

## **1. Einleitung**

### **1.1. Spondyloarthritiden**

Unter dem Begriff der Spondyloarthritiden (SpA) fasst man die Ankylosierende Spondylitis (AS, Synonym: Morbus Bechterew), die Reaktive Arthritis und Gelenkentzündungen zusammen, die in Assoziation mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) oder Psoriasis vulgaris auftreten. All diese Erkrankungen sind in unterschiedlichem Ausmaß mit HLA-B27 Positivität vergesellschaftet. Ausserdem treten bei diesen Erkrankungen ähnliche klinische Symptome auf wie zum Beispiel entzündlicher Rückenschmerz (nächtlicher Rückenschmerz, der sich bei Bewegung bessert), als Ausdruck einer Sakroiliitis und eine asymmetrische Arthritis vor allem im Bereich der unteren Extremitäten, wobei hier vor allem die großen Gelenke betroffen sind.

Bei 20-40% dieser Patienten treten auch eine Enthesitis oder eine Uveitis auf. Zudem entwickeln Patienten, die eine Arthritis oder Spondylitis im Rahmen einer Psoriasis oder CED haben oder unter einer Reaktiven Arthritis leiden, deutlich häufiger eine AS, wenn sie HLA-B27 positiv sind. Die AS wird als die schwerste Form der SpA betrachtet. Sie manifestiert sich im jüngeren Alter (3. Lebensjahrzehnt) und Männer sind doppelt so häufig betroffen wie Frauen (Braun et al. 2003). Die Krankheit beginnt in der Regel mit einer Entzündung der Sakroiliakgelenke, kann aber auch schon früh die Wirbelkörper betreffen. Die komplette Verknöcherung der Wirbelsäule oder von Abschnitten der Wirbelsäule tritt aber nur bei einem Teil dieser Patienten auf.

Neben HLA-B27 als wichtigstem genetischen Faktor bei der SpA gibt es noch andere weniger gut charakterisierte Faktoren, die zu dem generellen genetischen Risiko beitragen, diese Krankheit zu entwickeln.

### **1.2. HLA-B27 Prävalenz bei der AS und in der Normalbevölkerung**

HLA-B27 ist bei 85-95% aller AS Patienten positiv (Brewerton 1973). Untersuchungen bei SpA Familien oder Zwillingen unterstützen aber die Idee eines polygenetischen Modells der Krankheitsentstehung. So ist die Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen 63%, bei zweieiigen Zwillingen 12,5% und für zweieiige HLA-B27+ Zwillinge 27,5%. Man weiß außerdem, dass bereits heterozygote HLA-B27 positive Individuen eine Spondyloarthritis bekommen können. Transgene Tiermodelle

oder epidemiologischen Analysen haben aber den unmittelbaren pathogenetischen Zusammenhang zwischen HLA-B27 oder benachbarten Genen und der Krankheitsentstehung bisher nicht erbringen können (Brown et al. 2002).

### **1.3. Risiko von HLA-B27 positiven Gesunden, eine AS zu entwickeln**

Epidemiologische Untersuchungen haben eine gewisse Beziehung zwischen der Häufigkeit von SpA und der Häufigkeit von HLA-B27 in einer Population gezeigt. Das heisst, dass Populationen mit einer höheren Frequenz von HLA-B27 auch eine höhere Prävalenz für AS und andere SpA haben, wobei es Ausnahmen gibt (siehe unten).

HLA-B27 findet man im gesamten eurasischen Raum (Prävalenz 2-15%) aber nicht in genetisch isolierten Bevölkerungen von Ureinwohnern in Südamerika, in Australien sowie in Afrika (Kahn 1998). Die Prävalenz von HLA-B27 steigt bis auf 25-50%, je mehr man sich dem Nordpol nähert. Die besten Untersuchungen zur Prävalenz von HLA-B27 bei SpA sind bei AS Patienten gemacht worden. Die Prävalenz für die AS in der westlichen Welt liegt insgesamt bei 0,2-1,4% wobei es regionale Unterschiede gibt (Braun et al. 1998).

### **1.4. HLA-B27 Subtypen und deren Assoziation mit AS**

HLA-B27 besteht aus 25 verschiedenen Allelen mit 23 verschiedenen Proteinprodukten die als B\*2701 bis B\*2723 verschlüsselt sind (Ball et al. 2001). Diese Subtypen unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Diese Unterschiede liegen vor allem im Exon 2 und 3, wo die Alpha-1 und die Alpha-2 Domäne der schweren Kette von HLA-B27 verschlüsselt sind. Der am häufigsten in der westlichen Welt vorkommende Subtyp ist B\*2705. B\*2702, B\*2704 und B\*2705 sind eindeutig mit SpA assoziiert, während die selteneren oder nur schlecht untersuchten Subtypen wie B\*2701, B\*2703, B\*2707 und B\*2708 nur vereinzelt bei AS Patienten nachgewiesen werden konnten. B\*2702 hat in Nordeuropa eine Prävalenz von 10% innerhalb der HLA-B27 positiven Bevölkerung, in Spanien etwa 20% und innerhalb der jüdischen und der arabischen HLA-B27 positiven Bevölkerung bis zu 55%.

Diese Beobachtungen unterstützen die Hypothese, dass HLA-B27 als MHC-Molekül, welches durch Peptidpräsentation CD8+ T-Zellen stimuliert, von pathogenetischer Relevanz ist.

## 1.5. Die Rolle von HLA-B27 und bakteriellen Erregern bei der Pathogenese von AS

Die Tatsache, dass nicht alle HLA-B\*2705 positiven Individuen eine AS entwickeln, macht es notwendig, dass weitere Faktoren wie zum Beispiel Umwelteinflüsse ebenfalls eine triggernde Rolle bei der Krankheitsentstehung spielen. Es gibt Hinweise dafür, dass zum Beispiel bakterielle Infektionen oder zumindest der Kontakt mit bakteriellen Bestandteilen eine Rolle auch bei der AS spielen. Dafür spricht, dass zum Beispiel bei der Reaktiven Arthritis etwa 1-4 Wochen nach einer akuten Infektion mit Enterobakterien im Darm oder mit *Chlamydia trachomatis* im Urogenitaltrakt eine Gelenkentzündung auftritt (Aho et al. 1972, Keat et al. 1983). Hierbei ist das Risiko einer Arthritis für HLA-B27+ Patienten etwa viermal höher als für HLA-B27 negative Individuen.

20-40% der Patienten mit Reaktiver Arthritis entwickeln bei chronischem Verlauf eine AS, vor allem wenn sie HLA-B27 positiv sind (Leirisalo-Repo 1998). Dass bakterielle Infektionen eine wesentliche Rolle spielen, kann auch aufgrund einer Beobachtung aus Schweden vermutet werden, die zeigte, dass zwischen 1940 und 1950 die Assoziation zwischen Arthritis und Urogenitalinfektion einerseits und der Entstehung von AS andererseits deutlich höher war als 20- 30 Jahre später als man solche Entzündungen konsequent mit Antibiotika behandeln konnte (Olhagen 1993). Die Wichtigkeit der Behandlung von bakteriellen Infektionen lässt sich auch daran ablesen, dass in Ländern mit schlechten Hygiene- Standards wie zum Beispiel in Mexiko (Lau et al. 1998) oder China (Huang et al. 2003) die SpA deutlich früher auftritt und schwerer verläuft als zum Beispiel in Mitteleuropa (Claudepierre et al. 1995).

Die meisten gastrointestinalen Infekte oder urogenitalen Infektionen, die einer reaktiven Arthritis vorausgehen, verlaufen asymptomatisch. Besonders Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* oder mit *Chlamydia trachomatis* haben oft einen milden klinischen Verlauf oder werden von dem Patienten gar nicht bemerkt. So konnte bei Patienten mit undifferenzierter Oligoarthritis in 30% der Fälle in der Synovialflüssigkeit oder der Synovialmembran Bestandteile von *Chlamydia trachomatis* mittels molekularbiologischer Techniken nachgewiesen werden, ohne dass konventionelle Laboruntersuchungen oder anamnestische Angaben auf eine solche Infektion hingedeutet hätten (Sieper et al. 2000).

Bei der mit Morbus Crohn assoziierten Arthritis geht man davon aus, dass eine Stimulation des Immunsystems durch lokale Darmbakterien aufgrund einer defekten Barriere in der mukosalen Darmwand stattfindet und somit einen ähnlichen Mechanismus auslöst wie die Bakterien bei gastrointestinalen Infektionen. So sind besonders HLA-B27 positive CED Patienten mit einem hohen Risiko belastet, eine AS zu entwickeln. In einer Studie entwickelten 54% aller HLA-B27 positiven Morbus Crohn Patienten eine AS während dies nur bei 2,6% der HLA-B27 negativen Morbus Crohn Patienten der Fall war (Purmann et al. 1988). Umgekehrt ist es so, dass weniger als 10% aller AS Patienten klinisch das Bild einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung bieten. Untersucht man allerdings AS Patienten mittels Koloskopie kann man bei bis zu 50% der Untersuchten makroskopisch oder mikroskopisch mukosale Läsionen feststellen, die mit einem Morbus Crohn vereinbar wären (Mielants et al. 1988). Angesichts dieser zahlreichen klinischen Beobachtungen erscheint es sehr wahrscheinlich, dass zumindest bei HLA-B27 positiven AS Patienten bakterielle Strukturen für die Krankheitsentstehung von herausragender Bedeutung sind. Diese Vermutung wird auch durch Untersuchungen im B27-transgenen Rattenmodell für AS und SpA unterstützt. Diese Tiere weisen einige typische Symptome auf, wie sie bei der SpA zu finden sind: psoriasiforme Haut- und Nagelveränderungen, Veränderungen in der Darmmukosa wie bei CED sowie periphere Arthritis. Wie wichtig bei der Krankheitsentstehung auch Umwelteinflüsse sind, zeigt die Tatsache, dass man bei HLA-B27 transgenen Ratten, die in einem keimfreien Umfeld geboren werden und aufwachsen, solche Symptome nicht findet. Wenn diese Tiere dann in ein normales Umfeld überführt werden, entwickeln sie zügig die oben genannten Symptome (Taurog et al. 1994). Diese konnten durch den Einsatz von Antibiotika zum Teil unterbunden werden (Rath et al. 2001).

#### **1.6. HLA-B27 und die arthritogene Peptid-Hypothese als Modell für die Krankheitsentstehung der SpA**

Die Hauptaufgabe von MHC Klasse I Molekülen liegt in der Antigen-Präsentation für CD8+ zytotoxische T-Zellen. Diese „arthritogene Peptid-Theorie“ beinhaltet, dass bestimmte Subtypen von HLA-B27 (siehe oben) aufgrund ihrer sehr spezifischen Peptid-Bindungseigenschaften bestimmte arthritogene Peptide binden, die dann wiederum CD8+ T-Zellen stimulieren (Kuon et al. 2003). Dies könnten u.a. bakterielle Peptide von ReA induzierenden Mikroben sein, die aufgrund einer Kreuzantigenität

mit z.B. Knorpelantigenen autoreaktive T-Zellen stimulieren, die dann eine Krankheitsentstehung induzieren. Diese Theorie wird durch die Tatsache unterstützt, dass es nur bestimmte HLA-B27 Subtypen gibt, die mit SpA assoziiert sind. So verursachen unterschiedliche Aminosäuren in der Bindungsgrube der verschiedenen HLA-B27 Subtypen veränderte Form der Antigen-Präsentation, was für die Krankheitsentstehung (siehe oben) von grosser Bedeutung sein könnte.

Dieser Idee folgend haben viele Wissenschaftler den Versuch unternommen, Kandidaten-Antigene, die über HLA-B27 CD8+ T-Zellen stimulieren, zu definieren und auf ihre Pathogenität hin zu untersuchen. Hierbei bot es sich zunächst an, sich auf Patienten mit reaktiven Arthritiden zu konzentrieren.

Die Reaktive Arthritis (ReA) ist eine immunologische Sekundärerkrankung nach einer bakteriellen Infektion des Gastrointestinaltraktes oder des Urogenitaltraktes (Aho et al. 1972, Keat et al. 1983). Dabei kommt es zu einer lokalen Persistenz von bakteriellem Antigen und eine weitgehend lokale Immunantwort, bei der in histologischen Darstellungen überwiegend T-Lymphozyten und Makrophagen gefunden werden. Hierbei sind CD4-positive T-Zellen in einer größeren Anzahl als CD8-positive T-Zellen vorhanden. Dies gilt sowohl für die Synovialmembran als auch für die Synovialflüssigkeit (Übersicht bei: Sieper & Kingsley 1996).

In der Synovialflüssigkeit oder –membran von Patienten mit ReA konnten bakterielle Bestandteile (*Yersinia enterocolitica*, außerdem: *Salmonella enteritidis* und *Shigella flexneri*) oder aber auch intakte Bakterien (*Chlamydia trachomatis*) nachgewiesen werden (Granfors et al. 1989, Granfors et al. 1990, Hammer et al. 1990). Unter Verwendung von Lysaten ganzer Bakterien wurde die Spezifität von CD4-positiven T-Zellen in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit ReA in Proliferationsassays untersucht. Es zeigte sich eine deutliche Spezifität hinsichtlich des jeweils krankheitsauslösenden Erregers (Gaston et al 1989, Gaston et al. 1996, Sieper et al. 1991, Deane et al. 1997).

### **1.7. Histopathologische Untersuchungen bei der Ankylosierenden Spondylitis**

Im Vergleich zur Rheumatoiden Arthritis, bei der postuliert wird, dass die entzündlichen Veränderungen der Synovia der Ausgangspunkt für die destruierenden Gelenkveränderungen sind, wird bei der AS der primäre Ort der Immunpathologie am Knorpel/Knochenübergang im Bereich von hyalinem Knorpel und den Enthesien, wo in erster Linie Faserknorpel nachweisbar ist, vermutet (Poole

et al. 1998, McGonagle 1998, McGonagle et al. 1998, Francois et al. 2000, Maksymowych 2000). Dass diese Regionen Orte des primären entzündlichen Geschehens sind, kann durch Ganzkörper-Magnet Resonance Tomographien (MRT) von Patienten mit Ankylosierender Spondylitis (Althoff et al., eingereicht) und hoher Krankheitsaktivität gut dokumentiert werden (Abbildung 1). In diesen Aufnahmen eines AS Patienten wurden unter anderem Enthesitiden im Beckenkamm beidseits, in der Tuberositas tibiae beidseits und im Trochanter major des rechten Hüftgelenks nachgewiesen. Eine subchondrale Osteitis im Bereich hyalinen Knorpels wurden im Manubriosternalgelenk, im linken rechten Femurkopf, im linken Humeruskopf und im Tibiaplateau des rechten Knies nachgewiesen.

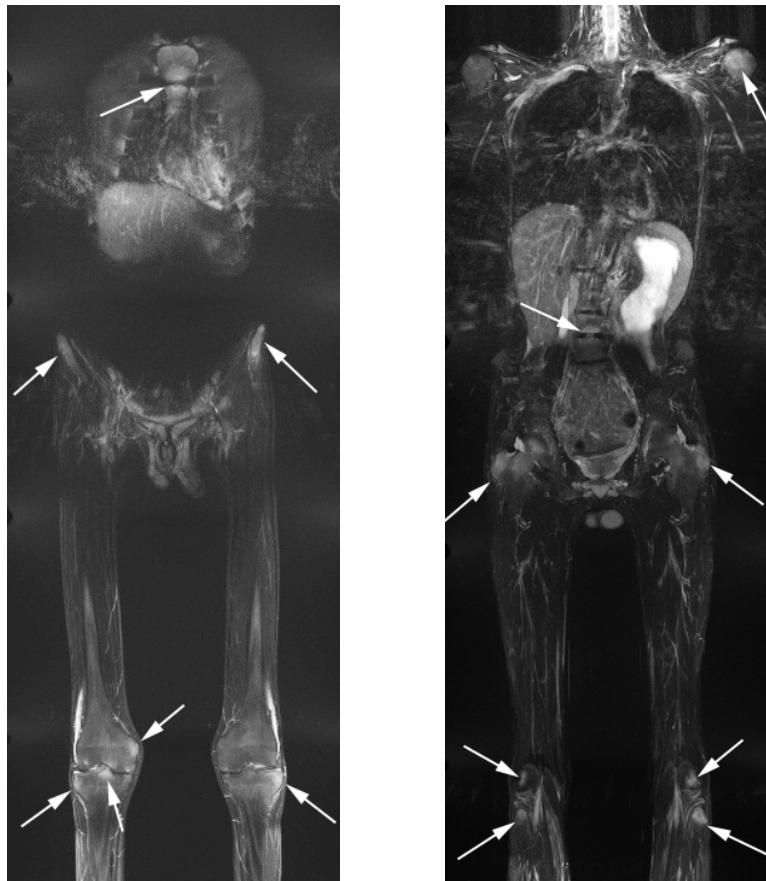


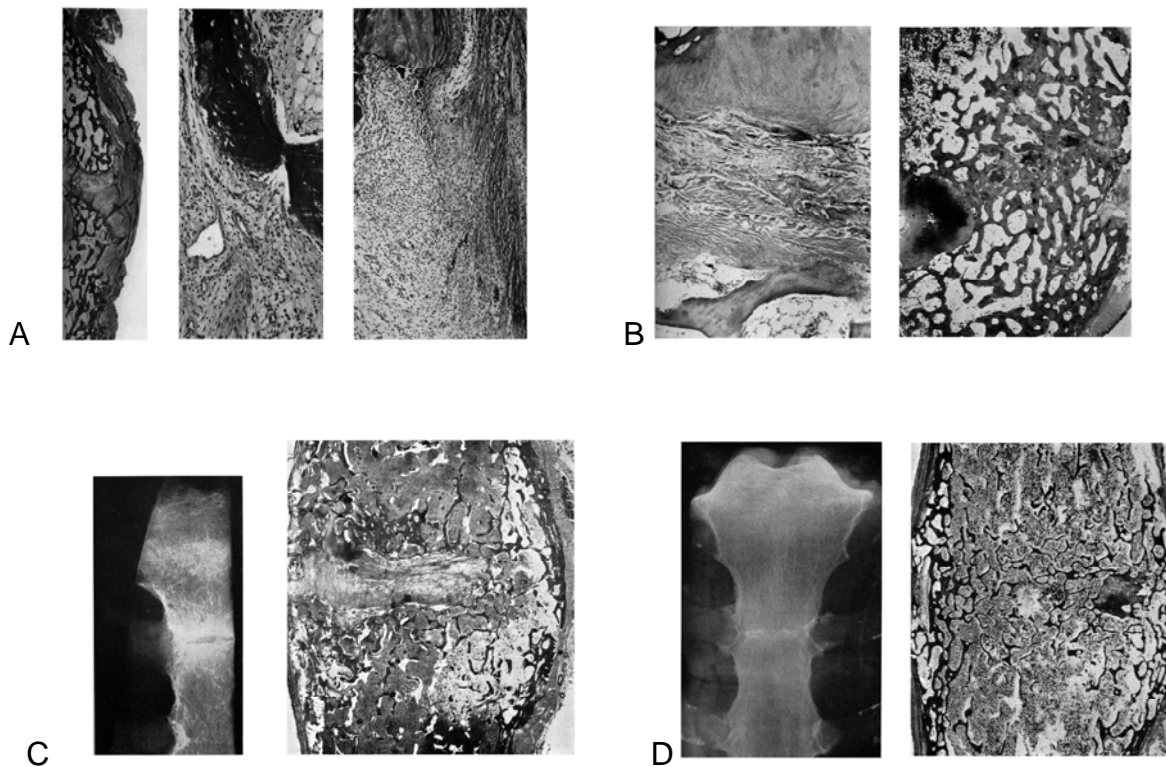
Abbildung 1: Ganzkörper-MRT (TIRM-Sequenz) eines Patienten mit Ankylosierender Spondylitis. Nachweis von multiplen entzündlichen Veränderungen an den Enthesien und im subchondralen Knochenmark unterhalb von mit hyalinem Knorpel überzogenen Gelenken (die Bilder wurden dankenswerterweise von K.G. Hermann zur Verfügung gestellt).

In Sakroiliakgelenken von AS Patienten konnte gezeigt werden, dass eine gute Korrelation zwischen entzündlichen subchondralen Veränderungen im MRT und dem Nachweis von den Knorpel infiltrierenden mononukleären Zellen besteht (Bollow et al. 2000). Immunkompetente Zellen können entweder durch das Knochenmark oder

durch lokale Blutgefäße zum Ort der Entzündung an der Knorpel/Knochengrenze gelangen (Benjamin et al. 2001). Eine Synovitis scheint dabei keine wesentliche Rolle zu spielen und tritt erst sekundär auf. Die erste histopathologische Beschreibung eines solchen Befundes wurde bereits in den 60er Jahren formuliert. Ein AS Patient zeigte post mortem im Femurkopf eine Coxitis mit einer Granulation, die von subchondral in das Gelenk hineinragte (Bywaters et al. 1968).

Eine histopathologische Untersuchung mit Darstellung unterschiedlicher Stadien der subchondralen Osteitis bis zur Ankylose in Gelenken, die mit hyalinem Knorpel überzogen sind, wurde bereits vor über 50 Jahren erstmals berichtet. Einem subchondralen lymphozytären Infiltrat, welches in den Gelenkspalt invadierte, folgte ein Granulationsgewebe mit weitergehender Zerstörung des Knorpels und der Ausbildung von Knochenbrücken bis hin zur kompletten Ankylose des Gelenks (Abbildung 2A-D) (Cruickshank 1956).

Abbildung 2: Der initialen Osteitis im subchondralen Knochenmark (A, links) folgt eine Invasion von Granulationsgewebe durch die knöcherne Endplatte (A, Mitte und rechts). Im Gelenkspalt folgt der Zerstörung von Knorpelgewebe die Bildung von fibrotischem Bindegewebe (B, links) und die Ausbildung von Knorpelinseln („islands of cartilage“) (B, rechts). Die Vermehrung von knöchernen Brücken als Ausdruck der zunehmenden Ankylose in der Histomorphologie (C, rechts und D, rechts) korreliert zum Grad der Verknöcherung in den Röntgenaufnahmen der Manubriosternalgelenke (C, links und D, links) (B. Cruickshank 1956).



Histopathologische Untersuchungen mit immunhistochemischen Methoden an Enthesien entzündeter Knie- und Hüftgelenke nach einer Gelenkersatzoperation

zeigten Ödeme und entzündliche Infiltrate, die in erster Linie aus CD8+ T-Zellen bestanden und unmittelbar subchondral zur Darstellung kamen (Laloux et al. 2001). Es wurde weiterhin postuliert, dass Mikrotraumata zusätzlich erforderlich sind, um eine solche entzündliche Reaktion auszulösen (McGonagle et al. 2000).

Insgesamt sind die hier geschilderten aber auch die anderen bisher vorliegenden histologischen Arbeiten zur Ankylosierenden Spondylitis vor allem Einzelfallberichte oder Studien mit geringer Fallzahl (Francois et al. 2000), die bis auf die oben genannte Arbeit (Laloux et al. 2001) keine immunhistochemischen Techniken beinhaltet haben.

Neben einer Manifestation in den peripheren Gelenken treten bei AS Patienten chronisch-entzündliche Veränderungen vor allem im Bereich der Wirbelsäule auf. Entzündungen, fibrotischer Umbau und Knochenneubildung sorgen für eine sekundäre Verknöcherung, die zu einer kompletten Ankylose des betroffenen Gelenkes führen kann (Kahn 2001). In solchen Patienten wird neben einer intervertebralen Ankylose auch eine Fusion von Facettengelenken in den entsprechenden Wirbelkörpern beobachtet. Bereits 1958 wurde erstmals vermutet, dass entzündliche Veränderungen im Bereich der Facettengelenke der Ort der primären Entzündung in der Wirbelsäule ist, welche zu einer Einschränkung der Beweglichkeit in der Lendenwirbelsäule und schliesslich zur Ankylose führt (Wilkinson et al. 1958). Diese These wird durch die Beobachtung unterstützt, dass Syndesmophyten im Bereich der Wirbelkörper nur sehr selten bei Patienten mit fortgeschrittener AS ohne gleichzeitige Ankylose der Facettengelenke beobachtet werden und gleichzeitig bei einem Fünftel aller Patienten mit AS Verknöcherungen in den Facettengelenken ohne Ausbildung von Syndesmophyten auftraten (Francois 1976). Eine Untersuchung von einem grösseren Patientenkollektiv konnte zudem kürzlich zeigen, dass die reduzierte Mobilität im Bereich der Lendenwirbelsäule deutlich mit radiographisch festgestellten Veränderungen in den Facettengelenken korreliert (deVlam et al. 1999).

Histopathologische und insbesondere immunhistochemische Untersuchungen in der Wirbelsäule in einem grossen Kollektiv von AS Patienten waren bisher nicht durchgeführt worden.



## 1.8. Fragestellung und Zielsetzung

1. Bakterielle Strukturen und HLA-B27 scheinen bei der Krankheitsentstehung von HLA-B27-assoziierten Erkrankungen von herausragender Bedeutung zu sein. Daher stellt sich die Frage, durch welche bakteriellen Bestandteile HLA-B27 restringierte T-Zell Antworten induziert werden. Dieser Frage sollte durch mehrere methodische Ansätze nachgegangen werden:
  - (i) Durchführung einer biochemischen Präparation von Proteinen beispielhaft aus *Yersinia enterocolitica* und Untersuchung der Stimulierbarkeit von synovialen T-Zellen aus entzündeten Gelenken von Patienten mit Yersinien-getriggelter reaktiver Arthritis, um immundominante Proteine zu identifizieren.
  - (ii) Untersuchung der humoralen Immunantwort auf diese bakteriellen Strukturen in Patienten mit Reaktiver Arthritis.
  - (iii) Untersuchung des gesamten Proteoms eines die reaktive Arthritis triggernden Erregers am Beispiel von *Chlamydia trachomatis* zur Identifikation von immundominanten Peptiden. Dafür wurden zwei Computer-Algorithmen eingesetzt: einer zur Vorhersage von Peptiden, die ausreichend gut an HLA-B27 binden und ein zweiter zur Vorhersage der Spaltung und Verdauung von Proteinen bzw. Peptiden in Proteosomen des Zytosols zu Nonamerpeptiden, die dann an HLA-B27 binden können. Die so identifizierten Kandidatenpeptide sollten bezüglich der Stimulierbarkeit von synovialen T-Zellen bei Patienten mit Chlamydien-getriggelter Reaktiver Arthritis mithilfe der intrazellulären Zytokinfärbung in FACS Analysen untersucht werden.
  - (iv) In Gewebeproben aus der Synovialmembran von Patienten mit Reaktiver Arthritis sollte das Zytokinmilieu im Vergleich zur Rheumatoiden Arthritis untersucht werden.
  
2. Der Idee des molekularen Mimikries bei der Pathogenese der Ankylosierenden Spondylitis folgend stellte sich die Frage der Zielstruktur von HLA-B27 restringierten CD8-positiven T-Zell Antworten gegen körpereigene Strukturen. Extrazelluläre Matrixproteine (u.a. Aggrecanproteine) scheinen da, wie geschildert, von besonderer Bedeutung zu sein.
  - (i) Daher sollte das Proteom aller bekannten extrazellulären Matrixproteine des Knorpels herangezogen werden, um mögliche HLA-B27 restringierte T-

Zell Epitope zu identifizieren. Auch dafür wurden die bereits geschilderten Computer-Algorithmen zur Vorhersage von Peptiden, die HLA-B27 binden und von Proteosomen gespalten werden, genutzt. Die Kandidatenpeptide sollten dann auf die Stimulierbarkeit von synovialen T-Zellen von HLA-B27+ AS Patienten mittels intrazellulärer Zytokinfärbung im FACS untersucht werden.

(ii) Besonders die G1 Domäne von Aggrekan konnte im Tiermodell entzündliche Veränderungen hervorrufen. Unabhängig von der Bindungskapazität an HLA-B27 sollte das gesamte Proteom dieses Proteins, welches in Form von 18mer Peptiden vorlag, auf die Stimulierbarkeit von T-Zellen untersucht werden und immunogene Aminosäuresequenzen identifiziert werden. Auch hier sollte die intrazelluläre Zytokinfärbung im FACS zur Anwendung kommen.

3. Die intrazelluläre Zytokinfärbung zur Identifikation von Antigen-spezifisch stimulierten T-Zellen hat zahlreiche Nachteile: a) die Durchführung erstreckt sich pro Färbung auf 6-8 Stunden. b) T-Zellen können nur nach vorausgegangener Stimulation aufgetrennt werden und durch die Auswahl des sezernierten Zytokins (IFN $\gamma$ ) wird bereits eine Vorauswahl getroffen. c) die Methode erlaubt nicht, Antigen-spezifische T-Zellen direkt am Ort der Entzündung, z.B. im knöchernen Gewebe oder der Synovialmembran zu untersuchen. Daher sollte eine neue Methode, die Anwendung von HLA-B27 Tetrameren, etabliert werden, die die genannten Nachteile ausgleichen kann. Diese rekombinanten, löslichen und multimerisierten MHC-Moleküle können Antigen-spezifisch bei FACS Analysen oder in situ an CD8+ T-Zellen binden bzw. diese detektieren.

Bei der Anwendung von HLA-B27 Tetrameren besteht im Vergleich zu anderen MHC Klasse I Molekülen eine besondere Herausforderung in der Herstellung bzw. Auffaltung des rekombinanten HLA-B27, welches aus einer schweren Kette, dem  $\beta$ 2-Mikroglobulin und einem Peptid in der Bindungsgrube besteht. Hierfür ist vor allem ein freies Cystein an der Position 67 der schweren Kette verantwortlich (Allen et al. 1999); daher wurde hier eine Mutation (Serin statt Cystein an Position 67) eingeführt, wodurch die Auffaltung wesentlich verbessert wurde (Bowness et al. 1998). Es sollte unter Anwendung beider schwerer Ketten untersucht werden, inwieweit diese

Mutation die Bindung des HLA-B27/Peptid-Komplexes an den T-Zell Rezeptor beeinflusst.

4. Die Herstellung von rekombinanten MHC-Molekülen, die spezifisch an T-Zellen binden, erlaubt die Durchführung von Untersuchungen, die T-Zell Rezeptor/MHC-Molekül Interaktionen zu analysieren und die möglicherweise die Antigen-spezifische Ausschaltung von T-Zellen ermöglicht. Dies ist insbesondere für Autoimmunerkrankungen von besonderem Interesse. Ein solches Modell sollte hier erarbeitet werden.
  
5. Immunhistologische und insbesondere immunhistochemische Untersuchungen bei Patienten mit Ankylosierender Spondylitis sind an einem grösseren Kollektiv von AS Patienten bisher nicht durchgeführt worden. Der Nachweis von Knorpelantigenen, die bei AS-Patienten immunogen sind, legen die Vermutung nahe, dass in der Nähe von Knorpelstrukturen immunpathologische Veränderungen nachweisbar sind.
  - (i) Daher haben wir Femurköpfe von AS-Patienten, die sich einer Hüftgelenkersatz-Operation unterziehen mussten, gesammelt und eine systematische Untersuchung durchgeführt. Hierbei sollte die Rolle von mononukleären Zellinfiltraten (hier vor allem die zu erwartenden T-Zellen aber auch andere immunkompetente Zellen wie B-Zellen), Makrophagen, Gefässneubildung, Osteoklastenaktivität und Knochenneubildung insbesondere im Zusammenhang mit dem Vorhandensein von Knorpelstrukturen untersucht werden.
  - (ii) Auch die Entzündungspathologie in der Wirbelsäule bei AS Patienten ist immunhistochemisch bisher kaum untersucht worden. Wir haben Facettengelenke von AS-Patienten gesammelt, die sich wegen starker rigider Hyperkyphose einer Aufrichtungsoperation unterzogen haben und in diesen ebenfalls histopathologische Untersuchungen durchgeführt. Unser besonderes Interesse lag hier besonders auf der Fragestellung, inwieweit auch bei diesen Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung entzündliche Veränderungen nachweisbar sind und welche Rolle Gefässneubildungen und Osteoklasten bei der Entzündung und chronischen Veränderungen spielen.

(iii) Bei AS-Patienten, die sich einer solchen Aufrichtungsoperation unterziehen, wird prä-operativ eine MRT-Untersuchung der Lendenwirbelsäule durchgeführt. Dies erlaubt die Korrelation zwischen entzündlichen Veränderungen, wie sie in MRT-Untersuchungen zur Darstellung kommen, mit histopathologischen Befunden, welche hier durchgeführt werden sollte.