

## HLA-B27 Mutationsanalytik

### Bezeichnung

HLA B\*27

### Synonym

Human Leukocyte Antigen (Isotyp) B (Variante) 27

### Handelsname

Keiner

### Pathophysiologie

Die Proteine des MHC Komplex Klasse 1 spielen eine Rolle in der Antigen Präsentation des erworbenen Immunsystems. Zusammen mit dem  $\beta$ 2-Microglobulin präsentieren sie aus der Zelle exportierte "nicht-selbst"-Antigenen den immunkompetenten Zellen, besonders den zytotoxischen CD-8 T-Zellen. Im MHC-Klasse I-Komplex finden sich drei HLA (Iso-)Typen: HLA-A, HLA-B und HLA-C.

Die Proteine der HLA-B Klasse werden auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 an der Sequenzstelle 21.3 codiert (6p21.3). Beide Allele (eines von der Mutter, das andere vom Vater) werden koexprimiert, so dass für einen Isotyp gleichzeitig 2 verschiedenen Varianten mit Subklassen gleichzeitig auf der Zelloberfläche exprimiert werden können. Somit eignen sich die HLA-Klassen nicht nur für Vaterschaftstest sondern auch für Studien von Migrationswegen.

Auf Grund eines extremen genetischen Polymorphismus existiert eine sehr große Zahl an HLA-Phänotypen. Für HLA-B sind fast 3000 unterschiedliche Allele beschrieben worden und allein vom HLA-B\*27-Allel gibt es 130 Subtypen (B\*27:01 - B\*27:105), die sich jeweils nur in wenigen Basen unterscheiden. Diese Varianten führen zu einer unterschiedlichen Antigenerkennung und Antigenverarbeitung.

Diese HLA-B Varianten können mit verschiedenen Erkrankungen assoziiert sein (siehe [HLA-B\\*57:01](#)), z.B. HLA-B\*51 mit der Behcet-Erkrankung; HLA-B\*15:02 (Carbamazepin-Empfindlichkeit) oder HLA-B\*58:01 (Allopurinol-Empfindlichkeit) mit dem Steven-Johnson-Syndrom und HLA-B27 mit Spondyloarthritis.

In der europäischen Bevölkerung findet sich diese genetische HLA-Variante 27 (HLA-B\*27) in einer Häufigkeit von etwa 8%, wobei sie regional stärker oder schwächer exprimiert sein kann. Es besteht global ein deutliches Nord/Süd-Gefälle in der Häufigkeitsverteilung, wobei in den nördlichen Ländern die Häufigkeit steigt. Die diagnostische Bedeutung dieses Gens liegt darin, dass seine Expression sehr stark mit dem Erkrankungsrisiko für bestimmte Autoimmunerkrankungen assoziiert ist, speziell mit der rheumatoiden Arthritis und einigen Spondyloarthritis.

Im B\*27 Gen selber finden sich zusätzlich ca. 145, meist nur in einer Nukleinsäure unterschiedliche, Varianten. Nicht alle Varianten werden als Protein exprimiert. Insgesamt geht man von mindestens circa 132 Allelen aus, welche in der Sequenz der Exone-2 und -3 des HLA\*B27 Gens unterschiedlich kodiert sind. Wobei das Allel HLA-B\*27:0502 das häufigste Allel ist und wahrscheinlich die "Urform" des HLA-B\*27 darstellt.

Nicht alle Allele sind mit Spondyloarthritis assoziiert, so nicht die Allele HLA-B\*27:06 und HLA-B\*27:09. Die HLA-B27 Allele weisen in ihrer HLA-B27-Proteinstruktur eine bei allen Allelen identische P2 "B"-Tasche. In der P9 "F"-Tasche unterscheiden sich die Allele HLA-B\*27:06 und HLA-B\*27:09 von den anderen Allelen, was möglicherweise die Nicht-Assoziation mit Spondyloarthritis erklärt.

Funktionell scheint das HLA-B27 Protein im Vergleich zu den anderen HLA Proteinen der Klasse 1 mit besonders hoher Affinität spezielle virale Antigene zu binden und dadurch eine effektive Immunantwort gegenüber Viren zu triggern. HIV-infizierte Personen mit Expression eines HLA-B27 Allels zeigen einen deutlich verspäteten Ausbruch von AIDS.

### Indikation

Personen, bei welchen ein HLA-B27 Allel exprimiert ist, haben im Vergleich zu solchen ohne dieses Allel ein deutlich erhöhtes Risiko für einige Autoimmunerkrankungen, besonders für seronegative Spondyloarthritis.

Die HLA-B27-Bestimmung ist keinesfalls ein Suchtest, sondern wird vorrangig zur differentialdiagnostischen Abklärung bei bestehender Verdachtssymptomatik eingesetzt. Sie ist aber ebenso von Relevanz bei der Erkennung von Frühformen und atypischen Verläufen. So sind z.B. 90% der an M. Bechterew erkrankten Patienten HLA-B27 positiv. Andererseits entwickelt aber nur ein kleiner Teil der HLA-B27 Genträger eine solche Erkrankung. Nur 6-7% der Personen mit einem HLA-B27 Allel erkranken an einem M. Bechterew. Im Folgenden sind die

wichtigsten Autoimmunerkrankungen mit einer starken HLA-B27 Assoziation und dem entsprechenden %-Anteil der Erkrankten mit positivem HLA-B27 Allel aufgeführt:

- Spondylitis Ankylosans (Morbus Bechterew, 90-95%),
- Morbus Reiter (70-85%), Psoriasis-Arthritis (60-70%),
- juvenile idiopathische Arthritis (75%),
- rheumatoide Arthritis (10%),
- Uveitis, Iritis oder Iridozyklitis (etwa 50%).

Der Nachweis eines HLA-B27 Allels ist daher **bei entsprechender klinischer Symptomatik** ein Kriterium in der Differentialdiagnostik von Autoimmunerkrankungen. Ferner ist der Nachweis ein wichtiges Hilfsmittel zur Erkennung von Frühformen und atypischen Verläufen des M. Bechterew. Inzwischen sind mehr als 100 Subtypen des HLA-B27 Gens definiert worden (HLA-B27:01 bis HLA-B27:86). Nicht alle diese Subtypen werden von den verfügbaren molekulargenetischen oder zytometrischen Methoden erfasst. Bei dem im ZE Klin. Chem. für die molekulargenetische HLA-B27-Analyse zum Einsatz kommenden Mikroarray-Testsystem sind die HLA-B\*27-Primer so ausgewählt und optimiert worden, dass alle bisher bekannten HLA-B\*27-Untertypen erfasst werden. Weiterhin wird im positiven Fall angezeigt, ob es sich um die Subtypen HLA-B\*27:06 oder HLA-B\*27:09 handeln könnte, die beide nicht mit dem Auftreten der Spondylitis ankylosans assoziiert sind.

Der Nachweis der HLA-B27-Allele beruht auf einer Sequenzspezifischen HLA-B27-PCR und einer anschließenden Analyse der entstandenen PCR-Produkte auf dem DNA-Mikroarray: Im ersten Analyseschritt werden unter Verwendung zweier Primerpaare mit Hilfe der PCR zwei Abschnitte (Exon 2 und Exon 3) des HLA-B-Gens vervielfältigt. Eine Amplifizierung der HLA-B-Genabschnitte erfolgt nur, falls ein HLA-B\*27-Allel in der Probe vorliegt. Zu jedem HLA-B\*27-Allel passt mindestens eines der beiden Primerpaare (Exon 2- und/oder Exon 3-Primerpaar), so dass mit dem Test alle HLA-B\*27-Allele erfasst werden. Alle häufigen HLA-B\*27-Allele werden mit beiden Primerpaaren vervielfältigt. Die nicht mit dem Auftreten der Spondylitis ankylosans assoziierten B\*27-Allele B\*27:06 und B\*27:09 sowie einige weitere seltene B\*27-Allele ergeben nur für Exon 2 ein positives Ergebnis. Einige andere seltene B\*27-Allele geben nur für Exon 3 ein positives Ergebnis.

<b>B27 Subtyp</b>	<b>Ethnische Verteilung</b>	<b>Assoziation mit AS</b>
B*27:05	In überwiegend allen ethnischen Gruppen	Ja
B*27:02	Kaukasier, Zentral Amerika, Amerikanische Ureinwohner	Ja
B*27:03	Afrikaner	Ja
B*27:04	Asiaten	Ja
<b>B*27:06</b>	Asiaten	<b>Nein</b>
B*27:07	Kaukasier, Zypern, Mittlere Osten	Ja
B*27:08	Kaukasier, Zentral Amerik	Ja
<b>B*27:09</b>	Sardinien, Italien	<b>Nein</b>

Aus: Wen-Chan Tsai (2012). HLA-B27 and Ankylosing Spondylitis, Clinical and Molecular Advances in Ankylosing Spondylitis, Dr. Jacome Bruges-Armas (Ed.), ISBN: 978-953-51-0137-6, InTech, erhältlich von:

<http://www.intechopen.com/books/clinical-and-molecular-advances-in-ankylosing-spondylitis/hla-b27-and-ankylosing-spondylitis>

## Präanalytik

Probentransport und Abnahme:

Siehe hierzu die [Informationen](#) auf der Homepage der Zentralen Einrichtung Klinische Chemie. Hohe Heparin-Konzentrationen können die Polymerasekettenreaktion inhibieren, im Extremfall resultiert kein Amplifikat.

Bitte fügen Sie der Anforderung eine Einverständniserklärung des Patienten bei: ([Formular](#)).

### Hinweis

Das neue Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen (Gendiagnostikgesetz – GenDG) vom 24.04.2009 schreibt vor, dass genetische Analysen nur nach Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung der zu untersuchenden Person bzw. des Erziehungsberechtigten durchgeführt werden dürfen. Ferner muss vom anfordernden Arzt eine ausgiebige Aufklärung über die Bedeutung dieser Diagnostik durchgeführt werden.

## Einheit

Das Ergebnis wird qualitativ als positiv oder negativ ausgegeben; eine weitere Unterteilung zwischen homozygot/heterozygot erfolgt nicht.

## Probenmaterial

**Im EDTA-Vollblut**, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen (ggf. kann auch Citrat- oder Li-Heparin-Vollblut verwendet werden):



## Referenzbereiche und Interpretation

HLA-B27 negativ (Wildtyp)

Das im ZE Klin. Chem. für den molekulargenetischen HLA-B27-Nachweis zum Einsatz kommenden Mikroarray-Testsystem erfasst alle bekannten Subtypen des HLA-B\*27-Gens.

Findet sich eine HLA-B27 Variante auf einem Allel, so findet sich auf der Zelloberfläche auch der entsprechende HLA-B27-Protein-Komplex, das Ergebnis ist daher HLA-B27 positiv.

Die verwendete Methode zum HLA-B27-Nachweis kann einen Hinweis auf die mögliche Anwesenheit eines der beiden nicht mit der Spondylitis ankylosans assoziierten HLA-B27-Varianten (B\*27:06 bzw. B\*27:09) geben. Diese 2 Varianten sind Europa jedoch sehr selten (siehe oben).

Die beschriebenen unterschiedlichen Ergebnisse kommen durch die unterschiedlichen Sequenzspezifitäten der verwendeten Primerpaare zustande. Es ist **nicht** so, dass sich bestimmte HLA-B27 Varianten exklusiv nur im Exon-3 oder nur im Exon-2 finden.

Ergebnis	"HLA-B27-Variante in Exon-3"	"HLA-B27-Variante in Exon-2"	HLA-B27-Protein	Spondyloarthritiden möglich?
Negativ	Nein	Nein	Nein	Nein
Positiv	Ja	Ja	Ja	Ja
Positiv	Nein	Ja	Ja	eingeschränkt Ja, da möglicherweise die Varianten B*27:06 oder B*27:09* vorliegt.
Positiv	Ja	Nein	Ja	Ja

\*Die Varianten B\*27:06 oder B\*27:09 sind in Mitteleuropa selten. Die Häufigkeit des Auftretens dieser Varianten hängt daher stark von der Herkunft des Patienten ab (Siehe Tabelle weiter oben). In der Mitteleuropäischen Population ist daher das Vorliegen der Varianten B\*27:06 oder B\*27:09 unwahrscheinlich und das Vorliegen einer HLA-B27-assoziierten Erkrankung. assoziierten Variante wahrscheinlich.

Ein Ergebnis mit Exon-2 positiv und Exon-3 negativ bedeutet: HLA-B27-Protein vorhanden, bei der mitteleuropäischen Bevölkerung ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer HLA-B27-assoziierten Erkrankung möglich; z.B. in Sardinien hingegen eher unwahrscheinlich.

Ein Ergebnis mit Exon-2 positiv und Exon-3 positiv bedeutet: HLA-B27-Protein vorhanden, Auftretens einer HLA-B27-assoziierten Erkrankung möglich.

Bitte beachten Sie:

- Zwar sind die meisten mit einer Spondyloarthritis Erkrankten HLA-B27 positiv, aber nur maximal 25% der HLA-B27 positiven Patienten erkranken an einer Spondyloarthritis.
- HLA-B27 positiv bedeutet nicht automatisch Spondyloarthritis.
- Ausschlaggebend für die Diagnose ist die Klinik.

## Methode/Meßverfahren/Gerät

Seit dem 01.11.2013:

Im Thermocycler (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) erfolgt eine Amplifikation eines DNA-Fragments mittels geeigneter Primer durch die Polymerase-Kettenreaktion.

Im Anschluss erfolgt eine Hybridisierung an korrespondierenden Microarrays-Spots und nach mehreren Waschschrritten die Detektion über einen Microarray Scanner der Firma Euroimmun.

Bis zum 31.10.2013:

Im LightCycler (Fa.Roche) erfolgt eine Amplifikation eines DNA-Fragments durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Zur Detektion und Genotypisierung der amplifizierten Sequenz wird eine fluorogene zielspezifische Hybridisierung verwendet.

Inzwischen sind mehr als 30 Subtypen des HLA-B27 Gens definiert worden (HLA-B2701 bis HLA-B2728). Nicht alle diese Subtypen werden von den verfügbaren molekulargenetischen oder

zytometrischen Methoden erfasst. Die Light-Cycler Methode der ZE Klin. Chem. zur Detektion von HLA-B27 erfasst einige seltene Subtypen nicht. Der wichtigste davon ist HLA-B2707, dieser Subtyp ist in mediterranen und asiatischen Bevölkerungspopulationen relativ häufig ist (2-14% der HLA-B27 positiven Personen) und stark mit der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen (v.a. Spondylitis Ankylosans) assoziiert. In Nordeuropa ist dagegen diese Genvariante sehr selten (<2% der HLA-B27 positiven Personen). Bei entsprechendem klinischem Verdacht und einem negativen Ausfall der Expressionsanalytik für HLA-B27 muss daher ggf. eine Gensequenzierung durchgeführt werden, speziell bei Patienten aus dem mediterranen oder asiatischen Raum. Im Gegensatz zur zytometrischen Methodik, bei welcher Kreuzreaktivitäten mit anderen, stark homologen HLA-Klasse I Antigenen auftreten, sind aber falsch positive Ergebnisse praktisch ausgeschlossen

### **Analysenfrequenz**

1 x wöchentlich