

# Untersuchungen zur Frequenzanalyse von HLA-Merkmalen

## Investigations Concerning the Frequency of HLA-Antigens

G. Lanzer, K. Hönigl, M. Wilders-Truschnig, M. Vadon, E. Pilger, I. Teubl

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Graz (Vorstand: Prof. Dr. G. J. Krejs)

Department für Bluttransfusion und Blutgruppenserologie (Leitung: OA Dr. I. Teubl)  
an der Chirurgischen Universitätsklinik Graz (Vorstand: Prof. Dr. J. Kraft-Kinz)

### Zusammenfassung:

An einem Probandenkollektiv von 997 klinisch gesunden Blutspendern aus dem Bereich Graz-Umgebung wurde mittels dreier verschiedener Kombinationen von Diagnoseantisera (I: n = 330; II: n = 436; III: n = 231) eine HLA-Typisierung durchgeführt. Das Gesamtergebnis wurde den der Literatur entnommenen Daten über die HLA-Antigen-Frequenzen bei Europiden gegenübergestellt und dabei statistisch signifikante Abweichungen bei den Merkmalen HLA-Aw19, HLA-B18, HLA-Cw2 bis HLA-Cw8 und HLA-DRw8 festgestellt.

Die dargestellten Daten weisen auf jene Problematik hin, die entstehen kann, wenn bei der Berechnung von Krankheitsassoziationen zu Antigenen des HLA-Systems lokal typisierte HLA-Antigen-Frequenzen zu HLA-Analysen aus großen ethnischen Gruppen wie beispielsweise den Kaukasiern in Beziehung gesetzt werden.

### Schlüsselwörter

Humanes Leukozytenantigen (HLA)-System – HLA-Phänotypenfrequenz – HLA-Genfrequenz

### Summary:

HLA-typing of 997 healthy blood donors living in the environment of Graz (Austria) was performed using three different panels of antisera (I: n = 330; II: n = 436; III: n = 231). The results were compared with literature on HLA frequencies in Caucasoids; statistically significant differences were observed for HLA-Aw19, HLA-B18, HLA-Cw2 to Cw8 and HLA-DRw8.

The present data illustrate the problems that may arise when associations between disease and HLA frequency, calculated from local populations, are put in relations to those calculated from large etnical groups, e. g. Caucasians.

### Keywords:

Human Leucocyte Antigen-(HLA)-System – HLA Phenotype Frequency – HLA Gentype Frequency

## Einleitung

Zum Studium epidemiologischer und/oder genetischer Gegebenheiten bei menschlichen Rassen oder ethnischen Gruppen sowie zur Darstellung von Krankheitsassoziationen zu verschiedenen HLA-Merkmalen ist die Frequenzanalytik dieser genetisch determinierten zellulären Oberflächenmarker bei entsprechenden gesunden Kontroll-Kollektiven Grundvoraussetzung und Bezugspunkt.

Zur Berechnung der Frequenzhäufigkeiten von HLA-Antigenen sind die einzusetzenden statistischen Vorgangsweisen definiert und für die verschiedenartigsten Bevölkerungsgruppen der Erde (z. B. Europide, Japaner etc.) anhand entsprechender Probandenkollektive ausgearbeitet (1,7).

Um zu lokal und/oder überregional beobachteten Krankheitsassoziationen Stellung nehmen zu können, mag es im allgemeinen ausreichen, die erhobenen HLA-Antigen-Frequenzen zu den der Literatur entnehmbaren Analysen (z. B. 1,7) in Beziehung zu setzen. Aufgabenstellung der vorgelegten Untersuchung war es, letztgenannten Vor-

gangsmodus auf seine Praktikabilität hin zu überprüfen, d. h. lokal erhobene Antigen-Frequenzen mit den für diese Bevölkerungsgruppe aus der Literatur hervorgehenden Antigen-Prozentangaben zu vergleichen und darüber hinaus die Einflußgrößen der zur HLA-Diagnostik herangezogenen unterschiedlichen Antiserumkombinationen zu bestimmen, da deren Antikörper-Charakteristik (z. B. Spezifität etc.) naturgemäß nicht unmittelbar vergleichbar ist.

## Material und Methoden

Die HLA-Typisierung erfolgte gemäß den Richtlinien der standardisierten 2-Stufen-NIH-Methode des Lymphozytotoxizitätstestes (6).

Für die HLA-DR-Typisierung wurden die B-Lymphozyten mittels Nylon-Wolle-Separation isoliert (5, 8) und in weiterer Folge dem standardisierten NIH-Lymphozytotoxizitätstest unterzogen.

Tab. 1: Phänotypen- und errechnete Gen-Frequenz bei klinisch gesunden Blutspendern des Einzugsgebietes Graz/Umgang (HLA-A: 1a, HLA-B: 1b, HLA-Cw: 1c, HLA-DR: 1d). Es sind die Ergebnisse zweier verschiedener Diagnoseantiserumpanele dargestellt (Beschreibung siehe Text), das Gesamtergebnis berechnet (TP-gesamt) und den der Literatur entnommenen Vergleichszahlen (CAUC.) für Europäische (2) gegenübergestellt. Die HLA-„splits“ sind (in der ersten Spalte) dem jeweiligen Hautantigen subsummiert.

Tab.: 1a

HLA-A	TP ohne DR			TP gek. Sera			TP gesamt			CAUC		
	I (n=330)	%	Gen-Freq. II (n=436)	%	Gen-Freq. (n=766)	%	Gen-Freq. (n=1081)	%	Gen-Freq.	%	Gen-Freq.	
1	79	23,94	0,1279	110	25,23	0,1353	189	24,67	0,1321	285	26,38	0,1420
2	157	47,58	0,2760	211	48,39	0,2816	368	48,04	0,2792	535	49,45	0,2890
3	108	32,73	0,1798	126	28,90	0,1668	234	30,55	0,1666	267	24,66	0,1320
9	77	23,33	0,1244	104	23,85	0,1274	181	23,63	0,1261	238	22,03	0,1170
10	33	10,00	0,0513	58	13,30	0,0689	91	11,88	0,0613	124	11,45	0,0590
11	32	9,70	0,0497	49	11,24	0,0579	81	10,57	0,0543	132	12,20	0,0630
19	55	16,67	0,0871	79	18,12	0,0951	134	17,49	0,0917	293	27,07	0,1460
28	44	13,33	0,0691	48	11,01	0,0567	92	12,01	0,0620	99	9,18	0,0470
Summe			0,9652			0,9796			0,9733			0,9950
blanks			0,0348			0,0204			0,0267			0,0050
n	330		1,0000	436		1,0000	766		1,0000	1081		1,0000

Tab.: 1b

HLA-B	TP ohne DR			TP gek. Sera			TP gesamt			CAUC		
	I (n=330)	%	Gen-Freq. II (n=436)	%	Gen-Freq. (n=766)	%	Gen-Freq. (n=1066)	%	Gen-Freq.	%	Gen-Freq.	
5	49	14,85	0,0772	82	18,81	0,0989	131	17,10	0,0895	168	15,73	0,0820
7	78	23,64	0,1261	103	23,62	0,1261	181	23,63	0,1261	231	21,68	0,1150
8	57	17,27	0,0905	98	22,48	0,1195	155	20,23	0,1069	195	18,28	0,0960
12	76	23,03	0,1227	89	20,41	0,1079	165	21,54	0,1142	254	23,79	0,1270
13	34	10,30	0,0529	26	5,96	0,0303	60	7,83	0,0400	61	5,72	0,0290
14	21	6,36	0,0323	29	6,6	0,0338	50	6,53	0,0332	77	7,26	0,0370
15	33	10,00	0,0513	52	11,93	0,0615	85	11,10	0,0571	140	13,14	0,0680
16	23	6,97	0,0355	36	8,26	0,0422	59	7,70	0,0393	94	8,80	0,0450
17	31	9,39	0,0481	31	7,11	0,0362	62	8,09	0,0413	61	5,72	0,0290
18	26	7,88	0,0402	14	3,21	0,0162	40	5,22	0,0265	114	10,70	0,0550
21	17	5,15	0,0261	23	5,28	0,0267	40	5,22	0,0265	61	5,72	0,0290
22	9	2,73	0,0137	11	2,52	0,0127	20	2,61	0,0131	59	5,52	0,0280
27	36	10,91	0,0561	46	10,55	0,0542	82	10,70	0,0550	71	6,68	0,0340
35	80	24,24	0,1296	79	18,12	0,0951	159	20,76	0,1098	212	19,90	0,1050
37	3	0,91	0,0046	17	3,90	0,0197	20	2,61	0,0131	34	3,17	0,0160
40	27	8,18	0,0418	50	11,47	0,0591	77	10,05	0,0516	122	11,45	0,0590
41	2	0,61	0,0030	0	0,00	0,0000	2	0,26	0,0013	19	1,79	0,0090
53	0	0,00	0,0000	1	0,23	0,0011	1	0,13	0,0007	11	1,00	0,0050
Summe			0,9518			0,9413			0,9452			0,9680
blanks			0,0482			0,0587			0,0548			0,0320
n	330		1,0000	436		1,0000	766		1,0000	1066		1,0000

Tab.: 1c

HLA-B	TP ohne DR			TP gek. Sera			TP gesamt			CAUC		
	I (n=330)	%	Gen-Freq. II (n=436)	%	Gen-Freq. (n=766)	%	Gen-Freq. (n=1053)	%	Gen-Freq.	%	Gen-Freq.	
1	14	4,24	0,0214	39	8,94	0,0458	53	6,92	0,0352	68	6,49	0,0330
2	44	13,33	0,0691	62	14,22	0,0738	106	13,84	0,0718	85	8,03	0,0410
3	53	16,06	0,0838	72	16,51	0,0863	125	16,32	0,0852	249	23,61	0,1260
4	85	25,76	0,1384	96	22,02	0,1169	181	23,63	0,1261	230	21,85	0,1160
5	11	3,33	0,0168	10	2,29	0,0115	21	2,74	0,0138	140	13,32	0,0690
6	15	4,55	0,0230	41	9,40	0,0482	56	7,31	0,0372	173	16,46	0,0860
7	6	1,82	0,0091	17	3,90	0,0197	23	3,00	0,0151	450	42,70	0,2430
8	0	0,00	0,0000	0	0,00	0,0000	0	0,00	0,0000	76	7,26	0,0370
Summe			0,3616			0,4022			0,3845			0,7510
blanks			0,6384			0,5978			0,6155			0,2490
n	330		1,0000	436		1,0000	766		1,0000	1053		1,0000

Tab.: 1d

HLA-DR	II (n=436)	TP gek. Sera		CAUC		
		%	Gen-Freq. (n=963)			
1	89	20,41	0,1079	174	18,10	0,0950
2	135	30,96	0,1691	280	29,10	0,1580
3	125	28,67	0,1554	217	22,56	0,1200
4	83	19,04	0,1002	229	23,79	0,1270
5	105	24,08	0,1287	256	26,56	0,1430
6	91	20,87	0,1105	204	21,15	0,1120
7	91	20,87	0,1105	217	22,56	0,1200
8	0	0,00	0,0000	57	5,91	0,0300
Summe			0,8822			0,9050
blanks			0,1178			0,0950
n	436		1,0000	963		1,0000

Die typisierten Blutproben entstammen – in zufälliger Auswahl – dem Sammelgut des lokalen Blutspendedienstes (Department für Bluttransfusion und Blutgruppenserologie an der Chirurgischen Universitätsklinik Graz) aus dem geographisch eng umschriebenen Raum Graz-Umgebung.

Die zur Typisierung verwendeten HLA-Serumpanele umfaßten 3 verschiedene Antikörperkontingente, die mit I, II und III gekennzeichnet wurden:

Die Serumpanele I und II bestanden ausschließlich aus käuflich erworbenen Diagnoseantikörpern der Firmen „Behringwerke“ bzw. „Biotest“ (Chargennummern der Jahre 1983–1985).

Das Serumpanel I enthielt noch keine HLA-DR-Antikörper-Spezifitäten, deckte jedoch die Merkmale der HLA-Klasse I-Antigene weitestgehend ab. (= Testpanel [TP] ohne DR)

Das Serumpanel II enthielt soweit nach dem Auslaufen mehrerer Antikörperchargen verfügbar – als Grundstock die Antikörper des Panel I, ergänzt durch neu eingeführte Antiserumchargen unter anderem für die HLA-DR-Merkmale DR1–DR7, einschließlich DRw52, DRw53, DQw1 – DQw3 (= TP der gekauften Sera).

Im Serumpanel III waren Antikörper zusammengestellt, die unserem Labor in kollegialer Zusammenarbeit von europäischen HLA-Referenzlaboratorien zur Definition eines Zellpanels zum Serumscreening zur Verfügung gestellt wurden. Auch in diesem Serumset waren die Merkmale HLA-DRw8, DR9 und DRw10 nicht abgedeckt (TP-Leiden).

#### Zur Begriffsbestimmung

Antigen-Frequenz  $f$  = Phänotypen-Frequenz der untersuchten Population; Gen-Frequenz  $p = 1 - (1-f)^{1/2}$ .

## Statistik

Um zu prüfen, ob die Antikörper der Serumpanele I, II und III bei der Untersuchung der Probandenkollektive vergleichbare Ergebnisse liefern, wurde die relative Häufigkeit (relative incidence“, Verhältnis der Antigen-Häufigkeit im Gruppenvergleich; 4,9); der einzelnen HLA-Merkmale in den Serumsets (z. B. Panel I gegenüber Panel II) errechnet.

Als externes Kontrollkollektiv wurde eine Genfrequenzanalyse der Bevölkerungsgruppe der Europiden (2) herangezogen. Die Antigen-Frequenz dieses externen Kontrollkollektivs wurde aus der Gen-Frequenz  $p$  anhand der Formel  $f = 1 - (1-p)^2$  für jedes HLA-Merkmal berechnet. Die relative Häufigkeit der verschiedenen HLA-Antigene in den einzelnen Serumpanelen wurde auch gegenüber diesem externen Kontrollkollektiv ermittelt.

Die statistische Signifikanz einer Abweichung dieser relativen Häufigkeit von 1 wurde anhand eines speziellen Vierfelder-Testes, des G-Testes von Woolf nach einer Modifikation von Haldane geprüft (4,9). Wegen der großen Zahl von Vergleichen – (46 × 4 HLA-Merkmale) wurden die  $p$ -Werte nach der Methode von Bonferoni korrigiert (Dunn, O. J., gemäß der Formel  $p_c = p$  aus  $\chi^2$  mal Zahl der Vergleiche).

Anhand der Formel  $p = 1 - (1-f)^{1/2}$  wurde in den einzelnen Panelen die Gen-Frequenz  $p$  aus der Antigen-Frequenz  $f$  ermittelt. Da die Summe der Gen-Frequenzen

Tab. 2: Verhältnisse der Antigenhäufigkeiten im Gruppenvergleich der Serumpanele I und II, sowie im Vergleich zur externen Kontrollgruppe (Cauc.). Statistische Datenerhebung siehe „Methodik“. Die statistisch signifikanten Abweichungen sind mittels Fettdruck und \*) gekennzeichnet: Tab. 2a: HLA-A., 2b: HLA-B., 2c: HLA-Cw, 2d: HLA-DR.

Tab.: 2a

HLA-A	Chi-Square bei Haldane Modifikation			
	I-II	I-CAUC	II-CAUC	Ges-CAUC
1	0,163	0,745	0,196	0,664
2	0,050	0,370	0,149	0,377
3	1,306	8,393	2,894	7,759
9	0,026	0,276	0,625	0,673
10	1,915	0,495	1,043	0,078
11	0,454	1,459	0,251	1,155
19	0,266	14,415*	13,293*	22,953*
28	0,980	4,981	1,288	3,953
blanks	2,999	29,801*	14,367*	24,641*

Tab.: 2b

HLA-B	Chi-Square bei Haldane Modifikation			
	I-II	I-CAUC	II-CAUC	Ges-CAUC
5	2,045	0,136	2,129	0,598
7	0,000	0,599	0,710	0,991
8	3,113	0,155	3,508	1,100
12	0,773	0,077	2,002	1,309
13	4,861	8,430	0,051	3,242
14	0,020	0,230	0,125	0,319
15	0,685	2,164	0,371	1,690
16	0,416	1,022	0,100	0,705
17	1,344	5,683	1,124	4,019
18	7,918	2,084	19,947*	16,628*
21	0,003	0,110	0,088	0,201
22	0,042	3,970	5,913	8,802
27	0,030	6,569	6,600	9,435
35	4,287	2,961	0,591	0,214
37	5,964	4,598	0,563	0,490
40	2,189	2,669	0,002	0,873
41	2,679	2,066	7,381	7,844
53	0,450	3,585	2,261	5,026
blanks	0,829	3,902	11,493	11,485

Tab.: 2c

HLA-Cw	Chi-Square bei Haldane Modifikation			
	I-CAUC	II-CAUC	Ges-CAUC	
1	6,159	2,037	2,970	0,162
2	0,117	8,320	12,998	15,429
3	0,025	8,260	9,100	14,405
4	1,468	2,249	0,008	0,818
5	0,803	22,286*	33,093*	50,963*
6	6,260	26,594*	11,954	31,875*
7	2,640	87,383*	134,610*	213,254*
8	0,039	15,311*	17,558*	22,572*
blanks	1,541	153,241*	174,299*	284,874*

Tab.: 2d

HLA-DR	Chi-Square bei Haldane Modifikation
	II-CAUC
1	1,116
2	0,526
3	6,155
4	3,829
5	0,957
6	0,014
7	0,463
8	15,788*
blanks	3,407

Tab. 3: Testergebnisse zur Phänotypen- bzw. Gen-Frequenz bei klinisch gesunden Blutspendern des Einzugsgebietes Graz/Umgebung (Tabelle 3a: HLA-A., 3b: HLA-B., 3c: HLA-Cw., 3d: HLA-DR). In der Gegenüberstellung der Reaktionen des Testpanels (TP)-Leiden mit dem Sammelergebnis der Serumpanelle I und II (TP-gesamt) kommt die Diskrepanz der „blank“-Bestimmungen deutlich zum Ausdruck. In der rechten Spalte ist die externe Kontrollgruppe (Cauc.) dargestellt (2).

Tab.: 3a

HLA-A	L (n=231)	TP Leiden %	Gen-Freq.	Ges (n=766)	TP gesamt %	Gen-Freq.	(n=1081)	CAUC %	Gen-Freq.
1	55	23,81	0,1271	189	24,67	0,1321	285	26,38	0,1420
2	93	40,26	0,2271	368	48,04	0,2792	535	49,45	0,2890
3	67	29,00	0,1574	234	30,55	0,1666	267	24,66	0,1320
9	50	21,65	0,1148	181	23,63	0,1261	238	22,03	0,1170
10	26	11,26	0,0580	91	11,88	0,0613	124	11,45	0,0590
11	27	11,69	0,0603	81	10,57	0,0543	132	12,20	0,0630
19	34	14,72	0,0765	134	17,49	0,0917	293	27,07	0,1460
28	9	3,90	0,0197	92	12,01	0,0620	99	9,18	0,0470
Summe blanks			0,8408			0,9733			0,9950
			0,1592			0,0267			0,0050
n	231		1,0000	766		1,0000	1081		1,0000

Tab.: 3b

HLA-B	L (n=231)	TP Leiden %	Gen-Freq.	Ges (n=766)	TP gesamt %	Gen-Freq.	(n=1066)	CAUC %	Gen-Freq.
5	30	12,99	0,0672	131	17,10	0,0895	168	15,73	0,0820
7	57	24,68	0,1321	181	23,63	0,1261	231	21,68	0,1150
8	30	12,99	0,0672	155	20,23	0,1069	195	18,28	0,0960
12	40	17,32	0,0907	165	21,54	0,1142	254	23,79	0,1270
13	13	5,63	0,0285	60	7,83	0,0400	61	5,72	0,0290
14	10	4,33	0,0219	50	6,53	0,0332	77	7,26	0,0370
15	28	12,12	0,0626	85	11,10	0,0571	140	13,14	0,0680
16	18	7,79	0,0398	59	7,70	0,0393	94	8,80	0,0450
17	18	7,79	0,0398	62	8,09	0,0413	61	5,72	0,0290
18	16	6,93	0,0353	40	5,22	0,0265	114	10,70	0,0550
21	9	3,90	0,0197	40	5,22	0,0265	61	5,72	0,0290
22	8	3,46	0,0175	20	2,61	0,0131	59	5,52	0,0280
27	15	6,49	0,0330	82	10,70	0,0550	71	6,68	0,0340
35	33	14,29	0,0742	159	20,76	0,1098	212	19,90	0,1050
37	0	0,00	0,0000	20	2,61	0,0131	34	3,17	0,0160
40	29	12,55	0,0649	77	10,05	0,0516	122	11,45	0,0590
41	1	0,43	0,0022	2	0,26	0,0013	19	1,79	0,0090
53	1	0,43	0,0022	1	0,13	0,0007	11	1,00	0,0050
Summe blanks			0,7985			0,9452			0,9680
			0,2015			0,0548			0,0320
n	231		1,0000	766		1,0000	1066		1,0000

Tab.: 3c

HLA-Cw	L (n=231)	TP Leiden %	Gen-Freq.	Ges (n=766)	TP gesamt %	Gen-Freq.	(n=1053)	CAUC %	Gen-Freq.
1	1	0,43	0,0022	53	6,92	0,0352	68	6,49	0,0330
2	21	9,09	0,0465	106	13,84	0,0718	85	8,03	0,0410
3	3	1,30	0,0065	125	16,32	0,0852	249	23,61	0,1260
4	24	10,39	0,0534	181	23,63	0,1261	230	21,85	0,1160
5	0	0,00	0,0000	21	2,74	0,0138	140	13,32	0,0690
6	16	6,93	0,0353	56	7,31	0,0372	173	16,46	0,0860
7	0	0,00	0,0000	23	3,00	0,0151	450	42,70	0,2430
8	0	0,00	0,0000	0	0,00	0,0000	76	7,26	0,0370
Summe blanks			0,1438			0,3845			0,7510
			0,8562			0,6155			0,2490
n	231		1,0000	766		1,0000	1053		1,0000

Tab.: 3d

HLA-DR	III (n=231)	TP Leiden %	Gen-Freq.	(n=436)	TP gesamt %	Gen-Freq.	(n=963)	CAUC %	Gen-Freq.
1	36	15,58	0,0812	89	20,41	0,1079	174	18,10	0,0950
2	73	31,60	0,1730	135	30,96	0,1691	280	29,10	0,1580
3	36	15,58	0,0812	125	28,67	0,1554	217	22,56	0,1200
4	31	13,42	0,0695	83	19,04	0,1002	229	23,79	0,1270
5	78	33,77	0,1862	105	24,08	0,1287	256	26,56	0,1430
6	55	23,81	0,1271	91	20,87	0,1105	204	21,15	0,1120
7	46	19,91	0,1051	91	20,98	0,1105	217	22,56	0,1200
8	7	3,03	0,0153	0	0,00	0,0000	57	5,91	0,0300
Summe blanks			0,8386			0,8822			0,9050
			0,1614			0,1178			0,0950
n	231		1,0000	436		1,0000	963		1,0000

gleich 1 sein muß, wurden die Gen-Frequenzen jedes HLA-Locus addiert und mit Hilfe des G-Testes die Signifikanz einer Abweichung in den einzelnen Gruppen berechnet.

## Resultate

In Tabelle 1 (a-d, HLA-A, HLA-B, HLA-Cw, HLA-DR) sind die Untersuchungsergebnisse bezüglich der Antigen-Frequenzen bei klinischen gesunden Blutspendern des Einzugsgebietes Graz/Umgebung aufgelistet (% von n des jeweiligen Testpanels) und die errechneten Gen-Frequenzen angegeben.

Die unter „Methodik“ beschriebenen Testpaneele sind bezüglich I und II sowohl einzeln als auch in ihrer Gesamtheit (TP gesamt) aufgeschlüsselt und dem europäischen Kontrollkollektiv (Cauc.) gegenübergestellt (letzte Spalte re.; 1,2).

Bei der tabellarischen Auflistung sind die „Splits“ (Antigenunterteilungen) der HLA-Merkmale (erste Spalte der Tabellen) dem Hauptantigen subsummiert und nicht gesondert ausgewiesen.

Die Verhältnisse der Antigenhäufigkeiten im Gruppenvergleich der Serumpaneele I und II sowie im Vergleich zur externen Bezugsgruppe der Europiden (Cauc., 2) sind in Tabelle 2 (a-d) angeführt. Es sind die mittels Vierfelder-Test errechneten statistischen Signifikanzen von Abweichungen der relativen Häufigkeit von 1 angegeben. Bei 184 (46 x 4) Vergleichen errechnete sich für  $p < 0,05$  (0,05:184 →  $p < 0,0002717$ ) die Signifikanzschwelle bei  $\chi^2 > 13,263$ . Statistisch signifikante Abweichungen sind in der Tabelle mittels Fettdruck und \* gekennzeichnet.

Wegen der hohen Anteile von „blanks“ (= 1 - Summe der Gen-Frequenzen) im Serumpanel III (TP-Leiden) (Tabelle 3a-3d) wurde dieses Set von Diagnoseseren gesondert beurteilt und nicht dem Gesamtkollektiv zugerechnet.

Die zusammengerechneten Untersuchungsergebnisse der Serumpaneele I und II (= TP gesamt, Tabelle 3, n = 766) wurden sodann neben der externen Kontrollgruppe dem „Testpanel Leiden“ (= III, n = 231) gegenübergestellt, um Hinweise darauf zu erhalten, wie sehr sich qualitative Unterschiede verschiedener Antiserum-Testpaneele auf die Ermittlung bezüglich Antigen- bzw. Gen-Frequenzen auswirken.

Die Ergebnisse dieser Gruppenvergleiche (TP-Leiden gegen TP gesamt bzw. gegen externe Kontrollgruppen der Europiden) sind in Tabelle 4 (a-d) dargestellt. Bei den hierbei durchgeführten 92 (46 x 2) Vergleichen fand sich für  $p < 0,05$  (0,05:92 →  $p < 0,0005434$ ) die Signifikanzschwelle bei  $\chi^2 > 11,950$ .

Tab. 4: (a bis d: HLA-A-, B, Cw, DR) Verhältnisse der Antigenhäufigkeiten im Gruppenvergleich: TP-Leiden zu TP I/II (gesamt) bzw. zur externen Kontrollgruppe (Cauc.). Statistisch signifikante Abweichungen der relativen Incidence von 1 sind mittels \* und Fettdruck gekennzeichnet (Signifikanzschwelle:  $\chi^2 > 11,950$ ).

Tab.: 4a

HLA-A	Chi-Square bei Haldane Modifikation	
	L-Ges	L-CAUC
1	0,060	0,607
2	4,295	6,448
3	0,186	1,927
9	0,362	0,008
10	0,045	0,001
11	0,280	0,028
19	0,908	14,947*
28	11,666	6,458
blanks	87,758*	127,999*

Tab.: 4b

HLA-B	Chi-Square bei Haldane Modifikation	
	L-Ges	L-CAUC
5	2,109	1,038
7	0,124	1,055
8	5,948	3,561
12	1,857	4,439
13	1,136	0,001
14	1,351	2,308
15	0,231	0,133
16	0,012	0,191
17	0,007	1,630
18	1,129	2,780
21	0,546	1,062
22	0,644	1,454
27	3,365	0,000
35	4,614	3,729
37	6,139	7,256
40	1,280	0,285
41	0,564	1,989
53	1,433	0,451
blanks	75,864*	133,556*

Tab.: 4c

HLA-Cw	Chi-Square bei Haldane Modifikation	
	L-Ges	L-CAUC
1	11,396	10,791
2	3,415	0,338
3	24,591*	34,853*
4	17,914*	14,797*
5	6,390	17,971*
6	0,017	12,704*
7	6,875	33,891*
8	0,715	12,656*
blanks	21,342*	90,354*

Tab.: 4d

HLA-DR	Chi-Square bei Haldane Modifikation	
	L-Ges	L-CAUC
1	2,245	0,728
2	0,032	0,601
3	13,672*	5,205
4	3,264	11,273
5	7,120	4,839
6	0,791	0,811
7	0,075	0,694
8	10,053	2,782
blanks	4,726	15,903*

## Diskussion

Bei Durchsicht der Ergebnisse fällt die Quantität der „blank“-Bestimmungen besonders auf. Unter blank-Bestimmung versteht man die Nichtbestimmbarkeit eines Antigens, wobei hierbei die qualitativen Eigenschaften des verwendeten Testpanels bzw. Testpaneelelücken im Vordergrund stehen und genetisch determinierte homozygote Zustandsbilder bzw. bisher noch nicht definierte Antigene weitestgehend in den Hintergrund rücken dürften.

Die bisweilen sehr ausgeprägte Qualitäts- und Spezifitätslücke ausschließlich gekaufter bzw. kostenlos überlas-

sener Antiseren müßte sicherlich bei der Ergebnisbeurteilung derartiger Untersuchungen berücksichtigt werden, zumal die „blank“-Bestimmungen naheliegenderweise Auswirkungen auf die solcherart erarbeitenden Frequenzanalysen haben.

Im vorgestellten Fall hatte der Frequenzunterschied bei „blank“-Bestimmungen im Testvergleich der Serumpaneele (TP-Leiden: TP gesamt) im Bereich des HLA-A-locus ein Ausmaß von 15,92% zu 2,67% (Gen-Frequenz), im HLA-A-locus war der Unterschied 20,15% zu 5,48%, im HLA-DR-locus 16,14 zu 11,78%. Diesbezügliche Angaben im Hinblick auf den HLA-Cw-locus (85,62% zu 61,55%) sind nicht sehr sinnvoll weil die Definition der HLA-Cw-Antigene auch heute noch sehr problematisch ist und in der vorliegenden Arbeit nur die Angaben zu den Merkmalen Cw1 bis Cw4 verwertbar erscheinen.

Wegen der offensichtlichen Qualitätsunterschiede der Serumpaneele I und II gegenüber III hinsichtlich der Antigendefinitionen wurden die Testergebnisse des Testpanel-Leiden nicht im Gesamtergebnis der Serumgruppe subsummiert, sondern zu Vergleichszwecken und zur Gewichtung des dargestellten Problems (HLA-Antigenfrequenzanalytik und Testpanelqualität) gesondert betrachtet.

Vor diesem Hintergrund scheint es bemerkenswert wie gering die statistisch signifikanten Abweichungen in der Antigenhäufigkeit im Gruppenvergleich ausfallen. Sie betreffen hier die Merkmale HLA-Aw19, HLA-B18, HLA-Cw2 bis Cw8 sowie HLA-DR8. Dieser Umstand erscheint nicht sehr überraschend zumal die genannten Antigene auch nach der letzten Nomenklaturkonferenz (1987, Ergebnisse im Druck) serologisch unscharf definiert bleiben. Auf Basis dessen waren auch in der vorliegenden Arbeit die genannten Antigene mittels der verwendeten Antiseren nicht sehr eng definiert, so daß bei den vorhandenen Polyspezifitäten der Antiseren sicherlich manche Kreuzreaktionen überbewertet wurden und die solcherart aufgezeichneten statistisch signifikanten Veränderungen nicht so sehr auf Genfrequenzabweichungen als vielmehr auf methodisch-serologische Unzulänglichkeiten zurückzuführen sein dürften.

Die untersuchten Probandenkollektive erscheinen als durchaus vergleichbar, auch wenn sie aus organisatori-

schen Gründen (z. B. Diagnoseantiserenbeschaffung) nacheinander und nicht untereinander vergleichend typisiert wurden.

Als Resümee der hier vorgestellten Ergebnisse bzw. Erfahrungen kommt zum Ausdruck, daß die Berechnung von Krankheitsassoziationen zu HLA-Merkmalen auch im lokalen Bereich durchaus möglich ist, jedoch der qualitative Standard der verwendeten Antiseren bei diesen Berechnungen immer ins Kalkül gezogen werden muß. Die qualitative Unzulänglichkeit bei ausschließlicher Abhängigkeit von käuflich erworbenen Antiseren kommt abermals zum Ausdruck und läßt das sehr aufwendige Antikörperscreening für qualitätsbewußte HLA-Laboratorien als unverzichtbar erscheinen.

#### Danksagung

Für die technische Assistenz bei der vorliegenden Arbeit sei den MTA's Maria Banfai, Priska Fischer-Kopetzky und Marion Herzl herzlich gedankt.

#### Schrifttum:

1. ALBERT, E. D., BAUR, M. P., MAYR, W. R. (Ed.): Histocompatibility-Testing 1984. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo (1984).
2. BAUR, M. P., NEUGEBAUER, M., DEPPE, H., SIGMUND, M., LUTON, T., MAYR, W. R., ALBERT, E. D.: Population analysis on the basis of deduced haplotypes from random families. In: Histocompatibility-Testing 1984. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo. 333-341 (1984).
3. DAUSSET, J. B., SVEJGAARD, A. (Ed.): HLA and Disease. Munksgaard, Copenhagen (1977).
4. HALDANE, J. B. S.: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies. Ann. Hum. Genet. 20, 307-311 (1956).
5. LANZER, G.: Immunologische und transplantationsbiologische Untersuchungen an Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Wiener Med. Wochr. 135, 89 (1985).
6. TERSAKI, P. J., McCLELLAND, J. C., PARK, M. S., McCURDY, B.: Microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. In: Manual of Tissue Typing Techniques. DHEW publ. (NIH) 74-545 (1973).
7. TIWARI, J. L., TERSAKI, P.: HLA and Disease Associations. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo (1985).
8. WERNET, CH., KLOUDA, P. T., CARREA, M. C., VASSALI, P., JEANNET, M.: Isolation of Band T-lymphocytes by nylon filter columns. Tissue Antigens 9, 227 (1977).
9. WOOLF, B.: On estimating the relation between blood group and disease. Ann. Hum. Genet. 19, 251-253 (1955).

#### Anschrift für die Autoren:

Doz. Dr. G. Lanzer  
Medizinische Universitätsklinik  
Auenbruggerplatz 15  
A-8036 Graz

# Magic® Lite LIA

Lichtblicke im Labor

# Schilddrüse

- Magnetische Trennung
- Nicht-isotopischer Marker
- Stabiles Luminogen (9 Mon./4°C)
- Meßzeit etwa 1 Sekunde
- Komplettes offenes System — keine Bindung an nur einen Hersteller

## CIBA-CORNING

Ciba Corning Diagnostics GmbH  
Industriestraße 11, 6301 Fernwald 2  
Telefon 0641/40 03-0