

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20					
at	211796_s_...	Hs.419777	Homo sapiens T cell receptor beta chain BV20S1 BJ1-5 BC1 mRNA, complete cds	1	33,3
at	211841_s_TNFRSF2	Hs.299558	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25	0	61,6
at	211902_x_...	---	---	0	89,65
at	212400_at_...	Hs.460208	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586A0618 (from clone0)	0	13,45
at	212414_s_SEPT6	Hs.90998	septin 6	0	56,4
at	213193_x_...	Hs.419777	Homo sapiens T cell receptor beta chain BV20S1 BJ1-5 BC1 mRNA, complete cds	1	62,9
at	213534_s_PASK	Hs.397891	PAS domain containing serine/threonine kinase	0	46,15
at	213539_at_CD3D	Hs.95327	CD3D antigen, delta polypeptide (TIT3 complex)	0	74,25
at	213587_s_C7orf32	Hs.351612	chromosome 7 open reading frame 32	0	88,7
at	213906_at_MYBL1	Hs.300592	v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like 1	0	23,85
at	213958_at_CD6	Hs.436949	CD6 antigen	0	149,4
at	214032_at_ZAP70	Hs.234569	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0	84,8
at	214049_x_CD7	Hs.36972	CD7 antigen (p41)	0	26,65
at	214470_at_KLRB1	Hs.169824	killer cell lectin-like receptor subfamily B, member 1	0	240,6
at	214551_s_CD7	Hs.36972	CD7 antigen (p41)	0	59,2
at	214617_at_PRF1	Hs.2200	perforin 1 (pore forming protein)	0	77,7
at	215967_s_LY9	Hs.403857	lymphocyte antigen 9	0	117,8
at	216920_s_TRG@	Hs.385086	T cell receptor gamma locus	0	156,75
at	216945_x_PASK	Hs.397891	PAS domain containing serine/threonine kinase	0	57,7
at	217147_s_TRIM	Hs.138701	T-cell receptor interacting molecule	0	32,65
at	217838_s_EVL	Hs.241471	Enah/Vasp-like	0	76,4
at	217950_at_NOSIP	Hs.7236	nitric oxide synthase interacting protein	0	125,8
at	218237_s_SLC38A1	Hs.132246	solute carrier family 38, member 1	0	69,9
at	219423_x_TNFRSF2	Hs.299558	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25	0	74
at	219528_s_BCL11B	Hs.57987	B-cell CLL/lymphoma 11B (zinc finger protein)	0	25
at	219541_at_FLJ20406	Hs.149227	hypothetical protein FLJ20406	0	141,55
at	219812_at_STAG3	Hs.323634	stromal antigen 3	0	6,5

24/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20					
at	204007_at_FCGR3A	Hs.372679	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor for (CD16)	0	57
at	204307_at_KIAA032	Hs.11711	KIAA0329 gene product	0	54,7
at	204308_s_KIAA032	Hs.11711	KIAA0329 gene product	1	88,8
at	204351_at_S100P	Hs.2962	S100 calcium binding protein P	0	94,1
at	204409_s EIF1AY	Hs.461178	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	0	24
at	204542_at_STHM	Hs.288215	sialyltransferase	0	131
at	204669_s_RNF24	Hs.30524	ring finger protein 24	0	87
at	205033_s_DEFA1	Hs.511887	defensin, alpha 1, myeloid-related sequence	0	71,7
at	205220_at_HM74	Hs.458425	putative chemokine receptor	0	77,95
at	205227_at_IL1RAP	Hs.143527	interleukin 1 receptor accessory protein	0	46,8
at	205403_at_IL1R2	Hs.25333	interleukin 1 receptor, type II	1	62,85
at	205645_at_REPS2	Hs.334168	RALBP1 associated Eps domain containing 2	1	46,35
at	205920_at_SLC6A6	Hs.1194	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, taurine), member 6	0	114
at	206177_s_ARG1	Hs.440934	arginase, liver	0	27,2
at	206208_at_CA4	Hs.89485	carbonic anhydrase IV	0	47,9
at	206222_at_TNFRSF10C	Hs.119684	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10c, decoy without an intracellular domain	0	39,7
at	206515_at_CYP4F3	Hs.106242	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 3	0	28,6
at	206522_at_MGAM	Hs.122785	maltase-glucoamylase (alpha-glucosidase)	0	54,8
at	206676_at_CEACA8	Hs.41	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8	0	98,9
at	206765_at_KCNJ2	Hs.1547	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	1	108,5
at	206877_at_MAD	Hs.379930	MAX dimerization protein 1	0	92,05

26/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20					
at	220418_at_UBASH3A	Hs.183924	ubiquitin associated and SH3 domain containing, A	0	92,4
at	221081_s_FLJ22457	Hs.447624	hypothetical protein FLJ22457	0	12,6
at	221558_s_LEF1	Hs.44865	lymphoid enhancer-binding factor 1	0	13,55
at	221756_at_MGC17330	Hs.26670	HGFL gene	0	141,6
at	221790_s_ARH	Hs.184482	LDL receptor adaptor protein	0	96,2
at	39248_at_AQP3	Hs.234642	aquaporin 3	0	18

Tabelle 2C:

Auswahlliste für Granulozyten-Markergene:

[0147] Die Gene wurden in allen untersuchten neutrophilen Granulozytenpopulationen-Populationen im Vergleich zu anderen Zelltypen oder nicht infiltrierten Geweben mindestens 8-fach erhöht exprimiert.

Affymetrix_ID	Gen Symbol	Unigene	Name	Auswahl	S_min
202018_s_	LTF	Hs.437457	lactotransferrin	0	231,75
202083_s_	SEC14L1	Hs.75232	SEC14-like 1 (S. cerevisiae)	1	25,6
202193_at	LIMK2	Hs.278027	LIM domain kinase 2	1	33,45
203434_s_	MME	Hs.307734	membrane metallo-endopeptidase (neutral endopeptidase, enkephalinase, CD10)	CALLA,0	54,7
203435_s_	MME	Hs.307734	membrane metallo-endopeptidase (neutral endopeptidase, enkephalinase, CD10)	CALLA,1	190,6
203691_at	PI3	Hs.112341	protease inhibitor 3, skin-derived (SKALP)	1	46,7
203936_s_	MMP9	Hs.151738	matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)	IV0	68,6
204006_s_	FCGR3A	Hs.372679	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor for (CD16)	0	77,9

25/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20					
at	206925_at_S1AT8D	Hs.308628	sialyltransferase 8D (alpha-2, 8-polysialyltransferase)	0	39,2
at	207008_at_IL8RB	Hs.846	interleukin 8 receptor, beta	1	43,6
at	207094_at_IL8RA	Hs.194778	interleukin 8 receptor, alpha	1	124,6
at	207275_s_FACL2	Hs.511920	fatty-acid-Coenzyme A ligase, long-chain 2	0	72,65
at	207384_at_PGLYRP	Hs.137583	peptidoglycan recognition protein	0	238,15
at	207387_s_GK	Hs.1466	glycerol kinase	0	47,7
at	207890_s_MMP25	Hs.290222	matrix metalloproteinase 25	1	72,3
at	207907_at_TNFSF14	Hs.129708	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14	0	92,8
at	208304_at_CCR3	Hs.506190	chemokine (C-C motif) receptor 3	0	32
at	208748_s_FLOT1	Hs.179986	flotillin 1	0	113,7
at	209369_at_ANXA3	Hs.442733	annexin A3	0	24
at	209776_s_SLC19A1	Hs.84190	solute carrier family 19 (folate transporter), member 1	0	74,95
at	210119_at_KCNJ15	Hs.17287	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 15	1	49,9
at	210244_at_CAMP	Hs.51120	cathelicidin antimicrobial peptide	0	228,9
at	210484_s_MGC31957	Hs.253829	hypothetical protein MGC31957	0	52,5
at	210724_at_EMR3	Hs.438468	egf-like module-containing mucin-like receptor 3	1	50,8
at	210773_s_FPRL1	Hs.99855	formyl peptide receptor-like 1	0	104,45
at	211163_s_TNFRSF10C	Hs.119684	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10c, decoy without an intracellular domain	1	85,1
at	211372_s_IL1R2	Hs.25333	interleukin 1 receptor, type II	0	110,8
at	211574_s_MCP	Hs.83532	membrane cofactor protein (CD46,0)	192,3	

27/62

at		trophoblast-lymphocyte cross-reactive antigen)			
213506_at	F2RL1	Hs.154299	coagulation factor II (thrombin) receptor-like 1	0	56,2
214455_at	HIST1H2BC	Hs.356901	histone 1, H2bc	0	25,85
215071_s_...	---	---	---	0	75
215719_x_...	TNFRSF6	Hs.82359	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6	0	37,6
215783_s_...	ALPL	Hs.250769	alkaline phosphatase, liver/bone/kidney	1	30,5
216316_x_...	---	---	---	0	72,65
216782_at	---	Hs.306863	Homo sapiens cDNA: FLJ23026 fis, clone LNG01738	0	50,45
216985_s_...	STX3A	Hs.82240	syntaxin 3A	0	59,2
217104_at	LOC283687	Hs.512015	hypothetical protein LOC283687	1	27,45
217475_s_...	LIMK2	Hs.278027	LIM domain kinase 2	0	27,05
217502_at	IFIT2	Hs.169274	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	0	109,9
217966_s_...	C1orf24	Hs.48778	chromosome 1 open reading frame 24	0	53,9
217967_s_...	C1orf24	Hs.48778	chromosome 1 open reading frame 24	0	68,6
218963_s_...	KRT23	Hs.9029	keratin 23 (histone deacetylase inducible)	0	64
219313_at	DKFZp434C0328	Hs.24583	hypothetical protein DKFZp434C0328	0	42,3
220302_at	MAK	Hs.148496	male germ cell-associated kinase	0	63,6
220404_at	GPR97	Hs.383403	G protein-coupled receptor 97	1	79,95

28/62

220528_at	VNN3	Hs.183656	vanin 3	1	59,2
220603_s_...	FLJ11175	Hs.33368	hypothetical protein FLJ11175	0	55,4
221345_at	GPR43	Hs.248056	G protein-coupled receptor 43	1	42,5
221920_s_...	MSCP	Hs.283716	mitochondrial solute carrier protein	0	47,8
41469_at	PI3	Hs.112341	protease inhibitor 3, skin-derived (SKALP)	0	39,4

Tabelle 3:

Auswahlbedingungen für Zelltyp-assoziierte Markergene:

Zelltyp	Selektivität	Unterschied der Signale
CD4+ T-Zellen	100%	8-fach
Monozyten	100%	4-fach
neutrophile Granulozyten	100%	8-fach

Tabelle 4

A) Anteile von verschiedenen Zelltypen im Synovialgewebe von RA-Patienten.

Spender	CD4+ Zellen	T-Monozyten	Granulozyten	normales Synovialgewebe
RA1	0,0470	0,0295	0,0092	0,9141
RA2	0,0735	0,0751	0,0067	0,8445
RA3	0,0096	0,0395	0,0100	0,9407
RA4	0,0281	0,0364	0,0088	0,9265
RA5	0,0268	0,0536	0,0087	0,9107
RA6	0,0035	0,0393	0,0066	0,9503
RA7	0,0113	0,0377	0,0085	0,9423
RA8	0,0270	0,0340	0,0075	0,9313
RA9	0,0192	0,0545	0,0093	0,9169
RA10	0,0071	0,0404	0,0090	0,9432

29/62

B) Anteile von verschiedenen Zelltypen im Synovialgewebe von OA-Patienten.

Spender	CD4+ Zellen	T-Monozyten	Granulozyten	normales Synovialgewebe
OA1	0,0006	0,0299	0,0073	0,9620
OA2	0,0004	0,0562	0,0058	0,9374
OA3	0,0016	0,0172	0,0067	0,9743
OA4	0,0003	0,0226	0,0070	0,9698
OA5	0,0016	0,0382	0,0078	0,9523
OA6	0,0002	0,0262	0,0058	0,9675
OA7	0,0013	0,0466	0,0076	0,9444
OA8	0,0006	0,0353	0,0062	0,9577
OA9	0,0018	0,0346	0,0058	0,9576
OA10	0,0018	0,0259	0,0064	0,9657

30/62

Tabelle 5

Gene ausgewählt nach Infiltrationsmerkmalen unter Bedingung 1.

Affymetrix_ID	Gen Symbol	Unigen	Name
202803_s_at	ITGB2	Hs.375957	integrin, beta 2 (antigen CD18 (p95), lymphocyte function-associated antigen 1; macrophage antigen 1 (mac-1) beta subunit)
202833_s_at	SERPINA1	Hs.297681	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1
202855_s_at	SLC16A3	Hs.386678	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 3
202917_s_at	S100A8	Hs.416073	S100 calcium binding protein A8 (calgranulin A)
203047_at	STK10	Hs.16134	serine/threonine kinase 10
203281_s_at	UBE1L	Hs.16695	ubiquitin-activating enzyme E1-like
203388_at	ARRB2	Hs.435811	arrestin, beta 2
203485_at	RTN1	Hs.99947	reticulin 1
203528_at	SEMA4D	Hs.511748	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4D
203535_at	S100A9	Hs.112405	S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B)
203828_s_at	NK4	Hs.943	natural killer cell transcript 4
204116_at	IL2RG	Hs.84	interleukin 2 receptor, gamma (severe combined immunodeficiency)
204118_at	CD48	Hs.901	CD48 antigen (B-cell membrane protein)
204192_at	CD37	Hs.153053	CD37 antigen
204198_s_at	RUNX3	Hs.170019	runx-related transcription factor 3
204220_at	GMFG	Hs.5210	glia maturation factor, gamma
204563_at	SELL	Hs.82848	selectin L (lymphocyte adhesion molecule 1)
204661_at	CDW52	Hs.276770	CDW52 antigen (CAMPATH-1 antigen)
204698_at	ISG20	Hs.105434	interferon stimulated gene 20kDa
204860_s_at	---	Hs.508565	Homo sapiens transcribed sequence with strong similarity to protein sp:Q13075 (H.sapiens) BIR1_HUMAN Baculoviral IAP repeat-containing protein 1 (Neuronal apoptosis inhibitory protein)
204891_s_at	LCK	Hs.1765	lymphocyte-specific protein tyrosine kinase
204949_at	ICAM3	Hs.353214	intercellular adhesion molecule 3
204959_at	MNDA	Hs.153837	myeloid cell nuclear differentiation antigen
204960_at	PTPRCAP	Hs.155975	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C-associated protein
204961_s_at	NCF1	Hs.458275	neutrophil cytosolic factor 1 (47kDa, chronic granulomatous disease, autosomal 1)
205174_s_at	QPCT	Hs.79033	glutamyl-peptide cyclotransferase

31/62

205237_at	FCN1	Hs.440898	(glutaminy cyclase)
205285_s_at	FYB	Hs.276506	ficolin (collagen/fibrinogen domain containing) 1
205312_at	SPI1	Hs.157441	FYN binding protein (FYB-120/130) spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene sp1
205590_at	RASGRP1	Hs.189527	RAS guanyl releasing protein 1 (calcium and DAG-regulated)
205639_at	AOAH	Hs.82542	acyloxycetyl hydrolase (neutrophil)
205681_at	BCL2L1	Hs.227817	BCL2-related protein A1
205798_at	IL7R	Hs.362807	interleukin 7 receptor
205831_at	CD2	Hs.89476	CD2 antigen (p50), sheep red blood cell receptor
205885_s_at	ITGA4	Hs.145140	integrin, alpha 4 (antigen CD49D, alpha 4 subunit of VLA-4 receptor)
205936_s_at	HK3	Hs.411695	hexokinase 3 (white cell)
206011_at	CASP1	Hs.2490	caspase 1, apoptosis-related cysteine protease (interleukin 1, beta, convertase)
206082_at	HCP5	Hs.511759	HLA complex P5
206296_x_at	MAP4K1	Hs.95424	mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 1
206337_at	CCR7	Hs.1652	chemokine (C-C motif) receptor 7
206470_at	PLXNC1	Hs.286229	plexin C1
206925_at	SIAT8D	Hs.308628	sialyltransferase 8D (alpha-2, 8-polysialyltransferase)
206978_at	CCR2	Hs.511794	chemokine (C-C motif) receptor 2
207104_x_at	LILRB1	Hs.149924	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 1
207238_s_at	PTPRC	Hs.444324	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
207339_s_at	LTB	Hs.376208	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)
207419_s_at	RAC2	Hs.301175	ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 (rho family, small GTP binding protein Rac2)
207522_s_at	ATP2A3	Hs.5541	ATPase, Ca++ transporting, ubiquitous
207540_s_at	SYK	Hs.192182	spleen tyrosine kinase
207610_s_at	EMR2	Hs.137354	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like sequence 2
207677_s_at	NCF4	Hs.196352	neutrophil cytosolic factor 4, 40kDa
207697_x_at	LILRB2	Hs.306230	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 2
208018_s_at	HCK	Hs.89555	hemopoietic cell kinase
208450_at	LGALS2	Hs.113987	lectin, galactoside-binding, soluble, 2 (galactin 2)
208885_at	LCP1	Hs.381099	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)
209083_at	CORO1A	Hs.415067	coronin, actin binding protein, 1A
209201_x_at	CXCR4	Hs.421986	chemokine (C-X-C motif) receptor 4
209670_at	TRA@	Hs.74647	T cell receptor alpha locus

32/62

209671_x_at	TRA@	Hs.74647	T cell receptor alpha locus
209813_x_at	TRG@	Hs.407442	T cell receptor gamma locus
209879_at	SELP.LG	Hs.423077	selectin P ligand
209901_x_at	AIF1	Hs.76364	allograft inflammatory factor 1
209949_at	NCF2	Hs.949	neutrophil cytosolic factor 2 (65kDa, chronic granulomatous disease, autosomal 2)
210031_at	CD3Z	Hs.97087	CD3Z antigen, zeta polypeptide (TIT3 complex)
210116_at	SH2D1A	Hs.151544	SH2 domain protein 1A, Duncan's disease (lymphoproliferative syndrome)
210140_at	CS17	Hs.143212	cystatin F (leukocystatin)
210146_x_at	LILRB2	Hs.306230	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 2
210222_s_at	RTN1	Hs.99947	reticulon 1
210629_x_at	LST1	Hs.436066	leukocyte specific transcript 1
210895_s_at	CD86	Hs.27954	CD86 antigen (CD28 antigen ligand 2, B7-2 antigen)
210915_x_at	---	Hs.419777	Homo sapiens T cell receptor beta chain BV20S1 BJ1-5 BC1 mRNA, complete cds
210972_x_at	TRA@	Hs.74647	T cell receptor alpha locus
210992_x_at	FCGR2A	Hs.352642	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor for (CD32)
211367_s_at	CASP1	Hs.2490	caspase 1, apoptosis-related cysteine protease (interleukin 1, beta, convertase)
211368_s_at	CASP1	Hs.2490	caspase 1, apoptosis-related cysteine protease (interleukin 1, beta, convertase)
211395_x_at	FCGR2B	Hs.126384	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor for (CD32)
211429_s_at	---	Hs.513816	Homo sapiens PRO2275 mRNA, complete cds
211581_x_at	LST1	Hs.436066	leukocyte specific transcript 1
211582_x_at	LST1	Hs.436066	leukocyte specific transcript 1
211742_s_at	EVI2B	Hs.5509	ecotropic viral integration site 2B
211795_s_at	FYB	Hs.276506	FYN binding protein (FYB-120/130)
211796_s_at	---	Hs.419777	Homo sapiens T cell receptor beta chain BV20S1 BJ1-5 BC1 mRNA, complete cds
211902_x_at	---	Hs.74647	Homo sapiens T-cell receptor alpha chain (TCRA) mRNA
212560_at	SORL1	Hs.438159	sortilin-related receptor, (LDLR class) A repeats-containing
212587_s_at	PTPRC	Hs.444324	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
212613_at	BTN3A2	Hs.376046	butyrophilin, subfamily 3, member A2
212873_at	HA-1	Hs.196914	minor histocompatibility antigen HA-1
213095_x_at	AIF1	Hs.76364	allograft inflammatory factor 1
213193_x_at	---	Hs.419777	Homo sapiens T cell receptor beta chain BV20S1 BJ1-5 BC1 mRNA, complete cds
213309_at	PLCL2	Hs.54886	phospholipase C-like 2
213416_at	ITGA4	Hs.145140	integrin, alpha 4 (antigen CD49D, alpha 4 subunit of VLA-4 receptor)

33/62

213475_s_at	ITGAL	Hs.174103	integrin, alpha L (antigen CD11A (p180), lymphocyte function-associated antigen 1; alpha polypeptide)
213539_at	CD3D	Hs.95327	CD3D antigen, delta polypeptide (TIT3 complex)
213603_s_at	RAC2	Hs.301175	ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 (rho family, small GTP binding protein Rac2)
213888_s_at	DJ434O14.3	Hs.147434	hypothetical protein DJ434O14.3
213915_at	NKG7	Hs.10306	natural killer cell group 7 sequence
214084_x_at	---	Hs.448231	Homo sapiens similar to neutrophil cytosolic factor 1 (47kD, chronic granulomatous disease, autosomal 1) (LOC220830), mRNA
214181_x_at	NCR3	Hs.509513	natural cytotoxicity triggering receptor 3
214366_s_at	ALOX5	Hs.89499	arachidonate 5-lipoxygenase
214467_at	GPR65	Hs.131924	G protein-coupled receptor 65
214574_x_at	LST1	Hs.436066	leukocyte specific transcript 1
214617_at	PRF1	Hs.2200	perforin 1 (pore forming protein)
215051_x_at	AIF1	Hs.76364	allograft inflammatory factor 1
215633_x_at	LST1	Hs.436066	leukocyte specific transcript 1
215806_x_at	TRG@	Hs.385086	T cell receptor gamma locus
216920_s_at	TRG@	Hs.385086	T cell receptor gamma locus
217147_s_at	TRIM	Hs.138701	T-cell receptor interacting molecule
217755_at	HN1	Hs.109706	hematological and neurological expressed 1
218231_at	NAGK	Hs.7036	N-acetylglucosamine kinase
218870_at	ARHGAP15	Hs.433597	Rho GTPase activating protein 15
219014_at	PLAC8	Hs.371003	placenta-specific 8
219191_s_at	BIN2	Hs.14770	bridging integrator 2
219279_at	DOCK10	Hs.21126	dedicator of cytokinesis protein 10
219403_s_at	HPSE	Hs.44227	heparanase
219452_at	DPEP2	Hs.499331	dipeptidase 2
219505_at	CECR1	Hs.170310	cat eye syndrome chromosome region, candidate 1
219788_at	PILRA	Hs.122591	paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha
219812_at	STAG3	Hs.323634	stromal antigen 3
219947_at	CLECSF6	Hs.115515	C-type (calcium dependent, carbohydrate-recognition domain) lectin, superfamily member 6
220066_at	CARD15	Hs.135201	caspase recruitment domain family, member 15
221059_s_at	CHST6	Hs.157439	carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 6
221081_s_at	FLJ22457	Hs.447624	hypothetical protein FLJ22457
221558_s_at	LEF1	Hs.44865	lymphoid enhancer-binding factor 1
221581_s_at	WBSCR5	Hs.56607	Williams-Beuren syndrome chromosome region 5
221601_s_at	TOSO	Hs.58831	regulator of Fas-induced apoptosis
222062_at	WSX1	Hs.132781	class I cytokine receptor

34/62

222218_s_at	PILRA	Hs.122591	paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha
34210_at	CDW52	Hs.276770	CDW52 antigen (CAMPATH-1 antigen)
35974_at	LAMP	Hs.124922	lymphoid-restricted membrane protein
Tabelle 6			
[0148] Gene ausgewählt nach Merkmalen unter Bedingung 2. Die in der letzten Spalte mit 1 markierten Gene stellen neben ausgewählten Vertretern weitere Mehrfachbestimmungen von Immunoglobulinsequenzen dar und wurden deshalb für die statistischen Berechnungen und Clusteranalyse in den zugehörigen Figuren nicht verwendet.			
Affymetrix_ID	Gen Symbol	Unigene	Name
200887_s_at	STAT1	Hs.21486	signal transducer and activator of transcription 1, 91kDa
201137_s_at	HLA-DPB1	Hs.368409	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1
201286_at	SDC1	Hs.82109	syndecan 1
201287_s_at	SDC1	Hs.82109	syndecan 1
201291_s_at	TOP2A	Hs.156346	topoisomerase (DNA) II alpha 170kDa
201310_s_at	C5orf13	Hs.508741	chromosome 5 open reading frame 13
201668_x_at	MARCKS	Hs.318603	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate
201669_s_at	MARCKS	Hs.318603	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate
201670_s_at	MARCKS	Hs.318603	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate
201688_s_at	TPD52	Hs.162089	tumor protein D52
201689_s_at	TPD52	Hs.162089	tumor protein D52
201690_s_at	TPD52	Hs.162089	tumor protein D52
201852_x_at	COL3A1	Hs.443625	collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant)
201890_at	RRM2	Hs.226390	ribonucleotide reductase M2 polypeptide
202269_x_at	GBP1	Hs.62661	guanylate binding protein 1, interferon-inducible, 67kDa
202270_at	GBP1	Hs.62661	guanylate binding protein 1, interferon-inducible, 67kDa
202310_s_at	COL1A1	Hs.172928	collagen, type I, alpha 1
202311_s_at	COL1A1	Hs.172928	collagen, type I, alpha 1
202404_s_at	COL1A2	Hs.232115	collagen, type I, alpha 2
202411_at	IFIT2	Hs.278613	interferon, alpha-inducible protein 27
202898_at	SDC3	Hs.158287	syndecan 3 (N-syndecan)
202998_s_at	LOXL2	Hs.83354	lysyl oxidase-like 2
203213_at	CDC2	Hs.334562	cell division cycle 2, G1 to S and G2 to M
203232_s_at	SCA1	Hs.434961	spinocerebellar ataxia 1 (olivopontocerebellar ataxia 1, autosomal dominant, ataxin 1)
203325_s_at	COL5A1	Hs.433695	collagen, type V, alpha 1
203417_at	MFAP2	Hs.389137	microfibrillar-associated protein 2

35/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20			
203570_at	LOXL1	Hs.65436	lysyl oxidase-like 1
203666_at	CXCL12	Hs.436042	chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (stromal cell-derived factor 1)
203868_s_at	VCAM1	Hs.109225	vascular cell adhesion molecule 1
203915_at	CXCL9	Hs.77367	chemokine (C-X-C motif) ligand 9
203917_at	CXADR	Hs.79187	coxsackie virus and adenovirus receptor major histocompatibility complex, class II, DM beta
203932_at	HLA-DMB	Hs.1162	secreted frizzled-related protein 4
204051_s_at	SFRP4	Hs.105700	nidogen 2 (osteonidogen)
204114_at	NID2	Hs.147697	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2
204358_s_at	FLRT2	Hs.48998	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2
204359_at	FLRT2	Hs.48998	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)
204470_at	CXCL1	Hs.789	growth associated protein 43
204471_at	GAP43	Hs.79000	matrix metalloproteinase 1 (interstitial collagenase)
204475_at	MMP1	Hs.83169	chemokine (C-X-C motif) ligand 10
204533_at	CXCL10	Hs.413924	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3
204670_x_at	HLA-DRB3	Hs.308026	CD79A antigen (immunoglobulin-associated alpha)
205049_s_at	CD79A	Hs.79630	cysteine-rich protein 1 (intestinal)
205081_at	CRIP1	Hs.423190	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 4
205234_at	SLC16A4	Hs.351306	chemokine (C-X-C motif) ligand 13 (B-cell chemoattractant)
205242_at	L13	Hs.100431	POU domain, class 2, associating factor 1
205267_at	POU2AF1	Hs.2407	lysosomal-associated membrane protein 3
205569_at	LAMP3	Hs.10887	major histocompatibility complex, class II, DO beta
205671_s_at	HLA-DOB	Hs.1802	CD38 antigen (p45)
205692_s_at	CD38	Hs.174944	GDNF family receptor alpha 2
205721_at	GFRA2	Hs.441202	RAS guanyl releasing protein 3 (calcium and DAG-regulated)
205801_s_at	RASGRP3	Hs.24024	macrophage receptor with collagenase structure
205819_at	MARCO	Hs.67726	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)
205828_at	MMP3	Hs.375129	ubiquitin D
205890_s_at	UBD	Hs.44532	a disintegrin and metalloproteinase domain 28
205997_at	ADAM28	Hs.174030	Norrie disease (pseudoglioma)
206022_at	NDP	Hs.2839	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6
206025_s_at	TNFAIP6	Hs.407546	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6
206026_s_at	TNFAIP6	Hs.407546	ADAM-like, decysin 1
206134_at	ADAMDEC1	Hs.145296	

36/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20			
206206_at	LY64	Hs.87205	lymphocyte antigen 64 homolog, radioprotective 105kDa (mouse)
206313_at	HLA-DOA	Hs.351874	major histocompatibility complex, class II, DO alpha
206336_at	CXCL6	Hs.164021	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)
206366_x_at	XCL1	Hs.174228	chemokine (C motif) ligand 1
206407_s_at	CCL13	Hs.414629	chemokine (C-C motif) ligand 13
206513_at	AIM2	Hs.105115	absent in melanoma 2
206641_at	TNFRSF17	Hs.2556	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 17
206682_at	CLECSF13	Hs.54403	C-type (calcium dependent, carbohydrate-recognition domain) lectin, superfamily member 13 (macrophage-derived)
207173_x_at	CDH11	Hs.443435	cadherin 11, type 2, OB-cadherin (osteoblast)
207655_s_at	BLNK	Hs.167746	B-cell linker
207714_s_at	SERPINH1	Hs.241579	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1)
207977_s_at	DPT	Hs.80552	dermatopontin
208091_s_at	DKFZP564K0822	Hs.4750	hypothetical protein DKFZP564K0822
208161_s_at	ABCC3	Hs.90786	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 3
208850_s_at	THY1	Hs.134643	Thy-1 cell surface antigen
208851_s_at	THY1	Hs.134643	Thy-1 cell surface antigen
208894_at	HLA-DRA	Hs.409805	major histocompatibility complex, class II, DR alpha
208906_at	BSCL2	Hs.438912	Bernardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 (seipin)
209138_x_at	IGL@	Hs.458262	immunoglobulin lambda locus
209267_s_at	BIGM103	Hs.284205	BCG-induced gene in monocytes, clone 103
209312_x_at	HLA-DRB3	Hs.308026	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3
209374_s_at	IGHM	Hs.439852	immunoglobulin heavy constant mu
209496_at	RARRES2	Hs.37682	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 2
209546_s_at	APOL1	Hs.114309	apolipoprotein L, 1
209583_s_at	MOX2	Hs.79015	antigen identified by monoclonal antibody MRC OX-2
209596_at	DKFZp564I1922	Hs.72157	adlican
209619_at	CD74	Hs.446471	CD74 antigen (invariant polypeptide of major histocompatibility complex, class II antigen-associated)
209627_s_at	OSBPL3	Hs.197955	oxysterol binding protein-like 3
209696_at	FBP1	Hs.360509	fructose-1,6-bisphosphatase 1
209875_s_at	SPP1	Hs.313	secreted phosphoprotein 1 (osteopontin, bone sialoprotein I, early T-lymphocyte

37/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20			
209906_at	C3AR1	Hs.155935	activation 1
209924_at	CCL18	Hs.16530	complement component 3a receptor 1
209946_at	VEGFC	Hs.79141	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated)
209955_s_at	FAP	Hs.436852	vascular endothelial growth factor C
210072_at	CCL19	Hs.50002	fibroblast activation protein, alpha
210152_at	LILRB4	Hs.67846	chemokine (C-C motif) ligand 19
210163_at	CXCL11	Hs.103982	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 4
210356_x_at	MS4A1	Hs.438040	chemokine (C-X-C motif) ligand 11
210643_at	TNFSF11	Hs.333791	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1
210889_s_at	FCGR2B	Hs.126384	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11
211122_s_at	CXCL11	Hs.103982	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor for (CD32)
211161_s_at	---	Hs.119571	chemokine (C-X-C motif) ligand 11
211430_s_at	IGHG3	Hs.413826	collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant)
211633_x_at	---	Hs.406615	immunoglobulin heavy constant gamma 3 (G3m marker)
211634_x_at	---	Hs.449011	Homo sapiens clone P2-114 anti-oxidized LDL immunoglobulin heavy chain Fab mRNA, partial cds
211635_x_at	---	Hs.449011	Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), isolate B-CLL G026
211637_x_at	---	Hs.383169	Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV32-D-JH-Cmu gene), clone ET39
211639_x_at	---	Hs.383438	Homo sapiens clone HA1 anti-HAV capsid immunoglobulin G heavy chain variable region mRNA, partial cds
211640_x_at	---	Hs.449011	Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), isolate B-CLL G026
211641_x_at	---	Hs.64568	Homo sapiens clone P2-116 anti-oxidized LDL immunoglobulin heavy chain Fab mRNA, partial cds
211643_x_at	---	Hs.512126	Homo sapiens clone P2-32 anti-oxidized LDL immunoglobulin light chain Fab mRNA, partial cds
211644_x_at	---	Hs.512125	Homo sapiens clone H2-38 anti-oxidized LDL immunoglobulin light chain Fab mRNA, partial cds
211645_x_at	---	Hs.512133	Homo sapiens isolate donor Z clone Z55K immunoglobulin kappa light chain variable

38/62

DE 10 2004 016 437 A1 2005.10.20			
211647_x_at	---	Hs.449057	region mRNA, partial cds
211649_x_at	---	Hs.449057	Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), case 1, variant tumor clone 5
211650_x_at	---	Hs.448957	Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), case 1, variant tumor clone 5
211654_x_at	HLA-DQB1	Hs.409934	Homo sapiens partial mRNA for IgM immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), clone LIBPM376
211655_at	---	Hs.405944	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
211656_x_at	HLA-DQB1	Hs.409934	Homo sapiens cDNA clone MGC:62026 IMAGE:6450688, complete cds
211798_x_at	IGLJ3	Hs.102950	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
211835_at	---	Hs.159386	immunoglobulin lambda joining 3
211868_x_at	---	Hs.249245	Homo sapiens mRNA for single-chain antibody, complete cds (scFv2)
211881_x_at	IGLJ3	Hs.102950	Homo sapiens mRNA for single-chain antibody, complete cds
211908_x_at	---	Hs.448957	immunoglobulin lambda joining 3
211990_at	HLA-DPA1	Hs.914	Homo sapiens partial mRNA for IgM immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), clone LIBPM376
211991_s_at	HLA-DPA1	Hs.914	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1
212311_at	KIAA0746	Hs.49500	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1
212314_at	KIAA0746	Hs.49500	KIAA0746 protein
212488_at	COL5A1	Hs.433695	KIAA0746 protein
212489_at	COL5A1	Hs.433695	collagen, type V, alpha 1
212592_at	IGJ	Hs.381568	collagen, type V, alpha 1
212624_s_at	CHN1	Hs.380138	immunoglobulin J polypeptide, linker protein for immunoglobulin alpha and mu polypeptides
212651_at	RHOBTB1	Hs.15099	chimerin (chimaerin) 1
212671_s_at	HLA-DQA1	Hs.387679	Rho-related BTB domain containing 1
212827_at	IGHM	Hs.439852	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
212942_s_at	KIAA1199	Hs.212584	immunoglobulin heavy constant mu
213056_at	GRSP1	Hs.158867	KIAA1199 protein
213068_at	DPT	Hs.80552	GRP1-binding protein GRSP1
213125_at	DKFZP586L151	Hs.43658	dermatopontin
213502_x_at	---	Hs.272302	DKFZP586L151 protein
213537_at	HLA-DPA1	Hs.914	Homo sapiens, clone IMAGE:5728597, mRNA
213592_at	AGTRL1	Hs.438311	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1
			angiotensin II receptor-like 1

39/62

213869_x_at	THY1	Hs.134643	Thy-1 cell surface antigen	
213909_at	LRRIC15	Hs.288467	leucine rich repeat containing 15	
213975_s_at	LYZ	Hs.234734	lysozyme (renal amyloidosis)	
214560_at	FPRL2	Hs.511953	formyl peptide receptor-like 2	
214567_s_at	XCCL2	Hs.458346	chemokine (C motif) ligand 2	
			Homo sapiens clone H2-38 anti-oxidized LDL immunoglobulin light chain Fab mRNA, partial cds	1
214669_x_at	---	Hs.512125	immunoglobulin lambda joining 3	1
214677_x_at	IgLJ3	Hs.449601	immunoglobulin lambda joining 3	1
214702_at	FN1	Hs.418138	fibronectin 1	
			Homo sapiens clone RI-34 thyroid peroxidase autoantibody light chain variable region mRNA, partial cds	1
214768_x_at	---	Hs.449610	macrophage scavenger receptor 1	
214770_at	MSR1	Hs.436887	macrophage scavenger receptor 1	
214777_at	---	Hs.512124	Homo sapiens immunoglobulin kappa light chain VKJ region mRNA, partial cds	1
			Homo sapiens clone RI-34 thyroid peroxidase autoantibody light chain variable region mRNA, partial cds	1
214836_x_at	---	Hs.449610	Homo sapiens partial mRNA for IgM immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), clone LIBPM376	1
214916_x_at	---	Hs.448957	Homo sapiens isolate sy-3M/11-B4 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds	1
			chemokine (C-X-C motif) ligand 5	
214973_x_at	---	Hs.448982	collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant)	
214974_x_at	CXCL5	Hs.89714	collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant)	
215076_s_at	COL3A1	Hs.443625	Homo sapiens cDNA FLJ26905 fis, clone RCT01427, highly similar to Ig lambda chain C regions	1
215121_x_at	---	Hs.356861	Homo sapiens immunoglobulin kappa light chain variable and constant region mRNA, partial cds	1
215176_x_at	---	Hs.503443	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3	
215193_x_at	HLA-DRB3	Hs.308026	Homo sapiens clone ASPBLL54 immunoglobulin lambda light chain VJ region mRNA, partial cds	1
215214_at	---	Hs.449579	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 2	
215536_at	HLA-DQB2	Hs.375115	Homo sapiens cDNA FLJ12215 fis, clone MAMMA1001021.	
215565_at	---	Hs.467914	Homo sapiens clone mcg53-54 immunoglobulin lambda light chain variable region 4a mRNA, partial cds	1
215777_at	---	Hs.449575	Homo sapiens, clone IMAGE:5728597, mRNA	
215946_x_at	---	Hs.272302	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	
215949_x_at	---	Hs.1349	immunoglobulin kappa variable 1D-13	1
216207_x_at	IGKV1D-13	Hs.390427	immunoglobulin kappa variable 1D-13	1

40/62

216365_x_at	---	Hs.283876	Homo sapiens clone bsmneg3-17 immunoglobulin lambda light chain VJ region, (IGL) mRNA, partial cds.	1
			Homo sapiens partial IGKV gene for immunoglobulin kappa chain variable region, clone 38	1
216401_x_at	---	Hs.307136	Homo sapiens immunoglobulin lambda light chain variable and constant region mRNA, partial cds	1
216412_x_at	---	Hs.449599	immunoglobulin lambda joining 3	1
216430_x_at	IgLJ3	Hs.449601	immunoglobulin lambda joining 3	1
216491_x_at	---	Hs.288711	Human immunoglobulin heavy chain variable region (V4-4) gene, partial cds	1
216510_x_at	---	Hs.301365	Homo sapiens lgh VH gene for immunoglobulin heavy chain, partial cds	1
			Human germline gene for the leader peptide and variable region of a kappa immunoglobulin (subgroup V kappa I)	1
216517_at	---	Hs.283770	Homo sapiens partial IGVIH gene for immunoglobulin heavy chain V region, case 1, cell Mo V 94	1
216541_x_at	---	Hs.272359	Homo sapiens partial IGVIH3 V3-20 gene for immunoglobulin heavy chain V region, case 1, clone 2	1
216542_x_at	---	Hs.272355	Human rearranged immunoglobulin heavy chain (A1VH3) gene, partial cds	1
216557_x_at	---	Hs.249245	Homo sapiens immunoglobulin lambda gene locus DNA, clone:84E4	1
216560_x_at	---	Hs.249208	H.sapiens mRNA for Ig light chain, variable region (ID:CLL001VL)	1
216573_at	---	Hs.449596	Homo sapiens clone H10 anti-HLA-A2/A28 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	1
216576_x_at	---	Hs.512131	Homo sapiens clone H10 anti-HLA-A2/A28 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	1
			immunoglobulin lambda joining 3	1
216829_at	---	Hs.512131	immunoglobulin lambda joining 3	1
216853_x_at	IgLJ3	Hs.102950	immunoglobulin lambda joining 3	1
216984_x_at	IgLJ3	Hs.449592	immunoglobulin lambda joining 3	1
			Homo sapiens partial mRNA for IgM immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV gene), clone LIBPM327	1
217084_at	---	Hs.448876	immunoglobulin lambda joining 3	1
217148_x_at	IgLJ3	Hs.449592	immunoglobulin lambda joining 3	1
			Homo sapiens isolate donor N clone N8K immunoglobulin kappa light chain variable region mRNA, partial cds	1
217157_x_at	---	Hs.449620	H.sapiens (T1.1) mRNA for IG lambda light chain	1
217179_x_at	---	Hs.440830	Human immunoglobulin heavy chain variable region (V4-30.2) gene, partial cds	1
217198_x_at	---	Hs.247989	Homo sapiens clone P2-114 anti-oxidized LDL immunoglobulin light chain Fab mRNA, partial cds	1
217227_x_at	---	Hs.449598		1

41/62

217235_x_at	---	Hs.449593	Immunoglobulin light chain lambda variable region [Homo sapiens], mRNA sequence	1
217258_x_at	---	Hs.449599	Homo sapiens immunoglobulin lambda light chain variable and constant region mRNA, partial cds	1
217281_x_at	---	Hs.448987	Homo sapiens mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region, ID 31	1
217320_at	---	Hs.512023	Homo sapiens sequence ra34b-4G14 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds.	1
217360_x_at	---	Hs.272363	Homo sapiens partial IGVIH3 gene for immunoglobulin heavy chain V region, case 1, cell Mo VI 162	1
217362_x_at	HLA-DRB3	Hs.308026	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3	
217369_at	---	Hs.272358	Homo sapiens partial IGVIH3 gene for immunoglobulin heavy chain V region, case 1, cell Mo IV 72	1
217378_x_at	---	Hs.247804	Human V108 gene encoding an immunoglobulin kappa orphion	1
			Homo sapiens partial IGVIH3 gene for immunoglobulin heavy chain V region, case 1, clone 19	1
217384_x_at	---	Hs.272357	kynureninase (L-kynurenine hydrolase)	
217388_s_at	KYNU	Hs.444471	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	
217418_x_at	MS4A1	Hs.438040	Homo sapiens mRNA for chimaeric transcript of collagen type 1 alpha 1 and platelet derived growth factor beta, 189 bp.	
217430_x_at	---	Hs.172928	major histocompatibility complex, class II, DM alpha	
217478_s_at	HLA-DMA	Hs.351279	Human kappa-immunoglobulin germline pseudogene (cos118) variable region (subgroup V kappa I)	1
217480_x_at	---	Hs.278448	golgi phosphoprotein 2	
217771_at	GOLPH2	Hs.352662	golgi phosphoprotein 2	
217853_at	TENS1	Hs.12210	tensin-like SH2 domain-containing 1	
			osteolectin (osteoinductive factor, mimetic)	
218730_s_at	OGN	Hs.109439	hypothetical protein FLJ10199	
218815_s_at	FLJ10199	Hs.30925	brain specific protein	
218876_at	CGI-38	Hs.412685	asporin (LRR class 1)	
219087_at	ASPN	Hs.435655	FK506 binding protein 11, 19 kDa	
219117_s_at	FKBP11	Hs.438695	FK506 binding protein 11, 19 kDa	
219118_at	FKBP11	Hs.438695	19A24 protein	
219159_s_at	CRACC	Hs.132906	B lymphocyte activator macrophage expressed	
219385_at	BLAME	Hs.438683	B lymphocyte activator macrophage expressed	
219386_s_at	BLAME	Hs.438683	sialoadhesin	
219519_s_at	SN	Hs.31869	B-cell scaffold protein with ankyrin repeats	
219667_s_at	BANK	Hs.193736		

42/62

219696_at	FLJ20054	Hs.101590	hypothetical protein FLJ20054 triggering receptor expressed on myeloid cells 2	
219725_at	TREM2	Hs.435295	NADP-dependent retinol dehydrogenase/reductase	
219799_s_at	RDHL	Hs.179608	BCG-induced gene in monocytes, clone 103	
219869_s_at	BIGM103	Hs.284205	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 8	
219874_at	SLC12A8	Hs.36793	sperm associated antigen 4	
219888_at	SPAG4	Hs.123159	anklylosis, progressive homolog (mouse)	
220076_at	ANKH	Hs.156727	toll-like receptor 7	
220146_at	TLR7	Hs.179152	phospholipase A2, group IID	
220423_at	PLA2G2D	Hs.189507	LR8 protein	
220532_s_at	LR8	Hs.190161	runt-related transcription factor 1 (acute myeloid leukemia 1; am1 oncogene)	
220918_at	RUNX1	Hs.410774	period homolog 3 (Drosophila)	
221045_s_at	PER3	Hs.418036	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 15	
221085_at	TNFSF15	Hs.241382	proapoptotic caspase adaptor protein	
221286_s_at	PACAP	Hs.409563	hypothetical protein DKFZp564A176	
221538_s_at	A176	Hs.432329	immunoglobulin kappa constant	1
221651_x_at	IGKC	Hs.377975	collagen, type V, alpha 2	
221730_at	COL5A2	Hs.283393	neurologin 4	
221933_at	NLGN4	Hs.211107	Homo sapiens transcribed sequence with weak similarity to protein re:NP_060312.1 (H.sapiens) hypothetical protein FLJ20489 [Homo sapiens]	
222288_at	---	Hs.130526	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated)	
32128_at	CCL18	Hs.16530	BMP2 inducible kinase	
37170_at	BMP2K	Hs.20137	BMP2 inducible kinase	
59644_at	BMP2K	Hs.20137		

Tabelle 7

Gene ausgewählt nach Merkmalen wie beschrieben unter Beispiel Bedingung 3.

Affymetrix_ID	Gen	Symbol	Unigene	Name
1405_i_at	CCL5	Hs.489044		chemokine (C-C motif) ligand 5
201411_s_at	PLEKHB2	Hs.307033		pleckstrin homology domain containing, family B (evectins) member 2
201422_at	IFI30	Hs.14623		interferon, gamma-inducible protein 30
201720_s_at	LAPTM5	Hs.436200		Lysosomal-associated multispanning membrane protein-5
201743_at	CD14	Hs.75627		CD14 antigen
201850_at	CAPG	Hs.82422		capping protein (actin filament), gelsolin-like
201998_at	SIAT1	Hs.2554		sialyltransferase 1 (beta-galactoside alpha-

43/62

202329_at	CSK	Hs.77793	2,6-sialyltransferase
202546_at	VAMP8	Hs.172684	c-src tyrosine kinase vesicle-associated membrane protein 8 (endobrevin)
202856_s_at	SLC16A3	Hs.386678	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 3
202869_at	OAS1	Hs.442936	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa
202901_x_at	CTSS	Hs.181301	cathepsin S
202902_s_at	CTSS	Hs.181301	cathepsin S
202906_s_at	NBS1	Hs.25812	Nijmegen breakage syndrome 1 (nibrin)
203028_s_at	CYBA	Hs.68877	cytochrome b-245, beta polypeptide colony stimulating factor 1 receptor, formerly McDonough feline sarcoma viral (v-fms) oncogene homolog
203104_at	CSF1R	Hs.174142	tripartite motif-containing 14
203148_s_at	TRIM14	Hs.370530	interferon-induced protein with tetrapeptide repeats 1
203153_at	IFT1	Hs.20315	spinocerebellar ataxia 1 (olivopontocerebellar ataxia 1, autosomal dominant, ataxin 1)
203231_s_at	SCA1	Hs.434961	pleckstrin
203471_s_at	PLEK	Hs.77436	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor for (CD32)
203561_at	FCGR2A	Hs.352642	S-phase kinase-associated protein 2 (p45)
203625_x_at	SKP2	Hs.23348	adenylate cyclase 7
203741_s_at	ADCY7	Hs.172199	biliverdin reductase A
203771_s_at	BLVRA	Hs.435726	cytochrome b-245, beta polypeptide (chronic granulomatous disease)
203922_s_at	CYBB	Hs.88974	cytochrome b-245, beta polypeptide (chronic granulomatous disease)
203923_s_at	CYBB	Hs.88974	matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)
203936_s_at	MMP9	Hs.151738	N-myc (and STAT) interactor
203964_at	NMI	Hs.54483	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor for (CD16)
204006_s_at	FCGR3A	Hs.372679	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor for (CD16)
204007_at	FCGR3A	Hs.372679	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 3
204070_at	RARRES3	Hs.17466	highly expressed in cancer, rich in leucine heptad repeats
204162_at	HEC	Hs.414407	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G
204205_at	APOBEC3G	Hs.286849	pim-2 oncogene
204269_at	PIM2	Hs.80205	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional protease 2)
204279_at	PSMB9	Hs.381081	solute carrier family 2 (facilitated glucose/fructose transporter), member 5
204430_s_at	SLC2A5	Hs.33084	arachidonate 5-lipoxygenase
204446_s_at	ALOX5	Hs.89499	

44/62

204655_at	CCL5	Hs.489044	chemokine (C-C motif) ligand 5
204774_at	EV12A	Hs.70499	ecotropic viral integration site 2A
204820_s_at	BTN3A3	Hs.167741	butyrophilin, subfamily 3, member A3
204821_at	BTN3A3	Hs.167741	butyrophilin, subfamily 3, member A3
204861_s_at	BIRC1	Hs.79019	baculoviral IAP repeat-containing 1
205098_at	CCR1	Hs.301921	chemokine (C-C motif) receptor 1
205099_s_at	CCR1	Hs.301921	chemokine (C-C motif) receptor 1
205159_at	CSF2RB	Hs.285401	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage) lymphocyte cytosolic protein 2 (SH2 domain containing leukocyte protein of 76kDa)
205269_at	LCP2	Hs.2488	granzyme A (granzyme 1, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 3)
205488_at	GZMA	Hs.90708	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa
205552_s_at	OAS1	Hs.442936	integrin, alpha M (complement component receptor 3, alpha; also known as CD11b (p170), macrophage antigen alpha polypeptide)
205786_s_at	ITGAM	Hs.172631	Janus kinase 2 (a protein tyrosine kinase) tumor necrosis factor receptor superfamily, member 7
205841_at	JAK2	Hs.434374	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, gamma polypeptide
206150_at	TNFRSF7	Hs.355307	CD28 antigen (Tp44)
206370_at	PIK3CG	Hs.32942	lymphocyte antigen 96
206545_at	CD28	Hs.1987	granzyme K (serine protease, granzyme 3; trypsin II)
206584_at	LY96	Hs.69328	class-I MHC-restricted T cell associated molecule
206666_at	GZMK	Hs.277937	chemokine (C-C motif) receptor 5
206914_at	CRTAM	Hs.159523	carboxypeptidase, vitellogenic-like
206991_s_at	CCR5	Hs.511796	ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)
208146_s_at	CPVL	Hs.95594	leukotriene A4 hydrolase
208442_s_at	ATM	Hs.504644	uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)
208771_s_at	LTA4H	Hs.81118	uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)
208997_s_at	UCP2	Hs.80658	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 8 (large multifunctional protease 7)
208998_at	UCP2	Hs.80658	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1
209040_s_at	PSMB8	Hs.180062	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
209474_s_at	ENTPD1	Hs.444105	pleckstrin homology, Sec7 and coiled-coil domains, binding protein
209480_at	HLA-DQB1	Hs.409934	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3
209606_at	PSCDBP	Hs.270	hematopoietic protein 1
209728_at	HLA-DRB3	Hs.308026	
209734_at	HEM1	Hs.443845	

45/62

209748_at	SPG4	Hs.512701	spastic paraplegia 4 (autosomal dominant, spastin)
209823_x_at	HLA-DQB1	Hs.409934	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
209846_s_at	BTN3A2	Hs.376046	butyrophilin, subfamily 3, member A2
209969_s_at	STAT1	Hs.21486	signal transducer and activator of transcription 1, 91kDa
210046_s_at	IDH2	Hs.5337	isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial
210154_at	ME2	Hs.75342	malic enzyme 2, NAD(+)-dependent, mitochondrial
210164_at	GZMB	Hs.1051	granzyme B (granzyme 2, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 1)
210220_at	FZD2	Hs.142912	frizzled homolog 2 (Drosophila)
210538_s_at	BIRC3	Hs.127799	baculoviral IAP repeat-containing 3
210982_s_at	HLA-DRA	Hs.409805	major histocompatibility complex, class II, DR alpha
211336_x_at	LILRB1	Hs.149924	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 1
212415_at	Sep 06Hs.90998		septin 6
212543_at	AIM1	Hs.422550	absent in melanoma 1
212588_at	PTPRC	Hs.444324	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
212998_x_at	HLA-DQB2	Hs.375115	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 2
212999_x_at	HLA-DQB1	Hs.409934	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
213160_at	DOCK2	Hs.17211	dedicator of cyto-kinesis 2
213174_at	KIAA0227	Hs.79170	KIAA0227 protein
213241_at	PLXNC1	Hs.286229	plexin C1
213452_at	ZNF184	Hs.158174	zinc finger protein 184 (Kruppel-like)
213618_at	CENTD1	Hs.427719	centaurin, delta 1
213831_at	HLA-DQA1	Hs.387679	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
214054_at	DOK2	Hs.71215	docking protein 2, 56kDa
214218_s_at	---	Hs.83623	Homo sapiens cDNA: FLJ21545 fis, clone COL06195
214370_at	S100A8	Hs.416073	S100 calcium binding protein A8 (calgranulin A)
214511_x_at	FCGR1A	Hs.77424	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor for (CD64)
216950_s_at	FCGR1A	Hs.77424	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor for (CD64)
217028_at	CXCR4	Hs.421986	chemokine (C-X-C motif) receptor 4
217983_s_at	RNASE6PL	Hs.388130	ribonuclease 6 precursor
218035_s_at	FLJ20273	Hs.95549	RNA-binding protein
218404_at	SNX10	Hs.418132	sorting nexin 10
218747_s_at	TAPBP-R	Hs.267993	TAP binding protein related
218979_at	FLJ12888	Hs.284137	hypothetical protein FLJ12888
219546_at	BMP2K	Hs.20137	BMP2 inducible kinase

46/62

219551_at	EAF2	Hs.383018	ELL associated factor 2
219666_at	MS4A6A	Hs.371612	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A
219694_at	FLJ11127	Hs.155085	hypothetical protein FLJ11127
219759_at	LRAP	Hs.374490	leukocyte-derived arginine aminopeptidase
219777_at	hIAN2	Hs.105468	human immune associated nucleotide 2
219872_at	DKFZp434L142	Hs.323583	hypothetical protein DKFZp434L142
219956_at	GALNT6	Hs.20726	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6 (GalNAc-T6)
220330_s_at	SAMSN1	Hs.221851	SAM domain, SH3 domain and nuclear localisation signals, 1
221210_s_at	NPL	Hs.64896	N-acetylneuraminic acid pyruvate lyase (dihydrodipicolinate synthase)
221658_s_at	IL21R	Hs.210546	interleukin 21 receptor
221698_s_at	CLECSF12	Hs.161786	C-type (calcium dependent, carbohydrate-recognition domain) lectin, superfamily member 12
221728_x_at	---	Hs.83623	Homo sapiens cDNA: FLJ21545 fis, clone COL06195
221879_at	CLN6	Hs.43654	ceroid-lipofuscinosis, neuronal 6, late infantile, variant
38241_at	BTN3A3	Hs.167741	butyrophilin, subfamily 3, member A3

Tabelle 8

[0149] Ausgewählte Gene der Tabellen 6 und 7, die zur Unterscheidung von zwei Untergruppen der rheumatoïden Arthritis geeignet sind. Die Gene sind bei der t-Test Analyse mit einer Signifikanz von $p \leq 0,05$ unterschiedlich aktiv zwischen den beiden RA Untergruppen und dienen als Grundlage für die Fig. 9

Affymetrix_ID	Gen	Symbol	Unigene	Name
200887_s_at	STAT1		Hs.21486	signal transducer and activator of transcription 1, 91kDa
201310_s_at	C5orf13		Hs.508741	chromosome 5 open reading frame 13
201422_at	IFI30		Hs.14623	interferon, gamma-inducible protein 30
201850_at	CAPG		Hs.82422	capping protein (actin filament), gelsolin-like
203915_at	CXCL9		Hs.77367	chemokine (C-X-C motif) ligand 9
203964_at	NMI		Hs.54483	N-myc (and STAT) interactor
204051_s_at	SFRP4		Hs.105700	secreted frizzled-related protein 4
204114_at	NID2		Hs.147697	nidogen 2 (osteonidogen)
204279_at	PSMB9		Hs.381081	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional protease 2)

47/62

204358_s_at	FLRT2	Hs.48998	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2
204359_at	FLRT2	Hs.48998	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2
204475_at	MMP1	Hs.83169	matrix metalloproteinase 1 (interstitial collagenase)
205049_s_at	CD79A	Hs.79630	CD79A antigen (immunoglobulin-associated alpha)
205234_at	SLC16A4	Hs.351306	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 4
205242_at	CXC	Hs.100431	chemokine (C-X-C motif) ligand 13 (B-cell chemoattractant)
205267_at	POU2AF1	Hs.2407	POU domain, class 2, associating factor 1
205488_at	GZMA	Hs.90708	granzyme A (granzyme 1, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 3)
205671_s_at	HLA-DOB	Hs.1802	major histocompatibility complex, class II, DO beta
205692_s_at	CD38	Hs.174944	CD38 antigen (p45)
205828_at	MMP3	Hs.375129	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)
205890_s_at	UBD	Hs.44532	ubiquitin D
206025_s_at	TNFAIP6	Hs.407546	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6
206026_s_at	TNFAIP6	Hs.407546	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6
206336_at	CXCL6	Hs.164021	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)
206545_at	CD28	Hs.1987	CD28 antigen (TtP44)
206641_at	TNFRSF17	Hs.2556	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 17
207173_x_at	CDH11	Hs.443435	cadherin 11, type 2, OB-cadherin (osteoblast)
208146_s_at	CPVL	Hs.95594	carboxypeptidase, vitellogenin-like proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 8 (large multifunctional protease 7)
209040_s_at	PSMB8	Hs.180062	
209546_s_at	APOL1	Hs.114309	apolipoprotein L, 1
209748_at	SPG4	Hs.512701	spastic paraplegia 4 (autosomal dominant; spastin)
209875_s_at	SPP1	Hs.313	secreted phosphoprotein 1 (osteopontin, bone sialoprotein 1, early T-lymphocyte activation 1)
210643_at	TNFSF11	Hs.333791	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11
212651_at	RHOBTB1	Hs.15099	Rho-related BTB domain containing 1
212671_s_at	HLA-DQA1	Hs.387679	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
215536_at	HLA-DQB2	Hs.375115	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 2
217362_x_at	HLA-DRB3	Hs.308026	major histocompatibility complex, class II, DR beta 3

48/62

217388_s_at	KYNU	Hs.444471	kynureninase (L-kynurenine hydrolase)
217430_x_at	---	Hs.172928	Homo sapiens mRNA for chimeric transcript of collagen type 1 alpha 1 and platelet derived growth factor beta, 189 bp.
217478_s_at	HLA-DMA	Hs.351279	major histocompatibility complex, class II, DM alpha
219386_s_at	BLAME	Hs.438683	B lymphocyte activator macrophage expressed
222288_at	---	Hs.130526	Homo sapiens transcribed sequence with weak similarity to protein reNP_060312.1 (H.sapiens) hypothetical protein FLJ20489 [Homo sapiens]
Glossar			
Genom	die komplette DNA Sequenz eines Chromosomensatzes		
Transkriptom	der komplette Satz von RNA Transkripten, die zu einem gegebenen Zeitpunkt vom Genom abgelesen wurden		
Proteom	Der komplette Satz an Proteinen, der nach der Transkription hergestellt und modifiziert wurde		
Genexpressionsprofil	Muster des Transkriptionsniveaus von Genen in einer gegebenen Probe		
GenexpressionsSignatur	Profil, die von einer definierten Bedingung induziert wurden oder mit einem Zustand assoziiert sind (z.B. das Profil eines bestimmten Zelltyps im Normalzustand; oder das durch ein Zytokin induzierte Profil in einem Gewebe- oder Zelltyp)		
Normalzustand	gesunder, nicht durch Krankheit beeinflüßter Zustand		
Markergen	Gen, das für eine Signatur charakteristisch ist und anhand dessen Expressionsstärke der Anteil der Signatur in einer komplexen Probe ermittelt werden kann.		
molekulares Profil	ein Muster von Signalstärken aus verschiedenen Vertretern einer molekularen Substanzklasse in einer gegebenen Probe.		
Erklärung zu den in den Gleichungen verwendeten Variablen:			
y	Signal		
x	Konzentration		
S1	zum Signal S1 angemessene RNA Konzentration		
K1	minimales gemessenes und noch als „present“ eingestuftes Signal über alle Gene in allen einbezogenen Arrays (hier 123 Arrays)		
S0	zum Signal S0 angemessene RNA Konzentration		
K0	zum Signal S0 angemessene RNA Konzentration		
SZelltyp	Signal eines Gens, das von einem vom Normalzustand aufgereinigten Zelltyp gemessen wird		
KZelltyp	zum Signal SZelltyp gehörige RNA Konzentration eines Gens		
AZelltyp	Anteil einer definierten Zellpopulation in einer komplexen Probe aus verschie denen Zelltypen		
Ki	zum Zelltyp i gehörige RNA Konzentration eines Gens im Normalzustand		
Ai bzw. APi	Anteil der Zellpopulation i in einer komplexen Probe aus verschiedenen Zelltypen		
AKi	Anteil der Zellpopulation i in einer komplexen Kontrolle aus verschiedenen Zelltypen		
SProbe	Signal eines Gens, das von einer komplexen zu untersuchenden Probe gemessen wird		
KProbe	zum Signal SProbe gehörige RNA Konzentration eines Gens		
SKontrolle	Signal eines Gens, das von einer definierten Kontrollprobe (Normalzustand) gemessen wird		
KKontrolle	zum Signal SKontrolle gehörige RNA Konzentration eines Gens		
Smin	Signal, das als Detektionsgrenze für ein Gen gemessen wird		

49/62

Kmin	zum Signal Smin gehörige RNA Konzentration eines Gens
Smin1	Signal, das bei einer für das Messsystem idealen Detektionsgrenze gemessen wird
Kmin1	zum Signal Smin1 gehörige RNA Konzentration eines Gens
SminG	Signal, das unter ungünstigen Bedingungen als Detektionsgrenze für ein Gen gemessen wird
KminG	zum Signal SminG gehörige RNA Konzentration eines Gens
KminM1	zum Signal SminG gehörige RNA Konzentration eines Gens, die sich unter der Annahme von Modell M1 ergibt
KminM2	zum Signal SminG gehörige RNA Konzentration eines Gens, die sich unter der Annahme von Modell M2 ergibt
KProbeM1	Konzentration einer Probe unter Annahme des Modells M1
KProbeM2	Konzentration einer Probe unter Annahme des Modells M2
SProbe	Signal eines Gens in einer komplexen Probe, das sich virtuell aus den Signatur ren errechnet
KProbe	Konzentration eines Gens in einer komplexen Probe, das sich virtuell aus den Signaturen errechnet
ARest	Rest-Anteil in einer komplexen Probe, der nach Abzug aller zu den bekannten Signaturen gehörenden Anteile verbleibt
KRest	Konzentration eines Gens in der Restpopulation im Normalzustand
KF	Korrekturfaktor zur Anpassung der Signaturkonzentrationen an eine komplexe Kontrolle
KI,reg	Konzentrationsänderung eines Gens, die durch Regulation im Vergleich zum Normalzustand entsteht
Ki,f	Konzentration eines Gens im Zelltyp i unter funktionellem Einfluss
SLR	Signal Log Ratio

Patentansprüche

- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe, umfassend die Schritte von
 - zur Verfügung stellen einer zu untersuchenden biologischen Probe,
 - zur Verfügung stellen mindestens eines für einen Einfluss charakteristischen und damit definierte Expressionsprofils, das in der zu untersuchenden Probe enthalten ist oder gesucht wird, wobei das mindestens eine definierte Expressionsprofil einen oder mehrere Marker umfaßt, die ausschließlich für das Expressionsprofil typisch sind,
 - Bestimmen des komplexen Expressionsprofils der biologischen Probe, und
 - quantitative Bestimmung des Anteils eines jeden im Schritt b) zur Verfügung gestellten definierten Expressionsprofils über den Anteil an typischen Markern in dem in Schritt c) bestimmten Expressionsprofil der biologischen Probe.
- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe, umfassend die weiteren Schritte von
 - Berechnung eines virtuellen Profils von Signalen, das aufgrund der Anteile von den bekannten charakteristischen Expressionsprofilen erwartet wird,
 - Berechnung des Unterschieds zwischen dem tatsächlichen gemessenen komplexen Expressionsprofil und dem virtuellen Profil, so daß ein Restprofil entsteht, und
 - Bestimmen weiterer typischer Merkmale für die Probe aus dem Restprofil durch den Vergleich mit Restprofilen anderer komplexer Proben.
- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Bestimmen des geeigneten Expressionsprofils das Bestimmen eines RNA-Expressionsprofils, Protein-Expressionsprofils, -Sekretionsprofils, DNA-Methylierungsprofils und/oder Metabolitenprofil umfaßt.
- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei das Bestimmen eines Expressionsprofils eine molekulare Nachweismethode, wie z. B. ein Genarray, Proteinarray, Peptidarray und/oder PCR-Array, eine Massenspektrometrie oder die Erstellung eines Differentialblutbilds oder eine FACS-Analyse umfaßt.
- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die in Schritt b) bestimmten Expressionsprofile ausgewählt sind aus der Gruppe von Expressionsprofilen, die funktionelle Einflüsse oder

50/62

- Zustände charakterisieren, wie z.B. Expressionsprofile, die die Aktivität von bestimmten Botenstoffen, der Signaltransduktion oder der Genregulation charakterisieren oder die Ausprägung bestimmter molekularer Vorgänge charakterisieren, wie z.B. der Apoptose, Zellteilung, Zelldifferenzierung, Gewebeentwicklung, Entzündung, Infektion, Tumorentstehung, Metastasierung, Gefäßneubildung, Invasion, Zerstörung, Regeneration, Autoimmunreaktion, Immunkompatibilität, Wundheilung, Allergie, Vergiftung, Sepsis oder die die Ausprägung bestimmter klinischer Zustände charakterisieren, wie z.B. des Erkrankungsstatus oder der Wirkung von Medikamenten.
- Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei die Berechnung der Gesamtkonzentration aus den Anteilen A_i der verschiedenen Zelltypen bzw. Einflüssen i mit ihren unterschiedlichen Konzentrationen K_i mittels der Beziehung

$$K_{Probe} = K_1 \cdot A_1 + K_2 \cdot A_2 + \dots = \sum (K_i \cdot A_i) \text{ mit } i \in N \quad (\text{Gleichung 3})$$
 erfolgt.
 - Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei der Anteil eines Marker gens mittels der Formel

$$A_{Zelltyp} = \frac{K_{Probe}}{K_{Zelltyp}} \text{ bzw. für eine doppelt-logarithmische Beziehung von Konzentration und Signal}$$

$$A_{Zelltyp} = 2^{\frac{1}{SLR} \cdot (K_{Probe} - K_{Zelltyp} \cdot S_{min})} \quad (\text{Gleichung 11 bzw. 14})$$
 bestimmt wird, wobei „Zelltyp“ stellvertretend für ein charakteristisches definiertes Expressionsprofil steht.
 - Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei für die Bestimmung der Anteile von Monozyten, T-Zellen oder Granulozyten der Marker ausgewählt ist aus den in Tabelle 2 angegebenen Markern.
 - Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 8, umfassend die qualitative und/oder quantitative Erkennung von Expressionsprofilen eines bei Entzündungsvorgängen vorhandenen Zelltyps, insbesondere der T-Zellen, B-Zellen, Monozyten, Makrophagen, Granulozyten, natürliche Killer-Zellen (NK-Zellen), dendritische Zellen.
 - Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Bestimmen der quantitativen Zusammensetzung des komplexen Expressionsprofils auf Basis der ermittelten Unterschiede zwischen virtuellem und tatsächlichem Expressionsprofil weiterhin die Identifizierung eines bisher unbekanntem Expressionsprofils umfaßt.
 - Verfahren zur quantitativen Bestimmung und qualitativen Charakterisierung eines komplexen Expressionsprofils in einer biologischen Probe nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei das Bestimmen der quantitativen Zusammensetzung des komplexen Expressionsprofils auf Basis der ermittelten Unterschiede zwischen virtuellem und tatsächlichem Expressionsprofil weiterhin die Identifizierung von molekularen Kandidaten für die diagnostische, prognostische und/oder therapeutische Anwendung umfaßt.
 - Verfahren zur Diagnose, Prognose und/oder Verfolgung einer Erkrankung, umfassend ein Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11.
 - Computersystem, das mit Mitteln zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 11 versehen ist.
 - Computerprogramm, umfassend einen Programmiercode, um die Schritte des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 11 durchzuführen, wenn auf einem Computer ausgeführt.

51/62

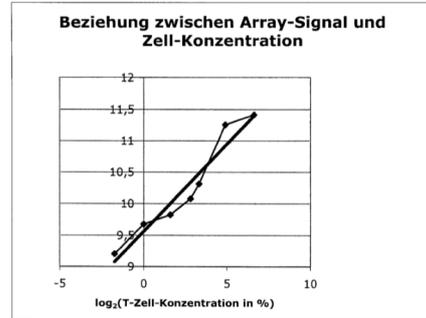
15. Computerlesbares Datenträgermedium, umfassend ein Computerprogramm nach Anspruch 14 in Form eines computerlesbaren Programmcodes.
16. Laborroboter oder Auswertegerät für molekulare Nachweismethoden, umfassend ein Computersystem und/oder ein Computerprogramm nach Anspruch 13 oder 14.
17. Molekularer Kandidat für die diagnostische, prognostische und/oder therapeutische Anwendung, identifiziert nach einem der Ansprüche 1 bis 11.
18. Molekularer Kandidat für die diagnostische, prognostische und/oder therapeutische Anwendung nach Anspruch 17, der eine in einer der Tabellen 5 bis 8 aufgeführte Sequenz aufweist.
19. Verwendung eines molekularen Kandidaten nach einem der Ansprüche 17 oder 18
 - a) zur Charakterisierung der entzündlichen Zellinfiltration in ein entzündetes Gewebe mit Genen der Tabelle 5 abgrenzend von der Genaktivierung durch Entzündung,
 - b) zur Charakterisierung der Genaktivierung in einem entzündeten Gewebe mit Genen der Tabelle 6 abgrenzend von der Zellinfiltration,
 - c) zur Charakterisierung der Genaktivierung bzw. der entzündlichen Zellinfiltration in ein entzündetes Gewebe über den berechneten Anteil an Aktivierung bzw. Infiltration der Gene in Tabelle 7,
 - d) zur Charakterisierung von Untergruppen entzündlicher Genaktivierung mit Genen der Tabellen 6, 7 und/oder 8.
20. Verwendung eines molekularen Kandidaten nach einem der Ansprüche 17 oder 18 zum Screenen auf pharmakologisch aktive Substanzen, insbesondere Bindepartner.

Es folgen 10 Blatt Zeichnungen

52/62

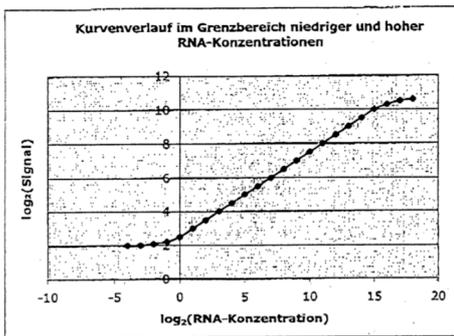
Anhängende Zeichnungen

Figur 1



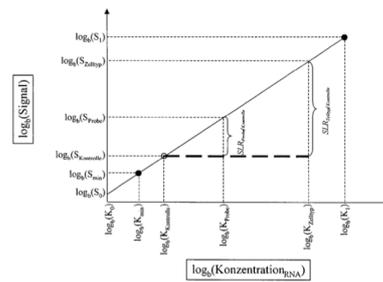
53/62

Figur 2

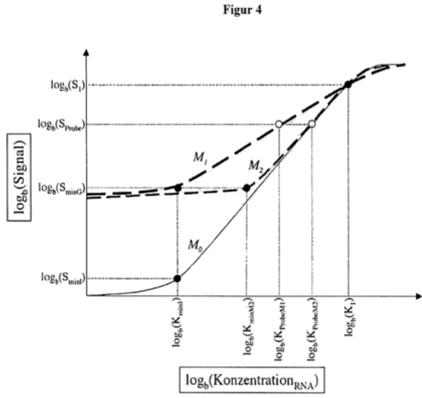


54/62

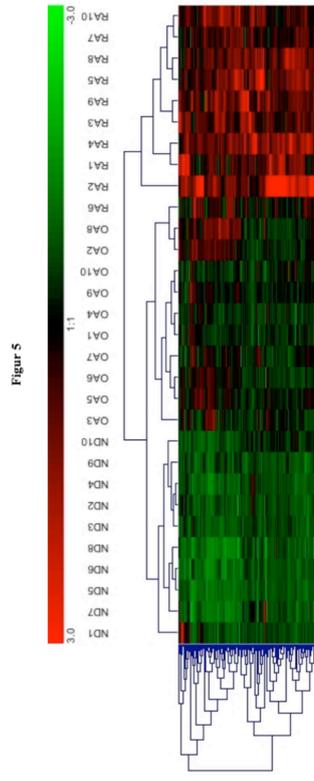
Figur 3



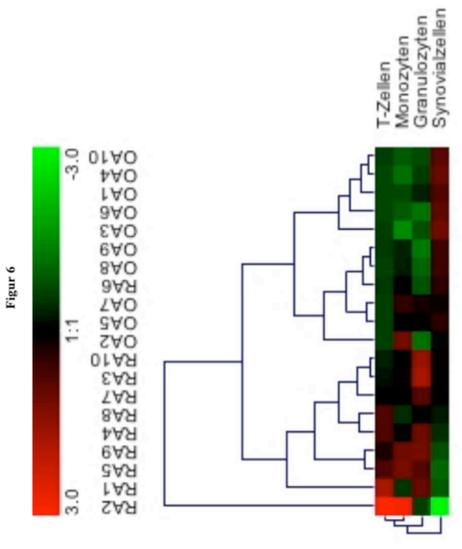
55/62



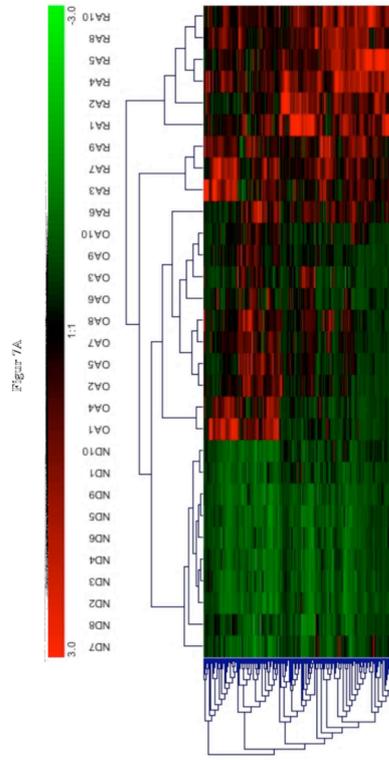
56/62



57/62

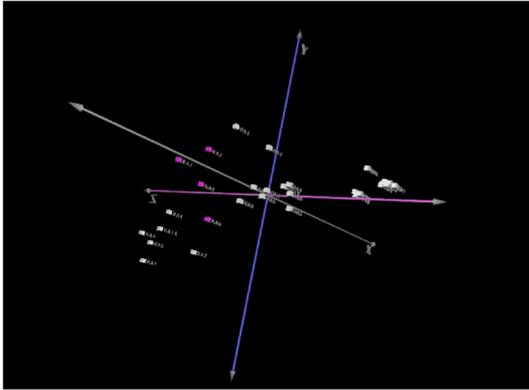


58/62



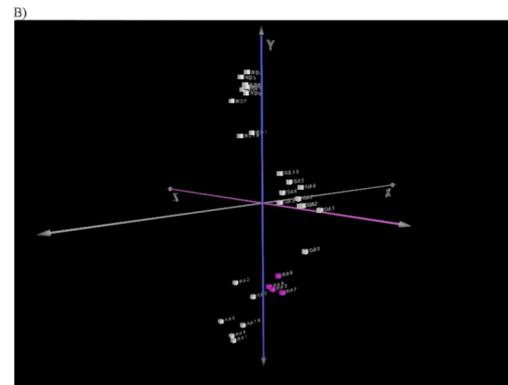
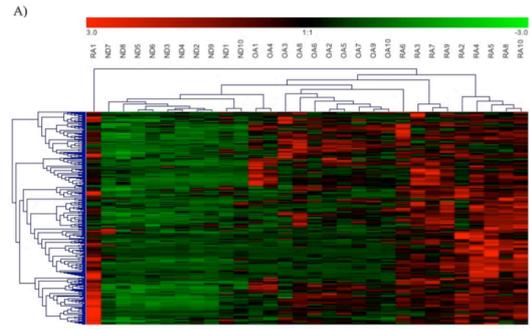
59/62

Figur 7B



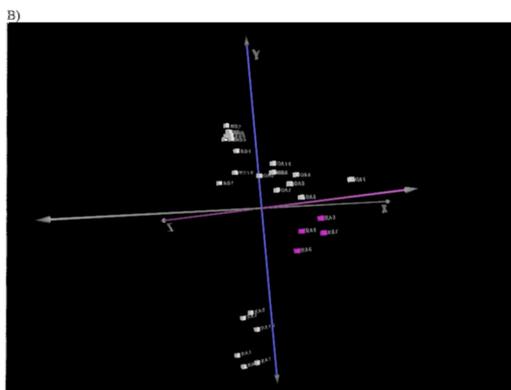
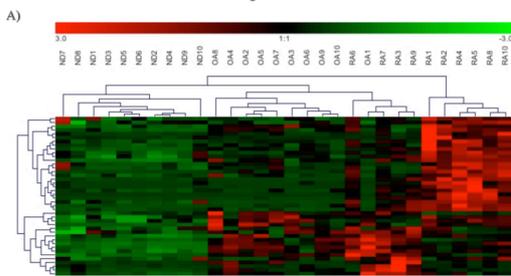
60/62

Figur 8



61/62

Figur 9



62/62

4 Diskussion

Die hier vorgestellten Arbeiten zeigen zunächst die Komplexität von Entzündungen am Beispiel der Synovitis. Es werden anschließend systematisch die Transkriptome von definierten Zuständen verschiedener Zelltypen entwickelt und diese mit neu etablierten bioinformatischen Auswertungsstrategien als Grundlage für die funktionelle Interpretation genomweiter Transkriptionsprofile aufgebaut. Es soll damit aufgezeigt werden, wie neben der einfachen vergleichenden Analyse zur Identifizierung von Einzelmarkern eine komplexere Stufe der funktionellen Interpretation von Expressionsprofilen möglich ist. Damit entsteht ein wichtiger Schritt hin zur Betrachtung des biologischen Systems und zum besseren Verständnis der molekularen Pathophysiologie der Erkrankung.

4.1 Ausgangssituation

Arthritiden werden vorwiegend durch klinische Merkmale klassifiziert. Untersuchungen zur Pathophysiologie konzentrieren sich auf die charakteristischen entzündlichen Veränderungen in der Synovialmembran aber auch auf Untersuchungen der Immunzellen im Blut. Klassische Untersuchungskonzepte zielen darauf ab, Schlüsselgene für einen pathologischen Prozess nachzuweisen und deren Bedeutung über die prinzipielle Funktionsweise dieser Gene herauszuarbeiten. Dabei entstehen Wahrscheinlichkeitsaussagen über eine ganze Gruppe von Patienten, die im Einzelfall oft nicht weiterhelfen, da viele dieser Einzelmarker eine zu geringe Trennschärfe für die angestrebte diagnostische Einteilung besitzen.

Mit dem Synovitis-Score in der ersten Arbeit wurden im Prinzip seit langem bekannte histologische Veränderungen in einer Systematik zusammengefasst und quantifiziert, die modernen Methoden der histologischen Klassifikationen, wie sie auch in der Tumordiagnostik etabliert sind, gerecht werden [27]. Die Nützlichkeit dieser Methode wurde auch von anderen Arbeitsgruppen bestätigt [28-31]. Wie in der Arbeit gezeigt wurde, hat die Quantifizierung der Entzündung mit dieser Methode ausreichende Trennschärfe, um eine Klassifikation in entzündliche und nicht-entzündliche Gelenkerkrankungen vorzunehmen. Es scheint aber keine ausreichende Möglichkeit zur Differenzierung unterschiedlicher entzündlicher Gelenkerkrankungen gegeben zu sein. Statt dessen wird über die Analyse molekularer Vorgänge eine Verbesserung für Diagnostik und Therapie erwartet.

Die Microarray-Technologie hat hierfür neue Perspektiven eröffnet. Allerdings wurde die anfängliche Erwartung, aus dem Transkriptom einen Überblick über die entscheidenden molekularen pathophysiologischen Mechanismen zu erhalten, rasch von der Ernüchterung

abgelöst, dass erst Ordnungsstrategien entwickelt werden müssen, um die funktionellen Beziehungen zwischen den gefundenen Kandidatengenen zu erklären. Deshalb beschränken sich heute die meisten Expressionsanalysen darauf, aus der Vielzahl der gemessenen Parameter zunächst nur einzelne Marker oder Expressionsmuster als Ausdruck möglicher pathophysiologischer Unterschiede zu identifizieren. Diese müssen anschließend an größeren Kollektiven und mit anderen Methoden validiert werden. Anhand von literaturbasierten „Pathway“ Werkzeugen wie „PathwayAssist“, „PubGene“ oder „Ingenuity pathway analysis“ wird zudem versucht, funktionelle Interpretationen zu erarbeiten.

4.2 Anforderungen an die Interpretation von Genexpressionsprofilen

Mit den hier dargestellten Arbeiten wird ausgehend von den histologischen Merkmalen der Synovitis ein neuer Weg beschritten, der sich auf eine systematische Erhebung von Funktionsprofilen stützt und für den auch neue bioinformatische Werkzeuge entwickelt wurden.

Der Synovitis Score (siehe 2.) und die damit verbundene histologische Untersuchung stellt einen wichtigen Ausgangspunkt für die Analyse von Expressionsprofilen dar. Es werden wichtige funktionelle Merkmale aufgezeigt, die bei der Interpretation der molekularen Daten berücksichtigt werden müssen. Es geht auch daraus hervor, welche funktionellen Aussagen im diagnostischen Bereich wichtig sind und welcher Anspruch an die Interpretation von Transkriptomdaten gestellt wird. Zu diesen Aussagen gehören Informationen

- zur Infiltration von Immunzellen und den damit in Verbindung stehenden Mechanismen der Zellrekrutierung;
- zur Ausbildung typischer Gewebeveränderungen mit regional unterschiedlicher Zellanreicherung und den damit einhergehenden Interaktionen zwischen verschiedenen Immunzellen und auch ortständigen Zellen;
- zum destruktiven Potential der verdickten synovialen Deckzellschicht und den in diesen Zellen ablaufenden molekularen Mechanismen, die zur Infiltration und Zerstörung von Knorpelgewebe führen.

Eine weitere zentrale Forderung an die Untersuchung molekularer Mechanismen ist, nicht nur Aussagen in statistischer Mittelung für ein ganzes Patientenkollektiv zu erarbeiten, sondern individuelle Besonderheiten zu erkennen. Die Bedeutung dieses Umstandes kommt am deutlichsten zum Ausdruck, wenn die Therapieerfolge mit den neuen Biologika bei der rheumatoiden Arthritis untersucht werden. Antikörper-Therapien gegen TNF werden als eine der erfolgreichsten Innovationen in der Behandlung der scheinbar einheitlich klingenden rheumatoiden Arthritis angesehen. Jedoch erfahren nur 1/3 aller Patienten mit rheumatoider

Arthritis eine mindestens 50%ige Besserung nach „ACR-response“ Kriterien und ein weiteres Drittel hat keine nennenswerte Verbesserung der Krankheitsaktivität [32]. Dies zeigt, dass Untersuchungen zur Charakterisierung der individuellen molekularen Pathomechanismen dringend erforderlich sind, um in einer Zeit der rasch zunehmenden Antikörper-Therapien gegen definierte molekulare Zielstrukturen den Risiken einer falschen Therapiestrategie zu begegnen und dem Prinzip der individualisierten Medizin gerecht zu werden.

4.3 Interpretationslücken beim Vergleich von entzündetem und normalem Gewebe

Der Vergleich von erkranktem und gesundem Synovialgewebe führte zu mehreren tausend unterschiedlich exprimierten Genen. Eine funktionelle Interpretation war nur für wenige Gene möglich, über die entsprechende Informationen bereits publiziert waren. Ohne weitere Validierungsexperimente und funktionelle Untersuchungen zu jedem einzelnen Gen konnten diese Genlisten nur als diagnostisches Muster weiter verwendet werden.

Die vorgestellte zweite Arbeit (siehe 3.1) zeigte beispielhaft an einer gezielt ausgewählten Gengruppe, welche aufwendigen Schritte für eine sinnvolle Interpretation der Ergebnisse zu diesen wenigen Genen erforderlich waren. Damit wurde auch deutlich, welches Wissen aus dem einfachen Vergleich von zwei verschiedenen Zuständen ableitbar war und welche neuen Strategien erst noch entwickelt werden mussten, um die Vielzahl der Daten auch unmittelbar nutzen zu können.

Konkret wurde der Einfluss der Entzündung auf die Gelenkhomeostase hinterfragt und dazu alle zur Gruppe der „bone morphogenetic proteins“ gehörenden Gene untersucht. Dies schaffte zunächst einen Überblick, welche dieser Gene bei Arthritis und Arthrose verändert exprimiert werden. Ferner konnten aus der Literatur bekannte Kandidatengene der Entzündung dazu eingesetzt werden, die Expression der verschiedenen Gene zu korrelieren und eine Hypothese hinsichtlich möglicher Zusammenhänge von Entzündung und Gelenkhomeostase zu formulieren. Allerdings war aus dem Vergleich der komplexen Zellmischung im Entzündungsgewebe und dem relativ einheitlichen Normalgewebe nicht erkennbar, welcher Zelltyp an der Veränderung der Expression beteiligt war. Auch stellte sich die Frage, wie viele Veränderungen durch Unterschiede in der zellulären Zusammensetzung hervorgerufen wurden. Manche dieser Fragen konnten durch die validierende immunhistologische Untersuchung geklärt werden, wie z.B. eine Bestätigung der quantitativen Änderungen der BMP-4 und BMP-5 Expression. Diese Strategie kann jedoch nicht für alle Expressionsunterschiede umgesetzt werden und würde technisch an seine Grenzen stoßen, wenn für jeden Patienten individuell mehr als 10 verschiedene Gene überprüft werden müssten. Aus den Expressionsprofilen war auch nicht erkennbar, dass sich

die Lokalisation der BMP-4 und BMP-5 produzierenden Zellen im Gewebeverband veränderte. Dieser Befund und seine funktionelle Bedeutung wird wohl auch in Zukunft nur bedingt aus Arraydaten ablesbar sein. Bewusst wurde aber auch, dass die Analyse von Zellgemischen nur dann sinnvoll gelöst werden kann, wenn Profile von möglichst allen beteiligten Zelltypen in aufgereinigter Form zum Vergleich vorliegen.

4.4 Erkenntnisse aus der Untersuchung von definierten Zelltypen für die Entwicklung neuer Strategien zur Auswertung von Genexpressionsprofilen

Die Untersuchung der Synovialfibroblastenlinien in der dritten Arbeit (siehe 3.2) war ein erster Schritt hin zur Entwicklung von Referenzprofilen, die in den nachfolgenden bioinformatischen Konzepten eine wesentliche Rolle spielen. Dazu gehörte zum einen das Expressionsprofil einer normalen Synovialzelllinie, zum anderen das Profil, das in diesem Zelltyp durch die Erkrankung induziert wird. Durch den Vergleich beider Profile ließen sich die krankheitstypischen molekularen Veränderungen in diesen Zellen beschreiben und potentielle Zielgene für neue Therapien definieren. Aus den krankheitstypischen Veränderungen war aber nicht unmittelbar ableitbar, wodurch diese induziert wurden. Dies stellt ein wesentliches Problem für die Interpretation der Ergebnisse dar, die auf Pathomechanismen und Therapiestrategien abzielt.

Mit der Beeinflussung der Expression durch verschiedene entzündungshemmende Medikamente konnten substanzspezifische Wirkprofile gemessen werden, die aufzeigten, welche Entzündungsmechanismen durch das jeweilige Medikament blockiert werden. Diese erhobenen Referenzmuster könnten demzufolge dazu verwendet werden, um die Patientenproben auf eine dazu passende Entzündungssignatur hin zu testen. Daraus ließe sich eine individuelle therapeutische Klassifikation ableiten. Jedoch sind diese Aussagen zunächst auf die Untersuchung von Synovialfibroblasten und die geprüften Medikamente beschränkt und müssten für andere Zelltypen und Therapien ebenfalls analysiert werden.

Schließlich wurde mit diesen Untersuchungen deutlich, dass Glucocorticoide besonders auf Entzündungsmediatoren wie IL1 und IL8 Einfluss nehmen und damit die Ausbreitung der Entzündung beeinflussen. Da Glucocorticoide zur Wirkstoffgruppe mit der stärksten Immunsuppression gehören, legte dies nahe, dass gerade die Zytokine eine Schlüsselfunktion für die Entzündung und Destruktion der Gelenke einnehmen. Diese Beobachtung wirft die Diskussion auf, wie aus einem Genexpressionsprofil von entzündetem Gewebe erkannt werden kann, welche Zytokine auf einzelne Gewebe und Zelltypen gewirkt haben bzw. welche zusätzlichen Informationen gebraucht werden, um auf solche ursächlichen Mechanismen zu schließen. Um an einem praktischen Beispiel Nutzen und

Probleme eines Stimulationsversuches zu erörtern, wurde in der nachfolgenden Arbeit aufbauend auf die Untersuchung von Synovialzellen deren Überstand verwendet, um die Wirkung der von diesen Zellen sezernierten Entzündungsmediatoren auf das Knorpelgewebe zu untersuchen.

4.5 Stimulationssignaturen als Referenzprofile für die Erkennung molekularer Pathomechanismen

Die Ergebnisse des Stimulationsversuches (siehe 3.3) zeigen beispielhaft, dass mit pathophysiologisch relevanten Konzentrationen von Entzündungsmediatoren wie IL1 und IL8 eindeutige molekulare Effekte bereits nach einer Stimulation über 24 Stunden erzielt werden konnten. Es wurden sowohl pro-inflammatorische als auch destruktive und die Regeneration inhibierende Effekte beobachtet. Das System stellt zwar eine noch relativ komplexe Stimulation mit mehreren Faktoren dar. Es liefert jedoch eine viel versprechende Basis um mit Hilfe der bekannten Expressionsprofile von rheumatoide Arthritis Synovialfibroblasten in weiteren Experimenten schrittweise gezielte Einzelstimulationen mit den wichtigsten Faktoren vornehmen zu können. Ferner wird deutlich, dass mit Hilfe von Stimulationsprofilen Ursache und Wirkung in Beziehung gebracht werden können.

Vergleichbar zu den pharmakologischen Untersuchungen an den Synovialfibroblasten können auch in diesem Modell gezielt Medikamentenwirkprofile untersucht werden. In einem neu eingereichten Manuskript [33] wurden z.B. die Veränderungen im Knorpelgewebe untersucht, die von therapierten Synovialfibroblasten ausgehen. Es zeigten sich eine deutliche Inhibition der pro-inflammatorischen und destruktiven Reaktionsmuster sowie eine Erhaltung der Fähigkeit zur Bildung von Knorpelmatrix.

Künftige Untersuchungen zu diesen Pathomechanismen müssen klären, wie viele und welche Patienten exakt diese Reaktionsmuster aufweisen und von entsprechenden Therapien profitieren könnten. Ferner muss auch die Wirkung von Entzündungsstoffen aus aktivierten Immunzellen geprüft werden. Um eine Basis für die Interpretation von Transkriptomdaten aufzubauen, die von infiltrierenden Immunzellen ausgehen können, wurden nachfolgende Studien zur Genexpression von Blutzellen durchgeführt.

4.6 Zelltypspezifische Referenzsignaturen als Grundlage für die Erkennung der zellulären Zusammensetzung einer Probe

Die Untersuchung der krankheitsspezifischen Expressionsänderung in Immunzellen ist eine komplexe Herausforderung. Vergleichbar zu den Untersuchungen an ortständigen Zellen aus dem Gewebe ist auch hier eine Aufreinigung zur Charakterisierung der zelltypspezifischen Signaturen unumgänglich. Aufreinigungsmethoden können bei Blutzellen zu erheblichen

Veränderungen der Expressionsprofile führen. Insbesondere Granulozyten und Monozyten sind die am stärksten auf *in vitro* Reize reagierenden Zellen. Deshalb wurden in Vorversuchen verschiedene Strategien der Zellsortierung getestet [34]. Für Monozyten konnten bereits Unterschiede zwischen rheumatoider Arthritis, Spondylarthropathie, systemischer Lupus erythematoses und Normalspender gefunden werden [35]. An der Etablierung vergleichbarer Unterschiede in T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen und auch Granulozyten wird derzeit noch gearbeitet.

Die hier vorgestellte Arbeit zur Remission der rheumatoiden Arthritis während und zur Reaktivierung nach der Schwangerschaft (siehe 3.4) zeigte exemplarisch, wie mit Hilfe von Referenzsignaturen Markergene für eine definierte „Funktionseinheit“, nämlich die eines definierten Zelltyps, etabliert werden können. Diese Markergene konnten erfolgreich zur Quantifizierung verschiedener Zelltypen in der als mononukleäre Zellen des periphere Blutes (PBMC) fraktionierten Mischung von Immunzellen eingesetzt werden. Um für den jeweiligen Zelltyp charakteristische Gene als Marker zu identifizieren, wurden die Profile aller verschiedenen Zelltypen miteinander verglichen. Es wurde zunächst ein einfaches lineares Abhängigkeitsmodell zwischen Konzentration und Signalhöhe gewählt, um in einer Zellmischung die Konzentration des zugehörigen Zelltyps zu bestimmen. Auch stellte sich an definierten Mischexperimenten heraus, dass ein einziger Marker relativ starke Abweichungen von der tatsächlich zu erwarteten Konzentration ergeben kann. Abbildung 1 verdeutlicht, wie sich die Bestimmung der Konzentration stabilisiert, wenn statt eines Markergens mehrere Markergene gleichzeitig verwendet werden.

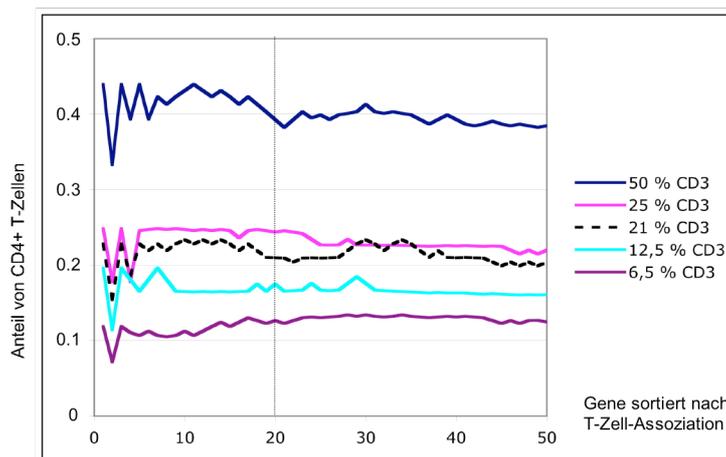


Abbildung 1: Berechnung der T-Zell-Konzentration auf der Basis der 50 besten Markergene für CD4+ T-Zellen. Die Gene wurden sortiert nach der Qualität der T-Zell-Assoziation. Auf der Basis der Signalratio zwischen Zellmischung und aufgereinigten T-Zellen wurde für jedes Gen getrennt die Anteilsberechnung durchgeführt. Die Graphik stellt den Median aus den Anteilsberechnungen der besten 2, 3, ... , 50 Markergene dar. Werden die besten 20 Markergene verwendet, zeigt sich eine hinreichende Stabilisierung des Ergebnisses, das auch weitgehend die tatsächliche Zugabe von CD3+ T-Zellen zu einer vorher von CD3+-Zellen depletierten Vollblutpräparation widerspiegelt (siehe Legende).

Vergleichbar zur Berechnung der zelltypspezifischen Profilkomponenten wurden in dieser Arbeit auch Gene gemäß ihrer Zugehörigkeit zu definierten Signalwegen und

Funktionsgruppen verwendet, um entsprechende Funktionskomponenten zu quantifizieren. Mit dieser Methode wurde eine Aktivierung von Adhäsion- und Migration-assoziierten Genen bei aktiven RA-Patientinnen gefunden. Diese Veränderungen konnten nicht mit der zuvor berechneten Verschiebung der zellulären Zusammensetzung ausreichend erklärt werden und stellen vermutlich einen Teil der molekularen Pathomechanismen dar. Sie passen zu der Vorstellung, dass Blutzellen im Rahmen der Aktivierung der Arthritis über Botenstoffe wie Chemokine angesprochen werden und sich zur Einwanderung ins Gewebe vorbereiten [36]. Dabei sind Moleküle für die Adhäsion an Endothelzellen und Migration durch das Endothel erforderlich. Es ist ferner passend, dass pro-inflammatorische Zytokine und zur Destruktion beitragende Proteasen nicht in Immunzellen aktiviert werden, solange diese in der Blutbahn zirkulieren. Eine Aktivierung dieser Gene wäre erst mit dem Eintritt ins Gewebe zu erwarten.

Mit der nächsten unter 3.5 vorgestellten Arbeit konnte ferner gezeigt werden, dass diese molekularen Ergebnisse mit klinischen Parametern der Krankheitsaktivität korrelieren. Dies bestätigt indirekt, dass mit dem entwickelten bioinformatischen Konzept für die Praxis relevante Aussagen geliefert werden.

Aus diesen Untersuchungen von Blutzellen während und nach der Schwangerschaft bei rheumatoide Arthritis Patientinnen wird somit ersichtlich, dass Expressionsänderungen sowohl durch Verschiebungen der zellulären Zusammensetzung als auch durch Genaktivierung hervorgerufen werden. Mit dem bisher vorgestellten Prinzip, die Anteile bekannter Zellsignaturen zu bestimmen, wird demnach noch nicht möglich, gezielt die zusätzlich regulierten Gene herauszufiltern. Zu diesem Zweck wurde ein weiterer bioinformatischer Algorithmus entwickelt.

4.7 Systembiologische Betrachtungen durch die Erkennung funktioneller Profilkomponenten

Für die bessere Interpretation von Transkriptomdaten aus synovialen Entzündungsgewebe wurden bisher die zelltypspezifische Krankheitssignatur in Synovialfibroblasten, verschiedene medikamentenspezifische Reaktionsmuster, das Stimulationsprofil in Knorpelgewebe und zahlreiche Zelltypsignaturen von Immunzellen aufgebaut. Anfänglich wurden nur einfache Vergleiche zwischen den verschiedenen Zuständen durchgeführt und einzelne Gene oder Genmuster herausgearbeitet. In Verbindung mit bereits publizierten Informationen über die Funktion dieser Gene wurden Aussagen zu möglichen Pathomechanismen bei der rheumatoiden Arthritis getroffen. In den letzten beiden Arbeiten zur Untersuchung von Blutzellen wurden diese Datensätze für neue bioinformatische Analyseverfahren als Referenzdaten eingesetzt. Es wurden Markergene für verschiedene

Zelltypen etabliert und über das Signalverhältnis der Anteil der Zelltypen in einer Zellmischung quantifiziert.

Die Quantifizierung von Zelltypen stellt einen wesentlichen Schritt hin zur anfangs gestellten Forderung dar, die Zellinfiltration in einem Entzündungsgewebe beurteilen zu können. Abbildung 2 zeigt am Beispiel des Synovialgewebes, welche Unterschiede sich für die Berechnung der zellulären Zusammensetzung vergleichend zwischen rheumatoider Arthritis, Arthrose und normalem Gewebe ergeben.

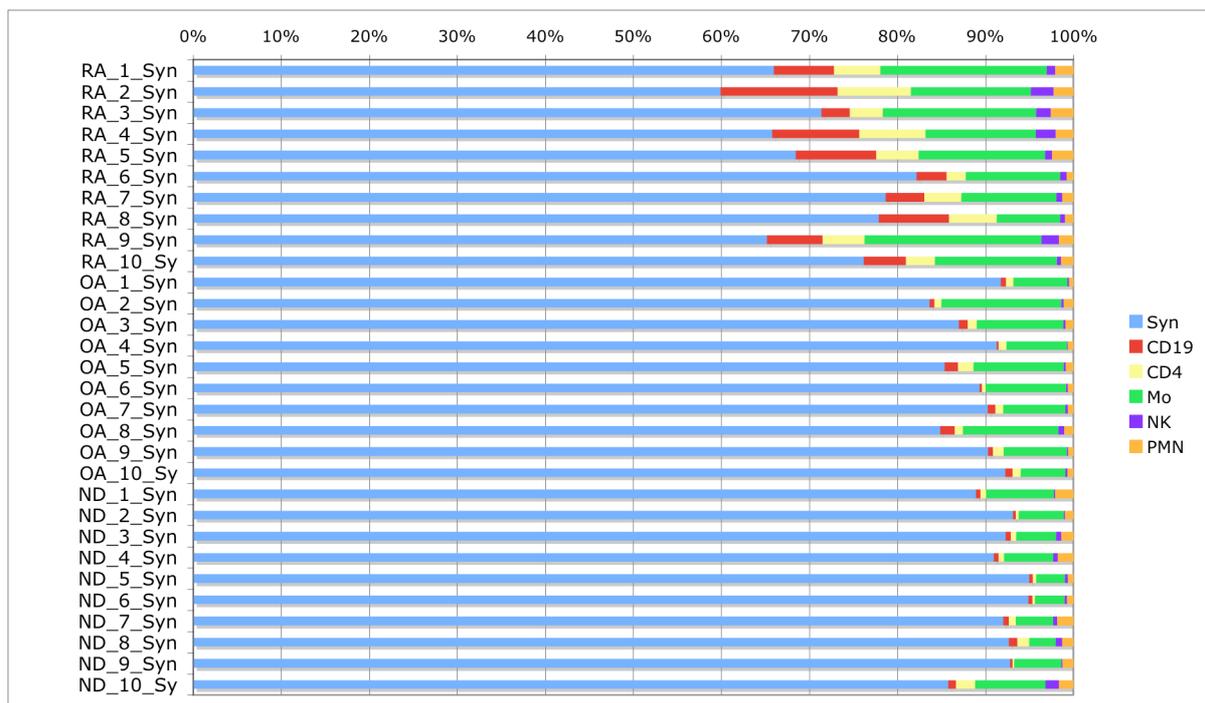


Abbildung 2: Berechnung der zellulären Zusammensetzung von Synovialgewebeproben. Basierend auf zelltypspezifischen Markern wurden die Anteile der Synovialfibroblasten (Syn), B-Zellen (CD19), T-Zellen (CD4), Monozyten (Mo), Natürlichen Killerzellen (NK) und Granulozyten (PMN) berechnet. Während bei Arthrose (OA) nur phagozytierende Zellen (Mo und PMN) statistisch signifikant erhöht im Vergleich zu normalem Synovialgewebe sind, finden sich bei allen infiltrierten Zellfraktionen bei rheumatoider Arthritis (RA) signifikante Erhöhungen im Vergleich zu ND und auch OA.

Diese Methode der Quantifizierung von Zelltypanteilen ist eine entscheidende Voraussetzung, um die Bestandteile des biologischen Systems im Entzündungsgewebe, die im Rahmen der RNA-Extraktion aus ihrer zellulären und histologischen Ordnung herausgelöst und völlig vermischt wurden, wieder zu strukturieren und ihre Bedeutung zu erkennen. Durch die Änderung der zellulären Zusammensetzung wird eine Vielzahl von Genen, die natürlicherweise in den verschiedenen Zelltypen unterschiedlich stark exprimiert werden, auch beim Vergleich von Entzündungsgewebe mit Normalgewebe aufgedeckt.

Im nachfolgenden Schema (Abbildung 3) wird dies nochmal verdeutlicht. Es zeigt die Anzahl der Gene, die in normalen aufgereinigten Immunzelltypen höher exprimiert werden als in

normalem Synovialgewebe, also den molekularen Unterschied zwischen den verschiedenen unstimulierten Immunzellen und normalem Synovialgewebe. Es ergibt sich ein sehr hoher Überlappungsgrad zwischen diesen Zelltypunterschieden und den bei rheumatoider Arthritis im Vergleich zu normalem Synovialgewebe erhöht exprimierten Genen. Dieser beträgt 904 von 1236 also ca. 75% aller identifizierten Gene. Dieser Befund legt nahe, dass ca. $\frac{3}{4}$ der differentiell exprimierten Gene aufgrund der veränderten zellulären Zusammensetzung gefunden werden.

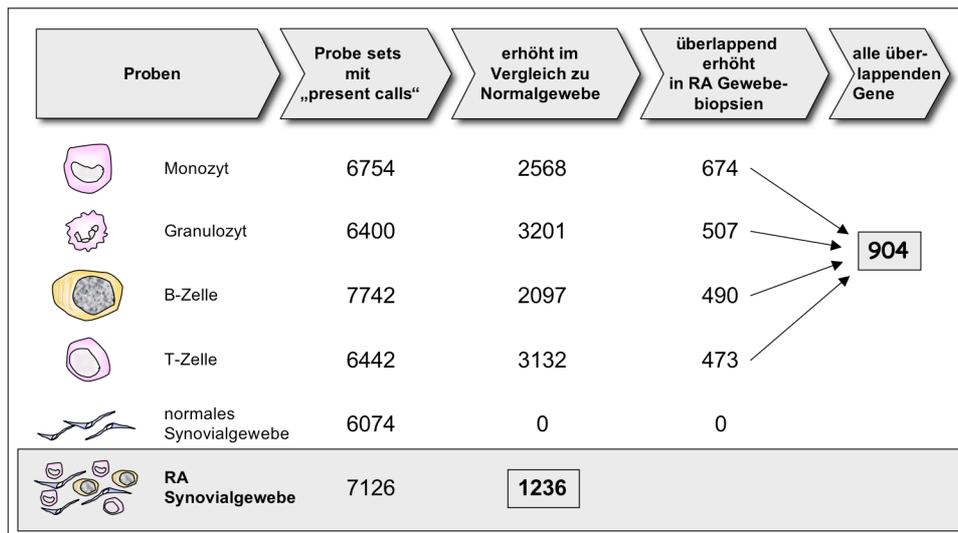


Abbildung 3: Gegenüberstellung der Expressionsunterschiede zwischen verschiedenen Immunzellen und normalem Synovialgewebe sowie zwischen RA Synovitis und normalem Synovialgewebe. Von ca 6-7000 detektierbar exprimierten Genen in den verschiedenen Zelltypen sind 30-50% der Gene je Immunzelltyp signifikant erhöht im Vergleich zu normalem Synovialgewebe. Ca. 75% (904 von 1236) der Gene, die bei rheumatoider Synovitis im Vergleich zu normalem Synovialgewebe erhöht exprimiert werden, sind auch in normalen Immunzellen signifikant stärker exprimiert als in normalem Synovialgewebe.

Ein weiterer wichtiger Schritt ist deshalb die Erkennung von Genen, die reguliert werden und an der Zellinteraktion bzw. Gewebeerstörung beteiligt sind. Erst mit der Entschlüsselung dieser Information, können Referenzsignaturen, wie sie z.B. in dem *in vitro* Modell der chronisch aktivierten Synovialfibroblasten erhoben wurden, zur qualitativen und quantitativen Beurteilung von Pathomechanismen eingesetzt werden.

In der letzten Arbeit (siehe 3.6) wurde auf diese Problematik eingegangen. Es wurde ein weiterer bioinformatischer Algorithmus entwickelt, die funktionelle Profilkomponentenanalyse (FPCA). Bei dieser Methode werden für jede Probe individuell die Anteile der bekannten Zelltypen bestimmt und mit deren Hilfe aus den Referenzsignaturen je Zelltyp anteilig ein virtuelles Transkriptom der Zellmischung berechnet. Unter der Annahme, dass das real gemessene Profil sich aus den Teilen des virtuellen Mischprofils und der krankheitsbedingten Änderung der Genaktivität in den verschiedenen beteiligten Zelltypen zusammensetzt, errechnet sich der tatsächlich regulierte Anteil aus dem Vergleich zwischen realem Profil und dem individuellen virtuellen Mischprofil. Damit ergibt sich die Möglichkeit,

gezielt die Genregulation in einem Entzündungsgewebe herauszufiltern. Die nachfolgende Abbildung 4 verdeutlicht nochmals das bioinformatische Prinzip der FPCA.

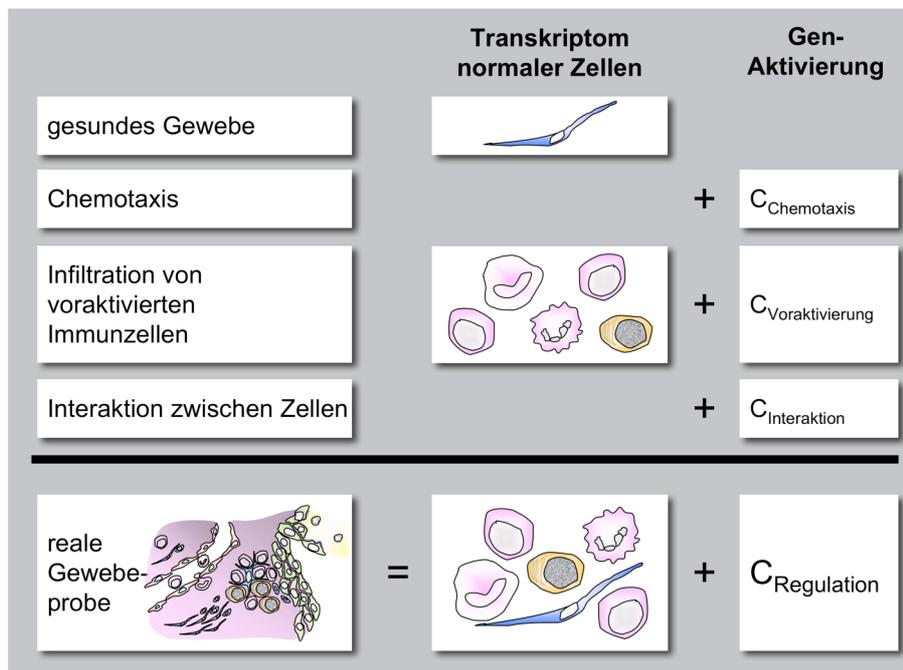


Abbildung 4: Komponenten des Expressionsprofils im Entzündungsgewebe. Das Grundprofil bestehend aus ortständigen Zellen wird durch initiale Entzündungsvorgänge mit Komponenten (C) der Chemotaxis und anschließende Infiltration mit Komponenten von Immunzellen verändert. Durch die Interaktionen zwischen den Zellen im Rahmen der Entzündung entsteht schließlich das Vollbild der Veränderungen im Vergleich zu Normalgewebe. Dabei summieren sich die initialen Veränderungen von ortständigen und infiltrierenden Zellen mit den Veränderungen durch Zellinteraktionen zur Komponente der Genregulation als dem entscheidenden Anteil für die Interpretation der molekularen Pathomechanismen für Diagnostik und Therapie.

Die ersten Anwendungen dieses Prinzips auf Entzündungsgewebe zeigten, dass insbesondere die Gene aufgedeckt werden, die weder im Profil von normalem Synovialgewebe noch in den Profilen von unstimulierten Immunzellen in wesentlichem Umfang exprimiert werden. Die meisten dieser Gene sind zwar auch in einer einfachen differentiellen Expression zwischen rheumatoider Synovitis und normalem Synovialgewebe zu finden, doch tauchen bei der Sortierung nach dem Grad der Unterschiedlichkeit die ersten Kandidatengene mit dieser Eigenschaft erst an Position ≥ 25 auf und würden damit nur eine untergeordnete Beachtung erhalten. Ferner ergibt sich nun die Möglichkeit, die in einer Gewebeprobe enthaltenen Regulationen mit den Profilen von *in vitro* Stimulationsexperimenten zu vergleichen. Unter Verwendung der zelltypspezifischen Krankheitsprofile von Synovialfibroblasten ergab sich ein nahezu doppelt so starkes Stimulationsmuster bei rheumatoider Arthritis im Vergleich zu Arthrose. Auch definierte Stimulationsprofile, z.B. mit Tumor Nekrose Faktor (TNF) oder anderen Zytokinen, die Zielstrukturen neuer biologischer Therapien sind, lassen sich so individuell quantifizieren.

Dies eröffnet die Perspektive, nach medikamentenspezifischen Expressionsmustern zu suchen, um daraus Therapieempfehlungen abzuleiten. Darüber hinaus kann eine Beziehung zwischen Veränderungen der zellulären Zusammensetzung und Genregulation geprüft werden. So kann eine geringe Infiltration mit einer eher degenerativen Veränderung in Verbindung stehen. Es kann aber auch durch den sogenannten „Sampling“ Effekt [37] eine Probe mit geringerer Infiltration entnommen worden sein. Erste Untersuchungen mit Hilfe der FPCA deuten darauf hin, dass in solchen Proben dennoch die Qualität des Inflammationsmusters, wenn auch in geringerer Quantität, erkannt wird.

Die Methode erfordert einen aufwändigen Berechnungsprozess, da über die Verwendung mehrerer Referenzprofile vom gleichen Zelltyp und über iterative Verfahren eine statistische Abschätzung für das im Mittel zu erwartende virtuelle Signal für jedes Gen berechnet wird. Es wurde deshalb in den letzten Jahren die SiPaGene Datenbank und in Weiterentwicklung die BioRetis Datenbank aufgebaut [38, 39], in die dieser Algorithmus inzwischen integriert wurde.

Insgesamt stellt die FPCA ein neues bioinformatisches Konzept dar, das mit Hilfe von Referenzsignaturen das Expressionsprofil eines Gewebes in die einzelnen Komponenten des biologischen Systems aufzuteilen vermag. Prinzipiell ist dieses Verfahren für jede klinische Probe von Bedeutung, die aus mehreren verschiedenen Zelltypen besteht. Neben dem hier dargestellten Entzündungsgewebe gehört dazu Gesamtblut oder auch Aufreinigungen von Blutzellen wie PBMC. Schließlich können auch die Analysen von Tumorgeweben von der FPCA profitieren, da in diesen Geweben oft auch Entzündungsreaktionen ablaufen.

Die dargestellten Arbeiten zeigen schrittweise auf, dass die Analyse von Microarray Daten einem starken Wandel unterliegt. Ausgehend von der einfachen vergleichenden Analyse weniger Einzelgene mit einer hohen Anforderung an die Validierung der Ergebnisse können mit der wachsenden Zahl an gezielt generierten zelltypspezifischen bzw. stimulationsspezifischen Signaturen komplexere Vergleichsalgorithmen entwickelt werden. Die hier vorgestellte Methode stellt sicher nur einen ersten Schritt hin zu systembiologischen Betrachtungen dar. Insgesamt ist zu erwarten, dass nicht nur einzelne Biomarker, sondern mit der zunehmenden Einführung von Multiparameter-Untersuchungen in die klinische Diagnostik auch ganze Funktionssysteme abgefragt werden. Ein Beispiel ist die in SLE-Patienten nachgewiesene Interferonsignatur [40-42]. Für ätiologisch unklare Erkrankungen aus dem Bereich der Rheumatologie stellen diese Methoden einen wichtigen Schritt dar, um Unterschiede oder Ähnlichkeiten der Entzündung zwischen diesen Erkrankungen aufzudecken und die individuell erforderliche Therapie zu verbessern. Ferner kann die Suche nach Ähnlichkeiten oder Unterschieden zu Entzündungen mit bekannter Ursache, wie z.B.

virale und bakterielle Infektionen, dazu verhelfen, die Auswahl der therapeutischen Zielstrukturen so zu optimieren, dass die chronisch destruktiven Prozesse aufgehalten werden, das opportunistische Infektionsrisiko dagegen aber minimiert wird.

5 Literatur

1. Robinson WH, DiGennaro C, Hueber W, Haab BB, Kamachi M, Dean EJ, Fournel S, Fong D, Genovese MC, de Vegvar HE, Skriver K, Hirschberg DL, Morris RI, Muller S, Pruijn GJ, van Venrooij WJ, Smolen JS, Brown PO, Steinman L, Utz PJ: Autoantigen microarrays for multiplex characterization of autoantibody responses. *Nature medicine* 2002, 8(3):295-301.
2. Angenendt P, Glokler J, Konthur Z, Lehrach H, Cahill DJ: 3D protein microarrays: performing multiplex immunoassays on a single chip. *Analytical chemistry* 2003, 75(17):4368-4372.
3. Angenendt P, Wilde J, Kijanka G, Baars S, Cahill DJ, Kreutzberger J, Lehrach H, Konthur Z, Glokler J: Seeing better through a MIST: evaluation of monoclonal recombinant antibody fragments on microarrays. *Analytical chemistry* 2004, 76(10):2916-2921.
4. Warrington JA, Shah NA, Chen X, Janis M, Liu C, Kondapalli S, Reyes V, Savage MP, Zhang Z, Watts R, DeGuzman M, Berno A, Snyder J, Baid J: New developments in high-throughput resequencing and variation detection using high density microarrays. *Human mutation* 2002, 19(4):402-409.
5. Carlson CS, Eberle MA, Kruglyak L, Nickerson DA: Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature* 2004, 429(6990):446-452.
6. Mortazavi A, Williams BA, McCue K, Schaeffer L, Wold B: Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature methods* 2008, 5(7):621-628.
7. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005, 437(7063):1299-1320.
8. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, Gonzalez JR, Gratacos M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME: Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006, 444(7118):444-454.
9. Barrett T, Troup DB, Wilhite SE, Ledoux P, Rudnev D, Evangelista C, Kim IF, Soboleva A, Tomashevsky M, Edgar R: NCBI GEO: mining tens of millions of expression profiles--database and tools update. *Nucleic acids research* 2007, 35(Database issue):D760-765.
10. Parkinson H, Kapushesky M, Shojatalab M, Abeygunawardena N, Coulson R, Farne A, Holloway E, Kolesnykov N, Lilja P, Lukk M, Mani R, Rayner T, Sharma A, William E, Sarkans U, Brazma A: ArrayExpress--a public database of microarray experiments and gene expression profiles. *Nucleic acids research* 2007, 35(Database issue):D747-750.
11. Heller RA, Schena M, Chai A, Shalon D, Bedilion T, Gilmore J, Woolley DE, Davis RW: Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997, 94(6):2150-2155.
12. Donahue KE, Gartlehner G, Jonas DE, Lux LJ, Thieda P, Jonas BL, Hansen RA, Morgan LC, Lohr KN: Systematic review: comparative effectiveness and harms of disease-modifying medications for rheumatoid arthritis. *Annals of internal medicine* 2008, 148(2):124-134.
13. Nandi P, Kingsley GH, Scott DL: Disease-modifying antirheumatic drugs other than methotrexate in rheumatoid arthritis and seronegative arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2008, 20(3):251-256.

14. Buhaescu I, Covic A, Deray G: Treatment of proliferative lupus nephritis--a critical approach. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2007, 36(4):224-237.
15. Feldmann M, Maini SR: Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. *Immunological reviews* 2008, 223:7-19.
16. D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR: Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2007, 369(9561):587-596.
17. Kievit W, Fransen J, Adang EM, Kuper HH, Jansen TL, De Gendt CM, De Rooij DR, Brus HL, Van de Laar MA, van Riel PC: Evaluating guidelines of continuation of anti-TNF treatment after three months: clinical effectiveness and costs of observed care and different alternative strategies. *Ann Rheum Dis* 2008.
18. Roll P, Dorner T, Tony HP: Anti-CD20 therapy in patients with rheumatoid arthritis: predictors of response and B cell subset regeneration after repeated treatment. *Arthritis and rheumatism* 2008, 58(6):1566-1575.
19. Imundo L: Hodgkin's lymphoma associated with anti-TNF use in juvenile idiopathic arthritis: supplemental case report. *The Journal of rheumatology* 2008, 35(8):1681.
20. Nakashima C, Tanioka M, Takahashi K, Miyachi Y: Diffuse large B-cell lymphoma in a patient with rheumatoid arthritis treated with infliximab and methotrexate. *Clinical and experimental dermatology* 2008, 33(4):437-439.
21. Liu C, Batliwalla F, Li W, Lee A, Roubenoff R, Beckman E, Khalili H, Damle A, Kern M, Plenge RM, Coenen M, Behrens TW, Furie R, Carulli JP, Gregersen PK: Genome-wide association scan identifies candidate polymorphisms associated with differential response to anti-TNF treatment in Rheumatoid Arthritis. *Molecular medicine* (Cambridge, Mass 2008).
22. Stuhlmuller B, Häupl T, Tandon N, Hernandez M, Hultschig C, Kuban RJ, Salfeld J, Burmester GR: Microarray analysis for molecular characterization of disease activity and measuring outcomes of anti-tumour necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2005, 7:S57-S57.
23. Stuhlmuller B, Tandon N, Hultschig C, Kuban RJ, Hernandez M, Burmester GR, Häupl T: A customized monocyte cDNA microarray for diagnosis of rheumatoid arthritis and prognosis of anti-TNF-alpha therapy. *Arthritis Research & Therapy* 2004, 6:S22-S23.
24. Stuhlmuller B, Häupl T, Tandon N, Hernandez MM, Hultschig C, Kuban RJ, Kupper H, Salfeld J, Burmester GR: Microarray analysis for molecular characterization of disease activity and measuring outcomes of anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2004, 50(9):S396-S397.
25. Affymetrix: Design and Performance of the GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 and Human Genome U133A 2.0 Arrays. http://www.affymetrix.com/support/technical/technotes/hgu133_p2_technote.pdf.
26. Kaps C, Bramlage C, Smolian H, Haisch A, Ungethüm U, Burmester GR, Sittlinger M, Gross G, Häupl T: Bone morphogenetic proteins promote cartilage differentiation and protect engineered artificial cartilage from fibroblast invasion and destruction. *Arthritis and rheumatism* 2002, 46(1):149-162.
27. Krenn V, Morawietz L, Burmester GR, Kinne RW, Mueller-Ladner U, Muller B, Häupl T: Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. *Histopathology* 2006, 49(4):358-364.
28. Pessler F, Chen LX, Dai L, Gomez-Vaquero C, Diaz-Torne C, Paessler ME, Scanzello C, Cakir N, Einhorn E, Schumacher HR: A histomorphometric analysis of synovial biopsies from individuals with Gulf War Veterans' Illness and joint pain compared to normal and osteoarthritis synovium. *Clinical Rheumatology* 2008, 27(9):1127-1134.

29. Pessler F, Dai L, Diaz-Torne C, Gomez-Vaquero C, Paessler ME, Zheng DH, Einhorn E, Range U, Scanzello C, Schumacher HR: The synovitis of "non-inflammatory" orthopaedic arthropathies: a quantitative histological and immunohistochemical analysis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2008, 67(8):1184-1187.
30. Boyle DL, Kavanaugh A: The pathobiology of psoriatic synovium. *Current Opinion in Rheumatology* 2008, 20(4):404-407.
31. Wernicke D, Voigt A, Mueller A, Schmidt WA, Stiehl P, Hein G: Association between histopathologic type II synovitis and increased amounts of pyridinoline in synovial tissue samples in rheumatoid arthritis. *Zeitschrift Fur Rheumatologie* 2008, 67(3):225-+.
32. Kristensen LE, Kapetanovic MC, Gulfe A, Soderlin M, Saxne T, Geborek P: Predictors of response to anti-TNF therapy according to ACR and EULAR criteria in patients with established RA: results from the South Swedish Arthritis Treatment Group Register. *Rheumatology (Oxford, England)* 2008, 47(4):495-499.
33. Andreas K, Häupl T, Lubke C, Ringe J, Morawietz L, Wachtel A, Sittlinger M, Kaps C: Antirheumatic Drug Response Signatures in Human Chondrocytes: Potential Molecular Targets for Cartilage Regeneration. submitted.
34. Gerstmayer B, Bosio A, Janitz M, Möwes B, Kaiser T, Raba K, Grün J, Häupl T, Sieper J, Rudwaleit M, Burmester GR, Scheffold A, Grützkau A, Radbruch A: Gene expression profiling of highly purified peripheral blood monocytes in chronic rheumatic inflammation. *MACS&more* 2003, 7(2):16-18.
35. Grützkau A, Grün J, Häupl T, Burmester GR, Radbruch A: [Gene expression in inflammatory rheumatic diseases]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 2007, 132(37):1888-1891.
36. Agarwal SK, Brenner MB: Role of adhesion molecules in synovial inflammation. *Curr Opin Rheumatol* 2006, 18(3):268-276.
37. Lindberg J, af Klint E, Ulfgren AK, Stark A, Andersson T, Nilsson P, Klareskog L, Lundeberg J: Variability in synovial inflammation in rheumatoid arthritis investigated by microarray technology. *Arthritis Res Ther* 2006, 8(2):R47.
38. Häupl T, Menssen A, Edinger G, Grün J, Grützkau A, Radbruch A, Burmester G: Sipagene: An integrative database for complex analysis and sharing of affymetrix gene expression data. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2007, 66:130-130.
39. Menßen A, Edinger G, Grün J, Grützkau A, Radbruch A, Burmester GR, Häupl T: SiPaGene: A new repository for instant online retrieval, sharing and meta-analyses of GeneChip® expression data. submitted.
40. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, Espe KJ, Shark KB, Grande WJ, Hughes KM, Kapur V, Gregersen PK, Behrens TW: Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, 100(5):2610-2615.
41. Bennett L, Palucka AK, Arce E, Cantrell V, Borvak J, Banchereau J, Pascual V: Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *The Journal of experimental medicine* 2003, 197(6):711-723.
42. Han GM, Chen SL, Shen N, Ye S, Bao CD, Gu YY: Analysis of gene expression profiles in human systemic lupus erythematosus using oligonucleotide microarray. *Genes and immunity* 2003, 4(3):177-186.

6 Zusammenfassung

Die Microarray-Technologie hat die Erforschung molekularer Mechanismen in der Medizin revolutioniert. In der Rheumatologie mit zahlreichen ätiologisch ungeklärten Krankheitsbildern ist die Möglichkeit entstanden, eine Übersicht über alle bekannten molekularen Mechanismen von Entzündungsvorgängen zu erstellen. Mit der Generierung umfangreicher Datensätze sind aber auch die Anforderungen an die bioinformatische Aufarbeitung und an die Planung dieser Experimente gestiegen.

Die vorliegende Arbeit zeigt schrittweise die Strategien der Datenerhebung und die Entwicklung neuer Konzepte zur Daten-Auswertung. Am Beispiel der Synovitis wird verdeutlicht, mit welchem Informationsgehalt aus konventionellen Analysen, wie der Histopathologie, die Interpretation der molekularen Daten eines Microarray Experiments zu konkurrieren hat. Die gezielte Untersuchung einer Gengruppe wie der „bone morphogenetic proteins“ verdeutlicht, dass Microarrays verlässliche Expressionsdaten liefern. Der einfache Vergleich zwischen „gesund“ und „krank“ benötigt jedoch umfangreiche Validierungsexperimente. Eine systematische Analyse mit dieser Vorgehensweise ist jedoch nicht zielführend. Vielmehr ist erforderlich, Grundbausteine in Form von charakteristischen Expressionssignaturen zu erstellen und diese in ein komplexes Auswertungssystem einfließen zu lassen. Es wurden deshalb an definierten Zellen Vergleiche zwischen „krank“ und „gesund“ durchgeführt, der Einfluss von Medikamenten getestet, Wechselwirkungen zwischen Zellen durch Stimulation von definierten Zellen mit Kulturüberständen untersucht, sowie Referenzsignaturen von Immunzellen im Normalzustand als Vergleichsgrößen für die Abschätzung der Zellzusammensetzung bei der Untersuchung von Blut getestet. Schließlich wurde eine neue bioinformatische Analysestrategie, die funktionelle Profilkomponenten-Analyse (FPCA) entwickelt, die mit Hilfe von Referenzsignaturen eine systematische Aufschlüsselung in funktionelle Bestandteile ermöglicht. Diese Methode wurde mit entzündetem Synovialgewebe von Patienten mit rheumatoider Arthritis überprüft, um Änderungen der zellulären Zusammensetzung eines Gewebes, also die Infiltration von Immunzellen, qualitativ und quantitativ zu beurteilen. Zusätzlich konnten in einem zweiten Schritt diese Änderung der Zellzusammensetzung berechnet werden. Durch den Vergleich des tatsächlich gemessenen Profils mit einem für jede Probe individuell berechneten virtuellen Mischprofil auf der Basis von Normalzuständen für jeden Zelltyp kann die tatsächlich stattfindende Genregulation und damit die molekulare Pathophysiologie herausgefiltert werden.

Das neu entwickelte Konzept der Analyse ist für alle Untersuchungsproben, die Zellmischungen beinhalten, hilfreich. Insbesondere gilt dies für Gewebe, die entzündlichen Veränderungen unterliegen, da in diesen Vergleichen zu Normalgewebe eine Vielzahl

zelltypspezifischer Transkripte erkannt werden, die nicht unmittelbar an den Pathomechanismen beteiligt sind. Dies trifft nicht nur für Entzündungserkrankungen, sondern beispielsweise auch für Tumorgewebe zu, bei dem häufig Begleitentzündungen angetroffen werden. Das Konzept der Bestimmung von Signaturanteilen über Markergene ist ferner erweiterbar für die Quantifizierung von Zytokinsignaturen und damit pathophysiologisch relevante Profilkomponenten.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass der schrittweise Aufbau von Referenzsignaturen ein elementarer Baustein für die funktionelle Interpretation von Microarray-Daten darstellt. Eine bioinformatische Analyse, die diese Referenzsignaturen berücksichtigt, kann nicht nur dazu beitragen, Biomarker effizienter zu erkennen, sondern kann auch funktionelle Komponenten in einem Expressionsprofil quantifizieren und damit eine ganzheitliche systembiologische Betrachtung ermöglichen.

7 Abkürzungsverzeichnis

PBMC mononukleäre Zellen des peripheren Blutes

RA rheumatoide Arthritis

OA Osteoarthritis

ND Normalspender

FPCA funktionelle Profilkomponentenanalyse

BMP bone morphogenetic protein

KEGG Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

8 Danksagung

Ich danke

Gerd Burmester für seine langjährige Unterstützung und Förderung meines Werdegangs, seine stetig hilfreiche Begleitung meiner Forschungsaktivitäten und die Bereitstellung der vielen Entwicklungsmöglichkeiten in seiner Klinik.

Andreas Radbruch für die stetige Unterstützung der Forschungsaktivitäten und zahlreiche kritische Anregungen zur Ausrichtung der inhaltlichen Schwerpunkte.

Michael Sittinger für langjährige freundschaftliche Zusammenarbeit im Bereich des Tissue Engineerings für regenerative Ansätze bei Knorpeldestruktion, für seine stetige Hilfsbereitschaft und Begleitung meiner Forschungsprojekte durch Rat und Tat sowie für seine Initiativen zum Technologietransfer und zur Verwertung neuer Ideen und Erkenntnisse.

Andreas Grützkau für die langjährige Zusammenarbeit, Diskussionsbereitschaft und den gemeinschaftlichen Aufbau der Microarray Technologie für die Rheumatologie am Standort, für die Entwicklung der Zellsortierstrategie und seine stetige Bereitschaft zur unmittelbaren Bearbeitung von Probenmaterial.

Silvia Pade und Anja Wachtel für ihre langjährige Unterstützung bei der Rekrutierung von Patienten, die klinische Dokumentation und die Aufarbeitung der Proben sowie die Durchführung der GeneChip Hybridisierungen mit hoher Qualität und Reproduzierbarkeit.

Joachim Grün, Marc und Philipp Bonin, Ulrike Haase, Stephan Flemming, Dirk Wiesenthal, Adriane Menssen und Götz Edinger für ihre Unterstützung und Mithilfe beim Aufbau der Auswertungsalgorithmen und der SiPaGene Datenbank sowie den zahlreichen Anregungen für die Verbesserung der Auswertetechniken.

Monika Østensen und Peter Villiger für ihre intensive Zusammenarbeit bei der Untersuchung von Rheuma und Schwangerschaft mittels Methoden der Genexpression und ihre kritische Diskussion bei der Entwicklung der Auswertestrategie.

Veit Krenn und Lars Morawietz für die jahrelange Zusammenarbeit im Bereich der Synovitisforschung bei der Entwicklung von qualitativen und quantitativen Methoden der Gewebecharakterisierung als Grundlage für die Validierung der Genexpressionsdaten.

Bruno Stuhlmüller für langjährige Zusammenarbeit zur Analyse der Genexpression in Monozyten bei Patienten mit RA vor und nach Therapie.

Christian Kaps, Jochen Ringe, Carsten Bramlage und Carsten Lübke für Untersuchungen zum Einfluss von Entzündung auf regenerative Methoden des Gelenkersatzes und ihre pharmakologische Beeinflussung.

Josef Zacher und Axel Pruß für die Bereitstellung von Synovialgewebe aus Patienten mit Gelenkerkrankungen und für Referenzgewebe aus der Gewebekbank

Den Mitarbeitern der Klinik bei der Patientenrekrutierung und den Bemühungen zum Aufbau der klinischen Daten- und Probenbank.

Meinen Eltern und meiner Familie, insbesondere meiner Frau und meinen drei Kindern für ihre Unterstützung und Geduld.

9 Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig angegeben wurden
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum

Unterschrift