand Kimura Assoziationen mit HLA-B 35, 39, 58 und 67.

Unsere Studie bestätigte die Assoziationen mit HLA-B 35, 39 und 58.

Auch die anderen Assoziationen finden sich teilweise bestätigt:

Kimura findet Assoziationen von Allel 1.4. (entspricht unserem Allel MICA-95) mit HLA-B 49, 54, 55, 56 und 59, die wir auch teilweise fanden (Tab. 6). Des weiteren u.a. einen Zusammenhang zwischen Allel 1.3. (entspricht unserem MICA-98) mit HLA-B 62, den auch wir feststellen konnten. Das verlängerte MICA-99, bei Kimura 1.5. (5 GCT-repeats) , schien in unserer Untersuchung u.a. assoziiert mit HLA-B 7 und 60, was Kimuras Ergebnissen entspräche, und auch das letzte Allel, MICA-101, Kimura 1.2. (6 GCT-repeats), weist in beiden Studien Assoziationen mit HLA-B 44 und 51 auf.

III.B.2. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 265

Der Mikrosatellit D6S 265 zeigt im Gegensatz zu MICA nun die stärksten Assoziationen mit dem HLA-A-Locus wie Tabelle 7 zeigt:

Tab. 7: Zwei-Punkt-Haplotypen: D6S 265 und HLA-A bzw. HLA-B

	PATIENTEN (N=90/88)		KONTROLLEN (N=196/3)	
	HLA- A	HLA-B	HLA-A	HLA-B
D6S265-122	A3*		A3	B7, B50*
D6S265-124	A24*	B62*		
D6S265-126	A1, A23*, A24	B8, B58*	A1, A23, A24	B8
D6S265-128	A11, A25, A26		A11, A25*, A26	B35, B38, B56*
D6S265-130	A2, A33*	B27	A2, A32	B60, B62
D6S265-132	A29*	B44	A28*, A29*	B51
D6S265-134			A30*	
D6S265-138	A28*			

*= nicht signifikant, wegen zu kleiner Anzahl

Bei diesem Marker fanden sich neben den stark signifikanten A-Locus-Assoziationen auch einige signifikante B-Locus-Assoziationen, die auch in Tabelle 7 dargestellt sind.

Wieder sieht man ein weitgehend paralleles Auftreten der Assoziationen bei beiden Gruppen. Auch zeichnet sich hier bereits der bei den Patienten gehäuft vorkommende Haplotyp mit A2 und B27 ab.

Dies erklärt sich aus der Anzahl der an Spondylitis erkrankten Kindern im Patientengut, die überdurchschnittlich oft HLA-B27 oder A2 haben.

Mit dem C-Locus und dem DRB1-Locus finden sich hier nur wenige stärkere Assoziationen, die wiederum etwas häufiger in der Kontrollgruppe auftreten, was auch an der größeren Anzahl der Kontrollen liegen mag. (z.B. HLA-Cw3 mit 265-130, oder HLA-DRB1*12 mit 265-130) Die entsprechenden Tabellen finden sich im Anhang.

Für die in der Tabelle nicht aufgeführten anderen Allele von D6S 265 konnten wir keine signifikanten Assoziationen feststellen.

Worwood et al publizierten 1997 einige HLA-Assoziationen mit D6S265. Dabei überwogen ebenso die Kopplungsungleichgewichte mit dem HLA-A-Locus.

Nahezu alle dort publizierten Zwei-Punkt-Assoziationen konnten wir bestätigen:

265-1 (unser D6S 265-122) fanden Worwood et al. assoziiert mit HLA-A3 und HLA-B7, 265-3 (unser D6S 265-126) mit HLA-1 und HLA-B8, 265-4 (unser D6S 265-128) mit HLA-A11 und schließlich 265-5 (unser D6S 265-130) mit HLA-A2 . (147)

Auch Camaschella et al. identifizierten die Assoziation HLA-A3 – D6S 265-1 (unser 122 bp –Allel) unter anderem, im Rahmen einer Hämochromatose-Studie. (39)

Jazwinska et al. bestätigten die Assoziationen A3-D6S 265-1, sowie A2-D6S 265-5 (130 bp), A1-D6S 265-3 (126 bp) und A11-D6S 265-4 (128 bp) auf entsprechendem Signifikanzniveau im Rahmen einer Krankheitsstudie. (81)

III.B.3. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 273

Die nachfolgende Tabelle zeigt die wichtigsten Zwei-Punkt-Assoziationen des Mikrosatelliten D6S 273. Die Auswertung ergab keine nennenswerten Assoziationen mit HLA C, aus diesem Grund enthält die Tabelle keine diesbezüglichen Angaben. Die aufgefundenen

Kopplungsungleichgewichte zeigten alle mindestens eine Signifikanz von 1 % ($0,01 \geq p \geq 0,001$).

Tab. 8: Zwei-Punkt-Assoziationen: D6S 273 und HLA A bzw. HLA B bzw. HLA DRB1

	PATIENTEN (N=96/94/232)			KONTROLLEN (N=202/198/181)		
	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1
D6S273-128		B50*,B58*	DRB1*14		B42, B50*	DRB1*03
D6S273-130		B13*	DRB1*13	A30	B13*;.B18, B60	DRB1*07, DRB1*13
D6S273-132	A23*	B44*,B49* B62		A23	B44,B39	DRB1*07, DRB1*08*
D6S273-134		B27, B35*, B41*, B56	DRB1*11	A24	B27, B35, B38, B56	DRB1*01, DRB1*04
D6S273-136	A33*	B7, B37*, B55*,B57*	DRB1*02	A2	B7, B37, B47*, B62	DRB1*02
D6S273-138		B7*			B7	DRB1*02
D6S273-140	A1	B8*	DRB1*03	A1	B8	DRB1*03

*= nicht signifikant, wegen zu kleiner Anzahl

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, herrschen bei dem Mikrosatelliten D6S 273 Assoziationen mit dem HLA-B-Locus und dem HLA-DR-Locus vor, während der A-Locus und der C-Locus (bei n = 50) nur schwach signifikante Kopplungsungleichgewichte erkennen lässt. Wiederum ist die Lage des Markers eine Erklärungsmöglichkeit für diesen Umstand: Abb. 5 zeigt die Lokalisation des Markers zwischen HLA-B und HLA-DR.

Interessanterweise fanden Singal et al. in seiner Assoziationsstudie vom Juli 1998 eine sehr starke Assoziation zwischen HLA-DR 3 und einem Allel mit 138 bp Länge, welches unserem mit 140 bp entspricht. Wir haben eine ähnliche starke Assoziation gefunden, in der Patientengruppe sogar die stärkste überhaupt mit dem HLA-DR-Locus, und in der Kontrollgruppe etwas weniger stark, jedoch auch auf dem höchsten Signifikanzniveau. Einen weiteren Zusammenhang, und zwar den zwischen Allel 136 (entspräche unserem 138 bp

langen Fragment) und HLA-DR 2 fanden wir gleichfalls. Alle anderen Assoziationen, die Singal beschreibt, konnten wir in dieser Weise leider nicht bestätigen. (119)

III.B.4. Zwei-Punkt-Assoziationen von D6S 291

Der Mikrosatellit D6S 291 zeigt nur sehr vereinzelte und schwach signifikante Assoziationen im Vergleich zu den anderen Markern. Die Assoziationen lassen sich im Vergleich Patienten /Gesunde nicht gut reproduzieren und sind wohl eher zufällig.

Die ausführlichen Tabellen finden sich im Anhang.

III.B.5. Zwei-Punkt- Assoziationen von MOGa

Tab. 9: Zwei-Punkt-Assoziationen: MOGa und HLA-A bzw. HLA-B bzw. HLA-DRB1

	PATIENTEN (N=99/97)		KONTROLLEN (N=200/197)	
	HLA-A	HLA-B	HLA-A	HLA-B
MOGa-128	A1, A25, A26*, A33*	B27*, B49*, B57*, B58*	A1, A25*, A26, A29	B8, B27,B37*, B45*, B57, B60
MOGa-130	A3, A11	B13*, B38*, B39*	A2, A3, A11*	B7, Bw42*
MOGa-132	A23*		A23, A30	B44

*= nicht signifikant, wegen zu kleiner Anzahl

Die Analyse der Zwei-Punkt-Assoziationen für das MOGa-Gen ergab für die drei häufigsten Allele signifikante Assoziationen mit in erster Linie dem HLA-A und B-Locus, wie Tabelle 9 zeigt.

Dabei bestätigten die Ergebnisse der Patientengruppe lediglich die der Kontrollgruppe, ohne wiederum signifikante Unterschiede erkennen zu lassen.

Eine einzige nennenswerte Assoziation mit dem DRB1-Locus in der Patientengruppe bestand zwischen HLA-DRB*1 und MOGa-132. Eine Assoziation zwischen HLA-Cw 2 und MOGa-128 sei der Vollständigkeit halber erwähnt.

In der Kontrollgruppe war lediglich HLA-Cw 4 mit MOGa-132 signifikant assoziiert.

Ausführliche Tabellen finden sich im Anhang.

III.C. Drei-Punkt-Assoziationen

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit den Drei-Punkt-Assoziationen der fünf untersuchten Mikrosatelliten und dem HLA-Locus, dabei wurden, wie bei der Analyse der Zwei-Punkt-Haplotypen die beiden Gruppen getrennt betrachtet, um möglicherweise signifikante Unterschiede in der Patienten Gruppe (JCA-Patientenpanel) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Kontrollpanel) zu finden.

Die folgenden Tabellen zeigen nun auszugsweise zunächst die Drei-Punkt-Assoziationen der Marker mit HLA-A und HLA-B.

Im Folgenden dann die Berechnung mit HLA-B und HLA-C, und zum Schluss die Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-B und HLA-DR, jeweils getrennt aufgelistet für die beiden Gruppen.

Dabei sind einige starke Assoziationen zur besseren Übersicht hervorgehoben .

Tab. 10: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-A und HLA-B (Kontrollpanel)

KONTROLLPANEL

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	:	N real		N/10000		D abs		D rel
MICA-95	+ B18	+ A2	:	9		235		85		0.21
MICA-98	+ B35	+ A1	:	5		134		76		0.07
MICA-98	+ BW62	+ A2	:	7		198		18		0.02
MICA-99	+ B7	+ A2	:	22		580		128		0.12
MICA-99	+ B7	+ A3	:	17		465		165		0.14
MICA-99	+ B7	+ A31	:	5		134		57		0.30
MICA-99	+ B8	+ A1	:	19		506		237		0.65
MICA-99	+ B37	+ A1	:	5		134		69		0.72
MICA-99	+ BW60	+ A2	:	8		214		49		0.14
MICA-99	+ BW60	+ A30	:	5		134		69		0.16
MICA-101	+ B44	+ A23	:	13		345		218		0.66
MICA-101	+ BW62	+ A2	:	6		160		72		0.09
MICA-110	+ B35	+ A3	:	6		157		59		0.06
MICA-110	+ B35	+ A11	:	8		213		142		0.29
MICA-110	+ B38	+ A26	:	7		187		142		0.47
MICA-110	+ BW57	+ A1	:	5		135		83		0.31
265-122	+ B7	+ A3	:	22		575		266		0.24
265-122	+ B38	+ A3	:	5		129		66		0.24
265-122	+ BW62	+ A3	:	6		149		35		0.04
265-126	+ B8	+ A1	:	21		541		245		0.68
265-126	+ B35	+ A3	:	8		206		126		0.11
265-126	+ B35	+ A24	:	12		307		129		0.17
265-126	+ B44	+ A23	:	14		356		193		0.77
265-126	+ BW57	+ A1	:	5		127		47		0.20
265-128	+ B35	+ A1	:	6		145		81		0.07
265-128	+ B35	+ A11	:	8		200		116		0.26

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
265-130	+ B7	+ A2	: 18	464	83	0.07
265-130	+ B27	+ A2	: 8	215	63	0.24
265-130	+ B44	+ A2	: 12	308	6	0.01
265-130	+ B44	+ A32	: 5	129	62	0.25
265-130	+ BW60	+ A2	: 6	155	17	0.05
265-130	+ BW62	+ A2	: 20	517	152	0.26
273-130	+ BW60	+ A2	: 6	152	76	0.17
273-132	+ B35	+ A2	: 5	117	117	0.09
273-132	+ B44	+ A23	: 13	 326	 223	 0.74
273-134	+ B7	+ A2	: 9	236	119	0.09
273-134	+ B27	+ A2	: 6	163	73	0.28
273-134	+ B35	+ A1	: 8	213	58	0.05
273-134	+ B35	+ A3	: 8	208	73	0.07
273-134	+ B35	+ A24	: 11	274	110	0.14
273-134	+ B38	+ A26	: 6	 152	 95	 0.43
273-134	+ BW60	+ A30	: 5	126	83	0.17
273-136	+ B7	+ A3	: 19	468	235	0.19
273-136	+ B7	+ A31	: 6	142	74	0.31
273-136	+ B35	+ A11	: 5	115	51	0.11
273-136	+ BW57	+ A2	: 5	132	53	0.24
273-136	+ BW62	+ A2	: 14	359	105	0.15
273-138	+ B7	+ A2	: 5	117	21	0.04
273-140	+ B8	+ A1	: 16	 404	 304	 0.75
291-200	+ B7	+ A2	: 8	213	57	0.04
291-200	+ B8	+ A1	: 12	310	118	0.27
291-200	+ B27	+ A2	: 6	147	66	0.21
291-200	+ B35	+ A1	: 5	120	37	0.04
291-200	+ B38	+ A26	: 5	 126	 74	 0.30
291-202	+ B7	+ A3	: 17	438	100	0.08
291-202	+ B35	+ A2	: 6	157	48	0.05
291-202	+ B35	+ A31	: 5	116	65	0.26
291-202	+ B44	+ A2	: 8	210	2	0.00
291-202	+ B44	+ A23	: 10	241	78	0.29
291-202	+ B51	+ A2	: 5	126	49	0.14
291-202	+ BW62	+ A2	: 17	424	49	0.09
291-210	+ B7	+ A3	: 6	145	21	0.02
291-210	+ B35	+ A11	: 6	151	97	0.20
291-210	+ B44	+ A32	: 5	 126	 98	 0.30
291-210	+ BW62	+ A2	: 6	144	71	0.08
MOGA-128	+ B7	+ A31	: 6	148	83	0.35
MOGA-128	+ B8	+ A1	: 20	 508	 201	 0.67
MOGA-128	+ B18	+ A2	: 5	127	29	0.07
MOGA-128	+ B27	+ A2	: 7	177	43	0.19
MOGA-128	+ B27	+ A24	: 6	144	56	0.21
MOGA-128	+ B35	+ A1	: 12	302	92	0.10
MOGA-128	+ B35	+ A24	: 6	145	37	0.04
MOGA-128	+ B38	+ A26	: 7	 178	 89	 0.37
MOGA-128	+ BW57	+ A1	: 6	152	38	0.20
MOGA-128	+ BW57	+ A2	: 6	152	37	0.19
MOGA-128	+ BW60	+ A2	: 5	127	14	0.04
MOGA-130	+ B7	+ A2	: 19	480	42	0.04
MOGA-130	+ B7	+ A3	: 28	716	195	0.18
MOGA-130	+ B35	+ A2	: 5	128	55	0.05
MOGA-130	+ B35	+ A11	: 7	190	75	0.18
MOGA-130	+ B38	+ A3	: 5	127	51	0.20
MOGA-130	+ B44	+ A2	: 8	198	90	0.08
MOGA-130	+ BW62	+ A2	: 13	330	17	0.02
MOGA-130	+ BW62	+ A24	: 7	171	75	0.09
MOGA-132	+ B35	+ A3	: 6	152	118	0.14
MOGA-132	+ B44	+ A23	: 13	 330	 246	 0.76

MICA : n = 187
D6S265 : n = 194
D6S273 : n = 198
D6S291 : n = 199
MOGa : n = 197

Tab.11: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-A und HLA-B (JCA-Patientenpanel)

JCA-Patientenpanel

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
MICA-95	+ B18	+ A2	: 5	289	39	0.06
MICA-95	+ B27	+ A2	: 13	705	223	0.42
MICA-99	+ B7	+ A2	: 11	598	122	0.22
MICA-99	+ B8	+ A1	: 8	440	191	0.33
MICA-99	+ B44	+ A2	: 8	399	142	0.24
MICA-99	+ BW60	+ A2	: 5	252	41	0.13
265-126	+ B8	+ A1	: 9	499	292	0.51
265-130	+ B27	+ A2	: 13	752	221	0.46
273-134	+ B27	+ A2	: 11	578	138	0.21
273-134	+ B35	+ A2	: 5	287	84	0.10
273-136	+ B7	+ A2	: 12	638	142	0.22
273-136	+ B44	+ A2	: 7	368	126	0.19
273-140	+ B8	+ A1	: 8	426	312	0.66
291-200	+ B7	+ A2	: 5	239	63	0.07
291-200	+ BW62	+ A2	: 5	258	144	0.32
291-202	+ B7	+ A2	: 5	254	11	0.01
291-202	+ B27	+ A2	: 8	422	20	0.03
291-202	+ B35	+ A2	: 5	283	81	0.11
291-210	+ B8	+ A1	: 5	247	123	0.19
MOGA-128	+ B8	+ A1	: 10	501	161	0.36
MOGA-128	+ B27	+ A2	: 9	456	26	0.05
MOGA-128	+ B27	+ A24	: 5	258	61	0.08
MOGA-128	+ B44	+ A2	: 7	339	62	0.10
MOGA-128	+ BW62	+ A2	: 6	309	161	0.36
MOGA-130	+ B7	+ A2	: 7	363	33	0.04

MICA : n = 94
D6S265 : n = 88
D6S273 : n = 94
D6S291 : n = 97
MOGa : n = 97

Tab.12: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-B und HLA-C (Kontrollpanel)

KONTROLLPANEL

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
MICA-95	+ B18	+ CW5	: 5	200	135	0.30
MICA-95	+ BW62	+ CW3	: 5	184	47	0.06
MICA-98	+ B35	+ CW4	: 8	312	94	0.08
MICA-98	+ BW62	+ CW3	: 14	513	278	0.37
MICA-99	+ B7	+ CW7	: 28	1034	348	0.45
MICA-99	+ B8	+ CW7	: 9	315	72	0.22
MICA-99	+ B13	+ CW6	: 6	205	93	0.64
MICA-99	+ B44	+ CW5	: 9	331	143	0.26
MICA-99	+ BW60	+ CW3	: 15	568	282	0.83
MICA-101	+ B44	+ CW4	: 7	258	157	0.15
MICA-101	+ BW62	+ CW3	: 5	177	7	0.01
MICA-110	+ B35	+ CW4	: 17	619	272	0.24
MICA-110	+ BW57	+ CW6	: 5	184	113	0.43
265-122	+ B7	+ CW7	: 18	658	301	0.32
265-126	+ B8	+ CW7	: 12	437	192	0.48
265-126	+ B35	+ CW4	: 23	806	208	0.22
265-126	+ B44	+ CW4	: 6	214	57	0.05

Allele1	+ Allele2	+ Allele3	: N real	N/10000	D abs	D rel
265-126	+ BW62	+ CW3	: 9	313	6	0.01
265-128	+ B35	+ CW4	: 10	346	121	0.13
265-130	+ B27	+ CW2	: 6	216	120	0.33
265-130	+ B44	+ CW5	: 10	373	207	0.35
265-130	+ BW60	+ CW3	: 9	310	99	0.27
265-130	+ BW62	+ CW3	: 16	583	212	0.34
265-132	+ BW60	+ CW3	: 5	190	105	0.22
273-130	+ B13	+ CW6	: 6	 213	 167	 1.00
273-130	+ B18	+ CW5	: 6	207	166	0.36
273-130	+ BW60	+ CW3	: 6	213	123	0.24
273-132	+ B44	+ CW4	: 8	299	167	0.16
273-134	+ B27	+ CW2	: 5	177	118	0.36
273-134	+ B35	+ CW4	: 27	975	382	0.38
273-134	+ BW56	+ CW1	: 7	 248	 166	 1.00
273-134	+ BW60	+ CW3	: 6	207	39	0.09
273-136	+ B7	+ CW7	: 27	 960	 360	 0.41
273-136	+ B44	+ CW5	: 7	233	90	0.16
273-136	+ BW57	+ CW6	: 7	 244	 123	 0.62
273-136	+ BW62	+ CW3	: 17	599	222	0.37
273-138	+ B7	+ CW7	: 8	281	136	0.32
273-140	+ B8	+ CW7	: 7	259	149	0.35
291-200	+ B7	+ CW7	: 18	637	159	0.15
291-200	+ B27	+ CW2	: 7	 241	 154	 0.43
291-202	+ B8	+ CW7	: 9	326	96	0.26
291-202	+ B35	+ CW4	: 18	624	39	0.05
291-202	+ BW60	+ CW3	: 12	431	123	0.46
291-202	+ BW61	+ CW2	: 6	 207	 104	 1.00
291-202	+ BW62	+ CW3	: 17	585	105	0.20
291-210	+ B35	+ CW4	: 13	436	182	0.15
291-210	+ B44	+ CW5	: 5	172	91	0.15
291-210	+ BW62	+ CW3	: 7	238	83	0.10
MOGA-128	+ B8	+ CW7	: 11	378	134	0.41
MOGA-128	+ B27	+ CW2	: 7	246	118	0.40
MOGA-128	+ BW57	+ CW6	: 8	 282	 125	 0.78
MOGA-128	+ BW60	+ CW3	: 14	 507	 199	 0.86
MOGA-128	+ BW62	+ CW3	: 16	568	54	0.10
MOGA-130	+ B7	+ CW7	: 34	 1199	 386	 0.52
MOGA-130	+ B13	+ CW6	: 5	 186	 85	 0.77
MOGA-130	+ B35	+ CW4	: 20	689	98	0.11
MOGA-130	+ B44	+ CW5	: 9	306	121	0.25
MOGA-130	+ BW56	+ CW1	: 5	176	65	0.48
MOGA-130	+ BW62	+ CW3	: 12	433	10	0.02
MOGA-132	+ B35	+ CW4	: 5	188	22	0.03
MOGA-132	+ B44	+ CW4	: 6	211	124	0.16

MICA : n = 136
D6S265 : n = 140
D6S273 : n = 141
D6S291 : n = 145
MOGa : n = 142

Tab. 13: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-B und HLA-C (JCA-Patientenpanel)

JCA-Patientenpanel

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
MICA-95	+ B27	+ CW2	11	1137	523	0.55
MICA-95	+ BW56	+ CW1	7	745	336	0.51
MICA-98	+ BW62	+ CW3	5	532	342	0.45
MICA-110	+ B35	+ CW4	8	851	306	0.27
265-126	+ BW56	+ CW1	5	532	185	0.25
265-128	+ B35	+ CW4	6	646	157	0.13
265-130	+ B27	+ CW2	9	978	422	0.45
265-130	+ B35	+ CW4	6	659	41	0.04
273-134	+ B27	+ CW2	7	762	148	0.15
273-134	+ B35	+ CW4	9	914	163	0.18
273-134	+ BW56	+ CW1	8	846	314	0.64
273-136	+ B35	+ CW4	6	616	105	0.09
291-200	+ B27	+ CW2	5	525	175	0.14
291-200	+ B35	+ CW4	5	452	9	0.01
291-202	+ B27	+ CW2	5	503	89	0.08
291-202	+ B35	+ CW4	11	1133	293	0.39
291-210	+ BW62	+ CW3	5	482	317	0.34
MOGA-128	+ B27	+ CW2	10	1045	243	0.34
MOGA-128	+ B35	+ CW4	12	1156	179	0.29
MOGA-128	+ BW56	+ CW1	6	568	17	0.04

MICA : n = 47
D6S265 : n = 46
D6S273 : n = 49
D6S291 : n = 50
MOGa : n = 50

Tab. 14: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-B und HLA-DR (Kontrollpanel)

KONTROLLPANEL

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
MICA-10	+ B35	+ DRB1G*01	12	361	223	0.28
MICA-9	+ B7	+ DRB1G*02	19	588	209	0.24
MICA-99	+ B8	+ DRB1G*03	15	469	234	0.45
MICA-98	+ B35	+ DRB1G*03	5	152	113	0.11
MICA-101	+ B44	+ DRB1G*04	5	144	32	0.02
MICA-98	+ BW62	+ DRB1G*04	8	239	125	0.15
MICA-99	+ B7	+ DRB1G*11	10	312	64	0.06
MICA-95	+ B18	+ DRB1G*11	6	187	86	0.17
MICA-99	+ B27	+ DRB1G*11	5	163	73	0.27
MICA-110	+ B38	+ DRB1G*13	6	171	106	0.36
MICA-99	+ BW60	+ DRB1G*13	10	302	160	0.40
MICA-101	+ B44	+ DRB1G*07	15	451	187	0.16
MICA-110	+ BW57	+ DRB1G*07	6	182	122	0.40
265-122	+ B7	+ DRB1G*02	12	346	174	0.15
265-126	+ B7	+ DRB1G*02	11	311	101	0.09
265-126	+ B8	+ DRB1G*03	17	491	264	0.51
265-126	+ B35	+ DRB1G*01	10	281	109	0.15
265-126	+ B35	+ DRB1G*11	5	151	67	0.07
265-126	+ B44	+ DRB1G*07	8	236	21	0.02
265-126	+ BW62	+ DRB1G*04	6	173	35	0.04
265-126	+ BW62	+ DRB1G*11	6	161	82	0.09

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	: N real	N/10000	D abs	D rel
265-128	+ B18	+ DRB1G*11	: 5	145	98	0.18
265-128	+ B35	+ DRB1G*01	: 5	145	64	0.08
265-128	+ B35	+ DRB1G*03	: 5	145	101	0.10
265-128	+ B44	+ DRB1G*11	: 5	145	87	0.07
265-130	+ B7	+ DRB1G*11	: 8	231	149	0.11
265-130	+ B27	+ DRB1G*11	: 5	138	74	0.26
265-130	+ B44	+ DRB1G*07	: 6	173	31	0.03
265-130	+ BW60	+ DRB1G*13	: 7	202	83	0.19
265-130	+ BW62	+ DRB1G*04	: 8	229	76	0.09
265-130	+ BW62	+ DRB1G*12	: 5	 145	 86	 0.50
265-132	+ B44	+ DRB1G*07	: 5	140	66	0.07
273-130	+ B13	+ DRB1G*07	: 6	 169	 126	 0.69
273-132	+ B44	+ DRB1G*07	: 14	395	226	0.19
273-134	+ B27	+ DRB1G*11	: 6	164	93	0.35
273-134	+ B35	+ DRB1G*01	: 10	286	85	0.11
273-134	+ B35	+ DRB1G*03	: 6	160	88	0.10
273-134	+ B35	+ DRB1G*11	: 5	149	40	0.04
273-134	+ B38	+ DRB1G*13	: 6	180	94	0.33
273-134	+ B44	+ DRB1G*04	: 9	264	143	0.12
273-134	+ BW60	+ DRB1G*13	: 6	162	60	0.14
273-136	+ B7	+ DRB1G*02	: 20	574	245	0.23
273-136	+ B35	+ DRB1G*01	: 7	186	58	0.07
273-136	+ B44	+ DRB1G*11	: 10	290	171	0.14
273-136	+ BW57	+ DRB1G*07	: 7	 198	 109	 0.44
273-136	+ BW62	+ DRB1G*04	: 10	282	140	0.18
273-138	+ B7	+ DRB1G*02	: 6	178	53	0.10
273-140	+ B8	+ DRB1G*03	: 15	 424	 330	 0.74
291-200	+ B7	+ DRB1G*02	: 18	526	215	0.20
291-200	+ B8	+ DRB1G*03	: 6	174	43	0.07
291-200	+ B44	+ DRB1G*04	: 5	150	95	0.08
291-200	+ B44	+ DRB1G*13	: 5	143	90	0.07
291-202	+ B8	+ DRB1G*03	: 9	250	25	0.05
291-202	+ B18	+ DRB1G*11	: 6	161	64	0.15
291-202	+ B44	+ DRB1G*07	: 15	429	197	0.18
291-202	+ BW60	+ DRB1G*13	: 6	160	36	0.09
291-202	+ BW62	+ DRB1G*04	: 12	 343	 157	 0.21
291-202	+ BW62	+ DRB1G*11	: 7	200	68	0.08
291-206	+ B35	+ DRB1G*03	: 5	 143	 105	 0.22
291-210	+ B35	+ DRB1G*01	: 9	257	153	0.18
MOGA-128	+ B8	+ DRB1G*03	: 14	415	152	0.35
MOGA-128	+ B18	+ DRB1G*11	: 8	238	92	0.22
MOGA-128	+ B27	+ DRB1G*11	: 7	 202	 76	 0.47
MOGA-128	+ B35	+ DRB1G*01	: 8	217	13	0.02
MOGA-128	+ B44	+ DRB1G*04	: 6	166	98	0.08
MOGA-128	+ BW57	+ DRB1G*07	: 7	202	65	0.31
MOGA-128	+ BW60	+ DRB1G*13	: 7	189	61	0.17
MOGA-128	+ BW62	+ DRB1G*11	: 7	216	90	0.10
MOGA-130	+ B7	+ DRB1G*02	: 22	631	195	0.21
MOGA-130	+ B7	+ DRB1G*11	: 6	172	13	0.01
MOGA-130	+ B44	+ DRB1G*13	: 6	175	112	0.09
MOGA-130	+ BW62	+ DRB1G*04	: 12	339	136	0.17
MOGA-130	+ BW62	+ DRB1G*12	: 5	 145	 75	 0.46
MOGA-132	+ B44	+ DRB1G*07	: 8	230	121	0.15

MICA : n = 165
D6S265 : n = 173
D6S273 : n = 177
D6S291 : n = 175
MOGa : n = 173

Tab. 15: Drei-Punkt-Assoziationen mit HLA-B und HLA-DR (JCA-Patientenpanel)

JCA-Patientenpanel

Allel1	+ Allel2	+ Allel3	:	N real		N/10000		D abs		D rel
MICA-99	+ B7	+ DRB1G*02	:	5		294		81		0.11
MICA-99	+ B8	+ DRB1G*03	:	10		570		270		0.52
MICA-95	+ B18	+ DRB1G*08	:	5		294		176		0.23
MICA-95	+ B27	+ DRB1G*02	:	11		647		297		0.42
MICA-99	+ B44	+ DRB1G*11	:	6		353		175		0.23
265-130	+ B27	+ DRB1G*02	:	5		321		69		0.08
265-126	+ B8	+ DRB1G*03	:	7		449		247		0.39
265-128	+ B35	+ DRB1G*11	:	5		313		153		0.20
273-136	+ B7	+ DRB1G*02	:	8		492		172		0.26
273-134	+ B27	+ DRB1G*02	:	5		304		59		0.07
273-140	+ B8	+ DRB1G*03	:	9		536		412		0.78
291-200	+ B27	+ DRB1G*02	:	7		402		225		0.26
291-200	+ B8	+ DRB1G*03	:	5		287		117		0.18
MOGA-128	+ B8	+ DRB1G*03	:	9		503		90		0.23
MOGA-128	+ B18	+ DRB1G*02	:	5		287		103		0.15
MOGA-128	+ B35	+ DRB1G*11	:	5		262		36		0.06
MOGA-128	+ B44	+ DRB1G*04	:	5		284		29		0.04
MOGA-128	+ B44	+ DRB1G*11	:	6		345		85		0.12
MOGA-130	+ B7	+ DRB1G*02	:	6		365		193		0.26

MICA : n = 85
D6S265 : n = 78
D6S273 : n = 84
D6S291 : n = 87
MOGa : n = 87

Im Wesentlichen sehen wir bei der Analyse der Drei-Punkt-Assoziationen die Beobachtungen, die bei den Zwei-Punkt-Assoziationen gemacht wurden bestätigt.

Fanden wir ein Mikrosatellitenallel assoziiert mit einem bestimmten HLA-A-Allel, und ebenso mit einem bestimmten HLA-B-Allel, so ließ sich oft in der Berechnung der Drei-Punkt-Assoziationen eine entsprechende Assoziation identifizieren.

So ist z. B. MICA-99 in der Zwei-Punkt-Analyse mit HLA-A1 assoziiert (Tab. siehe Anhang), ebenso wie mit HLA-B8 (Tab.6), so dass es nicht verwunderlich ist, auf für den Drei-Punkt-Haplotypen hier ein Kopplungsungleichgewicht mit einem hohen relativen Delta zu finden (0.65). (Tab. 10)

In der Patientengruppe findet man darüber hinaus immer wieder starke Assoziationen der HLA-Allele HLA-B27 und HLA-A2 mit bestimmten Allelen der Mikrosatelliten. So z. B. mit MICA-95, D6S 265- 130, D6S 273- 134 etc..

Dies ist wahrscheinlich auf das vermehrte Vorkommen von HLA-B27, und auch HLA-A2, beide nachgewiesenermaßen assoziiert mit der Juvenilen Spondylitis, einer der Untergruppen der JCA. Die Tatsache, dass in der Kontrollgruppe durchschnittlich mehr

Kopplungsungleichgewichte gefunden wurden, liegt an der höheren Anzahl der untersuchten Individuen (siehe n).

III.D. Segregationsanalyse

Die Analyse der Segregation der Marker in bereits HLA-getesteten Familien aus unserem Kontrollpanel dient vor allem der Validierung unserer Ergebnisse und damit auch zur Überprüfung der angewendeten Methodik. Zum anderen besteht die Möglichkeit, gewissermaßen als Ausblick und weitere Charakterisierung dieser sehr neuen Marker, die beobachtete Segregation mit der zu Erwartenden zu vergleichen.

Wie im Folgenden gezeigt wird, sind dabei gerade die unerwarteten Ergebnisse Anlass zu Überlegungen über mögliche Erklärungen, die von Spontanmutationen über Recombinationsvorgänge bis hin zur schlichten Fehlanalyse gehen. Je nach individuellem Fall wird dann die eine oder andere Erklärung wahrscheinlicher.

Die Betrachtung der Segregation ist bei der Durchführung einer Mikrosatellitenanalyse, z.B. im Rahmen einer Assoziationsstudie wie in dieser Arbeit, ein häufiger Bestandteil, sofern verwandte Individuen getestet wurden.

Zur Analyse des Segregationsverhaltens der untersuchten Mikrosatelliten, testeten wir 17 Familien aus dem Kontrollpanel des Labors für Immungenetik.

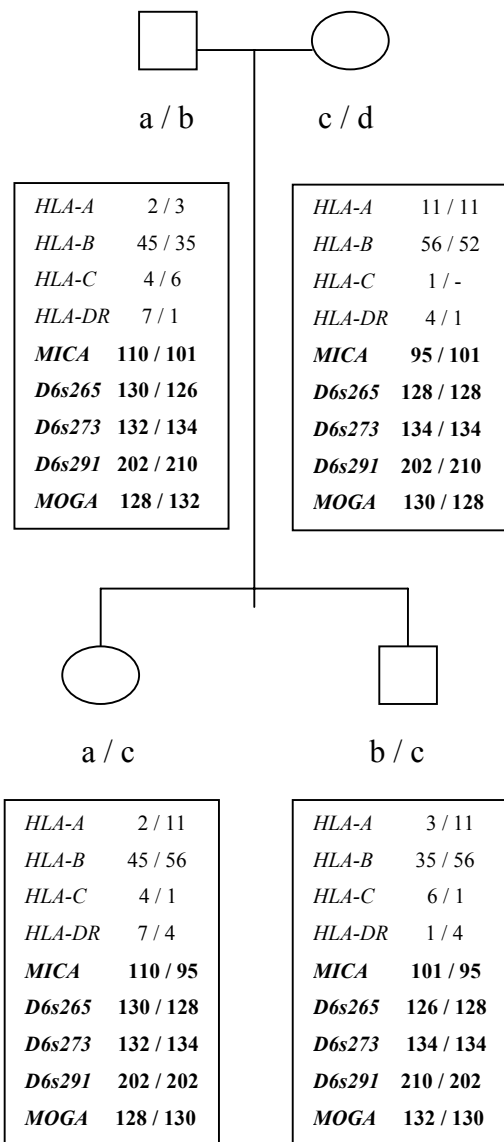
Alle Familien waren komplett HLA-typisiert, und diesbezüglich auch die Segregation der HLA-Merkmale überprüft worden. Leider war es teilweise nicht möglich alle Mitglieder der Kernfamilie zu typisieren. Aus diesem Grund sind die Ergebnisse einzelner Personen nur die logische Schlussfolgerung aus den Ergebnissen der übrigen Familienmitglieder (gekennzeichnet mit *). Die dargestellten Stammbäume erheben also keinen Anspruch auf Vollständigkeit, insbesondere kann die Anzahl der Kinder dabei größer sein, als hier gezeigt. Unser Anliegen war es vor allem die für die Segregationsuntersuchung notwendigen Personen einer Familie zu testen, soweit dies möglich war.

Im Folgenden sind nun die Stammbäume der untersuchten Familien dargestellt .

Die Buchstaben a, b, c und d stehen dabei für die vier pro Familie vorkommenden Chromosomen, a und b bezeichnen dabei die väterlichen Chromosomen, c und d die mütterlichen.

Mit „!,, gekennzeichnete Daten weisen dabei auf Unregelmäßigkeiten in der Segregation der Allele hin, für die nachfolgend eine Erklärung gesucht wird.

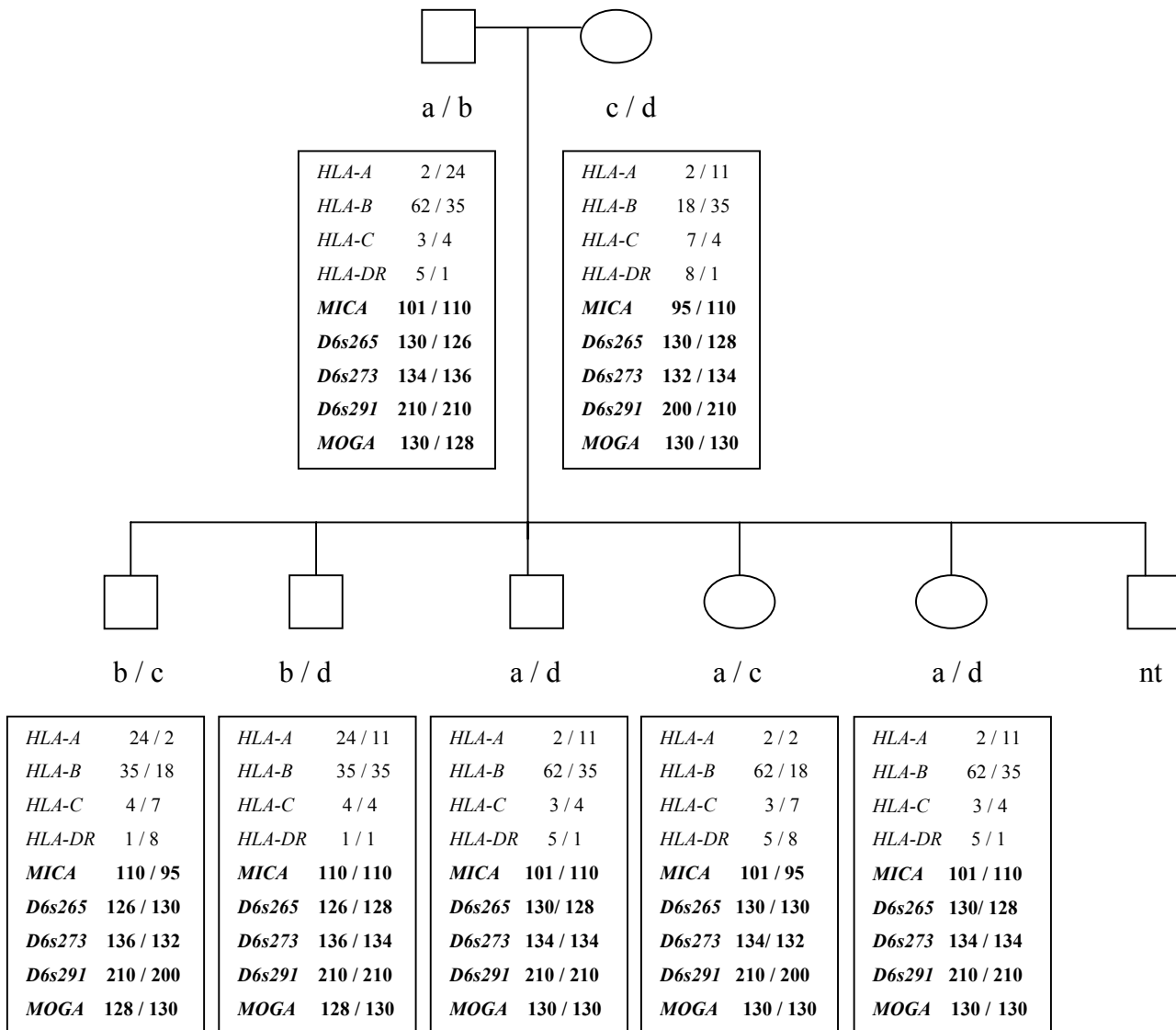
Familie 1



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	2	45	4	7	110	130	132	202	128
b	3	35	6	1	101	126	134	210	132
c	11	56	1	4	95	128	134	202	130
d	11	52	-	1	101	128	134	210	128

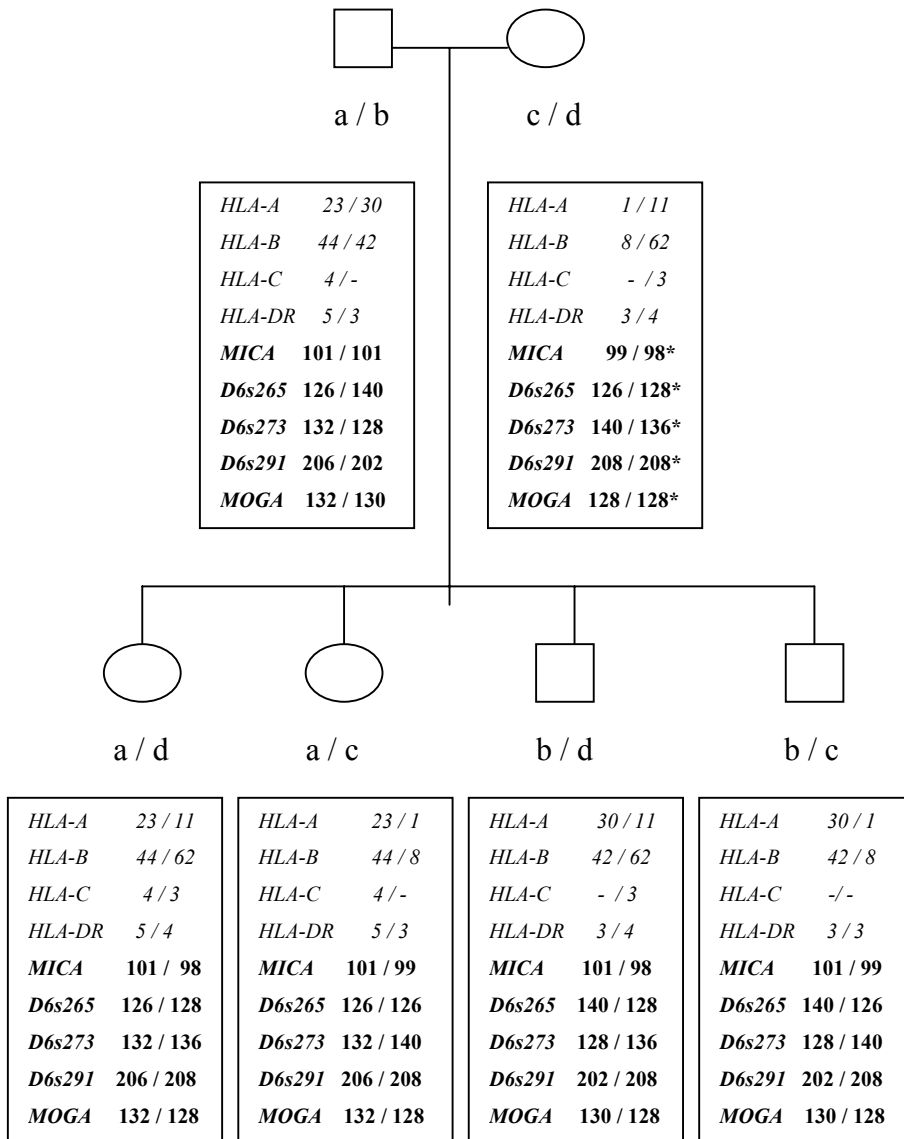
Familie 2



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	2	62	3	5	101	130	134	210	130
b	24	35	4	1	110	126	136	210	128
c	2	18	7	8	95	130	132	200	130
d	11	35	4	1	110	128	134	210	130

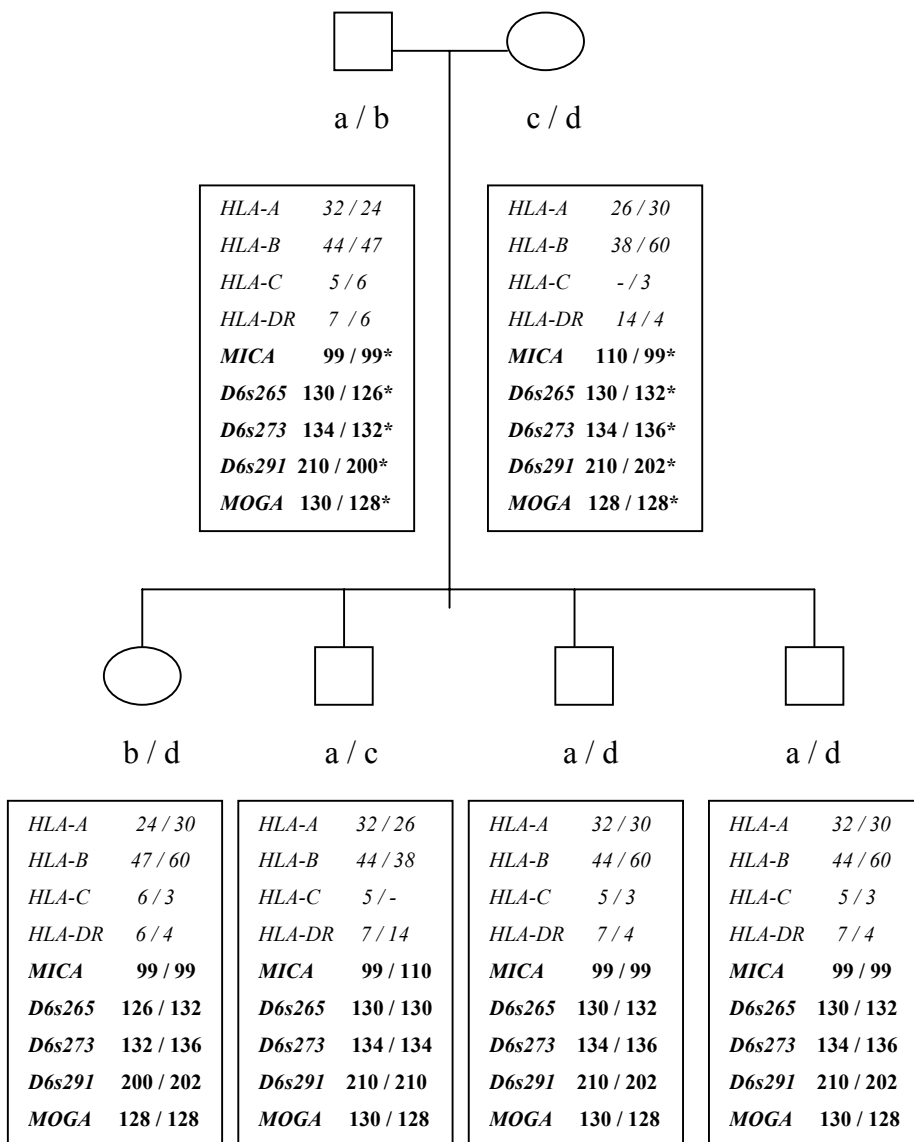
Familie 3



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	23	44	4	5	101	126	132	206	132
b	30	42	-	3	101	140	128	202	130
c	1	8	-	3	99	126	140	208	128
d	11	62	3	4	98	128	136	208	128

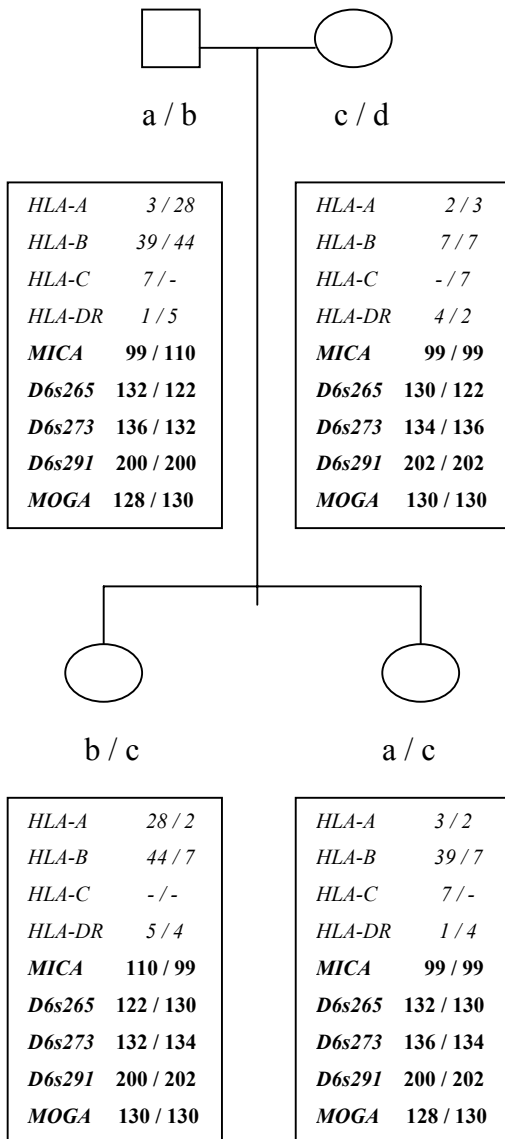
Familie 4



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	32	44	5	7	99	130	134	210	130
b	24	47	6	6	99	126	132	200	128
c	26	38	-	14	110	130	134	210	128
d	30	60	3	4	99	132	136	202	128

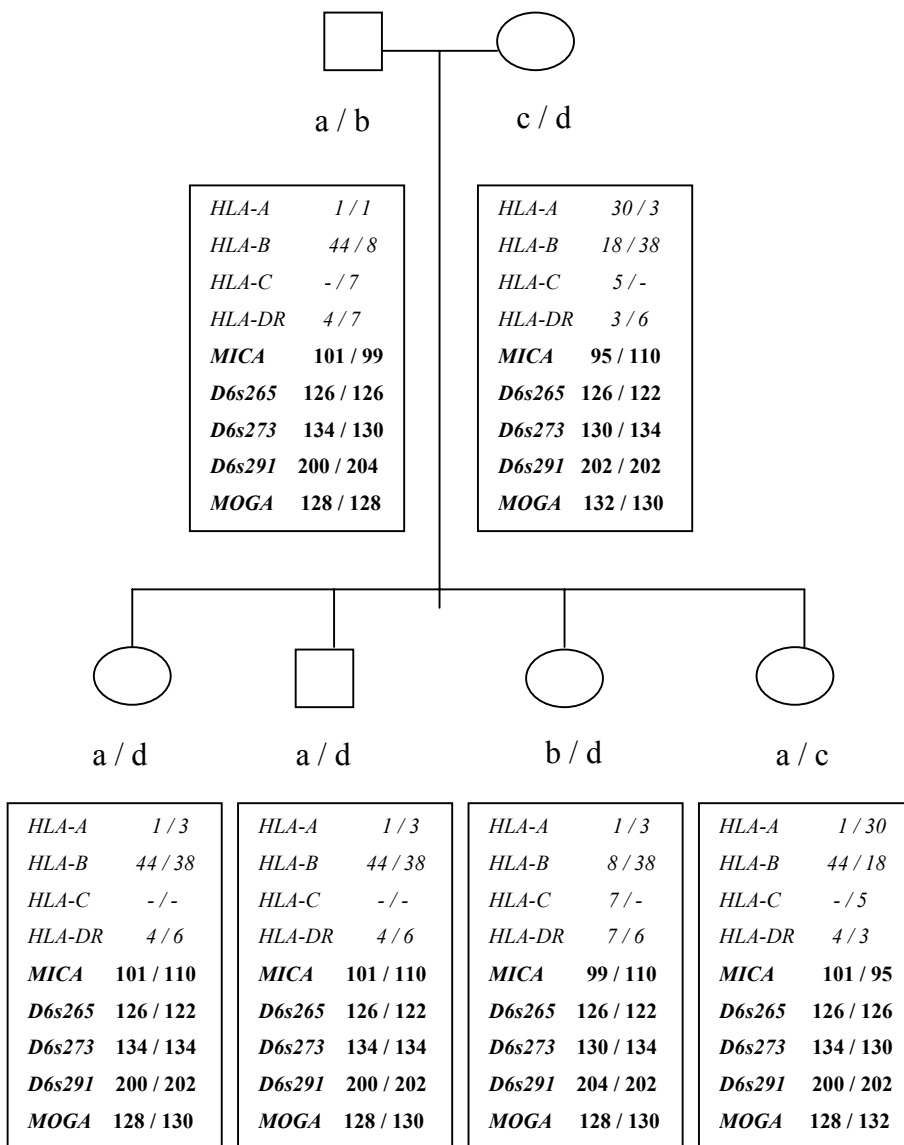
Familie 5



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	3	39	7	1	99	132	136	200	128
b	28	44	-	5	110	122	132	200	130
c	2	7	-	4	99	130	134	202	130
d	3	7	7	2	99	122	136	202	130

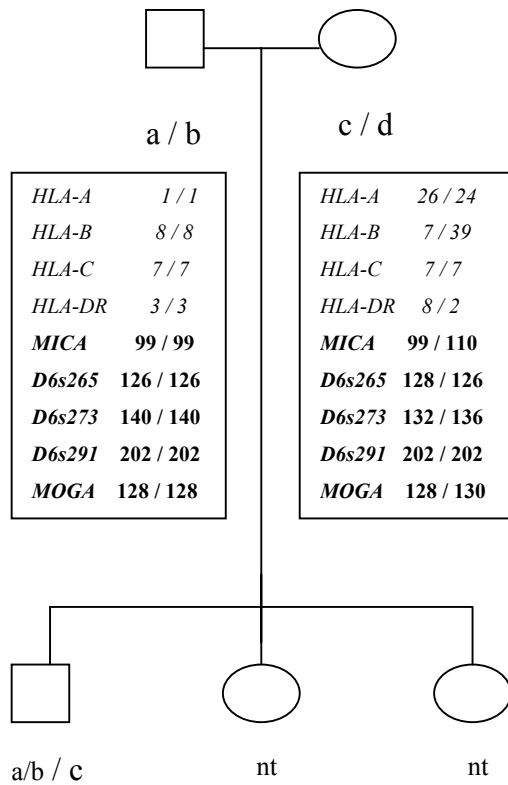
Familie 6



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	1	44	-	4	101	126	134	200	128
b	1	8	7	7	99	126	130	204	128
c	30	18	5	3	95	126	130	202	132
d	3	38	-	6	110	122	134	202	130

Familie 7

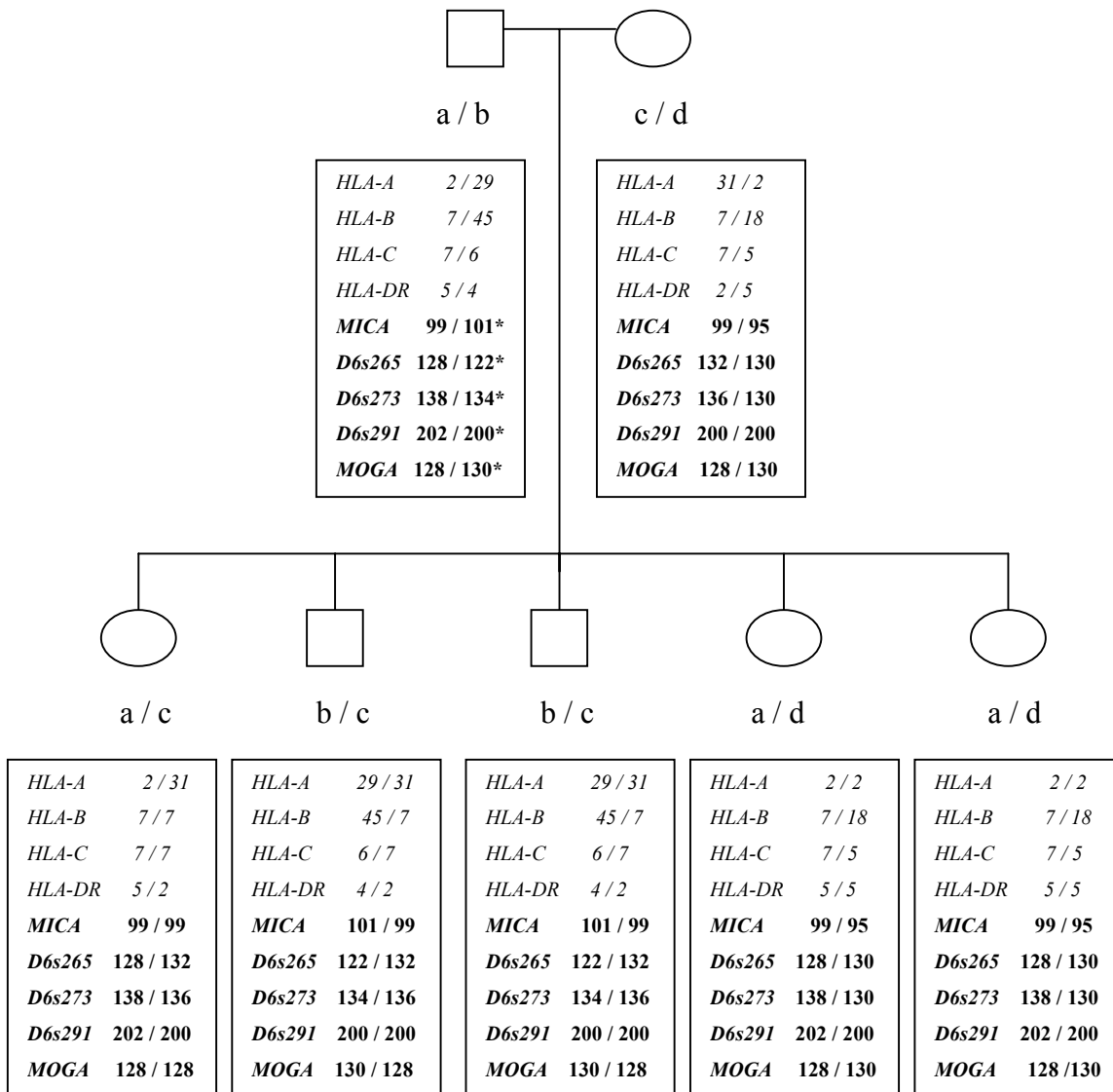


<i>HLA-A</i>	1 / 26
<i>HLA-B</i>	8 / 7
<i>HLA-C</i>	7 / 7
<i>HLA-DR</i>	3 / 8
<i>MICA</i>	99 / 99
<i>D6s265</i>	126 / 128
<i>D6s273</i>	140 / 132
<i>D6s291</i>	202 / 202
<i>MOGA</i>	128 / 128

Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	1	8	7	3	99	126	140	202	128
b	1	8	7	3	99	126	140	202	128
c	26	7	7	8	99	128	132	202	128
d	24	39	7	2	110	126	136	202	130

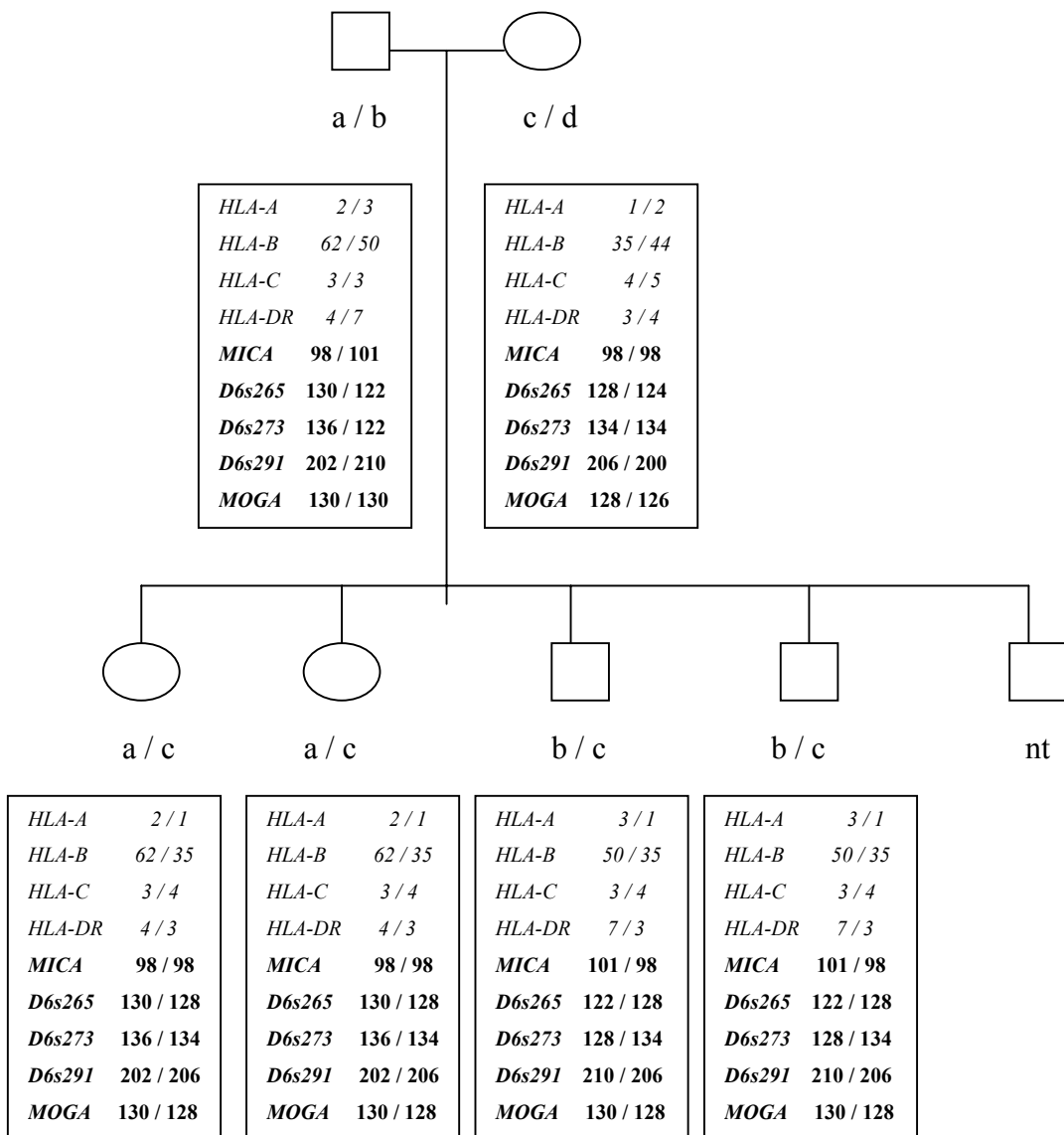
Familie 8



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	2	7	7	5	99	128	138	202	128
b	29	45	6	4	101	122	134	200	130
c	31	7	7	2	99	132	136	200	128
d	2	18	5	5	95	130	130	200	130

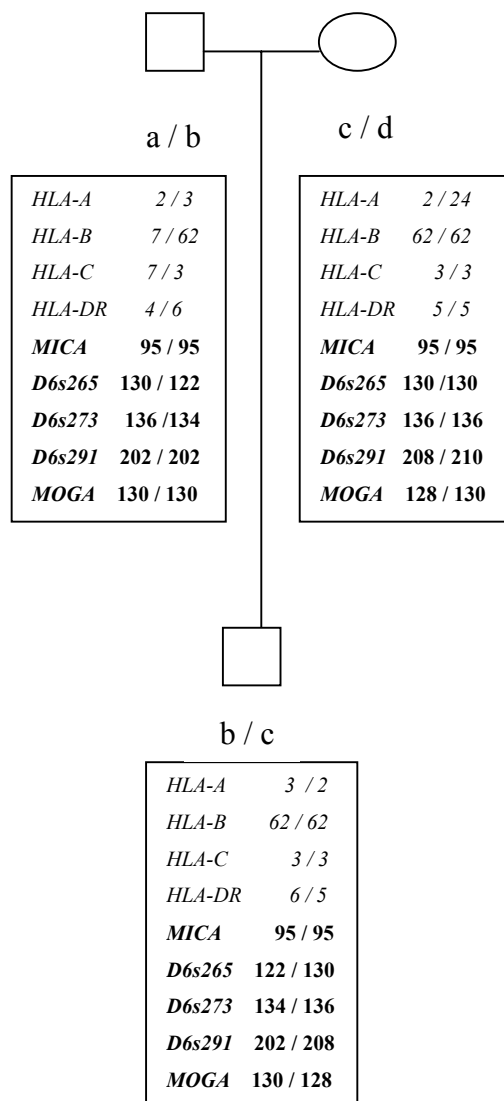
Familie 9



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	2	62	3	4	98	130	136	202	130
b	3	50	3	7	101	122	128	210	130
c	1	35	4	3	98	128	134	206	128
d	2	44	5	4	98	124	134	200	126

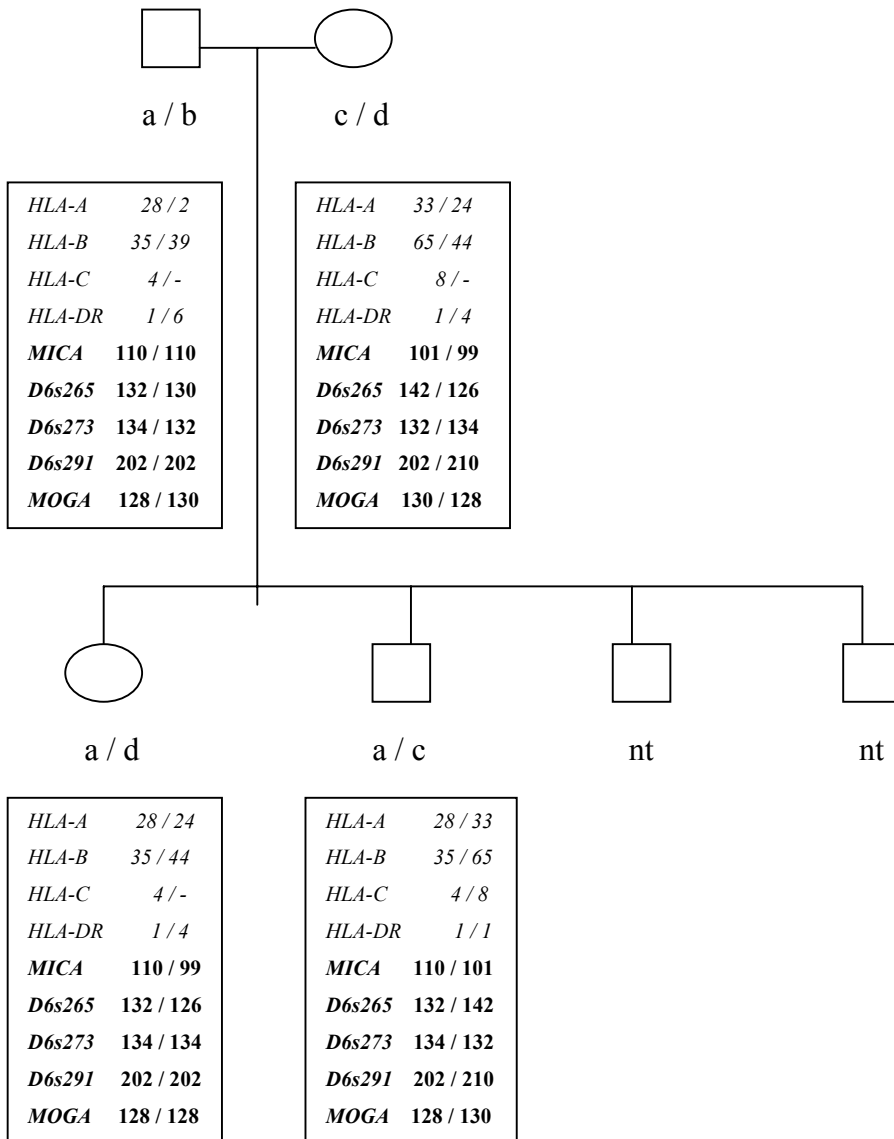
Familie 10



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	2	7	7	4	95	130	136	202	130
b	3	62	3	6	95	122	134	202	130
c	2	62	3	5	95	130	136	208	128
d	24	62	3	5	95	130	136	210	130

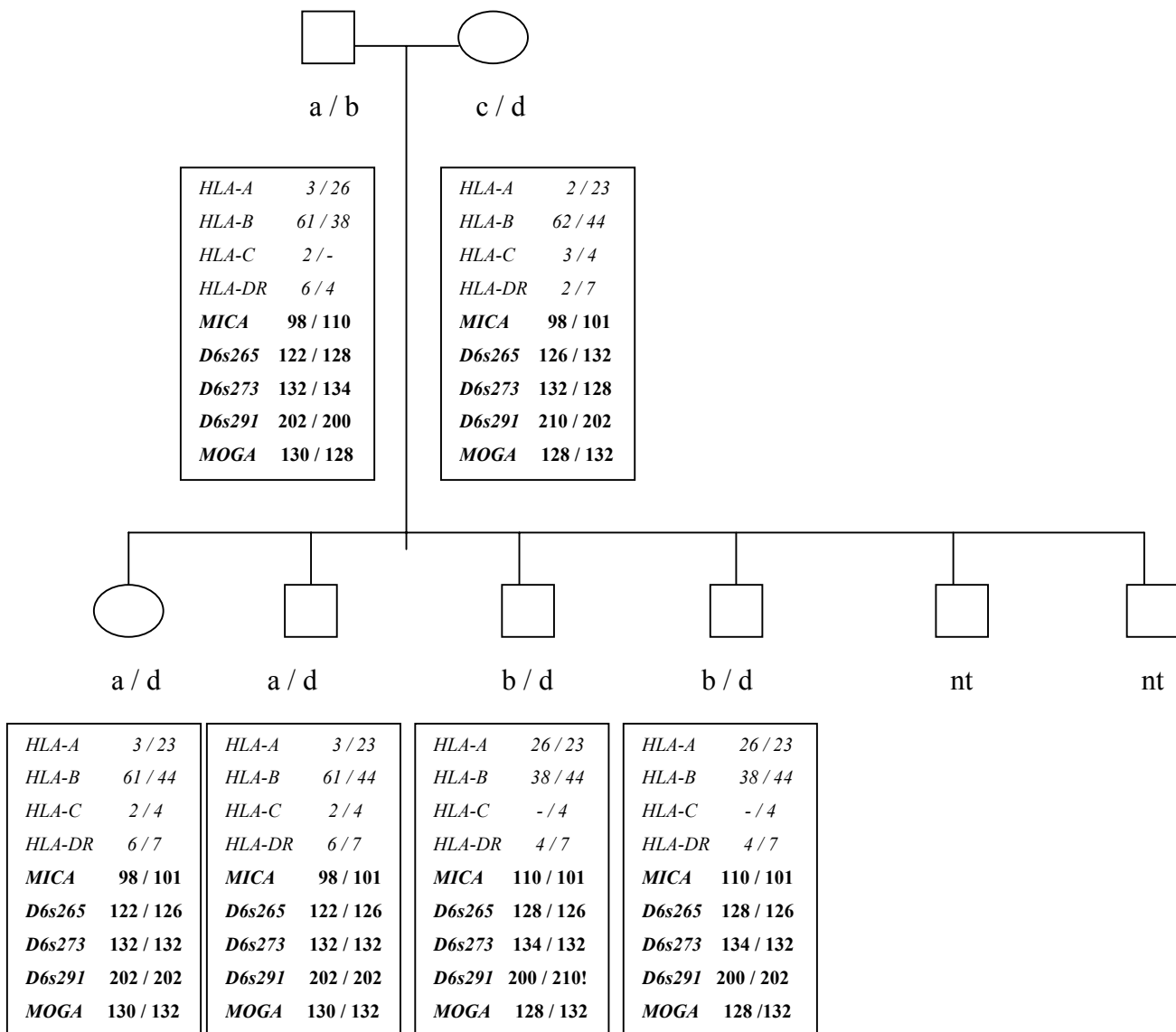
Familie 11



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	28	35	4	1	110	132	134	202	128
b	2	39	-	6	110	130	132	202	130
c	33	65	8	1	101	142	132	210	130
d	24	44	-	4	99	126	134	202	128

Familie 12



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	3	61	2	6	98	122	132	202	130
b	26	38	-	4	110	128	134	200	128
c	2	62	3	2	98	132	128	210	128
d	23	44	4	7	101	126	132	202	132

Familie 12 enthält eine Unstimmigkeit den Marker D6S 291 betreffend. Hier finden wir bei einem der HLA-identischen Geschwister (beide b / d) nicht die erwartete Kombination der Allele 291-200 und 291-202, sondern statt des 291-202 das Allel 291-210.

Wir überprüften die einzelnen Familienmitglieder mehrmals, kamen jedoch immer zu dem gleichen Ergebnis. Als Erklärung stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung:

Geht man davon aus, dass bei dieser einen Person ein Rekombinationsvorgang stattgefunden hat, und das Allel 291-210 von dem mütterlichen Chromosom c, anstatt wie die anderen Allele, einschließlich der HLA-Gene, von d stammt, so müssten die weiter centromer gelegenen Gene ebenfalls von Chromosom c stammen. Leider liegt der Marker D6S 291 centromer der HLA-Gruppe, d.h. diese Allele, die uns bekannt sind lassen sich zum Beweis dieser Hypothese nicht heranziehen, wohl aber weiter centromer gelegene Gene, über die wir jedoch keine Informationen haben.

Die zweite Erklärungsmöglichkeit ist das unerwartete Auftreten dieses Allels mit einer Spontanmutation zu deuten. Hierfür, und gegen die dritte Möglichkeit eines technischen Fehlers spricht in diesem Fall die Tatsache, dass das erwartete Allel (291-202) acht Basenpaare kleiner ist als das tatsächliche Allel (291-210). Eine unbeabsichtigte Addition von acht Basenpaaren aufgrund eines technischen Fehlers wäre als sehr unwahrscheinlich einzustufen.

Welche der Annahmen richtig ist, müsste in diesem Fall eine genaue Sequenzanalyse dieses DNA-Abschnittes zeigen.

Familie 13

Bei dieser Familie fanden wir Unstimmigkeiten den Marker MICA betreffend, die Analyse war insofern erschwert, als der Vater nicht mehr zur Gewinnung von DNA zur Verfügung stand, und daher nur die bereits früher getesteten HLA-Allele bei der Segregationsanalyse helfen konnten. Die Allele der anderen Marker des Vaters sind lediglich Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen der restlichen Familienmitglieder, da glücklicherweise alle Chromosomen der Eltern auch bei den Kindern vorkommen.

Die Mutter wurde für MICA getestet, um die Segregation von MICA besser lösen zu können. Die beiden genetisch identischen Geschwister (beide a / d) haben für MICA eine nachvollziehbare Segregation, genauso wie das Kind mit den Chromosomen b / c.

Lediglich bei Kind 4 (b / d), das homozygot für MICA-98 erscheint, erwarten wir eigentlich stattdessen das mütterlich Allel MICA-101, von Chromosom d.

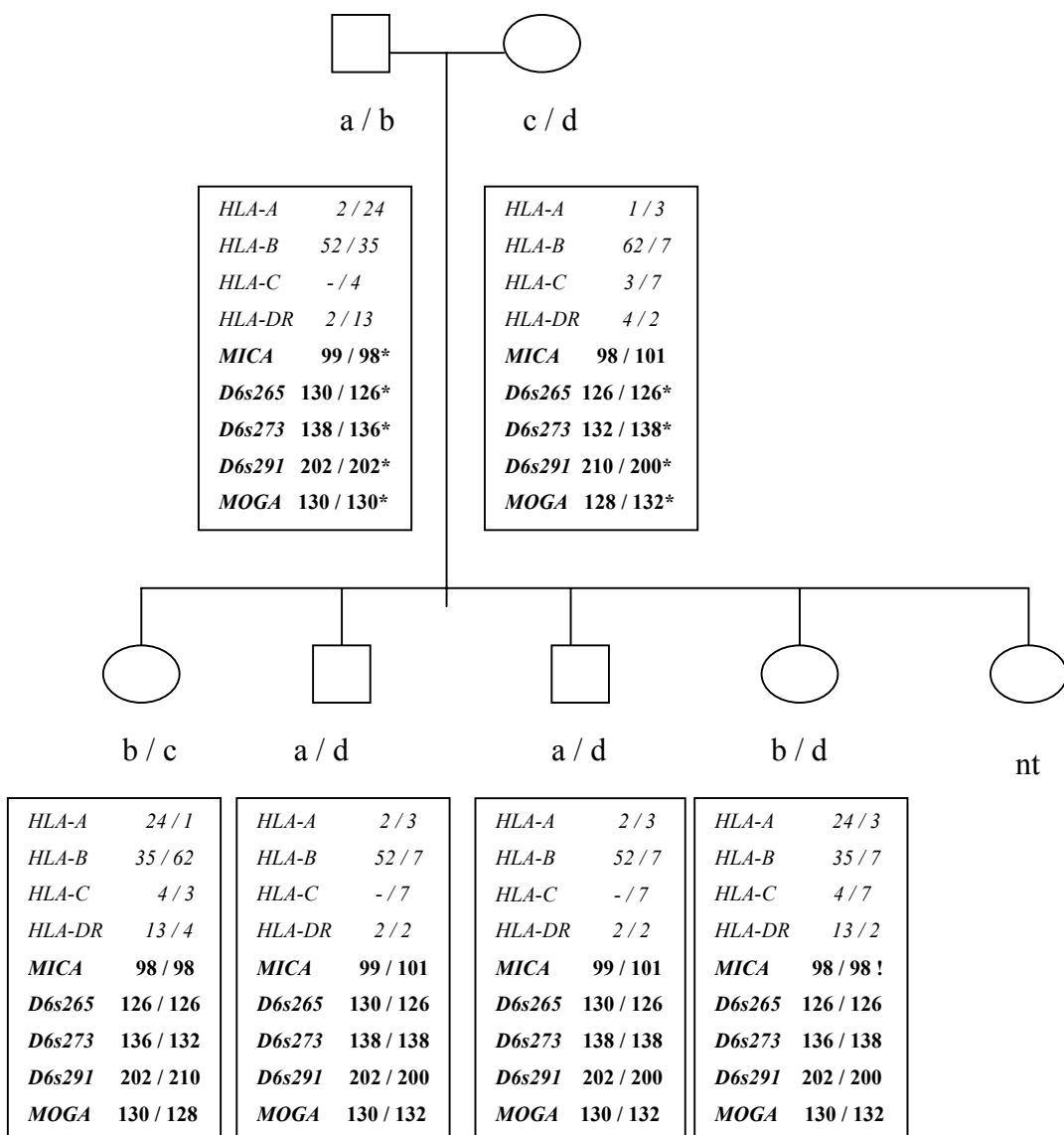
Da sich dieses Kind trotz Wiederholung nur mit einem Allel darstellt, könnte hier ein Allelausfall vorliegen, der u. U. methodische Ursachen haben kann, d.h. anstatt der beiden Chromosomen ist an dieser Stelle evtl. nur eines amplifiziert worden, da auch bei der Wiederholung die gleiche DNA benutzt wurde, war auch beim zweiten Mal nur ein Allel an der Stelle des MICA-Gens erkennbar.

Natürlich darf man auch in diesem Fall eine Neumutation nicht ausschließen.

Ein Rekombinationsvorgang ist jedoch sehr unwahrscheinlich, da MICA zwischen HLA-B und HLA-DR lokalisiert ist, und die Allele dieser beiden Loci der Segregation folgen.

Eine Re-rekombination auf diesem kleinen Chromosomenabschnitt ist schließlich noch unwahrscheinlicher.

Familie 13



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>- MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	2	52	-	2	99	130	138	202	130
b	24	35	4	13	98	126	136	202	130
c	1	62	3	4	98	126	132	210	128
d	3	7	7	2	101	126	138	200	132

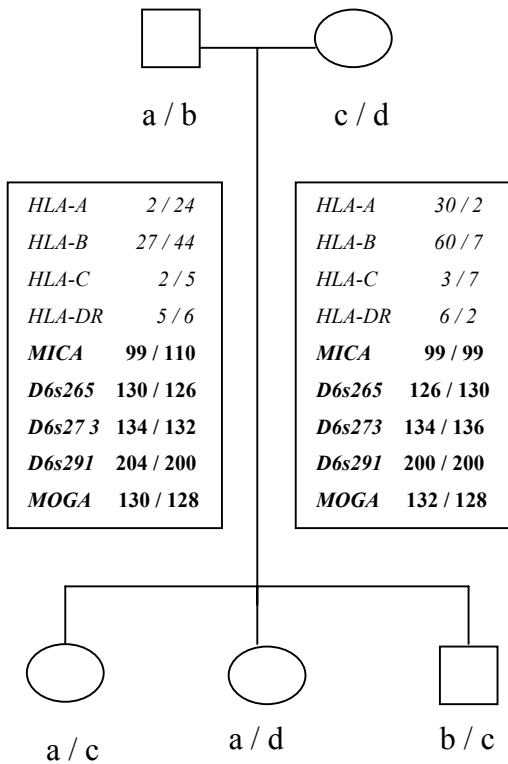
Familie14

Bei Familie 14 war die Segregation des Markers D6S 291 nicht klar geworden.

Die elterlichen Allele mit 204 / 200 beim Vater und 200 / 200 bei der Mutter scheinen klar zu sein. Die drei genetisch unterschiedlichen Kinder, deren DNA-Analyse teilweise dreimal wiederholt wurde, lassen jedoch einige Fragen offen. Geht man davon aus, dass die Kinder a / c und b / c die gezeigten Allele besitzen, so vermisst man bei Kind a / d das väterliche Allel 291-204, das auf Chromosom a lokalisiert scheint. Dieses Kind a / d stellte sich in drei Wiederholungen eindeutig als homozygot für 291-200 dar, und lässt so den Schluss zu, dass hier u.U. eine Rekombination stattgefunden hat, die diesem Kind das Allel auf dem väterlichen Chromosom b (291-200) zukommen ließ. Da dieser Marker wie bereits erwähnt weit entfernt von dem HLA-Genort liegt, kann diese Hypothese leider nicht erhärtet werden.

Daneben kommt natürlich auch dieses Mal eine Ungenauigkeit der Methode in Frage, um die Segregationsausfälle zu erklären, genauso wie die Möglichkeit einer Spontanmutation immer in Frage kommt.

Familie14

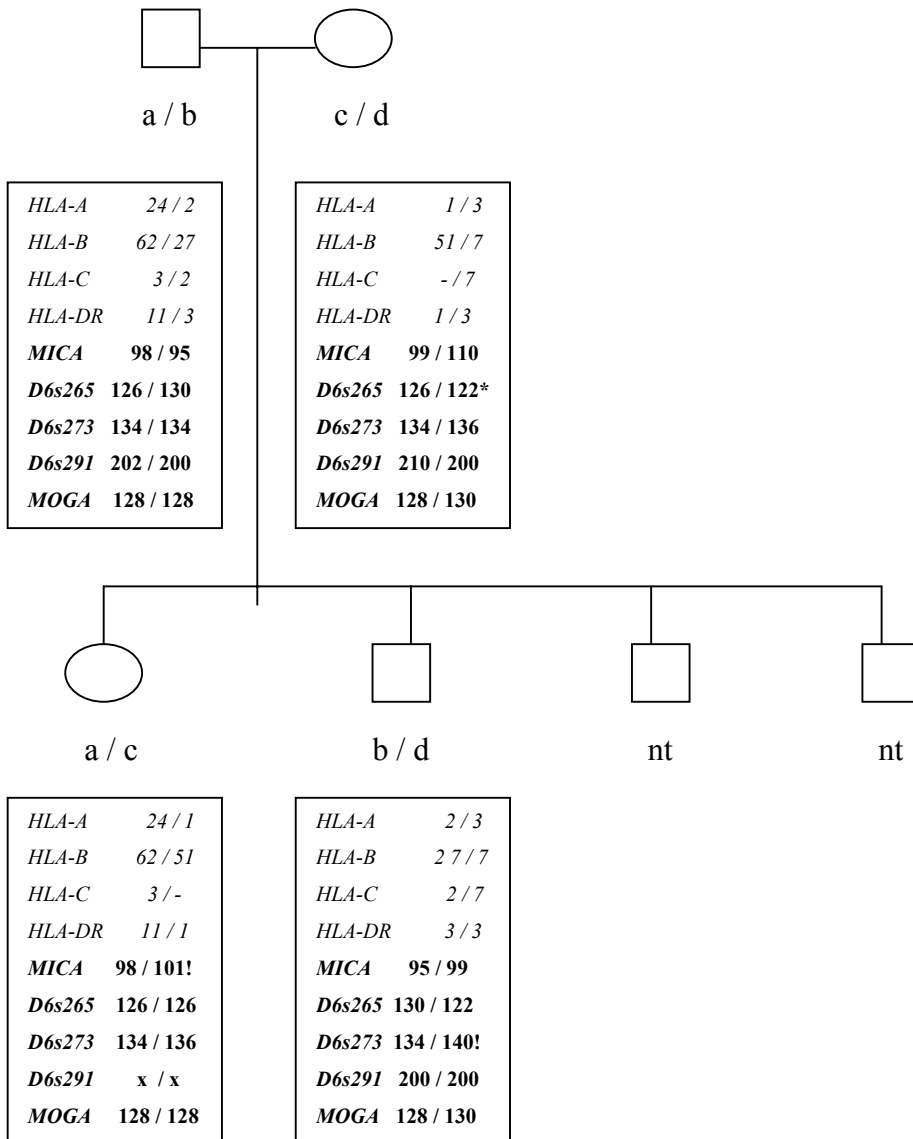


<i>HLA-A</i>	2 / 30	<i>HLA-A</i>	2 / 2	<i>HLA-A</i>	24 / 30
<i>HLA-B</i>	27 / 60	<i>HLA-B</i>	27 / 7	<i>HLA-B</i>	44 / 60
<i>HLA-C</i>	2 / 3	<i>HLA-C</i>	2 / 7	<i>HLA-C</i>	5 / 3
<i>HLA-DR</i>	5 / 6	<i>HLA-DR</i>	5 / 2	<i>HLA-DR</i>	6 / 6
<i>MICA</i>	99 / 99	<i>MICA</i>	99 / 99	<i>MICA</i>	110 / 99
<i>D6s265</i>	130 / 126	<i>D6s265</i>	130 / 130	<i>D6s265</i>	126 / 126
<i>D6s273</i>	134 / 134	<i>D6s273</i>	134 / 136	<i>D6s273</i>	132 / 134
<i>D6s291</i>	204 / 200	<i>D6s291</i>	200 / 200!	<i>D6s291</i>	200 / 200
<i>MOGA</i>	130 / 132	<i>MOGA</i>	130 / 128	<i>MOGA</i>	128 / 132

Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	2	27	2	5	99	130	134	204	130
b	24	44	5	6	110	126	132	200	128
c	30	60	3	6	99	126	134	200	132
d	2	7	7	2	99	130	136	200	128

Familie 15



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	24	62	3	11	98	126	134	202	128
b	2	27	2	3	95	130	134	200	128
c	1	51	-	1	110	126*	134	210	128
d	3	7	7	3	98	122*	136	200	130

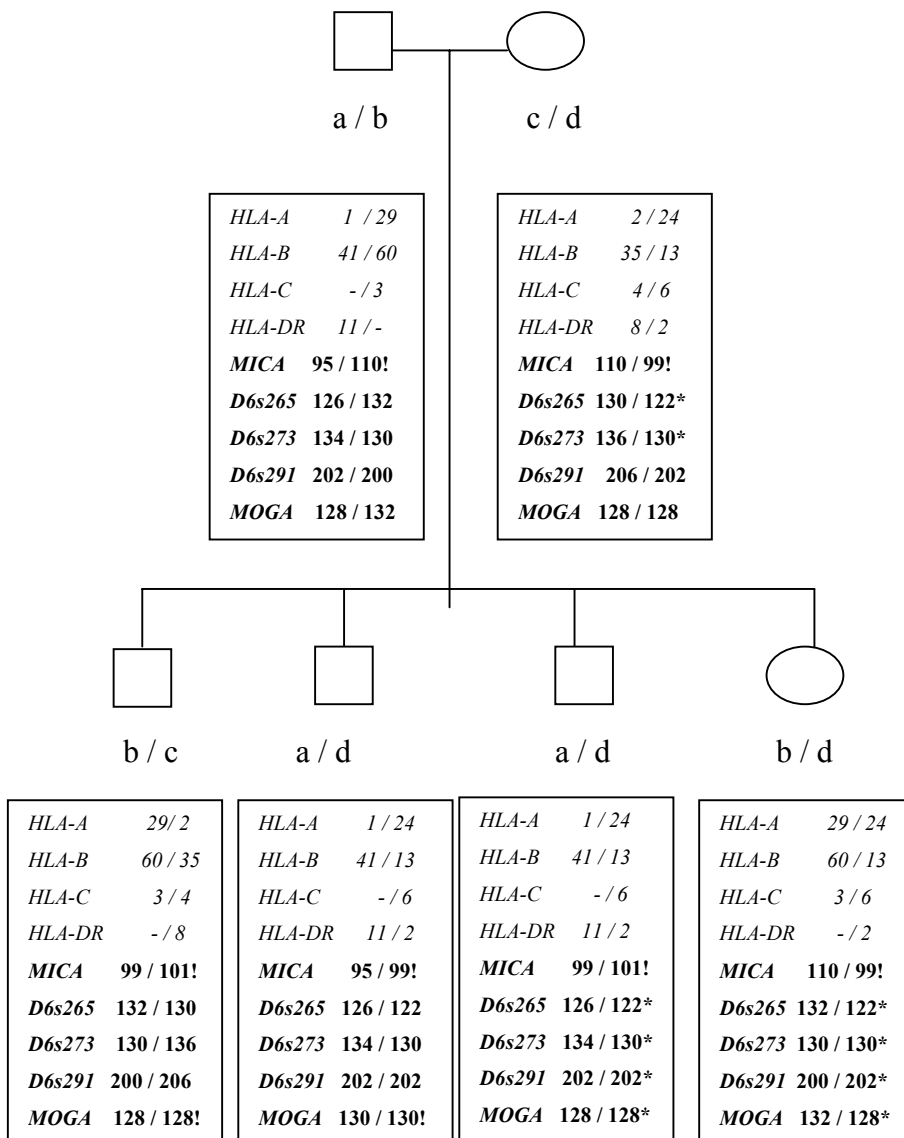
Familie 15 zeigt evtl. zwei Mutationen. Bei einem der getesteten Kinder (Kind a / c) fanden wir trotz mehrmaliger Wiederholung für MICA statt dem erwarteten MICA-110 MICA-101, das bei keinem der Eltern zu finden war, und für Marker D6S 273 identifizierten wir bei einem der Kinder (Kind b / d) ein Allel mit 140 bp Länge, das auch bei keinem der Eltern auftritt. Beide Eltern, sowie die Kinder wurden zweimal wiederholt.

Auch gilt aber wieder, dass sich ein technischer Fehler nicht ausschließen lässt.

Des weiteren ist eines der MICA-Allele bei Kind b / d um eine Base verlängert, hierbei handelt es sich u. U. um das „plus-A“ –Phänomen, bei dem gelegentlich eine Base an die Fragmente angehängt wird.

Bei Kind a / c konnten wir für den Marker D6S 291 trotz Wiederholung kein Ergebnis finden, im Stammbaum ist deshalb an dieser Stelle ein x gesetzt.

Familie 16



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	<i>HLA - A</i>	<i>HLA - B</i>	<i>HLA - C</i>	<i>HLA - DR</i>	<i>- MICA</i>	<i>D6s 265</i>	<i>D6s 273</i>	<i>D6s 291</i>	<i>MOGA</i>
a	1	41	-	11	95	126	134	202	128
b	29	60	3	-	110	132	130	200	132
c	2	35	4	8	110	130	136	206	128
d	24	13	6	2	99	122	130	202	128

Bei dieser Familie ergaben sich bei der Betrachtung des Stammbaums Probleme, welche die Marker MICA und MOGA betrafen, aus diesem Grund sind für den im besonderen Interesse stehenden Mikrosatelliten MICA noch zwei zusätzliche Familienmitglieder getestet worden.

Leider konnte auch das nicht zur Klärung der Segregation beitragen.

Wenn wir davon ausgehen, dass die Typisierung der Eltern, die sich in den Diagrammen wiederholt als eindeutig darstellte, richtig ist, so sind zwei der vier Kinder, MICA betreffend entweder falsch typisiert worden, oder es ist je eine Mutation erfolgt.

Dabei ist eines der Kinder mit b / d sicher betroffen, da die beiden Kinder mit b / d eigentlich identische Allele aufweisen müssten. Beide haben lediglich Allel MICA-99 gemeinsam, das eine Kind in Kombination mit MICA-95, und das andere Kind trägt MICA-101, ein Allel, das bei keinem der Elternteile vorkommt.

Gehen wir von der Chromosomenverteilung der Allele aus wie sie die Tabelle zeigt, zeigt nun Kind b / d mit MICA-110 und MICA-99 die erwarteten Allele, Kind b / c mit MICA-101 und MICA-99 aber eine vollkommen unerklärliche Allelkombination.

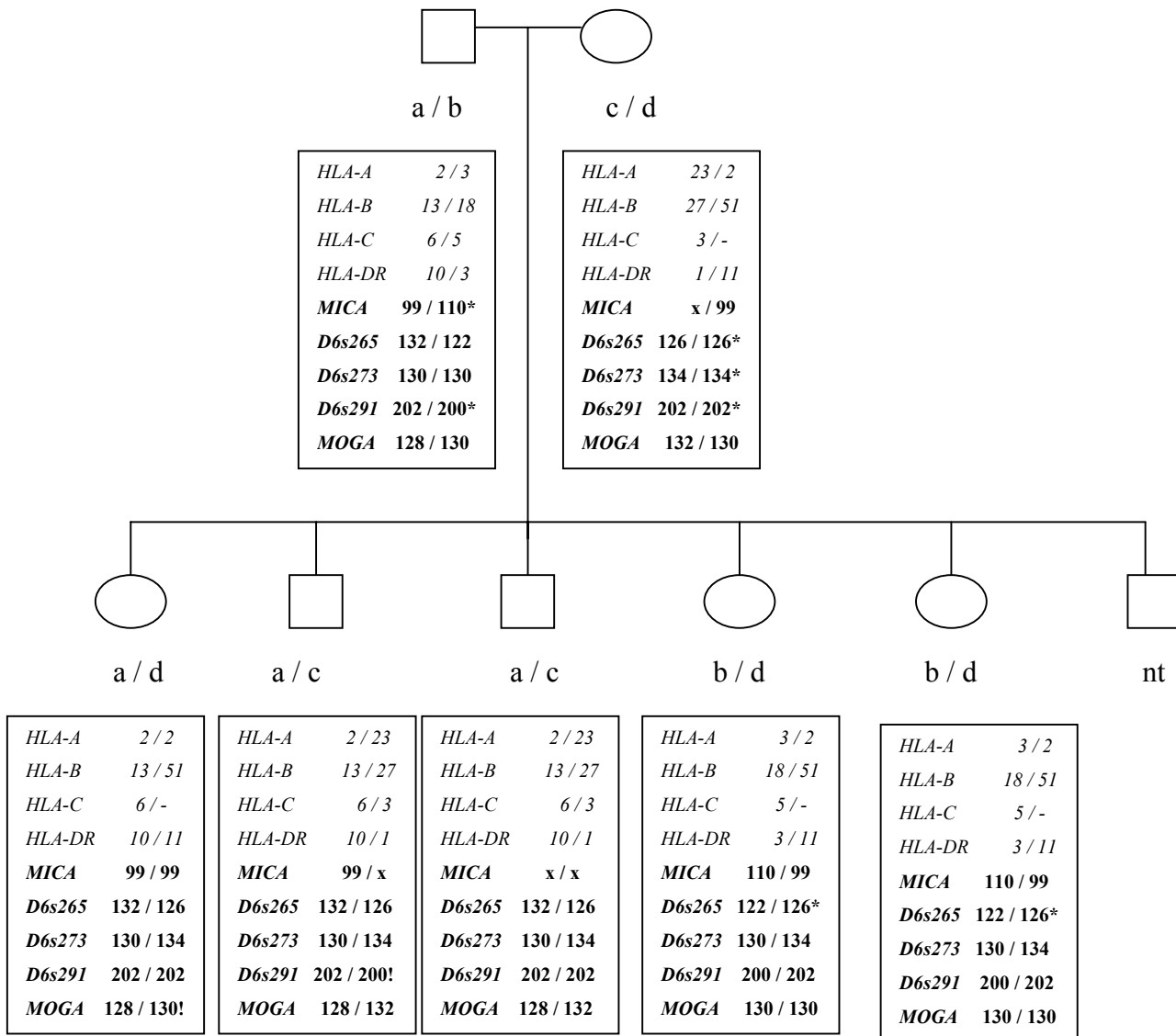
Aufgrund der vielen „Fragezeichen“ lässt sich auch die Zuordnung der Allele zu den einzelnen Chromosomen nicht eindeutig festsetzen. Die in der Tabelle dargestellte Möglichkeit, ist die, die nur für zwei der Kinder Unklarheiten zulässt.

Auch für MOGA stellte sich die Analyse entsprechend kompliziert dar.

Wenn man wiederum die elterlichen Allele als Ausgangspunkt nimmt (sie wurden zweimal wiederholt) so findet man bei Kind b / c statt der erwarteten Allele MOGA-132 und MOGA-128 nur ein Allel MOGA-128. Es besteht die Möglichkeit, dass das zweite Allel ausgefallen ist.

Kind b / d ist das zweite hierbei getestete Kind, und es zeigte sich homozygot für MOGA-130. Dieses Allel ist bei keinem der Eltern zu finden.

Familie 17



Übersicht der einzelnen Chromosomen:

	HLA - A	HLA - B	HLA - C	HLA - DR	MICA	D6s 265	D6s 273	D6s 291	MOGA
a	2	13	6	10	99	132	130	202	128
b	3	18	5	3	110	122	130	200	130
c	23	27	3	1	x	126	134	202	132
d	2	51	-	11	99	126	134	202	130

Bei dieser Familie waren wiederum einige Fragen zu klären. Zum einen waren für einige Marker auch nach mehreren Wiederholungen Allelausfälle (x) zu finden, so dass z. B. nicht klar wurde, welches MICA-Allel sich auf Chromosom c befindet.

Des weiteren müsste Kind a / d , das als einziges kein genetisch identisches Geschwister hat, eigentlich die Allele MOGa 128 und MOGa 130 besitzen. Wir fanden aber stattdessen in zwei Wiederholungen MOGa 128 / MOGa 132, und nur einmal, und dazu wenig deutlich in der Darstellung, MOGa-128 / MOGa- 130.

Bei einem der Kinder a / c fanden wir zwei Allele (291-200 / 291-202) statt der erwarteten Homozygotie für 291-202, die auch das genetisch identische Geschwister aufweist.

Zusammengesehen, könnte bei der relativen Häufung der Fehler in dieser Familie eher von einem Materialmangel oder einem technischen Defekt ausgegangen werden, als von einer Anzahl von zwei Mutationen und mehreren Ausfällen. Eine Rekombination kann man allerdings auch nicht ganz ausschließen, da zwar die HLA-Gene regelrecht vererbt scheinen, die beiden Marker aber zentromer (D6S 291) und telomer (MOGa) vom HLA-Komplex lokalisiert sind.

Anhand dieser Familienanalysen wird klar, dass gerade bei Markern, deren Allele sich nur um wenige Basen in der Länge unterscheiden, gelegentlich eine fehlerhafte Amplifikation der Fragmente angenommen werden muss, die dann erst in der Nachvollziehbarkeit der Segregation in der Familie deutlich wird. Sicher sind auch spontane Mutationen nicht auszuschließen, bei einer Anhäufung von Unstimmigkeiten wird die Möglichkeit eines technischen Fehlers, sei es die Qualität der DNA, oder andere Störfaktoren wahrscheinlicher. Tatsache ist jedoch, dass sich die Segregation in der Mehrzahl der Familien nachvollziehen lässt, und einige mögliche fehlerhafte Teilergebnisse das Gesamtergebnis nicht trüben .

IV. Diskussion

Die Juvenile Chronische Arthritis ist eine Autoimmunerkrankung des Kindesalters mit multifaktorieller Ätiologie. Neben verschiedenen Auslösern, wie z. B. bestimmte Infektionen, und anderen noch nicht geklärten Einflüssen, spielen auch genetische Faktoren eine Rolle bei der Manifestation des Krankheitsbildes, das je nach Ausmaß der Symptome die Lebensqualität der kleinen Patienten stark einschränkt.

Auf dem Chromosom 6 wurden bereits in früheren Studien verschiedene Genorte identifiziert, die allesamt im Bereich des MHC-Komplexes liegen, deren Zusammenhang mit der Empfänglichkeit der Krankheit nachgewiesen wurde.

Insbesondere für die HLA-Gene ist ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten bestimmter Allele, und dem Ausbruch der Krankheit nachgewiesen worden. Dabei wurden drei unabhängige Genorte gefunden, von denen insgesamt vier Allele eine statistisch signifikante Assoziation mit der JCA aufwiesen.

Es sind dies: HLA-A2, HLA-DRB1*11 sowie HLA-DRB1*08 und HLA-DPB1*0201. (49)

Da bereits drei Genorte dort identifiziert wurden, liegt es nahe, im Bereich des MHC-Komplexes nach weiteren möglichen Markern für die JCA zu suchen.

Diese Studie untersuchte die fünf Mikrosatelliten MICA, D6S 265, D6S 273, D6S 291 und MOGa, die alle auf dem Chromosom 6 in der Nähe des MHC-Komplexes gelegen sind, auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen bestimmter Allele oder Haplotypen und dem Krankheitsbild der Juvenilen Chronischen Arthritis.

Die Auswahl der Marker erfolgte nach dem Kriterium der möglichst nahen Lokalisation am HLA-Gen-Locus, insbesondere am HLA-A-Locus, für den bereits bestehende Assoziationen mit diesem Krankheitsbild nachgewiesen wurden.

Dabei wurden zugleich viele Informationen über die verschiedenen Allele der Mikrosatelliten und deren Frequenz in der Bevölkerung, sowie über vorhandene Kopplungsungleichgewichte mit HLA-Loci zusammengestellt, die für zukünftige ähnliche Untersuchungen bei anderen HLA-assoziierten Krankheiten als Basis dienen können.

Die identifizierten Allele entsprachen zum größten Teil den auch von anderen Autoren bereits benannten, genauso wie einige der gefundenen Assoziationen mit dem HLA-Locus auch in anderen Krankheits-Studien erkannt wurden.

Geringe Abweichungen sind meistens abhängig von der Wahl unterschiedlicher Primer und Reagenzien, sowie von der abweichenden Methodik.

Unser Hauptaugenmerk lag auf dem *MICA*-Gen, das in jüngster Zeit mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen ist.

Seit Bahram et al. 1996 die genaue Sequenz des Gens publizierte (21), haben verschiedene Autoren in großangelegten Studien die Allele dieses Genorts untersucht.

Die transmembrane Sequenz des Moleküls, die von Exon 5 kodiert wird, zeigt dabei fünf verschiedene Allele, von denen eines durch eine Insertion um ein Basenpaar den Leserahmen verschiebt, und daher zum vorzeitigen Kettenabbruch führt.

Diese fünf Allele konnten auch wir in dieser Studie identifizieren, bei einer Anzahl von insgesamt 492 getesteten Personen.

Wir identifizierten die Allele MICA-95, MICA-98, MICA-99, MICA-101 und MICA-110, benannt nach der Länge der Fragmente in Basenpaaren.

Auch die Häufigkeitsverteilung deckt sich mit den Erkenntnissen anderer Studien, MICA-99 ist das in unserer untersuchten Gruppe am häufigsten vorkommende Allel.

Bei den Haplotypenberechnungen stellten sich relativ starke Kopplungsungleichgewichte mit dem HLA-B Locus heraus, der in unmittelbarer Nähe des MICA-Locus liegt, die Ergebnisse bei den anderen HLA-Loci waren vergleichsweise weniger deutlich, auch der HLA-DR Locus, bei dem man noch am ehesten, signifikante Assoziationen erwartete aufgrund der Nachbarschaft der beiden Genorte, ließ nur vereinzelt signifikante Assoziationen erkennen.

Wir fanden z.B. starke Assoziation der Allele MICA 95 mit HLA B18, und B27, und schwächere bzw. auf Grund kleiner Zahl nicht signifikante Assoziationen mit B55 und B56.

MICA-98 war in unserer Studie signifikant gehäuft bei Personen, die auch HLA-B62 besitzen.

MICA-99, das Allel mit der Baseninsertion fanden wir assoziiert mit B7 und B60. MICA-101 hatte Kopplungsungleichgewichte mit HLA-B44, B50 und B51 (signifikant).

Schließlich stimmen unsere Ergebnisse auch bei MICA-110 wie bei den anderen Allelen gut mit denen von anderen Autoren publizierten überein.

Gerade die Kopplungsungleichgewichte mit dem HLA-B-Locus werden bestätigt durch einige andere Autoren, auch bei der Untersuchung verschiedener anderer Bereiche des MICA-Genes, z. B. Visser et al., die für Exon 2, 3 und 4 des MICA-Genes Haplotypen berechneten.

Weder bei der Betrachtung der Allelfrequenzen, noch bei den aufgetretenen Assoziationen lassen sich Unterschiede im Vergleich der Patienten mit den Kontrollen feststellen.

In der Kontrollgruppe sind teilweise mehr signifikante Ergebnisse nachzuweisen, da sie mehr Personen enthält, als die kleinere Patientengruppe, in der sich nahezu alle Assoziationen finden, welche die Kontrollgruppe auch aufzeigte.

Einen Sonderfall stellt das mit B27 assoziierte MICA-95 dar, dessen Zusammenhang in der Patientengruppe zu signifikanteren Ergebnissen führte. Das Allel MICA-95 schien in der Patientengruppe zunächst häufiger aufzutreten ($p=0,0045$). Nach Elimination der Patienten, die an der HLA-B27-assoziierten juvenilen Spondylitis erkrankt waren, fanden wir MICA-95 in der Gruppe der übrigen Patienten jedoch nicht mehr häufiger als bei den Kontrollen.

Die Segregation des MICA-Gens ließ sich in 14 der 17 Familien lückenlos nachweisen, zwei Familien zeigten dagegen Unregelmäßigkeiten bei je einem Familienmitglied, bei einer Familie ließ sich die Segregation bei keinem der Personen klar nachvollziehen. Auch nach mehreren Wiederholungen konnten die fraglichen Allele nicht geklärt werden, zumal verschiedene Mitglieder der Familie nicht mehr zu Testung zu Verfügung standen. Ob es sich hier tatsächlich um Neumutationen bei einzelnen Familienmitgliedern, oder um eine fehlerhafte Analyse der Marker handelt, kann im Rahmen dieser Studie nicht geklärt werden

D6S 265 ist einer der Mikrosatelliten, die sich in unmittelbarer Nähe des HLA-A-Locus befinden. Diese Tatsache spiegelt sich in den zahlreichen Assoziationen wieder, die wir mit HLA-A feststellen konnten wie z. B Allel 265-122 mit HLA-A3, 265-126 mit HLA-A1, A23 und A24, 265-128 mit HLA-A11, A25 und A26 sowie 265-130 mit HLA-A2 und A32.

Einige weitere Assoziationen waren vermutlich wegen der zu geringen Anzahl an Getesteten nicht signifikant.

Mit den Allelen des B-Locus fanden sich auch einige Assoziationen, deren Anzahl die der Assoziationen mit HLA-A aber nicht erreicht, was mit der Lokalisation des Mikrosatelliten übereinstimmt.

Einige andere Autoren beschäftigte dieser Marker im Rahmen von Krankheitsstudien im Zusammenhang mit der Hämochromatose.

Dabei wiederholt sich immer wieder die Assoziation zwischen HLA-A3 und 265-122 (39,145,147) sowie HLA-A1 mit 265-126, HLA-A2 mit 265-130 und HLA-A11 mit 265-128 (145,147). Alle diese Assoziationen fanden wir auch im Rahmen unserer Studie.

In unserer Untersuchung war auch für D6S 265 kein wesentlicher Unterschied im Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen vorhanden.

D6S 265, der in verschiedenen anderen Studien (39, 81, 106) im Zusammenhang mit der Hämochromatose gesehen wird, zeigt in unserem Fall keine Assoziationen.

Die Anzahl von 9 verschiedenen Allelen, die wir für D6S 265 identifizieren konnten, stimmt, wie die oben ausführlich erwähnten Assoziationen, mit der von anderen Studien genannten überwiegend überein.

Zur Segregation dieses Mikrosatelliten in unseren Familien bleibt zu sagen, dass in allen der 17 untersuchten Familien, die Segregation des Markers nachvollziehbar war.

Obwohl auch hier manchmal nicht alle Familienmitglieder getestet wurden, ließ sich der Vererbungsmodus anhand der vorhandenen Personen nachvollziehen.

Die Lokalisation des Mikrosatelliten *D6S 273*, ist nach den heutigen Erkenntnissen nicht ganz geklärt. Auf verschiedenen Genkarten wird der Marker an zwei Stellen lokalisiert, er befindet sich entweder in der Nähe des HLA-Locus, oder in der Nähe des HLA-B und C-Locus. (siehe ABB.5). Nach anderen Autoren gibt es zwei mögliche Lokalisationen in der Nähe des HLA-B bzw. C-Locus. (ABB. 5)

Die von uns gefundenen sieben Allele 128bp – 140bp sind auch bei anderen Autoren genannt.

Die Haplotypenanalyse ergab für D6S 273 Assoziationen mit allen HLA-Loci, wobei die mit dem HLA-B und DR-Locus sich etwas stärker darstellten als mit HLA-A und C.

Signifikante Assoziationen bestanden bei uns des Weiteren zwischen HLA-DR14 und 273-128, 273-130 und HLA-DR13, 273-134 und HLA-DR11, höchst signifikant zwischen 273-136 und HLA-DR2 und HLA-DR3 und 273-140 (wie bereits erwähnt).

Interessante signifikante B-Locus Assoziationen waren mit HLA-B7, 8, 18, 35, 44, und 62 zu finden.

Auf dem HLA-A-Locus war A1, 2, 23, 24 und A30 signifikant mit einem bestimmten Allel des D6S 273 assoziiert.

Interessanterweise fanden wir bei diesem Marker Allel 273-134 signifikant häufiger bei Patienten als bei Kontrollen ($p=0,00067$). Die Haplotypenanalyse zeigte außerdem eine Assoziation zwischen 273-134 und HLA B27. Es ist hier aber, wie zuvor bei MICA-95, nach Ausschluss der Daten der Kinder mit juveniler Spondylitis keine Häufung dieses Allels mehr bei den Patienten zu finden.

Dass gleichzeitig ein anderes Allel (273-130) bei den Patienten vergleichsweise seltener vorkam als bei den Kontrollen ($p=0,0153$), ist u.U. als „Ausgleich“ für das häufige 273-134 zu erklären (d.h. kommt ein Allel häufiger als erwartet vor, muss ein anderes dafür seltener als erwartet vorkommen), und wird ebenfalls nach Korrektur der Daten wohl nicht mehr nachzuweisen sein.

Beim Vergleich der Patienten und Kontrollen ergab sich also wiederum kaum ein Unterschied. Es fiel erneut auf, dass in der zahlenmäßig stärkeren Kontrollgruppe mehr signifikante Assoziationen auftraten.

Entsprechend zu beurteilen sind die Allelfrequenzanalysen: es fanden sich letztendlich in der Häufigkeit des Auftretens der Allele keine anderen Verteilungen bei den Patienten als bei den Kontrollen.

Die Analyse der 17 Familien ergab eine nachvollziehbare Segregation dieses Markers bei 16 Familien. Lediglich eine Familie weist eine Unregelmäßigkeiten in der Segregation auf.

In diesem Fall hat eines der Kinder ein Allel, das sich weder bei Vater noch Mutter findet, und sich von dem zu Erwartenden um vier Basenpaare unterscheidet (140 statt 136 bp). Da D6S 273 beim Rest der Familie erwartungsgemäß segregiert, und auch die HLA-Merkmale keinen Hinweis auf eine Rekombination geben, handelt es sich hier wohl um eine echte Mutation, deren Nachweis allerdings durch die Sequenzierung zu erbringen wäre.

D6S 291 ist nach Meinung verschiedener Autoren zentromer vom HLA-DR-Locus lokalisiert.

Die erwarteten starken Assoziationen mit diesem HLA-Locus konnten wir jedoch nicht finden.

Wir stellten vielmehr fest, dass dieser Marker vergleichsweise wenige, und schlecht reproduzierbare Assoziationen mit den HLA-Genen aufweist.

Die wenigen die wir, auch mit HLA-DR gefunden haben, sind wahrscheinlich eher zufällige Assoziationen. Dies gilt für die Zwei-Punkt-Assoziationen und die Drei-Punkt-Assoziationen. Es sind dementsprechend auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zu finden gewesen.

Bei der Berechnung der Allelfrequenzen dieses Mikrosatelliten kamen wir auf insgesamt acht verschiedene Allele. Der Häufigkeitsgipfel lag dabei bei den Allelen 291-200 und 291-202, die beiden Allele mit 198 und 212 bp Länge sind jeweils nur bei drei Individuen gefunden worden. Es kann sich hier um sehr seltene Allele handeln, oder um einen methodischen Fehler, der bei dieser Technik der Fragmentlängenanalyse darin liegt, dass die Ergebnisse gelegentlich um eine oder zwei Basen von den tatsächlichen Fragmentlängen abweichen, die man nur mittels Sequenzierung nachweisen kann. Bei der getrennten Betrachtung der beiden Gruppen (Patienten und Kontrollen) ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung.

Zusammenfassend ist für diesen Mikrosatelliten zu sagen, dass weder bei dem Vergleich der Allelfrequenzen, noch bei der Betrachtung der Kopplungsungleichgewichte mit den HLA-Loci ein nennenswerter Unterschied zwischen der Patienten und der Kontrollgruppe bestand. Die Segregationsanalyse dieses Markers ergab für 14 der 17 getesteten Familien eine lückenlos nachvollziehbare Segregation. Bei vier Familien traten bei einzelnen Mitgliedern Unstimmigkeiten auf, die sich auch nach mehreren Wiederholungen nicht ausräumen ließen. Ob es sich dabei um echte Mutationen handelt konnte mit den für diese Studie vorgesehen Methoden nicht vollständig geklärt werden. Ein technischer Fehler ist aber auch hier natürlich als weitere Erklärungsmöglichkeit nicht auszuschließen.

MOGa befindet sich auf dem Chromosom 6 telomer vom HLA-A-Locus.

Wir erwarteten deshalb vor allem Kopplungsungleichgewichte mit HLA-A. Die Zwei-Punkt-Haplotypenanalyse bestätigte diese Annahme, signifikante Assoziationen fanden wir allerdings nur bei drei der sechs Allele, es handelt sich dabei um die drei häufigsten Allele. In beiden Gruppen war mit HLA-A1, 25 und 26 des Allel *MOGa*-128 assoziiert. HLA-A3 und 11, bei den Kontrollen auch noch A2, waren mit *MOGa*-130 assoziiert. HLA-A23 und 30 mit *MOGa*-132.

Für den B-Locus identifizierten wir Assoziationen zwischen HLA-B27,57,60 und *MOGa*-128, HLA-B7 und *MOGa*-130 und HLA-B44 und *MOGa*-132.

Diese Assoziationen mit dem HLA-B-Locus waren, wie es auch die Lokalisation des Markers erwarten lässt im Vergleich zu den HLA-A-Locus-Assoziationen schwächer.

Die von uns identifizierten sechs Allele beginnen mit einer Länge von 126 bp, bis zu einer Länge von 136 bp. Mit nur sechs Allelen ist MOGa der Marker in unserer Studie mit der geringsten Allelvariabilität, und wiederum konnten wir weder für die Allelfrequenzberechnungen, noch für die Kopplungsungleichgewichte mit HLA einen Unterschied beim Vergleich der beiden Testgruppen feststellen. Einzelne Allele oder Haplotypen mögen vielleicht in einer der Gruppe stärker anzutreffen sein, oft reicht aber auch einfach die Anzahl der Individuen nicht aus um die Ergebnisse signifikant werden zu lassen. Abschließend noch zu Segregation dieser Mikrosatelliten: In 15 der 17 Familien finden wir eine regelrechte Segregation von MOGa. Zwei Familien wiesen auch noch nach mehreren Wiederholungen Unregelmäßigkeiten diesen Marker betreffend auf, neben dem Verweis auf einen technischen Fehler, kommen dabei speziell auch Spontanmutationen als Erklärung in Betracht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die gefundene Allele der fünf Mikrosatelliten MICA, D6S 265, D6S 273, D6S 291 und MOGa sich bei einigen anderen Autoren so oder in ähnlicher Weise wieder finden.

Bei keinem der Marker ließ sich beim Vergleich der Allelfrequenzen der Patientengruppe (und Ihrer Untergruppen) mit der Kontrollgruppe ein gravierender Unterschied feststellen, der einen Hinweis auf die Assoziation eines bestimmten Allels mit der Juvenilen Chronischen Arthritis geben könnte.

Wir fanden die Allele in beiden Gruppen weitgehend gleich verteilt.

Die Haplotypenanalyse der Mikrosatelliten mit dem HLA-Locus ergab des weiteren, dass sich die Nachbarschaft der jeweiligen Gene in der Anzahl der gefundenen Haplotypen mit signifikanten Assoziationen widerspiegelt. Allerdings gab es auch Fälle, wie z.B. bei D6S 291, wo die erwarteten Assoziationen mit einem benachbarten HLA-Genort nicht auftraten.

Auch die Segregation in den bereits HLA-typisierten Familien unseres Panels ließ sich mit einigen Ausnahmen nachvollziehen. Von 17 Familien fanden wir 11 mit absolut schlüssiger Segregation, in 6 Familien gab es Unstimmigkeiten. Anders gesagt: Von den insgesamt 85 getesteten Familienmitgliedern (incl. der nicht für alle Marker getesteten) fanden sich bei 10 Personen Allele, die nicht in das erwartete Segregationsschema passten. Zur Erklärung der unklaren Fälle kommen neben technischen Fehlern auch Ereignisse wie Mutationen oder Rekombinationen in Frage.

Dafür muss Familie für Familie einzeln betrachtet und analysiert werden. Je nach Einzelfall kann dann eine Aussage darüber getroffen werden, welche der genannten Erklärungen für diesen Fall am wahrscheinlichsten ist.

Hierbei könnte auch für die unklaren Allele eine Sequenzanalyse der entsprechenden Segmente folgen, um eine Mutation oder Rekombination eindeutig zu verifizieren.

Die Tatsache, dass die untersuchten Mikrosatelliten in der Mehrzahl der Fälle eine regelrechte Segregation aufweisen, lässt die Feststellung zu, dass sie dem Vererbungsmodus der HLA-Gene folgen, d.h. die Mendelschen Regeln der Vererbung hier Anwendung finden können.

Zur Zuverlässigkeit der gewählten Methode der Fragmentlängenanalyse muss nochmals deutlich gesagt werden, dass diese Methode oft keine exakte Bestimmung der Allele zulässt.

Wir fanden in einigen Fällen, bei denen im Rahmen von anderen Studien Sequenzanalysen der entsprechenden DNA-Stücke erstellt wurden, eine Abweichung von 1-2 Basen in unserer Längenanalyse, die sich auch nach mehreren Wiederholungen so darstellte.

Bereits zu Beginn hatte es einige Probleme mit der Unzuverlässigkeit der ausgetesteten PCR-Bedingungen gegeben, sodass diese mehrmals neu modifiziert werden mussten.

Der Hersteller der verwendeten PCR-Maschinen weist in einem Informationsblatt in diesem Zusammenhang auf das sog. „Plus-A-Phänomen“ hin. Es bedeutet, dass gelegentlich bei bestimmten Reaktionen unspezifische Nukleotide (oft A) an die Amplifikate addiert werden.

Um diese Fehlerquelle möglichst gering zu halten werden verschiedene Vorschläge, wie z.B. Veränderung der Cyclebedingungen, der Mg-Konzentration etc. gemacht, die wir natürlich aufgegriffen haben. (33)

Trotzdem ist bei alledem nicht auszuschließen, dass in Einzelfällen gewisse Fehler, d.h. unkorrekte Längenangaben vorgekommen sind.

Bei der Untersuchung der Panelfamilien, die in diesem Fall auch als Kontrolle für die Fehlerträchtigkeit der Methode dienen konnte, stellte sich aber heraus, dass die verwendeten Marker mit relativer Zuverlässigkeit amplifiziert wurden.

Im statistischen Vergleich der Daten der Kontroll- mit der Patientengruppe ließ sich jedoch für die untersuchten Mikrosatelliten kein Zusammenhang mit der Juvenilen Chronischen Arthritis nachweisen. Eine Beteiligung dieser Marker z.B. an der Diagnosestellung der JCA ist also nicht möglich.

Auch sogenannte protektive Allele, die verstärkt bei der Kontrollgruppe zu finden sein müssten, konnten wir nicht identifizieren.

V. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, genetische Marker zu identifizieren, die im Zusammenhang mit der Juvenilen Chronischen Arthritis auftreten. Zu diesem Zweck untersuchten wir die DNA von 254 Patienten und 238 Kontrollen bezüglich des gehäufteten Auftretens der ausgewählten Marker. Bei diesen Markern handelte es sich um fünf Mikrosatelliten, die im Bereich des MHC-Komplexes auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 lokalisiert sind, da dort bereits Assoziationen einiger HLA-Merkmale mit der Krankheit entdeckt worden waren.

Mikrosatelliten sind kurze repetitive Sequenzen der DNA, die sich im gesamten menschlichen Genom befinden, und deren Funktion bis heute nicht klar ist.

Im Bereich des MHC-Komplexes sind allein weit mehr als 100 solcher Mikrosatelliten bekannt. Sie werden vor allem als Marker benutzt.

Die von mir verwendeten Mikrosatelliten lauten: MICA, MOGa, D6S 265, D6S 273 und D6S 291.

Neben der untersuchten Assoziation dieser Marker mit der Juvenilen Chronischen Arthritis, konnten wir eine große Menge an statistischen Daten erheben, die z.B. die Anzahl der verschiedenen Allele oder die Häufigkeitsverteilung der Allele der fünf Mikrosatelliten betrafen. Die Untersuchung von Zwei- und Drei-Punkt-Haplotypen mit bekannten, gut erforschten Genorten in der Nähe der verwendeten Marker (z.B. der HLA-Gene) gibt Aufschluss über genauere Lokalisation und Kartierung der Marker, um damit bei einer möglichen statistischen Assoziation eines oder mehrerer Marker einen Hinweis auf die Lokalisation des Krankheitsgens zu erhalten. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war der Nachweis der korrekten Segregation der Marker, die in 17 Familien untersucht wurde, dies diente vor allem der Überprüfung der angewendeten Methodik.

Für diese Untersuchungen bedienten wir uns der Methoden der Polymerase-Chain-Reaction und der Fragmentlängen-Analyse mittels fluoreszenzmarkierter Primer.

Die Berechnung der Genfrequenzen, des Relativen Risikos und der Ethnologischen Fraktion erfolgte mit dem Chi²-Test, dem Fisher-Exakt-Test incl. spezifischer Korrekturen und entsprechenden Computerprogrammen, ebenso wie die Berechnungen der Assoziationsstärken zwischen einzelnen Allelen und HLA-Merkmalen.

Die von uns in dieser Arbeit veröffentlichten Daten, bezüglich der Anzahl und Häufigkeit der Allele der fünf Marker entsprachen weitgehendst den auch von anderen Autoren publizierten Daten.

Auch die Segregation der Mikrosatelliten konnten wir bis auf wenige Ausnahmen klar aufzeigen.

Allerdings ergab sich bei keinem der fünf Mikrosatelliten ein Hinweis auf eine positive oder negative Assoziation mit der JCA (oder einer Ihrer Untergruppen). Es hat sich also kein Hinweis dafür ergeben, dass neben HLA-A, HLA-DRB1, HLA-DQB1 und HLA-DPB1-Genort noch weitere MHC gekoppelte Genorte eine Rolle in der Pathogenese der JCA spielen.

Unsere zu Beginn aufgestellte Hypothese eines möglichen Zusammenhangs der JCA mit einem der fünf untersuchten Marker müssen wir also an dieser Stelle verwerfen.

Trotzdem können wir nicht ausschließen, dass es im Bereich des MHC-Komplexes weitere Genorte gibt, die im Zusammenhang mit der JCA eine Bedeutung haben. Die von uns gewählten Mikrosatelliten können bei dieser Erkrankung jedoch nicht als Marker genutzt werden. Ihre Bedeutung für die Diagnosestellung anderer mit HLA assoziierter Erkrankungen ist damit aber nicht unwahrscheinlicher geworden. Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse mögen als Basis für weitere noch folgende Untersuchungen dienen.

VI. Literaturverzeichnis

1. ALBERT E. D. (ed.) , European Journal of Immunogenetics, Vol. 25 , Suppl. 1, Feb. 1998
2. ALBERT E.D. , ANSELL B.M., Immunogenetics of Juvenile Chronic Arthritis, Scand. J. Rheum. 1987; 66 : 85-91
3. ALBERT E.D., SCHOLZ S., Immunogenetics and Rheumatic Disease, Clin.-Exp. Rheumatol. 1987; 5/S-1 : 29-34
4. ALBERT E.D. , SIERP G., CAMBON-THOMSEN A. : Linkage Disequilibrium and Segregation of HLA-Haplotypes. HLA in Asia-Oceania 1986 , M. AIZAWA ed., Hokkaido Univ. Press. 1986 479-486
5. ALBERT E.D., GÖTZE D. , The MHC in Man.,The MHC in Man and Animals, Götze D. ed., Springer Verlag, Berlin, 1977, 7-77
6. ALBERT E.D., STERN M.H., Immungenetique de l'Arthrite Chronique Juvenile, Progrés en pédiatrie, Ed. A.M. Prieur et al. , 1989; 5, 21-30
7. ALBERT E.D., WOO P., GLASS D.N., Immunogenetic Aspects, Woo P., White P., Ansell B., ed. Paediatric rheumatology update , Oxford , Oxford University Press, 1989 , 6-20
8. ALBRECHTSEN D.T. , MOEN A., FLATMARK A. et al.: Influence of HLA-A, B, C, D and DR Matching in Renal Transplantation, Transpl. Proc. 1981; 13: 924-929
9. ALLEN R.C., ANSELL B.M. , JCA- Clinical Subgroups with particular Relationship to adult Patterns of Disease Postgrad. Med. J. 1986; 62 ; 821 – 826
10. ALTENBOCKUM v. C.; BALDUS G. , JAHNEN E. et al. : Die krankengymnastische Behandlung des chronisch rheumatischen Kindes. , Krankengymnastik 1985; 37 , 577- 582
11. ANDREAS-ZIETZ A., Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus von HLA-Genen bei Personen mit DR2-positiven Haplotypen , Diplomarbeit an der Fakultät für Biologie der LMU München
12. ANSELL B. M. , ALBERT E.D., Juvenile Chronic Arthritis, Particular Type, Histocompatibility Testing 1984; Albert E.D. et al. eds. , Springer Verlag Heidelberg, 1984: 368-374
13. ANSELL B.M. , BYWATERS E.G., Juvenile Chronic Arthritis , Prognosis in Still's Disease, Bull. rheum. Dis. 1959; 9, 189
14. ANSELL B.M., Juvenile Chronic Arthritis, Rheumatic Disorders in Childhood, 1980; B.M. Ansell ed., Butterworth & Co., London , 87-151
15. ANSELL B.M., ALBERT E.D., Joint report on juvenile chronic arthritis, pauciarticular type, Albert ED Bauer MP, Mayr WR, ed. , Histocompatibility Testing, 1984
16. ARNOLD, F. C. and Albert, E. D. Computer Programm zur Berechnung von Haplotypfrequenzen des HLA-Systems. In: Proceedings of the 17th ISBN: 407-415, 1978
17. AUFRAY C., STROMINGER J.L., Molecular Genetics of Major Histocompatibility Complex, Adv. Genet. 1985; 15, 197-247
18. BACH F., HIRSCHHORN, Lymphocyte Interaction: A Potential Histocompatibility test in vitro, Science 1964, 143, 813-814
19. BAHRAM S. et al., A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes, Immunology , Vol. 91 pp. 6259 – 6263 , July 1994
20. BAHRAM S. et al., Nucleotide sequence of a human MHC class I MICB cDNA, Immunogenetics (1996) 43 : 230 – 233

21. BAHRAM S. et al. , Nucleotide sequence of the human MHC class I MICA gene, *Immunogenetics* (1996) 44 : 80- 81
22. BASHAM T. Y, ,MERIGAN T.C., Recombinat Interferon gamma increases HLA-DR Synthesis and Expression, *J. Immunol.*, 1983 ; 130 : 1492-1495.
23. BAUR M.P., NEUGEBAUER M., ALBERT E. D., Reference tables of two-locus haplotype frequencies for all MHC marker loci, Alber ED et al. ed. *Histocompatibility Testing 1984* Berlin , Heidelberg, Springer Verlag , 1984
24. BAUR, M. P. and DANILOVS, J. A. Population Analysis of HLA-A, B, C, DR, and other genetic markers, *Histocompatibility Testing 1980* (ed. by Terasaki, P. I.): 955-958, UCLA Press, Los Angeles, 1980
25. BELL J., The Polymerase Chain Reaction, *Immunology today*, 1989, 10 (10), 351-355
26. BERNER, *Datenbuch der Pädiatrie*, G.Fischer Verlag, 3.Auflage 1988, 625-630
27. BJORKMAN P. J. , SAPER M.A. SAMRAOUI B. et al. , Structural Identification of the foreign Antigen Binding Site on T-Cell Recognition Regions of Class mI Histocompatibility Antigens, *Nature* 1987; 329: 512-518
28. BJORKMAN P. J. , SAPER M.A. SAMRAOUI B. et al. , Stucture of the Human Class I Histocompatibility HLA-A2, *Nature* 1987, 329 : 506-512
29. BODMER W.F., BODMER J.G., Evolution and Function of the HLA- System, *Brit. Med.Bull.* 1984, 34, 309-316
30. BODMER W.F., TROWSDALE F.R.S.J., YOUNG J. et al., Gene Clusters and the Evolution of the Major Histocompatibility Complex, *Phil.Trans. Soc. London*, 1986, B312: 303-315
31. BOUISSOU C. et al. , A Precise Meiotic Map in the Class I Region of the Human Major Histocompatibility Complex, *Genomics* 30, 486-492 (1995)
32. BROWN M. A. et al. , A gneome-wide screen for susceptibility loci in ankylosing spondylitis, *Arthritis-Rheum.* 1998 , Apr , 41 (4): 588 – 95
33. BROWSTEIN et al. , *Bio Techniques*, 20 , 1004- 1010 , 6 / 1996
34. BRUNNER H. , RFLP-Untersuchungen des DRB-Genorts sowie HLA-Klasse I und DRB-Assoziationen bei der seronegativen juvenilen chronischen Arthritis, *Dissertation an der Kinderpoliklinik München*, 1993
35. BRUNNER H., IVASKOVA E., HAAS J.P., et al., Class I associations and frequencies of class II HLA-DRB alleles by RLFP analysis in children with rheumatoid-factor-negative juvenile chronic arthritis, *Rheumatol.Int.* , 1993, 13, 83-8
36. BRÜNNLER G., DPB1 bei Patienten mit Zöliakie, *Diplomarbeit an der Fakultät für Biologie der LMU München*, 1992
37. BURDEN I. D. et al. , Genetics of psoriasis: paternal inheritance and a locus on chromosome 6p, *J. Invest. Dermat.* 1998 Jun ; 110 (6) : 958 – 60
38. CALABRO J.J. , Juvenile Rheumatoid Arthritis (Chapter 31). *Diagnosis and Management of Rheumatic Diseases*, 2nd Edition 1989, Katz W.A. ed. , Lippicott Comp. Philadelphia, 396-409
39. CAMASCHELLA C. , Allelic association of microsatellites of 6p in Italian hemechromatosis patients, *Human Genetics* , Abstract Vol. 97 Issue 4 (1996) pp 476 – 481
40. CASSIDY T.J., LEVINSON J.E. , BRASS j. C. et al. , A Study of Classification Criteria for a Diagnosis of Juvenile Chronic Arthritis, *Arthr. and Rheumatism* 1986; 29 (2): 274-281

41. CHAROT J.M., Etudes pour servir arthritis l'histoire de l'affection decrite sous les noms de goutte srthrique primitive, nodosites des jointures, rheumatism articulaire chronique (forme primitive) etc., Thesis 1853; Paris
42. CLEMENS E .D. , ALBERT E .D. , ANSELL B.M., Sibling Pairs affected by Chronic Juvenile Arthritis of Childhood: Evidence for a genetic Predisposition, *J. Rheumatol.* 1985; I: 108-113
43. D'ALFONSO S., The natural history of an HLA haplotype and its recombinants, *Immunogenetics* (1998), 48: 8-15
44. DARKE C. et al. , Serological and molekular identification of an HLA B8 variant, HLA B8Jon (B*0802), *Exp. Clin. Immunogenet.* 1996 , 13 (3-4) : 139 – 53
45. DAUSSET J., The Major Histocompatibility Complex in Man, *Science* 1981, 213, 1469
46. DAUSSET J.,Leucoagglutinins IV. Leucoagglutinins and Blood Transfusions, *Vox.Sang.*, 1954, 4, 190-198
47. DOBLOUG J.H. et al. Natural Killer (NK) Cell Activity of Peripheral Blood, Synovial Fluid and Synovial Tissue Lymphocytes from Patients with Rheumatoid Arthritis and Juvenile Rheumatoid Arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, 1982; 42: 490-494
48. EMSLIE F.V. et al., Linkage analysis of juvenile myoclonic epilepsy and microsatellite loci spanning 61 cM of human chromosome 6p in 19 nuclear pedigrees provides no evidence for a susceptibility locus in this region, *Am. J. HUM. Genetics.* 1996 Sep , 59 (3): 653 – 63
49. EZQUIETA B. et al., Microsatellite markers in the indirect analysis of the steroid 21-hydroxylase gene, *Prenat. Diagn.* 1997 , May 17 (5): 429 – 34
50. FEICHTLBAUER P. et al. , HLA region microsatellite polymorphisms in juvenile chronic arthritis, *Tissue Antigens* (1998) , 52
51. FINK C. W. , Clinical, Genetic and Therapeutic Aspects of Juvenile Arthritis, *Clinical Rheumatology in Practice*, 1983; 5/6 , 100- 115
52. FLAVELL R.A., ALLEN H. , BURKLY L.C. et al., Molecular Biology of the H2-Histocompatibility Complex, *Science* 1986, 233, 437 – 443
53. FODIL N. et al., Allelic repertoire of the human MHC class I MICA gene, *Immunogenetics* (1996) 44, 351 – 357
54. FOISSAC A. et al., Microsatellites in the HLA region: 1998 update, *Tissue Antigens* 1998, 52: 318-352
55. FOISSAC A. et al., Microsatellites in the HLA region: an overview, *Tissue Antigens* 1997: 49 197-214
56. FORRE O., DOBLOUG J.H., HOYERAAL H.M., KASS E., THORSBY E., HLA antigens in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis: increased frequency of the HLA-DR4 antigen only in seropositive patient groups, *ADV Infl. Res.* 1982, 3, 195-201
57. FORTH W. , *Pharmakologie und Toxikologie* , Bibl. Inst. 5 Aufl., Mannheim, 1988, 544-546
58. FRANCHIMONT P. et al., Mediators of Cellular Immunity in Rheumatic Inflammation, *Rheumatic Inflammation*, 1987, The medicine group UK, Oxford, 1-11
59. GAYAN J. et al. , Quantitative-Trait Locus for Specific Language and Reading Deficits on Chromosom 6p, *Am. Journal of Human Genetics*, 64: 157-164 , 1999
60. GLASS D., LETVIN D., Heterogeneity of HLA associations in systemic onset juvenile rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.* 1980, 23, 796-9
61. GLASS D. , LETVIN D., WALLACE K., Early-onset pauciarticular juvenile arthritis associated with human leukocyte antigen-DRw5, iritis, and antinuclear antibody, *J. Clin.Invest.*, 1980, 66, 426-9

62. GOTO K. et al. , MICA gene and ankylosing spondylitis: linkage analysis via a transmembrane-encoded triplet repeat polymorphism, *Tissue Antigens* 1997; 49: 503 – 507
63. GRIMALDI MC. et al., New Highly Polymorphic Microsatellite Marker in Linkage Disequilibrium with HLA-B, *Human Immunology* 51 , 89-94 (1996)
64. GRUBIC Z: et.al., Distribution of alleles at two microsatellite loci (D6S273 and TNFa) in Croatian population, *Coll. Anrtopol.* 1999 Jun, 23 (1): 87 – 90
65. GUILLEMOT F., AUFFRAYc. , ORR H.T. et al., MHC Antigen Genes, *Molekular Immunology* 1988, Hames B.D. et al. eds. , IRL Press Oxford, 81-144
66. HAAS J.P., NEVINNY-STICKEL C., SCHOENWALD U. , TRUCKENBRODT H., SUSCHKE J., ALBER E.D., Susceptible and protective major histocompatibility complex class II alleles in early-onset pauciarticular juvenile chronic arthritis, *Hum.Immunol.* ,1994 , 41, 225-33
67. HAAS J.P., TRUCKENBRODT H., PAUL C., HOZA J., SCHOLZ S., ALBERT E.D. , Subtypes of HLA-DRB1*03, *08, *11, *13, *14 in early onset pauciarticular juvenile chronic arthritis (EOPA) with and without iridocyclitis, *Clin. Exp. Rheumatol.* , 1994, 12 , suppl. 10, 7-14
68. HAAS P. , ANDREAS A., RUTOWSKI B., A model for the role of HLA-DQ molecules in the pathogenesis of juvenile chronic arthritis, *Rheumatol. Int.*, 1991, 11, 191-7
69. HAAS P., MHC Klasse II Haplotypen und Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen von HLA-DQ bei der juvenilen chronischen Arthritis, *Dissertation an der Medizinischen Fakultät der LMU München*, 1993
70. HÄFNER R. , Die juvenile Spondarthritis, *Monatsschr. Kinderheilkunde*, 1987 135, 41-46
71. HÄFNER R., TRUCKENBRODT H., Verlauf und Prognose der systemischen juvenilen chronischen Arthritis, *Retrospektive Studie an 187 Patienten*, *Klin.Pädiatr.*, 1986, 198: 401-407
72. HAINES J.L. et al., Linkage of the MHC to familial multiple sclerosis suggests genetic heterogeneity , *Human Molecular Genetics*. Aug 1998 , 7 (8): 1229 – 1234
73. HALDANE, J. B. S. The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies. *Ann. Hum. Genet.* 20, 309-311, 1956.
74. HÄMMERLING G.J., Tissue Distribution of Ia Antigenes and their Expression on Lymphocyte Subpopulations, *Transpl. Rev.* , 1976 30: 64-82
75. HANIFI-MOGHADDAM P. et al., Genetic structure of IDDM1: two separate regions in the major histocompatibility complex contribute to susceptibility or protection , *Diabetes*. 1998 , Feb 47 (2): 263 – 9
76. HOLLWICH F. , *Augenheilkunde*, Thieme Verlag Stuttgart, 11. Auflage, 1988, 118- 129
77. <http://www.carbon.wi.mit.edu:8000/cgi-bin/contig/sts>
78. <http://www.chlc.org/ChlcMarkerMaps.html>
79. HULL R.G. , Outcome of JCA, *Brti. J. Rheumatol.* 1988; 66-71
80. HUNT J. S., ANDREWS G.K., WOOD G.W., Normal Trophoblasts resist Inclusion of Class I HLA, *Immunol.*, 1987 , 138 (8): 2481-2487
81. JAZWINSKA EC. et al. , Haplotype Analysis in Australian Hemochromatosis Patients: Evidence for a Predominant Ancestral Haplotype Exclusively Associated with Hemochromatosis, *Am. Journal Human Genetics* , 56: 428-433, 1995
82. KIMURA A. et al , MICA gene polymorphism in Takayasu's arteritis and Buerger's disease, *International Journal of Cardiology*, 66, (Suppl. 1), 1998, S107-S113

83. KISSELJOV V. et al. , Instability of chromosom 6 microsatellite repeats in human cervical tumors carrying papillomavirus sequences , *Int. J. Cancer* , 1996 Dec 20 , 69 (6): 484 – 7
84. KLEIN J., *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination*, 1982, J.Wiley & Sons, New York, 271-309
85. KRESS M., COSMAN D., KHOURY G. et al., Secretion of a Transplantation-related Antigen, *Cell* 1983, 34, 189
86. KUIS W., RIJKERS G.T., MIDDLEDORP J., et al.: B-Lymphocytes from Patients with Juvenile Chronic Arthritis Express Determinants Recognized by anti-Rubella-Mono-Clonals, *Int. Symp. Ped. Rheumatol.*; 1989: 11
87. LARHAMMER D. , HÄMMERLING U., RASK L., et al., Sequence of Gene and cDNA Encoding Murine Major Histocompatibilty Complex Class II Gene A β 2, *J. Biol.Chem.*, 1985 , 260: 14111
88. LEELAYUWAT C. et al. , A new polymorphic and multicopy MHC gene family related to nonmammalian class I , *Immunogenetics* (1994) 40 , 339 – 351
89. LO D., BURKLY L. C., WIDERA G., et al., Diabetes and Tolerance in Transgenic Mice Expressing Class II MHC Molecules in Pancreatic beta Cells, *Cell*, 1988, 53, 159-168
90. MALFROY L. et al. , Polymorphic tri- and tetranucleotide repeats in exons 1 and 8 of the myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) gene, *Human Genetics*, (1995), 96: 737-738
91. MARTIN M. P. et al. , Characterization of 12 microsatellite loci of the human MHC in a panel of reference cell lines , *Immunogenetics* (1998) 47 , 131 – 138
92. MATHIES H., TRUCKENBRODT H. , SÄNGER L. et al., *Diagnostische Kriterien der Juvenilen Chronischen Arthritiden*, Eularverlag, 1988, Basel
93. MILLER S.A., DYKES D.D., POLESKY H.F., A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acids Res.* , 1988, 16 , 1215
94. MIZUKI N. et al. , Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene : a strong association of six GCT repetitions with Behcet disease, *Proc. Natl.. Acad. Sci. USA.* , 1997 Feb 18 94 (4) : 303
95. NAGAI H. et al., Identification and Mapping of Novel Tumor Suppressor Loci on 6p in Diffuse Large B-Cell Non-Hodkin' s Lymphoma, *Genes, Chromosomes and Cancer* 25: 277-283 (1999)
96. NAWATA Y., ENGUI E.M., S.W. LEE et al., IL-6 is the Principal Factor Produced by Synovia of Patients with Rheumatoid Arthritis, that Induces B-Lymphocytes to Secrete Immunoglobulins, *Ann.N.Y.Acad.Sci, USA* 1989, 557, 230-239
97. NEPOM B. S. , NEPOM G.T. , MICKELSON E. et al. , Specific HLA-DR4- Associated Histocompatibility Molecules Characterize Patients with Seroposetive Juvenile Chronic Arthritis, *J. Clin. Invets.*, 1984 74, 287-291
98. NEUBERGER M.S., COOK G. P. , The Expression of Immunoglobine Genes , *Immunol. Today* , 1988, 9 (8), 278- 281
99. OPELZ G., Effect of HLA Matching in 10000, Cyclosporin treated Cadaver Kidney Transplants, *Transpl. Proc.*, 1987, 19, 641- 646
100. OTA M. et al. , Trinucleotide repeat polymorphism within exon 5 of the MICA gene (MHC class I chain related gene A): allele frequency data in the nine population groups Japanese, Northern Han, Hui, Uygur, Kazakhstan, Iranian, Saudi Arabian, Greek and Italian , *Tissue Antigens* 1997: 49: 448 – 454
101. OTA M. et al. , The Critical Region for Behcet Disease in the Human Major Histocompatibility Complex Is Reduced to a 46-kb Segment Centromeric of HLA-B, by Association Analysis Using Refined Microsatellite

- Mapping, *Am. Journal Human Genetics* 64: 1406-1410, 1999
102. PAUL C. , SCHOENENWALD U., TRUCKENBRODT H., et al., HLA-DP/DR interaction on early onset pauciarticular juvenile chronic arthritis, *Immunogenetics*, 37, 442-8
103. PAUL C., et al., Immunogenetics of juvenile chronic arthritis, *Tissue Antigens* (1995), 45, 280-283
104. PLOSKI R., VINJE O., RONNINGEN K.S. et al. , HLA Class I alleles and heterogeneity of juvenile rheumatoid arthritis, DRB1*0101 may define a novel subset of the disease, *Arthritis Rheum.* , 1993, 36 , 465-72
105. PSCHYREMBEL W., *Medizinisches Wörterbuch* , 257. Ausgabe
106. RAHA-CHOWDHURY R. et al. , New polymorphic microsatellite markers place the haemochromatosis gene telomeric to D6S 105, *Human Molecular Genetics*, 1995 , Vol. 4 , No. 10, 1869-1874
107. RES P. C. M., SCHAAR C.G., BREEDFELD F.C., et al., Synovial Fluid T-cell Reactivity against 65 kd Heat Shock Protein of Mykobacteria in Early Onset Chronic Arthritis, *Lancet II*, 1988, Aug., 478-480
108. RIISOM K., SORESEN I. J., MOLLER B. et al., HLA-DR Typing Using Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) with one Enzyme and two Probes, *Tissue Antigens*, 1988, 31, 141-150
109. ROBERTS A.G. et al. , The frequency of hemochromatosis-associated alleles is increased in British patients with sporadic porphyria cutanea tarda , *Hepatology*. 1997 Jan , 25 (1), 159 – 61
110. ROITT I. *Essential Immunology*, Blackwell Scientific Publ. , Oxford, 6th Edition, 1988
111. ROSENBERG A.M. *Advanced Drug Therapy for Juvenile Rheumatoid Arthritis*, *J.Pediatr.*, 1989, 114 (2), 171-178
112. ROTH MP. et al. , Three Highly Polymorphic Microsatellites at the Human Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Locus, 100 kb Telomeric to HLA-F, *Human Immunology* , 43, 276-282 (1995)
113. SCHIFFENBAUER J., SCHWARTZ B.D., The HLA Complex and It's Relationship to Rheumatic Diseases, *Rheumatic Disease Clin. of North America*, 1987, 13 (3), 403-487
114. SCHUH H., *Geniale Gen Vermehrung*, *Die Zeit*, 1989, 6, 74
115. SCHUMACHER R.H. jr., *Primer on Rheumatic Disease*, 1988, Arthritis Foundation Atlanta, 9th Edition
116. SHIINA T. et al., Molekular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1,796,938-bp HLA class I region, *PNAS*, Nov. 9 1999, Vol. 96, no. 23, 13282-13287
117. SHIINA T. et al. , Nucleotid sequencing analysis of the 146-kilobase segment around the IκBL and MICA genes at the centromeric end of the HLA class I region , *Genomics*. 1998 Feb 1 , 47 (3) : 372 – 82
118. SIERP G. , *Biomathematische Analyse des HLA-Systems*, 1989, Dissertation an der Medizinischen Fakultät der LMU München
119. SINGAL DP. et al. , D6S273 microsatellite polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis, *Tissue Antigens* , 1998 , 52: 353- 358
120. SITZMANN F. C. , *Pädiatrie, Duale Reihe*
121. SITZMANN F.C., *Rheumatische Erkrankungen und Kollagenosen*, *Kinderheilkunde*, 1989, Hippokrates Verlag , 6. Aufl., 850-855
122. SODOYER R., DAMOTTE M., DELOVITCH T. L. , et al. , Complete Nucleotide Sequence of a Gene encoding a Functional Human Class I Histocompatibility Antigen (HLA-Cw3). *EMBO J.* , 1985; 3 , 879

123. SPIES T., BLANCK G., BRESNAHAN M., et al. , A New Cluster of Genes within the Human Major Histocompatibility Complex, *Science*, 1989, 243 (4888), 214- 217
124. ST-PIERRE Y. , NABAVI N. , GHOGAWALA Z. et al. , A Functional Role for Signal Transduction via the Cytoplasmic Domains of MHC Class II Proteins, *J.Immunol.* , 1989, 143 (3) , 808-812
125. STASTNY P. , FINK C.W. , Different HLA-D associations in adult and juvenile rheumatoid arthritis , *J.Clin.Invest.*, 1979, 63, 124-130
126. STEIGER U. , Juvenile chronische Arthritis, *Rheumatology in Praxis und Klinik*, Fehr K. et al. eds. , Thieme Verlag Stuttgart , 1989, 7.171-7195
127. SUCIU-FOCA N., GODFREY M., JACOBS J. et al. , Increased frequency of DRw5 in pauciarticular JRA , Terasaki P ed. *Histocompatibility testing* , 1980, Los Angeles , UCLA Press , 1980 , 973
128. SUCIU-FOCA N., GODFREY M., JACOBS J. et al., HLA-DR5 in juvenile rheumatoid arthritis confined to fewer joints (letter), *Lancet* , 1980, 2, 40
129. SVEJGAARD A. et al., HLA Antigens and Disease, Statistical and Genetical Considerations, *Tissue Antigens* (1994), 4, 95-105
130. SVEJGAARD A. , HLA and Disease, *Manual of Clinical Immunology*, Rose N.R. , et al. eds., Am. Soc.Microbiol., Washington, 3rd Edition, 1986 , 912- 920
131. TAMIYA G. et al. , Twenty-six new polymorphic microsatellite markers around the HLA-B, -C, and -E loci in the human MHC class I region , *Tissue Antigens* 1998, 51, 337 – 346
132. TERASAKI P.I., McCLELLAND J.D., Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins, *Nature*, 1964, 204, 998-1000
133. TIWARI J.L., TERASAKI P.I., HLA and Disease Association, Springer Verlag Berlin, 1985, 5-73
134. TROWNSDALE J. , CAMPBELL D.R. , Physical Map of Human HLA Region, *Immunology Today*, 1988, 9 (2) , 34-35
135. TRUCKENBRODT H. , *Rheumatische und allergische Erkrankungen, Pädiatrie*, 1989, Niessen K.H. ed., VCH Weinheim, 275-281
136. TRUCKENBRODT H. , Besonderheiten der Kinderrheumatologie, *Der Kinderarzt*, 1987, 7, 911-917
137. TRUCKENBRODT H., HÄFNER R., Methotrexate Therapy in Juvenile Rheumatoid Arthritis, A Retrospective Study, *Arthr. and Rheumatism*, 1986, 29 (6), 801-807
138. TSOKOS G.C., INGIRAMI G., PILLEMER S.R. et al., Immunoregulatory Aberrations in Patients with Polyarticular juvenile arthritis, *Clin. Immunol., Immunopathol.*, 1988, 47, 62-74
139. TSOKOS G.C., MAVRIDIS A., INGIRAMI G., et al., Cellular Immunity in Patients with Systemic Juvenile Arthritis, *Clin. Immunol., Immunopathol.*, 1987, 42, 86-92
140. VAIDYA B. et al. , The cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 is a major Graves' disease locus, *Human Molecular Genetics*, 1999, Vol. 8. No. 7 , 1195-1199
141. VITANI R. L. et al. , MICA exon 5 microsatellite typing by DNA heteroduplex analysis : a new polymorphism in the trans membrane region , *Tissue Antigens* (1998), 51 , 309 – 311
142. WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System: Bodmer J.G., Albert E.D., Bodmer W.F., et al. eds., *Nomenclature for Factors of the HLA System* 1989, *Immunogenetics* 1990, 31, 131-140
143. WJST M. et al. , A Genome-wide Search for Linkage to Asthma, *Genomics* 58, 1-8 (1999)
144. WOOD PH. N.: Special Meeting on Nomenclature and Classification of Arthritis in Children, *EULAR Bull.*, 1977, No. 4: 101

145. WORWOOD M. et al. , Alleles at D6S265 and D6S105 define a haemochromatosis-specific genotype, *British Journal of Haematology*, 1994, 86 : 863- 866
146. WORWOOD M. et al. , The frequency of the hemochromatosis-associated genotyp D6S 265-1: D6S 105-8 in blood donors, *Br. J. Haematol.* 1996, Jun , 93 (4): 838 – 40
147. WORWOOD M. et al., The HLA A1 – B8 haplotype extends 6 Mb beyond HLA-A: associations between HLA-A, B, F and 15 microsatellite markers , *Tissue Antigens* 1997: 50: 521 – 526
148. WORWOOD M., RAHA-CHOWDHURY R., DRAKE C., Distribution of Alleles at D6S105 and D6S265 with possible HLA Haplotype Associations , *Tissue Antigens*, 1994, Nov. 44 (5), 322-5
149. YASUDA N., Estimation of Haplotype Frequency and Linkage disequilibrium Parameter in the HLA System, *Tissue Antigens*, 1978, 12, 315-322
150. YAO Z. et al., Definition of new alleles of MICA using sequence-based typing, *Eur J Immunogenetics* (1999) 26, 225-232
151. YAO Z. et al., Allelic variation in the intron 2 and 3 of the MICA gene, *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 13 (1): 47-50, 1999
152. ZWIRNER N.W. et al., MICA, a new polymorphic HLA-related antigen, is expressed mainly by keratinocytes, endothelial cells, and monocytes , *Immunogenetics* (1998) 47: 139 – 148

VII. Abkürzungen

ANA	Antinukleäre Antikörper
bp	base pairs (Längenmaß für DNA-Fragmente)
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CIK	Circulating Immuncomplexes
DNA	Desoxyribonucleoacid
EF	Ethiologische Fraktion
EOPA	Early onset Polyarthritis
EULAR	European League of Antirheumatism
HLA	Human Leucocyte Antigene
IL	Interleukin
JAS	Juvenile Ankylosierende Spondilitis
JCA	Juvenile Chronische Arthritis
kb	kilo bases
kd	kilo dalton
LA	Leucocyte Antigene
LFT	Latexfixationstest
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIC	MHC-class Chain related gene
MOG	Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein
n	Number
NK	Natürliche Killerzellen
nm	Nannometer
NTP	Nukleosidtriphosphat
OD	optische Dichte
PCR	Polymerase Chain Reaction
PGI	Prostacyclin
RA	Rheumatoide Arthritis
RF	Rheuma Faktor
RR	Relatives Risiko
SNP	Seronegative Polyarthritis
SPP	Seropositive Polyarthritis
STR	short tandem repeat
TBE	Tris Borsäure EDTA
TNF	Tumornekrosefaktor
WHO	World Health Organisation

VIII. Hersteller- und Firmennachweis

10 x PCR-Puffer II : Perkin Elmer # 55603
24 bzw 36-wells Kämme: 250 / 1000
Agarose : Sea Kem Le Agarose, FMC BioProducts, Cat. nr. 50005
Alconox : Aldrich 24,301-9
APS : Aldrich #24,861
Aqua bidest. : Krendl GmbH
Aqua dest. : Pharmacia & Upjohn, Aqua ad iniectabilia
Bindesilane : Pharmacia #17-1330-01
Blaumarker : Perkin Elmer
Borsäure : Merck # K165-1000
capes ultradünn, 0,2 ml Art. nr. 710962
Ceph-DNA : CEPH-Individuum # 884-15 ,BIOS Laboratories, inc., New Haven , USA ; itemnr. AM-200
DextranBlue : ABI #401733
dNTPs : Pharmacia Biotech, ultrapure dNTP set, # 27-2035-02
Eisessigsäure : Sigma Cat. no. A 6283
Elektrophoresegerät / Kammer : BioRad : wide mini subTM cell, Microcomputer Electrophoresis Supply Power
Ethidiumbromid : Pharmacia
EtOH 99% : J.T. Baker, ENIECS nr. 200-578-6
Formamid : Kodak #
Gelträger / Kämme : BioRad : Gel caster # 170-4412, Comb Holder # 170-4320, GT Comb, 20 well, 1,5 mm
Genescan-500 TAMRA : ABI #401733
Harnstoff : BioRad #161-0731
Heizplatte/Rührplatte: IKA MAK RET
Kompressor : ABM
Membranfilter : RC 58 Membranfilter, 0,2 µm, Ø 47 mm, No. 410312, Schleicher & Schnell
MgCl₂ 25 nM : Perkin Elmer # 55611
Molekulargewichtsmarker : Phi x 174 / Hae III- Marker,
Na₂EDTA : Sigma # ED4SS
PCR-Maschine : Perkin Elmer cetus / Gene Amp PCR System 9600 / Biotest , Biomerta UNO-Thermoblock
PCR-Tubes und Deckelstreifen : Biozym Diagnostik GmbH, tubes ultradünn, 0,2 ml, Art. nr. 710952
Pipettenpitzen/Pipetten: Gilson Pipetman® P , ART® Molecular Bio Products; Bioshere Quality Tips, Sarstedt®
Polaroidkamera/ Poleroidfilme : Polaroid® MP.4 Land Camera, Polaroid® 3 1/4 x 4 1/4
Polyacrylamid 29:1 : BioRad # 1610121, Acrylamid/Bis 30,8 %, 29 :1, Oxford Glyco-Synthese
Primer der Mikrosatelliten D6S 265, D6S 273, D6S 291, Mog A
 Synthetisiert, aufgereinigt und fluoreszenzmarkiert von ABI, Weiterstadt
Primer des Mikrosatelliten MICA
 Synthetisiert, aufgereinigt und fluoreszenzmarkiert von Kits & Probes, Göttingen
Roboter : Biomerck[™] 1000, Automated Laboratory Workstation, Beckman
Sequenzer : ABI 373 DNA Sequenzer stretch
Spektralphotometer : Pharmacia Biotech, Gene Quant II
Spitzen : Robbins Scientific®, Robotips thick # 170-4448
Taq-Polymerase 250 U / ml : Perkin Elmer , AmpliTaq® DNA Polymerase # 55620
TEMED : Sigma # EEC no. 203-744-6
Tris : BioRad # 161-0719
UV-Gerät : Fluo. Link, Bachofer

IX. Danksagung

Diese Arbeit wurde im Zeitraum 1997 bis 2001 im Labor für Immungenetik der Kinderpoliklinik der Universität München angefertigt.

Mein besondere Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. E. Albert für die Ermöglichung dieser Arbeit, und die freundliche und geduldige Betreuung während der Fertigstellung.

Des weiteren geht mein Dank an die Mitarbeiter des Labors für Immungenetik, insbesondere an K. Witter, der mir im experimentellen Teil der Arbeit immer mit Rat und Tat zur Seite stand, Dr. R. Zahn, G. Brännler, besonders für die Hilfe in computertechnischen Dingen, Dr. E. Keller und Mitarbeiter, Dr. S. Scholz, A. Vogglner, Prof. E. Weiß und Mitarbeiter des Institutes für Humangenetik, P. Tassotti und alle weiteren zahlreichen Mitarbeiter.

X. Lebenslauf

PERSÖNLICHE ANGABEN

Wohnort: Zum Rossbachweiher 9, 93333 Mühlhausen

Geburtstag: 20. März 1974

Geburtsort: Augsburg

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

AUSBILDUNG

- 1980 - 1984 Grundschule Adelzhausen-Tödtenried
- 1984 - 1993 Deutschherren-Gymnasium, Aichach
- 1993 - 2000 Studium der Humanmedizin an der Ludwigs-Maximilians-Universität, München
- Juni 2000 – Nov. 2001 AiP in der Abt. für Gynäkologie und Geburtshilfe des Krankenhaus München-Schwabing
- seit Feb. 2002 Assistenzärztin in der Abt. für Gynäkologie und Geburtshilfe am Klinikum Ingolstadt

Abschlüsse:

9. Juli 1993	Allgemeine Hochschulreife
6. September 1995	Physikum
29. August 1996	I. Staatsexamen
19. März 1999	II. Staatsexamen
17. Mai 2000	III. Staatsexamen

DISSERTATION

- **„Mikrosatellitenanalyse bei der Juvenilen Chronischen Arthritis“**, experimentelle Dissertation an der Kinderpoliklinik der LMU München, Betreuer: Prof. Dr. med. E.D. Albert

VERÖFFENTLICHUNGEN UND VORTRÄGE

- **„The Triplet Repeat Polymorphism in Exon 5 of the MICA Gene“**
Werner A., Witter K., Weis E., Scholz S., Keller E., Albert E.D.;
European Journal of Immunogenetics, Vol. 25, Feb. 98
- **Vortrag** in englischer Sprache auf der 12th European Histocompatibility Conference, Strasbourg, März 1998, **„The Triplet Repeat Polymorphism in Exon 5 of the MICA Gene“**

TÄTIGKEITEN NEBEN DEM STUDIUM

- Seit Dezember 1996: wissenschaftliche Tätigkeit im Labor für Immungenetik der Kinderpoliklinik der LMU München (Leiter: Prof. Dr. med. E.D. Albert)
- März 1994 – November 1998: Mitarbeit im Studententeam des Labors für Immungenetik, in Zusammenarbeit mit dem Transplantationszentrum des Klinikums Großhadern bei der HLA-Typisierung von Organspendern
- Rezension von Lehrbüchern der Dualen Reihe
- Redaktion des Semesterjournals

XI. Anhang

2.Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla A*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 190) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
MicA-95	66	436	89	192	35	142	26	0	0	23	104	71	0	0	0	0	0	0	1184
	-101	85	-91	128	-18	39	20	-2	43	39
	-0.61	0.10	-0.51	0.27	-0.33	0.05	0.43	-0.06	0.09	0.17
	1.5	0.6	1.2	5.9*	0.1	0.3	-1.0	-1.0	0.7	1.1
MicA-98	198	449	203	83	71	220	0	0	0	0	29	74	42	0	0	0	0	0	1368
	4	44	-5	9	10	101	-41	38	-9
	0.00	0.05	-0.03	0.02	0.02	0.13	-0.59	0.17	-0.17
	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	2.0	0.6	0.9	0.0
MicA-99	835	1128	617	43	0	206	0	43	78	37	216	119	205	0	26	0	0	80	3632
	320	52	64	-152	...	-111	...	-81	-3	-40	29	23	71	...	17	2	...
	0.36	0.03	0.07	-0.78	...	-0.35	...	-0.65	-0.04	-0.52	0.09	0.14	0.30	...	1.00	0.01	...
	6.9#	0.1	0.3	3.7	...	1.3	...	1.6	0.0	0.6	0.1	0.2	1.2	...	-1.0	0.0	...
MicA-101	107	762	333	0	341	36	0	82	76	150	166	0	0	26	0	0	0	131	2211
	-206	107	-4	...	242	-157	...	6	27	104	52	20	84	...
	-0.66	0.07	-0.01	...	0.70	-0.81	...	0.02	0.15	0.63	0.13	1.00	0.50	...
	3.9*	0.6	0.0	...	15.2\$	3.4	...	0.0	0.4	5.8*	0.6	-1.0	3.7	...
MicA-110	211	187	281	218	0	269	26	217	69	0	0	0	122	0	0	0	0	4	1605
	-16	-289	36	133	...	129	18	162	34	63
	-0.07	-0.61	0.03	0.29	...	0.18	0.40	0.56	0.18	0.20
	0.0	5.6*	0.1	4.9*	...	2.9	-1.0	11.2\$	0.7	1.6
SUM	1416	2962	1523	535	447	874	53	342	223	211	515	263	368	26	26	0	0	215	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla B*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 187) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B7	65	82	1235	106	0	1489
	-114	-113	694	-224	...	
	-0.64	-0.58	0.73	-0.68	...	
	1.8	1.7	30.7\$	4.3*	...	
B8	0	36	525	90	0	651
	...	-50	288	-54	...	
	...	-0.58	0.70	-0.37	...	
	...	0.7	11.0\$	0.5	...	
B13	0	27	207	0	7	241
	...	-5	119	...	-32	
	...	-0.15	0.78	...	-0.82	
	...	0.0	4.9*	...	0.6	
B14	0	0	0	27	0	27
	21	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
B18	504	0	58	0	0	561
	436	...	-146	
	0.88	...	-0.72	
	63.4\$...	3.3	
B22	27	0	0	0	0	27
	24	
	1.00	
	-1.0	
B27	158	0	87	57	73	374
	113	...	-49	-26	12	
	0.34	...	-0.36	-0.31	0.04	
	6.2*	...	0.5	0.2	0.1	
B35	18	309	171	150	524	1171
	-123	155	-255	-110	333	
	-0.87	0.15	-0.60	-0.42	0.34	
	2.6	3.8	5.1*	1.3	14.7\$	
B37	19	0	107	34	0	160
	0	...	49	-2	...	
	-0.01	...	0.48	-0.05	...	
	-1.0	...	1.2	0.0	...	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla B*

- 2 -

(N = 187) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B38	0	0	0	28	320	348
	-49	263	
	-0.64	0.90	
	0.8	28.3\$	
B39	0	0	0	0	160	160
	134	
	1.00	
	-1.0	
BW41	0	0	0	107	0	107
	83	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
BW42	0	0	0	80	0	80
	62	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
B44	36	75	467	653	63	1295
	-120	-94	-4	366	-148	
	-0.77	-0.56	-0.01	0.36	-0.70	
	2.2	1.3	0.0	12.9\$	2.7	
B45	0	0	0	78	29	107
	54	12	
	0.65	0.13	
	-1.0	-1.0	
BW47	0	0	80	0	0	80
	51	
	1.00	
	2.6	
B49	0	0	0	107	0	107
	83	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
BW50	0	0	0	187	0	187
	146	...	
	1.00	...	
	12.5\$...	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla B*

- 3 -

(N = 187) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B51	0	0	64	283	0	348
	-62	206	...	
	-0.49	0.76	...	
	0.9	13.7\$...	
BW52	0	20	0	60	0	80
	...	9	...	43	...	
	...	0.13	...	0.68	...	
	...	-1.0	...	-1.0	...	
BW55	80	27	0	0	0	107
	67	13	
	0.72	0.14	
	-1.0	-1.0	
BW56	134	0	0	0	53	187
	111	23	
	0.68	0.15	
	-1.0	0.4	
BW57	0	34	0	46	240	321
	...	-8	...	-25	188	
	...	-0.19	...	-0.35	0.70	
	...	0.0	...	0.2	15.6\$	
BW58	0	0	0	0	80	80
	67	
	1.00	
	-1.0	
BW60	0	0	488	0	46	535
	294	...	-41	
	0.86	...	-0.47	
	13.8\$...	0.5	
BW61	27	134	0	0	0	160
	7	113	
	0.05	0.81	
	-1.0	-1.0	
BW62	136	531	146	115	34	963
	20	405	-204	-99	-123	
	0.02	0.48	-0.58	-0.46	-0.78	
	0.1	31.0\$	3.9*	1.2	2.4	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla B*

- 4 -

(N = 187) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
BX	0	36	0	10	0	46
	...	30	...	0	...	
	...	0.74	...	0.00	...	
	...	-1.0	...	-1.0	...	
SUM	1203	1310	3636	2219	1631	

2.Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / Hla C*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 139) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
MicA-95	275	0	199	90	195	0	265	0	306	1331
	212	...	-33	-131	100	...	-29	...	131	
	0.51	...	-0.14	-0.59	0.16	...	-0.10	...	0.12	
	11.9\$...	0.1	1.5	1.8	...	0.1	...	1.8	
MicA-98	38	107	525	407	107	66	78	0	183	1511
	-34	23	261	156	-2	-128	-256	...	-15	
	-0.47	0.05	0.21	0.12	-0.01	-0.66	-0.77	...	-0.08	
	0.3	0.1	5.1*	1.9	0.0	1.6	4.1*	...	0.0	
MicA-99	0	302	537	244	263	678	1448	0	162	3633
	...	100	-98	-359	2	212	645	...	-315	
	...	0.28	-0.15	-0.60	0.00	0.26	0.46	...	-0.66	
	...	1.1	0.4	5.6*	0.0	2.4	14.5\$...	5.2*	
MicA-101	55	148	332	329	39	283	307	36	378	1906
	-36	42	-2	13	-98	39	-115	29	128	
	-0.40	0.09	0.00	0.01	-0.72	0.04	-0.27	1.00	0.12	
	0.3	0.3	0.0	0.0	1.3	0.1	0.7	-1.0	1.3	
MicA-110	108	0	156	589	114	255	113	0	284	1619
	31	...	-128	321	-2	47	-245	...	72	
	0.08	...	-0.45	0.24	-0.02	0.04	-0.68	...	0.07	
	0.2	...	1.2	7.6#	0.0	0.2	3.6	...	0.5	
SUM	476	557	1749	1659	719	1281	2211	36	1313	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / DRB1G*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 169) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
DRB1G*01	155	84	117	115	506	976
	42	-44	-235	-96	333	
	0.05	-0.34	-0.67	-0.46	0.41	
	0.3	0.3	4.6*	1.1	14.5\$	
DRB1G*02	49	116	715	197	165	1243
	-95	-46	267	-71	-55	
	-0.66	-0.28	0.34	-0.26	-0.25	
	1.4	0.3	4.8*	0.5	0.3	
DRB1G*03	21	203	560	177	104	1065
	-102	64	176	-53	-85	
	-0.83	0.07	0.26	-0.23	-0.45	
	1.8	0.6	2.4	0.3	0.9	
DRB1G*04	129	313	506	385	27	1361
	-28	136	15	91	-214	
	-0.18	0.12	0.02	0.09	-0.89	
	0.1	2.3	0.0	0.7	4.5*	
DRB1G*11	283	254	726	135	82	1479
	112	61	192	-185	-181	
	0.11	0.06	0.20	-0.58	-0.69	
	1.7	0.4	2.1	2.7	3.0	
DRB1G*12	77	30	59	71	0	237
	49	-1	-26	20	...	
	0.24	-0.04	-0.31	0.11	...	
	-1.0	0.0	0.2	0.2	...	
DRB1G*06	30	24	0	65	0	118
	16	8	...	40	...	
	0.15	0.08	...	0.43	...	
	-1.0	-1.0	...	-1.0	...	
DRB1G*13	172	111	411	216	363	1272
	25	-55	-49	-59	138	
	0.02	-0.33	-0.11	-0.21	0.13	
	0.1	0.4	0.2	0.3	2.0	
DRB1G*14	0	77	105	0	114	296
	...	38	-1	...	61	
	...	0.15	-0.01	...	0.25	
	...	0.8	0.0	...	1.5	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mic A / DRB1G*

- 2 -

(N = 169) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
DRB1G*07	147	62	265	675	359	1509
	-27	-134	-279	349	92	
	-0.15	-0.68	-0.51	0.30	0.07	
	0.1	2.1	4.5*	9.5#	0.8	
DRB1G*08	92	0	115	124	54	385
	47	...	-24	41	-15	
	0.14	...	-0.17	0.14	-0.21	
	1.0	...	0.1	0.4	0.1	
DRB1G*09	0	30	30	0	0	59
	...	22	8	
	...	0.43	0.22	
	...	-1.0	-1.0	
SUM	1154	1302	3609	2160	1775	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mic A / Hla A*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 96) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
MicA-95	0	1280	0	186	0	356	409	58	0	0	0	0	0	55	0	0	0	0	2344
	...	371	...	51	...	88	226	-113	18
	...	0.26	...	0.12	...	0.10	0.38	-0.66	0.15
	...	3.1	...	0.3	...	0.4	3.8	1.0	-1.0
MicA-98	67	142	104	0	0	405	0	0	52	0	0	0	0	101	0	0	0	170	1042
	-43	-262	44	286	14	85	152
	-0.39	-0.65	0.09	0.31	0.04	0.61	1.00
	0.2	3.0	0.4	8.3#	-1.0	-1.0	-1.0
MicA-99	755	1605	115	157	0	232	229	57	184	0	104	52	104	0	0	0	0	0	3594
	375	211	-91	-49	...	-180	-52	-205	53	...	67	33	48
	0.55	0.10	-0.44	-0.24	...	-0.44	-0.18	-0.78	0.23	...	1.00	1.00	0.48
	6.2*	0.8	0.6	0.2	...	1.3	0.2	2.6	0.3	...	-1.0	-1.0	0.6
MicA-101	0	289	354	89	104	81	0	205	128	52	0	0	0	0	0	0	0	0	1302
	...	-216	279	14	84	-68	...	110	81	39
	...	-0.43	0.56	0.03	0.62	-0.46	...	0.17	0.25	0.43
	...	1.7	12.2\$	0.0	-1.0	0.4	...	1.5	-1.0	-1.0
MicA-110	235	562	0	142	52	71	144	409	0	52	0	0	52	0	0	0	0	0	1719
	53	-105	...	43	25	-125	9	284	...	34	25
	0.06	-0.16	...	0.09	0.19	-0.64	0.01	0.47	...	0.40	0.19
	0.2	0.3	...	0.2	-1.0	1.0	0.0	8.0#	...	-1.0	-1.0
SUM	1056	3878	573	573	156	1146	781	729	365	104	104	52	156	156	0	0	0	170	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mic a / Hla B*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 94) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B7	0	64	983	0	0	1047
	...	-41	598	
	...	-0.39	0.90	
	...	0.2	15.5\$	
B8	0	67	725	0	0	792
	...	-13	435	
	...	-0.17	0.87	
	...	0.0	10.5#	
B13	0	0	213	0	0	213
	135	
	1.00	
	3.5	
B14	0	53	0	106	0	160
	...	37	...	85	...	
	...	0.26	...	0.62	...	
	...	-1.0	...	-1.0	...	
B18	638	0	0	53	160	851
	448	-60	10	
	0.68	-0.53	0.01	
	14.0\$	0.4	0.0	
B27	1011	0	0	0	0	1011
	785	
	1.00	
	36.7\$	
B35	0	229	160	53	532	974
	...	131	-198	-76	361	
	...	0.15	-0.55	-0.59	0.45	
	...	2.0	1.8	0.5	9.6#	
B37	0	0	53	0	0	53
	34	
	1.00	
	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mic a / Hla B*

- 2 -

(N = 94) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B38	0	0	0	0	266	266
	219	
	1.00	
	-1.0	
B39	53	0	0	0	319	372
	-30	254	
	-0.36	0.83	
	0.1	11.7\$	
BW41	0	0	0	106	0	106
	92	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
B44	0	0	516	335	0	851
	204	222	...	
	0.38	0.30	...	
	2.2	5.1*	...	
BW47	0	53	0	0	0	53
	...	48	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B49	0	0	60	259	0	319
	-57	217	...	
	-0.49	0.78	...	
	0.4	-1.0	...	
BW50	0	0	0	53	0	53
	46	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mic a / Hla B*

- 3 -

(N = 94) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
B51	53	0	62	204	0	319
	-18	...	-55	162	...	
	-0.25	...	-0.47	0.58	...	
	0.1	...	0.4	-1.0	...	
BW52	0	0	0	53	0	53
	46	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
BW55	106	27	0	0	27	160
	71	10	-1	
	0.57	0.07	-0.05	
	-1.0	-1.0	-1.0	
BW56	372	0	0	0	160	532
	254	66	
	0.61	0.15	
	6.9#	0.6	
BW57	0	0	53	0	53	106
	14	...	35	
	0.21	...	0.39	
	-1.0	...	-1.0	
BW58	0	0	0	0	160	160
	132	
	1.00	
	-1.0	
BW60	0	0	456	0	0	456
	288	
	1.00	
	7.7#	
BW61	0	27	53	0	27	106
	...	16	14	...	8	
	...	0.17	0.21	...	0.09	
	...	-1.0	-1.0	...	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mic a / Hla B*

- 4 -

(N = 94) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
BW62	0	370	162	0	0	532
	...	317	-34	
	...	0.66	-0.17	
	...	20.6\$	0.1	
BW63	0	0	0	0	53	53
	44	
	1.00	
	-1.0	
BX	0	120	175	106	0	401
	...	80	27	53	...	
	...	0.22	0.11	0.15	...	
	...	-1.0	0.1	0.6	...	
SUM	2234	1011	3670	1330	1755	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mic A / Hla C*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 48) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
MicA-95	716	1457	0	0	0	0	0	0	743	2917
	170	1032	-180	
	0.13	1.00	-0.19	
	0.4	19.9\$	0.3	
MicA-98	45	0	777	394	0	0	0	0	346	1563
	-247	...	599	24	-148	
	-0.85	...	0.62	0.02	-0.30	
	1.5	...	12.9\$	0.0	0.4	
MicA-99	354	0	213	487	0	0	0	0	1030	2083
	-36	...	-24	-6	370	
	-0.09	...	-0.10	-0.01	0.26	
	0.0	...	0.0	0.0	1.8	
MicA-101	272	0	149	482	0	0	0	0	347	1250
	38	...	6	186	-49	
	0.04	...	0.01	0.19	-0.12	
	0.0	...	0.0	0.8	0.0	
MicA-110	484	0	0	1004	0	0	0	0	699	2188
	75	486	7	
	0.05	0.29	0.00	
	0.1	3.7	0.0	
SUM	1872	1457	1139	2367	0	0	0	0	3165	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mic A* / *DRB1G*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 234) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
DRB1G*01	167	0	206	143	360	876
	4	...	-118	15	194	
	0.01	...	-0.36	0.02	0.27	
	0.0	...	1.7	0.1	7.1#	
DRB1G*02	372	153	463	213	124	1325
	126	8	-27	21	-128	
	0.12	0.01	-0.05	0.02	-0.51	
	2.1	0.0	0.1	0.1	2.2	
DRB1G*03	42	146	499	61	0	748
	-97	64	222	-47	...	
	-0.70	0.10	0.47	-0.44	...	
	2.1	1.4	7.2#	0.6	...	
DRB1G*04	135	105	306	131	157	833
	-20	14	-2	10	-1	
	-0.13	0.02	-0.01	0.01	-0.01	
	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	
DRB1G*11	794	377	756	319	296	2543
	322	100	-184	-50	-188	
	0.23	0.12	-0.20	-0.14	-0.39	
	8.4#	1.3	1.8	0.3	2.8	
DRB1G*12	30	0	140	34	52	256
	-18	...	45	-3	4	
	-0.37	...	0.28	-0.08	0.02	
	0.2	...	0.8	0.0	0.0	
DRB1G*06	0	0	0	0	21	21
	17	
	1.00	
	-1.0	
DRB1G*13	37	0	491	124	331	983
	-145	...	128	-19	144	
	-0.80	...	0.21	-0.13	0.18	
	3.7	...	1.8	0.1	3.6	
DRB1G*14	160	133	129	33	35	491
	69	80	-53	-38	-58	
	0.17	0.18	-0.29	-0.53	-0.62	
	1.6	3.3	0.6	0.6	1.1	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mic A* / *DRB1G*

- 2 -

(N = 234) 2.haplotypen

	MicA-95	MicA-98	MicA-99	MicA-101	MicA-110	SUM
DRB1G*07	16	15	128	88	53	299
	-39	-18	17	45	-4	
	-0.70	-0.55	0.09	0.17	-0.08	
	0.8	0.3	0.1	1.3	0.0	
DRB1G*08	45	119	539	290	440	1432
	-221	-38	9	82	168	
	-0.83	-0.24	0.01	0.07	0.14	
	6.2*	0.3	0.0	1.0	3.5	
DRB1G*09	61	43	18	17	32	171
	29	24	-45	-8	0	
	0.21	0.16	-0.71	-0.32	-0.01	
	0.8	-1.0	1.2	0.1	0.0	
DRB1G*10	0	0	21	0	0	21
	13	
	1.00	
	-1.0	
SUM	1859	1090	3697	1453	1902	

2.Haplotypen – nur Kontrollen 265 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 196) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
265-122	54	39	1181	0	0	0	0	26	0	0	0	51	0	0	0	0	0	53	1403
	-164	-366	960	-17	12	44	
	-0.75	-0.90	0.81	-0.41	0.05	0.82	
	3.3	10.6#	113.1\$	0.2	0.1	-1.0	
265-124	0	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26
	...	18
	...	1.00
	...	-1.0
265-126	1263	86	365	26	408	892	0	106	0	0	255	69	0	0	26	0	0	0	3495
	719	-923	-185	-152	266	544	...	-1	68	-29	17	
	0.71	-0.91	-0.34	-0.85	1.00	0.84	...	-0.01	0.19	-0.30	1.00	
	33.9\$	35.8\$	2.2	4.1*	15.5\$	28.5\$...	0.0	0.8	0.3	-1.0	
265-128	239	106	0	484	0	49	77	123	0	0	0	45	0	26	0	0	0	0	1148
	61	-225	...	426	...	-66	68	88	12	...	23	
	0.06	-0.68	...	0.94	...	-0.57	1.00	0.32	0.05	...	1.00	
	0.5	4.8*	...	72.2\$...	0.9	-1.0	5.0*	0.1	...	-1.0	
265-130	0	2238	0	0	0	54	0	52	27	27	0	26	306	0	0	0	0	0	2730
	...	1450	-218	...	-32	-34	-35	...	-51	223	
	...	0.75	-0.80	...	-0.38	-0.56	-0.57	...	-0.67	1.00	
	...	101.2\$	5.2*	...	0.3	0.5	0.6	...	0.9	16.5\$	
265-132	0	370	27	0	0	0	0	0	177	202	77	91	0	0	0	0	0	0	944
	...	97	-121	156	181	26	64	
	...	0.14	-0.82	0.77	0.87	0.05	0.25	
	...	1.1	2.5	-1.0	-1.0	0.3	3.4	
265-134	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	128	0	0	0	0	0	0	3	153
	...	-22	119	
	...	-0.50	0.82	
	...	0.3	-1.0	
265-140	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	77	0	0	0	0	0	0	6	102
	17	...	71	6	
	0.17	...	0.74	0.09	
	-1.0	...	-1.0	-1.0	
SUM	1556	2886	1573	510	408	995	77	306	223	230	536	281	306	26	26	0	0	62	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 265 / Hla B

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 193) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	265-140	265-144	SUM
B7	665	0	336	95	306	144	0	0	0	0	1547
	444	...	-205	-85	-106	-4	
	0.37	...	-0.38	-0.47	-0.26	-0.03	
	23.8\$...	2.7	1.0	0.9	0.0	
B8	0	0	622	0	0	26	0	0	0	0	648
	395	-36	
	0.94	-0.58	
	21.9\$	0.5	
B13	7	0	68	0	29	52	78	0	0	0	233
	-26	...	-14	...	-33	29	74	
	-0.79	...	-0.17	...	-0.54	0.14	0.49	
	0.5	...	0.1	...	0.5	-1.0	-1.0	
B14	0	0	0	0	0	0	26	0	0	0	26
	26	
	1.00	
	-1.0	
B18	130	0	125	113	108	69	0	0	0	0	544
	52	...	-66	49	-37	16	
	0.11	...	-0.34	0.10	-0.25	0.03	
	0.8	...	0.7	0.9	0.3	0.1	
B22	0	0	0	0	26	0	0	0	0	0	26
	19	
	1.00	
	-1.0	
B27	0	0	73	35	216	91	0	0	0	0	415
	-72	-13	105	51	
	-0.50	-0.27	0.35	0.14	
	1.1	0.1	2.7	1.5	
B35	101	0	615	304	70	69	0	0	0	0	1160
	-64	...	210	169	-240	-42	
	-0.39	...	0.28	0.17	-0.77	-0.38	
	0.6	...	3.6	5.2*	5.5*	0.4	
B37	0	0	109	0	0	46	0	0	0	0	155
	55	31	
	0.54	0.22	
	1.7	-1.0	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 265 / Hla B

(N = 193) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	265-140	265-144	SUM
B51	17	0	40	35	139	107	0	0	0	0	337
	-31	...	-78	-5	49	75	
	-0.66	...	-0.66	-0.12	0.20	0.25	
	0.5	...	1.6	0.0	0.7	3.9*	
BW52	0	0	0	54	101	0	0	0	0	0	155
	36	60	
	0.26	0.52	
	-1.0	2.3	
BW55	0	0	26	26	52	0	0	0	0	0	104
	-10	14	24	
	-0.29	0.15	0.32	
	0.1	-1.0	0.6	
BW56	0	0	60	121	26	0	0	0	0	0	207
	-12	97	-29	
	-0.17	0.53	-0.53	
	0.1	-1.0	0.4	
BW57	0	0	145	0	139	27	0	0	0	0	311
	36	...	56	-3	
	0.18	...	0.25	-0.10	
	0.4	...	1.0	0.0	
BW58	0	0	26	0	26	0	0	0	26	0	78
	-1	...	5	25	...	
	-0.05	...	0.09	0.33	...	
	0.0	...	-1.0	-1.0	...	
BW60	0	0	37	0	332	149	0	0	0	0	518
	-144	...	193	100	
	-0.80	...	0.51	0.21	
	3.6	...	7.5#	4.5*	
BW61	78	0	0	0	29	49	0	0	0	0	155
	56	-13	34	
	0.42	-0.31	0.24	
	-1.0	0.1	-1.0	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 265 / Hla B

(N = 193) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	265-140	265-144	SUM
BW62	78	0	329	40	512	0	0	0	0	0	959
	-58	...	-6	-72	256	
	-0.43	...	-0.02	-0.64	0.36	
	0.6	...	0.0	1.1	7.5#	
BX	0	0	0	39	0	0	2	0	0	0	42
	35	
	0.93	
	-1.0	
SUM	1425	26	3497	1166	2668	959	155	0	104	0	

2.haplotypen - nur Kontrollen 265 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 142) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
265-122	0	79	0	72	55	194	564	0	303	1268
	...	-3	...	-140	-37	54	280	...	128	
	...	-0.04	...	-0.66	-0.40	0.06	0.28	...	0.12	
	...	0.0	...	1.8	0.3	0.4	5.8*	...	1.8	
265-124	0	0	0	0	35	0	0	0	0	35
	33	
	1.00	
	-1.0	
265-126	120	198	583	883	80	356	736	0	494	3451
	-55	-28	4	306	-169	-26	-38	...	18	
	-0.31	-0.12	0.00	0.28	-0.68	-0.07	-0.05	...	0.02	
	0.4	0.1	0.0	4.2*	2.7	0.0	0.1	...	0.0	
265-128	207	0	9	384	0	88	185	0	253	1127
	150	...	-180	196	...	-37	-68	...	97	
	0.33	...	-0.95	0.21	...	-0.30	-0.27	...	0.10	
	6.6#	...	3.3	3.9*	...	0.2	0.4	...	1.1	
265-130	49	376	988	224	474	80	542	0	153	2887
	-97	188	504	-260	266	-240	-106	...	-245	
	-0.66	0.40	0.42	-0.54	0.52	-0.75	-0.16	...	-0.61	
	1.4	4.0*	12.6\$	3.3	7.3#	4.0*	0.4	...	3.5	
265-132	131	0	61	110	78	343	157	0	177	1056
	77	...	-116	-67	2	226	-80	...	31	
	0.17	...	-0.66	-0.38	0.00	0.24	-0.34	...	0.03	
	1.8	...	1.5	0.5	0.0	7.8#	0.5	...	0.1	
265-134	0	0	0	0	0	46	60	35	0	141
	30	28	35	...	
	0.24	0.26	1.00	...	
	-1.0	-1.0	-1.0	...	
265-140	0	0	35	0	0	0	0	0	0	35
	29	
	1.00	
	-1.0	
SUM	507	653	1677	1673	723	1106	2245	35	1381	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 265/DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 175) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-140	SUM
265-144									
DRB1G*01	0	0	364	292	287	0	0	0	943
	36	173	36	
	0.06	0.21	0.05	
	0.1	5.6*	0.1	
DRB1G*02	340	0	381	0	328	265	57	0	1371
	156	...	-97	...	-36	132	38	...	
	0.13	...	-0.20	...	-0.10	0.16	0.30	...	
	3.1	...	0.6	...	0.1	2.9	-1.0	...	
DRB1G*03	28	0	611	229	0	74	0	114	1057
	-114	...	243	96	...	-28	...	102	
	-0.80	...	0.35	0.10	...	-0.28	...	1.00	
	2.1	...	4.8*	1.6	...	0.2	...	-1.0	
DRB1G*04	278	29	396	114	469	58	0	0	1343
	98	25	-72	-55	112	-72	
	0.08	1.00	-0.15	-0.33	0.11	-0.55	
	1.2	-1.0	0.3	0.4	1.0	0.9	
DRB1G*11	130	0	443	272	409	89	0	0	1343
	-51	...	-25	103	52	-42	
	-0.28	...	-0.05	0.09	0.05	-0.32	
	0.3	...	0.0	1.5	0.2	0.3	
DRB1G*12	0	0	0	0	229	0	0	0	229
	168	
	1.00	
	11.3\$	
DRB1G*06	0	0	0	0	57	86	0	0	143
	19	72	
	0.18	0.56	
	0.2	-1.0	
DRB1G*13	258	0	440	45	486	143	0	0	1371
	74	...	-38	-128	122	9	
	0.06	...	-0.08	-0.74	0.12	0.01	
	0.7	...	0.1	2.2	1.1	0.0	
DRB1G*14	117	0	0	105	64	0	0	0	286
	78	69	-12	
	0.32	0.28	-0.16	
	3.3	2.8	0.0	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 265 / DRB1G

- 2 -

(N = 175) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-140	SUM
DRB1G*07	135	0	617	200	213	177	86	0	1429
	-57	...	119	21	-167	38	65	...	
	-0.29	...	0.13	0.02	-0.44	0.05	0.53	...	
	0.4	...	0.9	0.1	2.0	0.2	-1.0	...	
DRB1G*08	0	0	232	0	117	80	0	0	429
	83	...	3	38	
	0.30	...	0.01	0.10	
	1.3	...	0.0	0.7	
DRB1G*09	57	0	0	0	0	0	0	0	57
	49	
	1.00	
	-1.0	
SUM	1343	29	3486	1257	2657	971	143	114	

2.Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 90) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
265-122	0	56	444	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	500
	...	-140	419
	...	-0.72	0.88
	...	1.6	-1.0
265-124	0	0	0	0	0	167	0	0	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	222
	141	47
	0.72	0.22
	-1.0	-1.0
265-126	825	342	56	57	111	827	115	57	0	0	0	0	0	56	0	0	0	0	2444
	560	-616	-67	-66	84	542	-70	-141	15
	0.69	-0.64	-0.55	-0.54	1.00	0.61	-0.38	-0.71	0.12
	15.8\$	7.8#	0.5	0.4	-1.0	13.9\$	0.3	1.3	-1.0
265-128	137	310	0	374	0	115	645	433	111	0	0	56	0	0	0	0	0	152	2333
	-115	-604	...	257	...	-157	467	244	20	43	117	...
	-0.46	-0.66	...	0.67	...	-0.58	0.80	0.39	0.07	1.00	1.00	...
	0.7	7.7#	...	7.0#	...	1.2	15.6\$	4.0*	0.1	-1.0	-1.0	...
265-130	62	2653	0	70	0	0	0	265	0	0	56	0	62	111	0	0	0	0	3278
	-293	1369	...	-94	-1	19	...	7	56
	-0.83	0.69	...	-0.57	0.00	0.26	...	0.06	0.50
	3.6	32.1\$...	0.8	0.0	-1.0	...	-1.0	-1.0
265-132	58	557	0	0	0	58	0	0	56	111	0	0	105	0	0	0	0	0	944
	-44	187	-52	19	101	89
	-0.43	0.33	-0.48	0.05	1.00	0.59
	0.2	1.5	0.3	-1.0	-1.0
265-134	0	0	0	0	0	0	0	56	0	0	56	0	0	0	0	0	0	0	111
	47	54
	0.46	0.49
	-1.0	-1.0
265-138	0	0	0	0	0	0	0	0	167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	167
	160
	1.00
	-1.0
SUM	1082	3918	500	500	111	1167	760	810	389	111	111	56	167	167	0	0	0	152	

2.Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla B

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 88) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	SUM
B7	0	0	378	148	386	110	0	0	1021
	122	-90	55	11	
	0.16	-0.38	0.08	0.01	
	0.8	0.4	0.1	0.0	
B8	0	0	558	104	118	57	0	0	837
	349	-91	-153	-24	
	0.56	-0.47	-0.56	-0.30	
	7.5#	0.5	1.2	0.1	
B13	0	0	0	57	114	0	57	0	227
	4	40	...	54	...	
	0.02	0.26	...	0.49	...	
	-1.0	0.3	...	-1.0	...	
B14	0	0	0	0	79	0	0	105	184
	19	102	
	0.15	0.61	
	0.1	-1.0	
B18	57	0	87	358	237	114	0	0	852
	13	...	-126	159	-39	32	
	0.03	...	-0.59	0.24	-0.14	0.04	
	-1.0	...	1.0	1.6	0.1	0.1	
B27	0	0	154	161	728	0	0	0	1043
	-107	-82	391	
	-0.41	-0.34	0.55	
	0.6	0.4	6.6*	
B35	145	0	261	475	161	0	0	0	1042
	91	...	0	232	-176	
	0.20	...	0.00	0.29	-0.52	
	-1.0	...	0.0	2.8	1.3	
B37	0	0	0	57	0	0	0	0	57
	44	
	1.00	
	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla B

- 2 -

(N = 88) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	SUM
B38	0	0	40	49	81	57	0	0	227
	-17	-4	7	35	
	-0.30	-0.07	0.05	0.17	
	-1.0	-1.0	0.0	-1.0	
B39	0	0	114	136	80	69	0	0	398
	14	43	-49	30	
	0.05	0.14	-0.38	0.08	
	0.0	0.2	0.3	-1.0	
BW41	57	0	0	0	0	57	0	0	114
	51	46	
	0.47	0.45	
	-1.0	-1.0	
B44	0	0	84	162	246	246	0	0	739
	-100	-10	7	175	
	-0.54	-0.06	0.01	0.26	
	0.7	0.0	0.0	4.5*	
BW47	0	0	57	0	0	0	0	0	57
	43	
	1.00	
	-1.0	
B49	0	0	69	64	151	0	0	0	284
	-2	-2	59	
	-0.02	-0.03	0.31	
	0.0	0.0	0.5	

2.Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla B

(N = 88) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	SUM
B51	0	0	0	151	127	120	0	0	398
	58	-2	82	
	0.19	-0.02	0.23	
	0.4	0.0	-1.0	
BW52	0	0	57	0	0	0	0	0	57
	43	
	1.00	
	-1.0	
BW55	57	0	0	57	0	0	0	0	114
	51	30	
	0.47	0.35	
	-1.0	-1.0	
BW56	83	0	255	119	111	0	0	0	568
	53	...	113	-13	-73	
	0.11	...	0.26	-0.10	-0.39	
	-1.0	...	1.1	0.0	0.4	
BW57	0	0	0	0	0	0	57	0	57
	56	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
BW58	0	0	170	0	0	0	0	0	170
	128	
	1.00	
	-1.0	
BW60	57	0	0	0	235	137	0	0	428
	35	96	95	
	0.09	0.33	0.25	
	-1.0	0.9	-1.0	
BW61	0	0	0	114	0	0	0	0	114
	87	
	1.00	
	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla B

(N = 88) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	SUM
BW62	57	170	159	0	181	0	0	0	568
	28	161	17	...	-3	
	0.06	1.00	0.04	...	-0.01	
	-1.0	-1.0	0.0	...	0.0	
BW63	0	0	57	0	0	0	0	0	57
	43	
	1.00	
	-1.0	
BX	0	0	0	119	204	0	0	65	388
	28	79	59	
	0.10	0.30	0.36	
	0.1	0.7	-1.0	
SUM	511	170	2500	2330	3239	966	114	170	

2. Haplotypen - nur Patienten 265 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 47) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
265-122	292	0	106	240	0	0	0	0	0	638
	161	...	38	94	
	0.32	...	0.07	0.19	
	1.2	...	-1.0	0.4	
265-124	0	0	426	0	0	0	0	0	0	426
	380	
	1.00	
	-1.0	
265-126	589	0	333	753	0	0	0	0	1090	2766
	19	...	35	123	216	
	0.01	...	0.05	0.07	0.11	
	0.0	...	0.0	0.2	0.5	
265-128	491	187	0	658	0	0	0	0	686	2021
	75	-101	...	197	47	
	0.05	-0.35	...	0.13	0.03	
	0.1	0.2	...	0.6	0.0	
265-130	262	1129	0	629	0	0	0	0	1385	3404
	-439	645	...	-147	308	
	-0.63	0.69	...	-0.19	0.15	
	2.5	7.1#	...	0.3	0.9	
265-132	319	106	106	0	0	0	0	0	0	532
	210	31	49	
	0.50	0.07	0.10	
	2.5	-1.0	-1.0	
265-138	106	0	106	0	0	0	0	0	0	213
	63	...	83	
	0.37	...	0.44	
	-1.0	...	-1.0	
SUM	2060	1422	1078	2280	0	0	0	0	3161	

2. Haplotypen - nur Patienten 265/ DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 221) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	265-144	SUM
DRB1G*01	27	61	220	151	274	104	0	0	0	837
	-26	48	0	19	9	-23	
	-0.49	0.33	0.00	0.03	0.02	-0.18	
	0.3	-1.0	0.0	0.1	0.0	0.1	
DRB1G*02	116	0	359	240	487	178	0	0	0	1380
	29	...	-3	21	50	-32	
	0.05	...	-0.01	0.02	0.05	-0.15	
	0.3	...	0.0	0.1	0.2	0.1	
DRB1G*03	0	0	344	93	180	107	0	0	0	724
	154	-22	-49	-3	
	0.29	-0.19	-0.21	-0.03	
	4.0*	0.1	0.4	0.0	
DRB1G*04	0	0	165	221	256	151	0	23	0	814
	-49	92	-2	27	...	13	...	
	-0.23	0.13	-0.01	0.04	...	0.13	...	
	0.4	1.9	0.0	0.2	...	-1.0	...	
DRB1G*11	118	97	836	368	757	380	0	0	0	2557
	-43	57	165	-37	-53	-8	
	-0.27	0.48	0.09	-0.09	-0.06	-0.02	
	0.4	2.4	1.6	0.1	0.1	0.0	
DRB1G*12	0	0	102	105	45	19	0	0	0	271
	31	62	-41	-22	
	0.15	0.27	-0.48	-0.54	
	0.4	2.4	0.6	0.3	
DRB1G*06	23	0	0	0	0	0	0	0	0	23
	21	
	1.00	
	-1.0	
DRB1G*13	157	0	241	91	186	230	45	23	0	973
	95	...	-14	-63	-122	83	30	12	...	
	0.17	...	-0.06	-0.41	-0.40	0.10	0.21	0.11	...	
	3.8	...	0.0	0.7	1.7	1.3	-1.0	-1.0	...	
DRB1G*14	69	0	175	234	42	0	0	0	0	520
	36	...	38	152	-122	
	0.07	...	0.10	0.35	-0.74	
	1.0	...	0.3	7.8#	3.1	

2. Haplotypen - nur Patienten 265 / DRB1G

- 2 -

(N = 221) 2.haplotypen

	265-122	265-124	265-126	265-128	265-130	265-132	265-134	265-138	265-144	SUM
DRB1G*07	61	0	0	25	136	50	45	0	0	317
	40	-25	35	2	40	
	0.14	-0.50	0.16	0.01	0.26	
	-1.0	0.3	0.4	0.0	-1.0	
DRB1G*08	63	0	79	0	803	298	68	45	45	1403
	-25	...	-289	...	359	86	46	29	39	
	-0.29	...	-0.78	...	0.37	0.07	0.34	0.30	1.00	
	0.2	...	7.9#	...	10.9\$	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	
DRB1G*09	0	0	103	55	0	0	0	23	0	181
	56	27	21	...	
	0.42	0.18	0.19	...	
	2.0	0.7	-1.0	...	
SUM	633	158	2624	1584	3167	1516	158	113	45	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 202) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
273-128	0	0	124	0	50	0	25	0	0	0	110	0	25	25	0	0	0	62	421
	63	...	33	...	23	89	...	10	22	53	
	0.17	...	0.09	...	0.48	0.22	...	0.03	0.30	0.23	
	1.6	...	-1.0	...	-1.0	-1.0	...	-1.0	-1.0	-1.0	
273-130	198	251	40	0	0	68	0	0	0	34	153	37	70	50	0	0	0	114	1015
	51	-43	-107	-31	12	102	7	35	42	90	
	0.06	-0.14	-0.73	-0.31	0.06	0.22	0.02	0.11	0.63	0.43	
	0.5	0.2	2.0	0.2	-1.0	4.8*	0.0	0.8	-1.0	-1.0	
273-132	139	437	112	57	317	175	0	87	113	89	10	0	0	0	25	0	0	0	1559
	-88	-14	-113	-28	255	23	...	44	71	54	-69	21	
	-0.39	-0.03	-0.50	-0.33	0.76	0.03	...	0.19	0.31	0.29	-0.87	1.00	
	1.0	0.0	1.6	0.2	26.2\$	0.1	...	1.1	2.9	2.1	1.5	-1.0	
273-134	368	706	531	274	30	465	0	107	0	99	180	0	36	0	0	0	0	0	2797
	-38	-102	127	122	-81	193	...	31	...	37	39	...	-61	
	-0.09	-0.13	0.12	0.31	-0.73	0.27	...	0.16	...	0.23	0.11	...	-0.63	
	0.1	0.5	1.3	2.9	1.7	4.2*	...	0.4	...	0.6	0.3	...	1.1	
273-136	287	1248	535	214	0	204	25	38	109	0	53	195	161	0	0	0	0	0	3069
	-158	361	92	47	...	-95	10	-45	26	...	-103	104	54	
	-0.36	0.18	0.09	0.12	...	-0.32	0.28	-0.54	0.14	...	-0.66	0.51	0.23	
	1.9	6.0*	0.6	0.4	...	1.0	-1.0	0.7	0.2	...	2.1	3.6	0.8	
273-138	46	248	102	0	0	62	0	40	0	0	0	65	56	0	0	0	0	25	644
	-48	62	9	-1	...	23	46	33	10	
	-0.51	0.13	0.02	-0.02	...	0.09	0.17	0.10	0.05	
	0.6	0.6	0.0	0.0	...	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	
273-140	413	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	33	495
	341	36	21	
	0.80	0.14	0.10	
	40.2\$	-1.0	-1.0	
SUM	1450	2890	1443	545	396	975	50	272	272	223	507	297	347	74	25	0	0	235	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla B

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 198) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
B7	0	0	42	206	881	349	0	1479
	-189	-212	429	252	...	
	-0.82	-0.51	0.42	0.45	...	
	4.3*	3.5	13.7\$	16.3\$...	
B8	0	75	76	52	0	0	403	606
	...	16	-19	-119	372	
	...	0.03	-0.20	-0.70	0.78	
	...	0.1	0.1	2.4	100.5\$	
B13	0	227	0	0	0	0	0	227
	...	205	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B14	25	0	0	0	0	25	0	51
	23	22	...	
	0.48	0.46	...	
	-1.0	-1.0	...	
B18	0	242	104	133	0	0	0	480
	...	195	29	-2	
	...	0.45	0.07	-0.02	
	...	18.6\$	0.3	0.0	
B22	0	0	0	0	25	0	0	25
	18	
	1.00	
	-1.0	
B27	25	0	0	222	34	72	0	354
	11	122	-74	49	...	
	0.03	0.48	-0.68	0.15	...	
	-1.0	4.3*	1.5	-1.0	...	
B35	0	0	124	900	224	0	0	1248
	-72	547	-157	
	-0.37	0.61	-0.41	
	0.7	26.8\$	2.1	
B37	0	0	25	0	126	0	0	152
	2	...	80	
	0.01	...	0.76	
	-1.0	...	4.0*	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla B

- 2 -

(N = 198) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
B38	0	28	0	275	0	25	0	328
	...	-4	...	182	...	4	...	
	...	-0.13	...	0.77	...	0.01	...	
	...	0.0	...	10.2#	...	-1.0	...	
B39	0	0	125	26	0	0	25	177
	98	-24	16	
	0.65	-0.47	0.10	
	8.2#	0.3	-1.0	
BW41	25	68	0	33	25	0	0	152
	19	53	...	-10	-21	
	0.13	0.39	...	-0.22	-0.45	
	-1.0	-1.0	...	0.1	0.3	
BW42	76	0	0	0	0	0	0	76
	73	
	1.00	
	-1.0	
B44	0	0	551	284	417	31	0	1283
	350	-79	25	-53	...	
	0.32	-0.22	0.03	-0.63	...	
	16.4\$	0.5	0.1	0.8	...	
B45	0	0	47	54	0	0	0	101
	31	25	
	0.37	0.35	
	-1.0	0.6	
BW47	0	0	0	0	76	0	0	76
	53	
	1.00	
	-1.0	
B49	0	51	15	0	35	0	0	101
	...	41	-1	...	4	
	...	0.45	-0.04	...	0.06	
	...	-1.0	-1.0	...	0.0	
BW50	124	0	0	0	52	0	0	177
	117	-2	
	0.69	-0.03	
	-1.0	0.0	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla B

- 3 -

(N = 198) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
B51	0	51	124	0	179	0	0	354
	...	16	68	...	71	
	...	0.05	0.23	...	0.29	
	...	0.2	2.1	...	1.4	
BW52	0	25	0	25	25	76	0	152
	...	10	...	-18	-21	66	...	
	...	0.08	...	-0.41	-0.45	0.46	...	
	...	-1.0	...	0.2	0.3	-1.0	...	
BW55	25	25	25	0	25	0	0	101
	21	15	9	...	-6	
	0.22	0.17	0.11	...	-0.18	
	-1.0	-1.0	-1.0	...	0.0	
BW56	0	0	0	202	0	0	0	202
	145	
	1.00	
	10.4#	
BW57	0	0	19	39	193	51	0	303
	-28	-46	101	31	...	
	-0.60	-0.54	0.48	0.11	...	
	0.4	0.7	3.2	-1.0	...	
BW58	25	0	25	0	25	0	0	76
	22	...	13	...	2	
	0.31	...	0.21	...	0.04	
	-1.0	...	-1.0	...	-1.0	
BW60	0	192	27	201	31	27	52	530
	...	140	-56	51	-131	-8	25	
	...	0.29	-0.68	0.14	-0.81	-0.22	0.05	
	...	8.7#	0.9	0.5	3.2	0.0	0.5	
BW61	25	0	76	25	25	0	0	152
	19	...	52	-18	-21	
	0.13	...	0.41	-0.41	-0.45	
	-1.0	...	-1.0	0.2	0.3	
BW62	52	0	160	149	563	0	25	950
	14	...	12	-120	273	...	-23	
	0.04	...	0.01	-0.45	0.41	...	-0.47	
	0.1	...	0.0	1.6	8.1#	...	0.2	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla B

- 4 -

(N = 198) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
BX	0	0	0	0	91	0	0	91
	63	
	1.00	
	4.1*	
SUM	404	985	1566	2828	3056	657	505	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 145) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
273-128	77	0	100	0	0	48	0	34	119	379
	58	...	35	1	...	31	71	
	0.16	...	0.11	0.00	...	0.31	0.22	
	-1.0	...	0.3	0.0	...	-1.0	1.8	
273-130	0	0	223	0	162	225	118	34	204	966
	57	...	94	107	-92	24	82	
	0.07	...	0.15	0.13	-0.44	0.26	0.10	
	0.4	...	2.3	1.8	0.8	-1.0	1.0	
273-132	0	144	188	576	52	151	255	0	117	1483
	...	66	-67	311	-51	-30	-67	...	-71	
	...	0.15	-0.26	0.26	-0.50	-0.17	-0.21	...	-0.38	
	...	1.0	0.4	7.6#	0.5	0.1	0.3	...	0.5	
273-134	296	195	340	867	296	87	372	0	271	2724
	159	52	-129	381	107	-247	-220	...	-74	
	0.43	0.13	-0.27	0.29	0.21	-0.74	-0.37	...	-0.21	
	3.9*	0.4	0.9	7.2#	1.3	4.1*	2.1	...	0.4	
273-136	39	187	805	281	126	607	929	0	404	3379
	-131	9	223	-322	-109	193	195	...	-24	
	-0.77	0.03	0.20	-0.53	-0.46	0.24	0.14	...	-0.05	
	2.3	0.0	2.3	4.6*	1.2	2.3	1.4	...	0.0	
273-138	91	0	0	61	60	0	306	34	0	552
	63	-37	22	...	186	29	...	
	0.13	-0.38	0.04	...	0.43	0.29	...	
	-1.0	0.3	0.2	...	5.6*	-1.0	...	
273-140	0	0	66	0	0	106	195	0	151	517
	-23	43	82	...	85	
	-0.26	0.09	0.20	...	0.19	
	0.1	0.5	1.2	...	1.9	
SUM	503	526	1722	1785	696	1225	2173	103	1267	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 181) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
DRB1G*01	24	42	212	501	270	0	0	1050
	-19	-62	29	208	-32	
	-0.44	-0.60	0.03	0.28	-0.11	
	0.2	0.8	0.1	4.2*	0.1	
DRB1G*02	38	57	73	35	773	405	0	1381
	-20	-80	-167	-350	377	317	...	
	-0.34	-0.58	-0.70	-0.91	0.38	0.58	...	
	0.1	1.1	3.0	9.3#	10.5#	25.7\$...	
DRB1G*03	165	39	28	100	55	28	525	939
	126	-54	-136	-162	-215	-32	473	
	0.34	-0.58	-0.83	-0.62	-0.80	-0.54	0.94	
	8.5#	0.7	2.7	2.8	4.8*	0.4	91.0\$	
DRB1G*04	50	66	130	682	399	0	0	1326
	-5	-66	-100	312	18	
	-0.10	-0.50	-0.43	0.33	0.02	
	0.0	0.8	1.1	7.6#	0.0	
DRB1G*11	0	130	245	463	408	135	0	1381
	...	-7	5	78	11	47	...	
	...	-0.05	0.00	0.08	0.01	0.09	...	
	...	0.0	0.0	0.5	0.0	0.6	...	
DRB1G*12	0	0	0	69	152	0	0	221
	7	89	
	0.04	0.56	
	0.0	3.2	
DRB1G*06	0	0	0	57	109	0	0	166
	10	61	
	0.09	0.52	
	0.1	2.0	
DRB1G*13	28	307	334	470	175	68	0	1381
	-30	170	93	85	-222	-20	...	
	-0.52	0.20	0.08	0.08	-0.56	-0.23	...	
	0.3	4.9*	0.9	0.5	3.7	0.1	...	
DRB1G*14	54	0	109	37	132	0	0	331
	40	...	51	-56	37	
	0.13	...	0.19	-0.60	0.16	
	-1.0	...	1.0	0.9	0.4	

2.Haplotypen - nur Kontrollen 273 / Hla DRB1G

- 2 -

(N = 181) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
DRB1G*07	1	326	460	259	308	0	0	1354
	...	191	224	-119	-81	
	...	0.22	0.20	-0.31	-0.21	
	...	6.3*	5.4*	1.1	0.5	
DRB1G*08	28	0	150	118	91	0	28	414
	10	...	78	2	-28	...	5	
	0.03	...	0.23	0.01	-0.23	...	0.01	
	-1.0	...	1.9	0.0	0.2	...	-1.0	
DRB1G*09	28	28	0	0	0	0	0	55
	25	22	
	0.48	0.44	
	-1.0	-1.0	
SUM	414	994	1740	2790	2873	635	552	

2. Haplotypen - nur Patienten 273 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 96) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
273-128	0	146	0	41	0	40	44	0	0	52	52	0	0	42	0	0	0	0	417
	...	-18	...	17	...	-5	12	48	48	35
	...	-0.11	...	0.04	...	-0.12	0.03	0.48	0.48	0.24
	...	0.0	...	-1.0	...	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
273-130	0	60	0	0	0	0	102	97	0	0	52	0	0	0	0	0	0	0	312
	...	-63	79	72	49
	...	-0.51	0.27	0.25	0.48
	...	0.5	-1.0	-1.0	-1.0
273-132	107	293	143	87	156	61	75	246	30	52	0	0	0	0	0	0	0	0	1250
	-16	-199	71	15	137	-76	-19	145	-16	39
	-0.13	-0.40	0.14	0.03	1.00	-0.55	-0.21	0.20	-0.34	0.43
	0.0	1.5	0.8	0.0	-1.0	0.5	0.0	2.5	-1.0	-1.0
273-134	0	1678	150	253	0	369	340	398	126	0	0	52	156	0	0	0	0	0	3698
	...	221	-62	41	...	-35	61	99	-9	33	98	110
	...	0.10	-0.29	0.11	...	-0.09	0.13	0.19	-0.06	1.00	1.00	1.00
	...	0.8	0.3	0.1	...	0.1	0.2	0.5	0.0	-1.0	2.6	2.9
273-136	413	1617	280	140	0	503	93	68	104	0	0	0	0	114	0	0	0	0	3333
	83	305	89	-51	...	138	-158	-202	-17	62
	0.13	0.15	0.23	-0.27	...	0.19	-0.63	-0.75	-0.14	0.60
	0.3	1.7	0.6	0.2	...	0.8	1.6	2.4	0.0	1.1
273-138	52	144	0	0	0	120	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	417
	11	-20	75	69
	0.03	-0.12	0.20	0.18
	-1.0	0.0	-1.0	-1.0
273-140	417	0	0	52	0	0	0	0	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	573
	360	19	83
	0.70	0.04	0.24
	25.8\$	-1.0	-1.0
SUM	990	3938	573	573	156	1094	755	809	365	104	104	52	156	156	0	0	0	175	

2.Haplotypen - nur Patienten 273 / Hla B - 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 94) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
B7	53	0	0	0	879	213	0	1145
	4	489	170	...	
	0.01	0.65	0.52	...	
	-1.0	9.9#	-1.0	...	
B8	0	0	0	53	66	53	585	758
	-221	-192	25	541	
	-0.81	-0.74	0.07	1.00	
	2.8	2.2	-1.0	-1.0	
B13	53	160	0	0	0	0	0	213
	44	153	
	0.22	0.74	
	-1.0	-1.0	
B14	53	0	0	106	0	0	0	160
	46	49	
	0.30	0.48	
	-1.0	0.6	
B18	0	0	68	395	335	0	0	798
	-34	106	64	
	-0.34	0.21	0.12	
	0.1	0.6	0.2	
B27	0	0	115	804	178	0	0	1098
	-25	407	-195	
	-0.18	0.58	-0.52	
	0.1	6.9#	1.6	
B35	0	53	53	656	233	0	0	995
	...	21	-74	296	-106	
	...	0.07	-0.58	0.47	-0.31	
	...	-1.0	0.5	4.0*	0.5	
B37	0	0	0	0	53	0	0	53
	35	
	1.00	
	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten 273 / Hla B - 3 -

(N = 94) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
B51	0	0	0	134	239	0	0	372
	-1	112	
	-0.01	0.46	
	0.0	1.5	
BW52	0	0	0	53	0	0	0	53
	34	
	1.00	
	-1.0	
BW55	0	0	0	0	160	0	0	160
	105	
	1.00	
	3.0	
BW56	0	0	0	421	111	0	0	532
	228	-70	
	0.67	-0.39	
	4.2*	0.4	
BW57	0	0	0	0	106	0	0	106
	70	
	1.00	
	-1.0	
BW58	106	0	0	0	53	0	0	160
	100	-1	
	0.65	-0.02	
	-1.0	0.0	
BW60	53	53	0	372	0	0	0	478
	33	38	...	199	
	0.08	0.12	...	0.65	
	-1.0	-1.0	...	3.5	
BW61	53	0	0	0	53	0	0	106
	49	17	
	0.48	0.24	
	-1.0	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten 273 / Hla B - 4 -

(N = 94) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
BW62	0	0	363	0	115	53	0	532
	295	...	-66	33	...	
	0.64	...	-0.36	0.09	...	
	14.6\$...	0.4	-1.0	...	
BW63	0	0	53	0	0	0	0	53
	46	
	1.00	
	-1.0	
BX	0	0	106	0	100	0	0	207
	80	...	30	
	0.44	...	0.22	
	-1.0	...	0.2	
SUM	426	319	1277	3617	3404	372	585	

2. Haplotypen - nur Patienten 273 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 50) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
273-128	100	300	0	0	0	0	0	0	0	400
	23	236	
	0.07	0.70	
	-1.0	-1.0	
273-130	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100
	77	
	1.00	
	-1.0	
273-132	76	12	407	509	0	0	0	0	596	1600
	-233	-243	235	145	96	
	-0.75	-0.95	0.26	0.12	0.09	
	1.3	1.6	2.1	0.4	0.2	
273-134	1144	989	318	913	0	0	0	0	837	4200
	333	317	-134	-43	-473	
	0.30	0.34	-0.30	-0.04	-0.36	
	1.5	1.5	0.4	0.0	2.1	
273-136	510	297	0	754	0	0	0	0	1339	2900
	-50	-167	...	94	434	
	-0.09	-0.36	...	0.06	0.22	
	0.0	0.5	...	0.1	2.1	
273-138	100	0	200	0	0	0	0	0	0	300
	42	...	168	
	0.17	...	0.63	
	-1.0	...	-1.0	
273-140	0	0	152	0	0	0	0	0	348	500
	98	192	
	0.22	0.56	
	-1.0	1.8	
SUM	1930	1598	1076	2276	0	0	0	0	3120	

2. haplotypen - nur Patienten 273 / DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 232) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
DRB1G*01	0	0	124	492	174	93	22	905
	13	131	-93	62	-31	
	0.02	0.24	-0.35	0.20	-0.59	
	0.0	2.0	1.2	3.2	0.5	
DRB1G*02	87	0	73	193	874	106	25	1358
	22	...	-94	-348	473	59	-54	
	0.05	...	-0.56	-0.64	0.49	0.20	-0.69	
	0.2	...	1.6	10.0#	21.3\$	2.1	1.1	
DRB1G*03	55	22	40	44	0	57	451	668
	23	-7	-42	-222	...	34	412	
	0.05	-0.25	-0.52	-0.83	...	0.11	0.76	
	0.4	0.0	0.6	7.7#	...	1.3	115.2\$	
DRB1G*04	33	0	120	439	231	2	16	841
	-7	...	17	103	-17	...	-33	
	-0.18	...	0.02	0.20	-0.07	...	-0.68	
	0.0	...	0.1	1.3	0.0	...	0.6	
DRB1G*11	106	131	229	1422	619	0	36	2543
	-14	22	-84	408	-132	...	-112	
	-0.12	0.07	-0.27	0.27	-0.18	...	-0.76	
	0.1	0.1	0.8	8.5#	1.0	...	2.8	
DRB1G*12	0	10	8	127	113	0	0	259
	...	-1	-24	24	37	
	...	-0.12	-0.75	0.16	0.20	
	...	-1.0	0.5	0.2	0.6	
DRB1G*06	0	0	22	0	0	0	0	22
	19	
	1.00	
	-1.0	
DRB1G*13	40	155	76	347	307	34	33	991
	-7	112	-46	-48	14	-1	-24	
	-0.16	0.29	-0.38	-0.12	0.02	-0.02	-0.42	
	0.0	7.9#	0.5	0.2	0.0	0.0	0.3	
DRB1G*14	121	0	38	102	212	0	0	474
	99	...	-20	-87	72	
	0.22	...	-0.34	-0.46	0.22	
	11.1\$...	0.2	1.6	1.3	

2. haplotypen - nur Patienten 273 / DRB1G

- 2 -

(N = 232) 2.haplotypen

	273-128	273-130	273-132	273-134	273-136	273-138	273-140	SUM
DRB1G*07	33	92	94	0	104	0	0	323
	17	78	54	...	9	
	0.06	0.25	0.19	...	0.04	
	-1.0	-1.0	2.0	...	0.0	
DRB1G*08	0	0	394	690	286	53	0	1422
	219	123	-134	4	...	
	0.21	0.14	-0.32	0.01	...	
	8.5#	1.2	1.7	0.0	...	
DRB1G*09	0	0	12	129	32	0	0	172
	-10	60	-19	
	-0.45	0.58	-0.38	
	-1.0	2.1	0.2	
DRB1G*10	0	22	0	0	0	0	0	22
	...	21	
	...	1.00	
	...	-1.0	
SUM	474	431	1228	3987	2953	345	582	

2.Haplotypen nur Kontrollen 291 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 202) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
291-198	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
	23
	1.00
	-1.0
291-200	386	925	401	0	78	403	0	0	39	89	105	152	139	0	25	0	0	55	2797
	-19	94	-20	...	-40	142	-16	40	-38	69	42	...	18	-5	
	-0.05	0.05	-0.05	...	-0.34	0.21	-0.30	0.32	-0.27	0.32	0.17	...	1.00	-0.09	
	0.0	0.4	0.0	...	0.4	2.4	0.1	1.0	0.3	1.7	0.5	...	-1.0	0.0	
291-202	644	1511	715	186	273	247	28	147	159	39	239	97	70	0	0	0	0	0	4356
	13	216	60	-47	90	-159	-4	7	72	-36	17	-32	-81	
	0.02	0.13	0.07	-0.20	0.38	-0.39	-0.13	0.04	0.65	-0.48	0.06	-0.25	-0.54	
	0.0	1.8	0.2	0.4	1.7	2.5	0.0	0.0	2.2	0.6	0.0	0.3	1.6	
291-204	169	47	0	25	0	36	0	50	0	0	47	0	0	0	0	0	0	121	495
	98	-100	...	-2	...	-10	...	34	22	111	
	0.23	-0.68	...	-0.06	...	-0.22	...	0.11	0.05	0.54	
	3.3	2.1	...	0.0	...	0.1	...	-1.0	0.4	-1.0	
291-206	218	0	62	74	0	42	0	25	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	470
	149	...	-8	49	...	-2	...	10	25	
	0.37	...	-0.12	0.11	...	-0.05	...	0.03	0.06	
	8.1#	...	0.0	2.1	...	0.0	...	-1.0	-1.0	
291-208	33	113	38	0	69	90	0	0	0	0	71	47	35	25	0	0	0	0	520
	-43	-42	-40	...	47	41	44	32	17	23	
	-0.57	-0.27	-0.51	...	0.12	0.09	0.09	0.11	0.05	1.00	
	0.6	0.3	0.5	...	-1.0	0.8	1.6	-1.0	-1.0	-1.0	
291-210	0	376	287	225	0	115	46	100	0	45	0	0	103	0	0	0	0	39	1337
	...	-22	86	154	...	-10	36	57	...	22	57	10	
	...	-0.05	0.08	0.33	...	-0.08	0.56	0.21	...	0.15	0.19	0.06	
	...	0.0	1.0	8.2#	...	0.0	-1.0	1.8	...	-1.0	1.7	0.1	
SUM	1450	2971	1504	535	421	932	74	322	198	173	511	297	347	25	25	0	0	215	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291 / Hla B

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 199) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
B7	0	697	610	48	0	38	198	1591
	...	249	-82	-27	...	-42	-18	
	...	0.22	-0.12	-0.36	...	-0.53	-0.08	
	...	4.6*	0.4	0.2	...	0.6	0.0	
B8	0	244	265	52	75	0	0	638
	...	65	-12	22	45	
	...	0.14	-0.04	0.05	0.10	
	...	0.7	0.0	0.4	1.5	
B13	0	104	97	0	0	0	0	201
	...	47	10	
	...	0.33	0.09	
	...	1.1	0.0	
B14	0	25	0	0	0	0	0	25
	...	18	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B18	0	154	184	0	25	0	133	496
	...	14	-32	...	1	...	66	
	...	0.04	-0.15	...	0.00	...	0.15	
	...	0.0	0.2	...	-1.0	...	1.6	
B22	0	25	0	0	0	0	0	25
	...	18	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B27	0	274	95	33	0	0	0	402
	...	161	-80	14	
	...	0.56	-0.46	0.04	
	...	6.6*	1.3	-1.0	
B35	0	193	489	0	185	0	280	1147
	...	-130	-10	...	130	...	125	
	...	-0.40	-0.02	...	0.31	...	0.13	
	...	1.6	0.0	...	7.3#	...	2.6	
B37	0	0	101	50	0	0	0	151
	35	43	
	0.41	0.30	
	0.7	-1.0	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291 / Hla B

- 2 -

(N = 199) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
B38	0	148	90	37	0	0	27	302
	...	63	-41	22	-13	
	...	0.29	-0.31	0.08	-0.33	
	...	1.3	0.5	-1.0	0.1	
B39	0	82	44	25	0	0	0	151
	...	39	-22	18	
	...	0.36	-0.33	0.12	
	...	1.0	0.3	-1.0	
BW41	0	0	0	25	50	25	0	101
	20	45	20	...	
	0.21	0.47	0.21	...	
	-1.0	-1.0	-1.0	...	
BW42	0	0	0	0	25	50	0	75
	22	46	...	
	0.30	0.65	...	
	-1.0	-1.0	...	
B44	0	132	570	86	85	128	242	1244
	...	-218	30	26	26	66	74	
	...	-0.62	0.04	0.06	0.06	0.15	0.07	
	...	4.3*	0.1	0.3	0.3	1.6	0.8	
B45	0	50	50	0	0	0	0	101
	...	22	7	
	...	0.30	0.12	
	...	0.5	0.0	
BW47	0	75	0	0	0	0	0	75
	...	54	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B49	0	43	45	0	0	0	13	101
	...	14	1	0	
	...	0.20	0.02	-0.03	
	...	0.2	0.0	-1.0	
BW50	0	75	0	0	5	25	70	176
	...	26	-3	16	46	
	...	0.20	-0.35	0.10	0.30	
	...	0.4	-1.0	-1.0	-1.0	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291 / Hla B

- 3 -

(N = 199) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
B51	0	122	131	0	25	25	125	427
	...	1	-55	...	5	4	67	
	...	0.00	-0.30	...	0.01	0.01	0.18	
	...	0.0	0.6	...	-1.0	-1.0	1.9	
BW52	0	0	75	25	0	8	42	151
	10	18	...	1	22	
	0.11	0.12	...	0.00	0.17	
	0.1	-1.0	...	-1.0	-1.0	
BW55	0	50	25	25	0	0	0	101
	...	22	-19	20	
	...	0.30	-0.42	0.21	
	...	0.5	0.3	-1.0	
BW56	25	32	97	0	0	47	0	201
	25	-25	9	37	...	
	1.00	-0.44	0.08	0.20	...	
	-1.0	0.3	0.0	-1.0	...	
BW57	0	82	148	42	0	30	0	302
	...	-3	16	28	...	15	...	
	...	-0.04	0.10	0.10	...	0.05	...	
	...	0.0	0.1	-1.0	...	-1.0	...	
BW58	0	25	0	0	0	0	50	75
	...	4	40	
	...	0.07	0.61	
	...	-1.0	-1.0	
BW60	0	137	330	28	0	0	0	495
	...	-2	115	4	
	...	-0.02	0.41	0.01	
	...	0.0	2.3	-1.0	
BW61	0	0	176	0	0	0	0	176
	99	
	1.00	
	4.6*	
BW62	0	45	657	0	1	84	175	962
	...	-225	239	36	45	
	...	-0.83	0.44	0.08	0.05	
	...	5.8*	5.3*	0.6	0.4	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291 / Hla B

- 4 -

(N = 199) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
BX	0	0	69	0	0	41	0	110
	21	35	...	
	0.34	0.34	...	
	0.3	-1.0	...	
SUM	25	2814	4347	477	477	503	1357	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 148) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
291-198	34	0	0	0	0	0	0	0	0	34
	32	
	1.00	
	-1.0	
291-200	150	349	337	202	92	475	998	34	0	2635
	24	178	-134	-214	-84	162	405	25	...	
	0.07	0.37	-0.28	-0.51	-0.48	0.19	0.24	1.00	...	
	0.1	4.0*	0.9	2.6	0.9	1.9	7.2#	-1.0	...	
291-202	266	299	845	731	256	645	879	0	673	4595
	46	2	25	5	-51	99	-155	...	44	
	0.18	0.00	0.03	0.01	-0.17	0.16	-0.15	...	0.06	
	0.3	0.0	0.0	0.0	0.2	0.6	0.8	...	0.1	
291-204	0	0	94	26	127	0	76	0	116	439
	16	-43	98	...	-23	...	55	
	0.04	-0.62	0.24	...	-0.23	...	0.15	
	0.1	0.5	-1.0	...	0.1	...	0.9	
291-206	0	0	36	207	0	0	79	0	15	338
	-24	154	3	...	-31	
	-0.40	0.54	0.01	...	-0.67	
	0.2	8.0#	0.0	...	0.4	
291-208	28	0	162	0	0	68	82	0	201	541
	3	...	66	3	-40	...	127	
	0.01	...	0.15	0.01	-0.33	...	0.27	
	-1.0	...	0.9	0.0	0.3	...	3.9*	
291-210	0	0	311	412	194	0	136	0	366	1419
	58	188	99	...	-183	...	172	
	0.05	0.16	0.17	...	-0.57	...	0.15	
	0.3	3.2	1.9	...	2.3	...	3.0	
SUM	477	648	1786	1579	669	1187	2250	34	1371	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291/DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 177) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
DRB1G*01	28	135	439	0	43	0	316	960
	26	-120	10	...	-6	...	180	
	1.00	-0.47	0.02	...	-0.13	...	0.22	
	-1.0	1.5	0.0	...	0.0	...	5.5*	
DRB1G*02	0	506	850	0	0	56	0	1412
	...	131	219	-11	...	
	...	0.13	0.28	-0.17	...	
	...	1.3	2.8	0.0	...	
DRB1G*03	0	139	413	83	223	105	54	1017
	...	-131	-41	37	172	56	-90	
	...	-0.49	-0.09	0.09	0.38	0.13	-0.62	
	...	1.7	0.1	0.6	11.8\$	1.3	1.3	
DRB1G*04	0	430	465	32	76	85	211	1299
	...	85	-115	-27	10	22	28	
	...	0.09	-0.20	-0.46	0.02	0.05	0.03	
	...	0.6	0.8	0.3	0.0	0.2	0.1	
DRB1G*11	0	455	572	55	78	142	196	1497
	...	57	-97	-13	2	70	-16	
	...	0.05	-0.14	-0.19	0.00	0.17	-0.07	
	...	0.2	0.5	0.1	0.0	1.5	0.0	
DRB1G*12	0	0	63	0	0	33	130	226
	-38	22	98	
	-0.37	0.10	0.50	
	0.5	-1.0	6.3*	
DRB1G*06	0	44	98	0	0	0	0	141
	...	6	35	
	...	0.06	0.44	
	...	0.0	0.6	
DRB1G*13	0	271	592	115	60	31	174	1243
	...	-59	37	59	-3	-29	-2	
	...	-0.18	0.05	0.15	-0.05	-0.48	-0.01	
	...	0.3	0.1	1.3	0.0	0.3	0.0	
DRB1G*14	0	57	176	0	0	0	78	311
	...	-26	37	34	
	...	-0.31	0.22	0.13	
	...	0.2	0.3	0.6	

2. Haplotypen - nur Kontrollen 291/DRB1G

- 2 -

(N = 177) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	SUM
DRB1G*07	0	327	693	167	0	0	254	1441
...	...	-55	50	101	50	
...	...	-0.14	0.06	0.26	0.04	
...	...	0.2	0.1	3.4	0.3	
DRB1G*08	0	235	104	0	28	28	0	395
...	...	130	-73	...	8	9	...	
...	...	0.45	-0.41	...	0.02	0.02	...	
...	...	4.1*	1.0	...	-1.0	-1.0	...	
DRB1G*09	0	56	0	0	0	0	0	56
...	...	41	
...	...	1.00	
...	...	-1.0	
SUM	28	2655	4463	452	508	480	1412	

2. Haplotypen - nur Patienten 291 / Hla A

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 99) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
291-200	0	1452	72	152	0	237	0	360	0	0	0	0	101	51	0	0	0	0	2424
	...	509	-62	17	...	-45	...	176	64	14
	...	0.34	-0.46	0.04	...	-0.16	...	0.31	0.56	0.12
	...	5.9*	0.4	0.0	...	0.1	...	2.4	-1.0	-1.0
291-202	127	1839	291	253	101	471	220	282	66	37	0	51	0	0	0	0	0	0	3737
	-270	386	83	45	44	37	-63	-1	-66	-1	...	32
	-0.68	0.17	0.24	0.13	0.47	0.05	-0.22	0.00	-0.50	-0.03	...	1.00
	3.2	2.7	0.6	0.2	0.6	0.1	0.2	0.0	0.5	-1.0	...	-1.0
291-204	115	137	149	51	0	169	91	0	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	758
	35	-158	107	8	...	81	34	...	19
	0.05	-0.54	0.21	0.02	...	0.12	0.05	...	0.06
	0.2	1.5	-1.0	-1.0	...	0.9	0.2	...	-1.0
291-206	0	0	0	101	51	0	152	0	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0	556
	70	42	...	109	42	191
	0.13	0.29	...	0.21	0.29	1.00
	-1.0	-1.0	...	-1.0	-1.0	-1.0
291-208	232	153	43	0	0	0	32	0	96	0	101	0	51	0	0	0	0	0	707
	157	-122	4	-21	...	71	...	94	...	40
	0.25	-0.45	0.01	-0.40	...	0.21	...	1.00	...	0.28
	3.9*	1.0	-1.0	0.1	...	-1.0	...	-1.0	...	-1.0
291-210	586	308	0	0	0	285	262	116	96	64	0	0	0	51	0	0	0	0	1768
	399	-380	80	128	-18	33	47	24
	0.46	-0.55	0.08	0.21	-0.14	0.11	0.56	0.19
	11.4\$	4.1*	0.4	1.6	0.0	0.2	-1.0	-1.0
291-212	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51
	49
	1.00
	-1.0
SUM	1061	3889	556	556	152	1162	758	758	354	101	101	51	152	152	0	0	0	202	

2.Haplotypen - nur Patienten 291 / Hla B

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 97) 2.haplotypen

	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	291-212	SUM
B7	319	273	221	0	103	134	0	1050
	65	-127	145	...	27	-44	...	
	0.08	-0.32	0.22	...	0.04	-0.25	...	
	0.2	0.7	3.2	...	0.1	0.1	...	
B8	151	158	127	0	52	297	0	785
	-39	-141	71	...	-5	164	...	
	-0.21	-0.47	0.11	...	-0.09	0.25	...	
	0.1	1.1	1.0	...	0.0	2.5	...	
B13	0	52	0	0	155	0	0	206
	...	-27	140	
	...	-0.34	0.73	
	...	0.1	-1.0	
B14	0	62	0	52	52	0	0	165
	...	-1	...	42	40	
	...	-0.02	...	0.27	0.26	
	...	0.0	...	-1.0	-1.0	
B18	155	218	206	0	0	246	0	825
	-45	-97	147	106	...	
	-0.23	-0.31	0.22	0.16	...	
	0.1	0.5	4.1*	1.0	...	
B27	432	604	0	0	0	0	0	1036
	181	209	
	0.23	0.33	
	1.9	1.9	
B35	351	527	0	0	0	65	0	943
	123	167	-95	...	
	0.17	0.29	-0.59	...	
	0.9	1.3	0.7	...	
B37	0	0	0	0	0	52	0	52
	43	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	

2.Haplotypen - nur Patienten 291 / Hla B

- 3 -

(N = 97) 2en

	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	291-212	SUM
B51	66	127	116	0	0	0	52	361
	-21	-10	90	50	
	-0.24	-0.08	0.27	1.00	
	0.1	0.0	-1.0	-1.0	
BW52	52	0	0	0	0	0	0	52
	39	
	1.00	
	-1.0	
BW55	52	103	0	0	0	0	0	155
	14	44	
	0.12	0.46	
	-1.0	0.5	
BW56	0	155	0	103	103	155	0	515
	...	-42	...	74	66	67	...	
	...	-0.21	...	0.15	0.14	0.16	...	
	...	0.1	...	-1.0	-1.0	0.6	...	
BW57	103	0	0	0	0	0	0	103
	78	
	1.00	
	-1.0	
BW58	0	52	0	0	0	103	0	155
	...	-7	77	...	
	...	-0.13	0.60	...	
	...	0.0	-1.0	...	
BW60	152	134	0	0	52	103	0	440
	45	-34	20	28	...	
	0.13	-0.20	0.05	0.08	...	
	0.3	0.1	-1.0	0.1	...	
BW61	52	0	0	0	52	0	0	103
	27	44	
	0.34	0.46	
	-1.0	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten 291 / Hla B

- 4 -

(N = 97) 2en

	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	291-212	SUM
BW62	357	0	0	0	0	258	0	615
	208	153	...	
	0.45	0.30	...	
	4.0*	2.8	...	
BW63	0	0	0	0	52	0	0	52
	48	
	1.00	
	-1.0	
BX	28	246	0	103	0	0	0	377
	-64	102	...	82	
	-0.70	0.44	...	0.23	
	0.6	1.2	...	-1.0	
SUM	2423	3814	722	567	722	1701	52	

2. Haplotypen - nur Patienten 291 / Hla C

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 51) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
291-200	1023	766	220	736	0	0	0	0	0	2745
	525	346	-98	119	
	0.40	0.31	-0.31	0.07	
	4.7*	2.4	0.2	0.2	
291-202	424	527	135	1512	0	0	0	0	1128	3725
	-253	-43	-297	674	-81	
	-0.37	-0.08	-0.69	0.48	-0.07	
	0.9	0.0	1.9	5.7*	0.1	
291-204	0	0	0	0	0	0	0	0	686	686
	463	
	1.00	
	7.8#	
291-206	0	0	0	0	0	0	0	0	686	686
	463	
	1.00	
	7.8#	
291-208	196	98	196	0	0	0	0	0	0	490
	107	23	139	
	0.27	0.06	0.32	
	-1.0	-1.0	-1.0	
291-210	174	139	609	0	0	0	0	0	746	1667
	-129	-116	415	205	
	-0.43	-0.46	0.43	0.18	
	0.4	0.4	6.2*	0.7	
SUM	1817	1530	1159	2247	0	0	0	0	3246	

2. haplotypen - nur Patienten 291/DRB1G

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 236) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	291-212	SUM
DRB1G*01	0	276	362	0	158	0	94	0	890
	...	71	2	...	102	...	-51	...	
	...	0.10	0.00	...	0.18	...	-0.35	...	
	...	0.8	0.0	...	5.1*	...	0.6	...	
DRB1G*02	21	183	520	166	61	21	342	21	1335
	16	-125	-21	78	-23	-61	124	13	
	0.42	-0.41	-0.04	0.14	-0.28	-0.75	0.11	0.23	
	-1.0	1.8	0.0	2.0	0.2	1.3	2.3	-1.0	
DRB1G*03	0	81	315	79	35	99	111	0	720
	...	-85	23	32	-11	55	-6	...	
	...	-0.51	0.05	0.05	-0.24	0.10	-0.05	...	
	...	1.4	0.1	0.6	0.1	1.9	0.0	...	
DRB1G*04	0	322	370	31	0	49	75	0	847
	...	127	27	-25	...	-3	-63	...	
	...	0.19	0.05	-0.45	...	-0.05	-0.46	...	
	...	2.7	0.1	0.3	...	0.0	0.9	...	
DRB1G*11	0	665	1068	152	197	99	362	0	2542
	...	78	39	-15	35	-57	-53	...	
	...	0.05	0.03	-0.09	0.07	-0.37	-0.13	...	
	...	0.4	0.1	0.0	0.3	0.7	0.3	...	
DRB1G*12	0	55	183	0	16	0	0	0	254
	...	-4	80	...	0	
	...	-0.07	0.53	...	0.00	
	...	0.0	2.5	...	-1.0	
DRB1G*06	0	0	0	0	0	0	21	0	21
	18	...	
	1.00	...	
	-1.0	...	
DRB1G*13	21	187	333	94	0	133	185	42	996
	17	-42	-70	29	...	72	22	36	
	0.44	-0.18	-0.17	0.05	...	0.13	0.03	0.63	
	-1.0	0.3	0.5	0.4	...	2.3	0.1	-1.0	
DRB1G*14	0	242	0	76	0	64	85	0	466
	...	134	...	45	...	35	9	...	
	...	0.37	...	0.10	...	0.08	0.02	...	
	...	5.4*	...	1.8	...	1.1	0.0	...	

2. haplotypen - nur Patienten 291/DRB1G

- 2 -

(N = 236) 2.haplotypen

	291-198	291-200	291-202	291-204	291-206	291-208	291-210	291-212	SUM
DRB1G*07	0	92	110	38	27	50	0	0	318
	...	19	-18	17	7	31	
	...	0.08	-0.14	0.06	0.02	0.10	
	...	0.2	0.1	-1.0	-1.0	-1.0	
DRB1G*08	0	126	765	0	120	99	309	0	1419
	...	-202	191	...	30	12	78	...	
	...	-0.62	0.23	...	0.05	0.02	0.07	...	
	...	4.5*	2.9	...	0.3	0.0	0.9	...	
DRB1G*09	0	80	0	21	21	0	47	0	169
	...	40	...	10	10	...	20	...	
	...	0.31	...	0.06	0.07	...	0.14	...	
	...	1.3	...	-1.0	-1.0	...	0.4	...	
DRB1G*10	0	0	21	0	0	0	0	0	21
	13	
	1.00	
	-1.0	
SUM	42	2309	4047	657	636	614	1631	64	

2.Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla A*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 200) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
MogA-126	0	25	25	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75
	...	3	13	18
	...	0.05	0.21	0.26
	...	-1.0	-1.0	-1.0
MogA-128	1449	1270	0	166	25	595	75	325	167	175	81	123	167	0	0	0	0	6	4625
	779	-100	...	-80	-160	150	40	175	72	94	-149	-16	16	-54	
	1.00	-0.07	...	-0.32	-0.86	0.29	1.00	1.00	0.65	1.00	-0.65	-0.12	0.09	-0.90	
	39.4\$	0.4	...	1.0	5.4*	2.1	1.8	7.8#	2.1	4.1*	3.8	0.1	0.1	1.8	
MogA-130	0	1635	1300	367	0	341	0	0	39	0	258	177	158	0	0	0	0	124	4400
	...	332	592	132	...	-82	-52	...	39	45	15	67	
	...	0.20	0.66	0.44	...	-0.19	-0.57	...	0.14	0.27	0.08	0.92	
	...	4.3*	21.1\$	2.8	...	0.6	1.1	...	0.3	0.6	0.1	2.8	
MogA-132	0	33	283	0	375	0	0	0	0	0	134	0	0	25	25	0	0	0	875
	...	-227	143	...	340	90	23	23	
	...	-0.87	0.19	...	0.93	0.20	1.00	1.00	
	...	6.2*	3.8	...	75.4\$	4.3*	-1.0	-1.0	
MogA-140	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	25
	24	
	1.00	
	-1.0	
SUM	1449	2963	1609	533	400	961	75	325	206	175	498	300	325	25	25	0	0	130	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla B*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 197) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
B7	25	186	1329	47	0	0	1588
	13	-540	624	-94	
	0.21	-0.74	0.71	-0.66	
	-1.0	17.3\$	23.3\$	1.6	
B8	0	478	104	27	0	0	609
	...	200	-166	-27	
	...	0.60	-0.62	-0.51	
	...	5.5*	3.9*	0.3	
B13	0	92	111	0	0	0	203
	...	-1	21	
	...	-0.01	0.19	
	...	0.0	0.2	
B14	0	25	0	0	0	0	25
	...	14	
	...	1.00	
	...	-1.0	
B18	0	222	215	88	0	0	525
	...	-18	-19	42	
	...	-0.07	-0.08	0.09	
	...	0.1	0.1	0.9	
B22	0	0	0	25	0	0	25
	23	
	1.00	
	-1.0	
B27	0	355	0	0	0	0	355
	...	193	
	...	1.00	
	...	8.6#	
B35	51	384	591	152	0	0	1178
	42	-154	68	47	
	0.62	-0.29	0.10	0.06	
	-1.0	1.8	0.4	0.5	
B37	0	150	0	2	0	0	152
	...	81	
	...	0.98	
	...	3.5	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla B*

- 2 -

(N = 197) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
B38	0	184	146	0	0	0	330
	...	33	-1	
	...	0.19	0.00	
	...	0.3	0.0	
B39	0	0	152	0	0	0	152
	85	
	1.00	
	3.8	
BW41	0	75	27	0	0	0	102
	...	29	-19	
	...	0.52	-0.41	
	...	0.6	0.3	
BW42	0	0	76	0	0	0	76
	42	
	1.00	
	1.9	
B44	0	510	323	399	0	0	1232
	...	-52	-224	289	
	...	-0.09	-0.41	0.37	
	...	0.2	3.7	18.8\$	
B45	0	102	0	0	0	0	102
	...	55	
	...	1.00	
	...	2.4	
BW47	0	25	51	0	0	0	76
	...	-9	17	
	...	-0.27	0.40	
	...	0.1	0.3	
B49	0	27	74	0	0	0	102
	...	-19	29	
	...	-0.42	0.52	
	...	0.3	0.7	
BW50	0	79	87	12	0	0	178
	...	-2	8	-4	
	...	-0.03	0.08	-0.25	
	...	0.0	0.0	-1.0	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla B*

- 3 -

(N = 197) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
B51	0	230	202	0	0	0	431
	...	33	10	
	...	0.14	0.04	
	...	0.2	0.0	
BW52	0	90	0	63	0	0	152
	...	20	...	49	
	...	0.24	...	0.35	
	...	0.2	...	-1.0	
BW55	0	0	76	0	0	25	102
	31	25	
	0.55	1.00	
	0.8	-1.0	
BW56	0	71	132	0	0	0	203
	...	-22	42	
	...	-0.24	0.37	
	...	0.2	0.7	
BW57	0	305	0	0	0	0	305
	...	165	
	...	1.00	
	...	7.4#	
BW58	0	27	50	0	0	0	76
	...	-8	16	
	...	-0.24	0.37	
	...	0.1	0.3	
BW60	0	425	40	0	0	0	465
	...	213	-167	
	...	0.84	-0.81	
	...	8.1#	5.0*	
BW61	0	53	99	0	0	0	152
	...	-17	32	
	...	-0.24	0.37	
	...	0.1	0.5	
BW62	0	464	469	73	0	0	1007
	...	5	22	-16	
	...	0.01	0.04	-0.18	
	...	0.0	0.0	0.1	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla B*

- 4 -

(N = 197) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
BX	0	9	88	0	0	0	98
	...	-35	44	
	...	-0.79	0.82	
	...	1.0	1.6	
SUM	76	4569	4442	888	0	25	

2.Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / Hla C*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 145) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
MogA-126	0	0	0	69	0	0	34	0	0	103
	53	11	
	0.61	0.13	
	-1.0	-1.0	
MogA-128	280	312	949	227	288	883	731	34	986	4690
	47	33	119	-500	-41	308	-345	18	360	
	0.18	0.10	0.13	-0.69	-0.12	0.47	-0.32	1.00	0.51	
	0.3	0.1	0.6	11.1\$	0.1	5.1*	3.9*	-1.0	6.5*	
MogA-130	181	191	709	812	321	343	1437	0	349	4345
	-34	-67	-59	139	17	-190	440	...	-231	
	-0.16	-0.26	-0.08	0.16	0.04	-0.36	0.34	...	-0.40	
	0.1	0.5	0.1	0.9	0.0	2.0	6.4*	...	2.7	
MogA-132	0	91	110	441	91	1	93	0	0	828
	...	42	-36	313	33	...	-97	
	...	0.08	-0.25	0.45	0.05	...	-0.51	
	...	0.6	0.2	14.3\$	0.3	...	1.0	
MogA-140	34	0	0	0	0	0	0	0	0	34
	33	
	1.00	
	-1.0	
SUM	496	594	1768	1549	701	1227	2295	34	1336	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / DRB1G*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 176) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	SUM
DRB1G*01	0	518	457	20	994
	...	55	24	-71	
	...	0.10	0.04	-0.78	
	...	0.2	0.0	1.2	
DRB1G*02	28	541	631	164	1364
	17	-94	38	40	
	0.23	-0.15	0.05	0.05	
	-1.0	0.5	0.1	0.3	
DRB1G*03	0	617	247	131	994
	...	153	-186	41	
	...	0.29	-0.43	0.05	
	...	1.9	2.8	0.4	
DRB1G*04	28	304	894	109	1335
	17	-319	314	-13	
	0.23	-0.51	0.42	-0.10	
	-1.0	6.2*	6.1*	0.0	
DRB1G*11	28	936	399	114	1477
	16	248	-243	-21	
	0.22	0.31	-0.38	-0.15	
	-1.0	3.4	3.4	0.1	
DRB1G*12	0	0	227	0	227
	128	...	
	1.00	...	
	5.3*	...	
DRB1G*06	0	75	95	0	170
	...	-4	21	...	
	...	-0.06	0.22	...	
	...	0.0	0.2	...	
DRB1G*13	0	644	544	90	1278
	...	48	-12	-26	
	...	0.07	-0.02	-0.22	
	...	0.1	0.0	0.1	
DRB1G*14	0	84	200	0	284
	...	-48	76	...	
	...	-0.36	0.48	...	
	...	0.6	1.5	...	

2. Haplotypen - nur Kontrollen *Mog A / DRB1G*

- 2 -

(N = 176) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	SUM
DRB1G*07	0	862	328	230	1420
...	...	201	-289	101	
...	...	0.26	-0.47	0.13	
...	...	2.3	4.9*	1.8	
DRB1G*08	0	79	268	52	398
...	...	-107	95	15	
...	...	-0.58	0.42	0.04	
...	...	2.1	1.7	0.1	
DRB1G*09	0	0	57	0	57
...	32	...	
...	1.00	...	
...	-1.0	...	
SUM	85	4659	4347	909	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mog A/Hla A*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 99) 2.haplotypen

	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	A36	A66	AX	SUM
MogA-128	1037	2224	0	0	0	762	756	692	152	101	0	51	71	152	0	0	0	13	6010
	371	-160	64	302	224	-60	40	...	20	-20	60	-20	
	0.84	-0.07	0.14	1.00	0.72	-0.28	1.00	...	1.00	-0.22	1.00	-0.60	
	5.8*	0.4	0.2	5.4*	2.9	0.4	0.7	...	-1.0	0.1	1.0	-1.0	
MogA-130	71	1693	505	556	51	400	0	37	201	0	101	0	81	0	0	0	0	42	3737
	-343	210	297	348	-5	-34	...	-254	69	...	63	...	24	21	
	-0.83	0.09	0.85	1.00	-0.09	-0.08	...	-0.87	0.31	...	1.00	...	0.26	0.61	
	5.0*	0.8	7.1#	9.8#	0.0	0.0	...	3.8	0.6	...	-1.0	...	0.2	-1.0	
MogA-132	0	51	51	0	100	0	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	253
	...	-49	36	...	96	31	
	...	-0.49	0.15	...	0.65	0.13	
	...	0.4	-1.0	...	-1.0	-1.0	
SUM	1109	3967	556	556	152	1162	756	779	354	101	101	51	152	152	0	0	0	56	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mog A / Hla B*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100
(N = 97) 2.haplotypen

	MogA-128	MogA-130	MogA-132	SUM
B7	371	647	52	1069
	-268	244	24	
	-0.42	0.37	0.10	
	3.0	2.6	-1.0	
B8	542	264	0	805
	60	-39	...	
	0.19	-0.13	...	
	0.2	0.1	...	
B13	0	206	0	206
	...	129	...	
	...	1.00	...	
	...	3.4	...	
B14	0	174	0	174
	...	108	...	
	...	1.00	...	
	...	2.8	...	
B18	530	294	0	825
	37	-16	...	
	0.11	-0.05	...	
	0.1	0.0	...	
B27	910	128	0	1037
	289	-263	...	
	0.69	-0.67	...	
	3.6	3.1	...	
B35	619	219	101	939
	58	-135	77	
	0.15	-0.38	0.33	
	0.2	0.9	-1.0	
B37	52	0	0	52
	21	
	1.00	
	-1.0	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mog A / Hla B*

- 2 -

B38	62	196	0	258
	-92	99	...	
	-0.60	0.62	...	
	1.4	1.6	...	
B39	66	295	0	361
	-150	160	...	
	-0.70	0.71	...	
	2.6	3.0	...	
BW41	52	0	52	103
	-10	...	49	
	-0.16	...	0.49	
	0.0	...	-1.0	
B44	595	281	0	876
	71	-48	...	
	0.20	-0.15	...	
	0.3	0.1	...	
BW47	52	0	0	52
	21	
	1.00	
	-1.0	
B49	307	0	2	309
	123	
	0.99	
	2.0	
BW50	52	0	0	52
	21	
	1.00	
	-1.0	
B51	233	128	0	361
	17	-8	...	
	0.12	-0.06	...	
	0.0	0.0	...	
BW52	0	0	52	52
	50	
	1.00	
	-1.0	
BW55	52	103	0	155
	-41	45	...	
	-0.44	0.47	...	
	0.4	0.5	...	

2.Haplotypen - nur Patienten *Mog A / Hla B*

- 3 -

BW56	189	326	0	515
	-119	132	...	
	-0.39	0.41	...	
	1.2	1.5	...	
BW57	103	0	0	103
	41	
	1.00	
	0.7	
BW58	155	0	0	155
	62	
	1.00	
	1.0	
BW60	316	139	0	455
	44	-32	...	
	0.24	-0.19	...	
	0.2	0.1	...	
BW61	103	0	0	103
	41	
	1.00	
	0.7	
BW62	373	217	0	590
	20	-5	...	
	0.08	-0.02	...	
	0.0	0.0	...	
BW63	52	0	0	52
	21	
	1.00	
	-1.0	
BX	197	145	0	342
	-8	17	...	
	-0.04	0.08	...	
	0.0	0.0	...	
SUM	5979	3763	258	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mog A/Hla C*

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 51) 2.haplotypen

	CW1	CW2	CW3	CW4	CW5	CW6	CW7	CW8	CWX	SUM
MogA-128	791	1501	450	1311	0	0	0	0	1534	5588
	-267	662	-207	0	-189	
	-0.25	1.00	-0.31	0.00	-0.11	
	1.0	7.1#	0.9	0.0	0.3	
MogA-130	959	0	725	688	0	0	0	0	1549	3922
	217	...	264	-232	340	
	0.19	...	0.37	-0.25	0.18	
	0.7	...	1.4	0.6	1.2	
MogA-132	143	0	0	348	0	0	0	0	0	490
	50	232	
	0.13	0.62	
	-1.0	3.3	
SUM	1892	1501	1176	2347	0	0	0	0	3083	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mog A / DRB1G*

- 1 -

NUMBER OF ITERATIONS PERFORMED: 100

(N = 235) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
DRB1G*01	0	301	428	144	0	0	872
	...	-174	69	116	
	...	-0.37	0.13	0.40	
	...	3.6	0.6	12.9\$	
DRB1G*02	0	670	630	62	0	0	1362
	...	-72	71	18	
	...	-0.10	0.09	0.07	
	...	0.4	0.4	0.2	
DRB1G*03	0	593	152	0	0	0	745
	...	187	-154	
	...	0.55	-0.50	
	...	4.8*	3.3	
DRB1G*04	0	649	202	0	0	0	851
	...	185	-147	
	...	0.48	-0.42	
	...	4.2*	2.7	
DRB1G*11	26	1413	1043	50	0	0	2532
	-6	34	4	-31	
	-0.19	0.03	0.00	-0.38	
	0.0	0.1	0.0	0.4	
DRB1G*12	0	178	59	18	0	0	255
	...	39	-46	10	
	...	0.33	-0.44	0.04	
	...	0.6	0.8	-1.0	
DRB1G*06	0	21	0	0	0	0	21
	...	10	
	...	1.00	
	...	-1.0	
DRB1G*13	43	410	484	21	0	0	957
	30	-112	90	-9	
	0.26	-0.21	0.16	-0.30	
	-1.0	1.4	0.9	0.1	
DRB1G*14	16	263	188	0	0	0	468
	10	9	-4	
	0.09	0.04	-0.02	
	-1.0	0.0	0.0	

2. Haplotypen - nur Patienten *Mog A / DRB1G*

- 2 -

(N = 235) 2.haplotypen

	MogA-126	MogA-128	MogA-130	MogA-132	MogA-136	MogA-140	SUM
DRB1G*07	21	83	215	0	0	0	319
	17	-91	84	
	0.14	-0.52	0.44	
	-1.0	2.5	2.2	
DRB1G*08	21	716	664	24	0	0	1426
	3	-61	79	-21	
	0.03	-0.08	0.09	-0.47	
	-1.0	0.3	0.5	0.3	
DRB1G*09	0	129	42	0	0	0	170
	...	36	-28	
	...	0.46	-0.40	
	...	0.7	0.5	
DRB1G*10	0	21	0	0	0	0	21
	...	10	
	...	1.00	
	...	-1.0	
SUM	128	5447	4106	319	0	0	