

Vævstyper

Arne Svejgaard, laborant Bodil K. Jakobsen & Ebbe Dickmeiss

Vævstyper er antigene egenskaber, som er forskellige mellem individer inden for samme art, dvs. alloantigener. Der skelnes mellem stærke og svage vævstyper efter styrken af det immunologiske respons, antigenerne fremkalder ved transplantation. Hos alle vertebrater findes der et stærkt system: Major Histocompatibility Complex (MHC) og en række svagere, minor systemer. Uforligelighed for MHC bevirker afstødning af et hudtransplantat på ca. 11 dage, mens overlevelsen ved isoleret uforlig for et minor antigen er tre eller flere uger.

HLA-systemet

Menneskets MHC er humane leukocytantigener (HLA) systemet [1, 2]. MHC koder hos de fleste dyrearter for tre slags molekyler, som kaldes HLA Klasse I, HLA Klasse II og HLA Klasse III, hvoraf de to første er de egentlige transplantationsantigener, mens Klasse III molekylerne bl.a. er forskellige faktorer i komplementsystemet. I denne artikel omtales primært Klasse I og Klasse II molekylerne.

HLA molekylerne kodes af HLA generne, som er lokaliseret på den korte arm af kromosom nr. 6 (position 6p21) inden for 3,4 Megabaser (Mb), det svarer til ca. 3 centiMorgan (cM), dvs. en overkrydsningshyppighed på 3% inden for hele HLA-regionen). **Fig. 1** viser lokalisationen af de tre vigtigste Klasse I loci: HLA-A, B og Cw, samt de vigtigste Klasse II loci: HLA-DR, DQ og DP. De HLA gener, som sidder på det samme af de to parentale kromosomer, kaldes en HLA haplotype (**Fig. 1**). Alle individer har to HLA-haplotype, en maternel og en paternel. Som vist i **Fig. 2** nedarves haplotyperne i langt de fleste tilfælde uændrede til børnene, fordi der sjældent sker overkrydsninger i HLA regionen. Et forældrepar med haplotyperne a og b hos faderen og c og d hos moderen kan derfor (næsten) kun få børn med fire forskellige HLA genotyper a/c, a/d, b/c og b/d, og sandsynligheden for hver af disse genotyper hos et barn er 25%. Søsken, der har arvet de samme HLA haplotyper, kaldes HLA genotypeidentiske, og sådanne søsken er – ud fra et immunogenetisk synspunkt – de mest velegnede donorer ved transplantation.

HLA systemet er det mest genetisk polymorfe system hos mennesket, fordi der på hvert locus er et meget stort antal allele gener i befolkningen (**Tabel 1**). I dag kendes således over 250 alleler på HLA-A, 490 på HLA-B og 315 på HLA-DR locus, hvortil kommer en række alleler på fem andre loci, tilsammen 1.368 alleler, som teoretisk kan kombineres til 10^{16} forskellige haplotyper; dvs. langt flere end der findes mennesker, og de eksisterer således ikke alle sammen. Baggrunden for, at ikke alle vævstyper er ekstremt sjældne, er den såkaldte

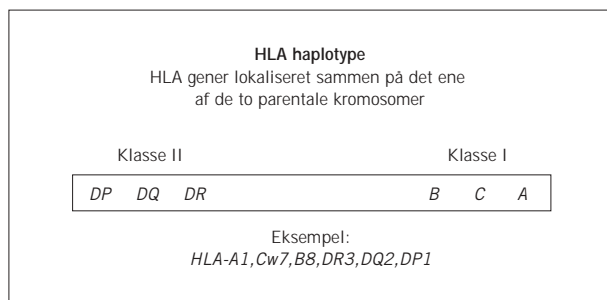


Fig. 1. HLA haplotype. HLA regionen på den korte arm af kromosom 6 ses. En haplotype består af gener, der er lokaliseret sammen på et og samme af de to parentale kromosomer, altså enten fra faderen eller fra moderen. Haplotypen indeholder et allel for hvert locus i HLA regionen, her vist for HLA Klasse I: HLA A, B og C samt for HLA Klasse II: HLA-DR, DQ og DP. Endvidere anføres der et eksempel på en af de hyppigste HLA haplotyper. Rækkefølgen af loci følger den gængse konvention, hvor centromeren ligger til venstre og telomeren til højre. Klasse II loci ligger altså nærmest centromeren. Afstanden mellem de to ender (HLA-DP og HLA-A) er 3,4 Megabaser sv.t. ca. 3 centiMorgan, dvs. 3% overkrydsninger.

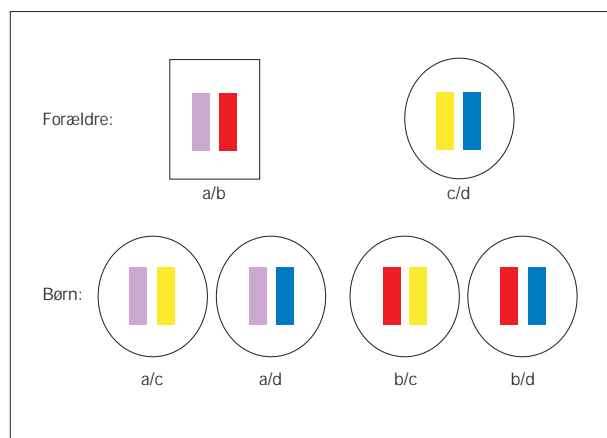


Fig. 2. HLA: arvgang af HLA haplotyper (se tekst).

koblingsuligevægt, som gælder for allele gener på forskellige loci inden for en vis afstand. Fænomenet kan bedst illustreres med et eksempel: *HLA-B8* allelen på HLA-B-locus er i stærk koblingsuligevægt med *HLA-DR3* allelen på HLA-DR locus. Hvis der var koblingslignevægt mellem disse to alleler, ville de kun findes sammen i 1,5% af alle haplotyper, men faktisk findes *HLA-B8* og *DR3* sammen hos 9,4% af alle haplotyper, dvs. seks gange hyppigere end forventet. Dette betyder naturligvis, at de to genprodukter HLA-B8 og HLA-DR3 molekylerne optræder meget hyppigt hos den samme person. Koblingsuligevægten findes mellem alle HLA loci. Betragter man kun HLA-A, B- og DR faktorerne, som synes at spille den største rolle ved transplantation, er de to hyppigste HLA haplotyper i den danske befolkning *HLA-A1, B8, DR3* (6%) og *HLA-*

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Tabel 1. HLA-systemet, nomenklatur og antal alleler på de vigtigste loci.

Locus	Gennomenklatur, eks. på alleler	Antigen ækvivalent	Antal alleler per locus
HLA-A	A*0101	A1	250
	A*0201	A2	
	A*0225 (undertype af A2)	A2	
HLA-C	Cw*0101	Cw1	119
HLA-B	B*0701	B7	490
HLA-DRB1	DRB1*0101	DR1	315
HLA-DQA1	DQA1*0101		22
HLA-DQB1	DQB1*0201	DQ2	53
HLA-DPA1	DPA1*0101		20
HLA-DPB1	DPB1*0101	DPw1	99
I alt			1.368

Nomenklaturen følger følgende regler: En asterisk (*) adskiller locusbetegnelse fra allelbetegnelse. For klasse I angiver bogstavet locus, og der er god overensstemmelse mellem gen- og antigenomenklaturen, mens dette kun i begrænset omfang gælder for klasse II. Alle HLA klasse II molekylerne består af en α og en β proteinkæde, benævnt »A« og »B«, og det efterfølgende tal angiver under-typen; HLA-DRB1 er således en af flere undertyper for DRB, der koder for DR- β 1 kæden. Der er ingen polymorfi for HLA-DR α kæden, og hele polymorfien bestemmes derfor af HLA-DRB1 alleler. HLA-DR β 1*0101 er en af de alleler på DR- β 1 locus, der koder for DR1 antigenet. For HLA-DQ og HLA-DP er der polymorfi i både α og β generne.

Baggrunden for »w« i HLA-Cw faktorerne er at undgå forveksling med komplementfaktorer.

De 1.368 alleler kan teoretisk kombineres til $=10^{16}$ haplotyper.

A3,B7,DR2 (3%), og den hyppigste HLA genotype er derfor HLA-A1,B8,DR3/A3,B7,DR2, og den findes kun hos 0,4% af befolkningen.

HLA typebestemmelse kan foretages med serologisk teknik og med genteknik. Ved den serologiske teknik anvendes kendte, specifikke anti-HLA antistoffer i den såkaldte lymfocytotoksiske teknik, hvor mikrolitermængder af antistof og lymfocytuspension blandes med komplement og relevante farvestoffer. Hvis anti-HLA antistoffet reagerer med det tilsvarende HLA antigen på lymfocytterne, aktiveres komplement, hvilket fremkalder huller i cellemembranen, som bliver permeabel for farvestof. Fraktionen af døde (farvede) celler bestemmes ved mikroskopi.

Serologisk HLA typebestemmelse kan anvendes både til Klasse I og Klasse II typebestemmelse, idet man på forhånd oprenser de lymfocytter, der er rige på de pågældende molekyler. Til Klasse I anvendes typisk T-lymfocytter, der er oprensede vha. immunmagnetiske anti-CD8-beklædte kugler, og til Klasse II anvendes B-lymfocytter, der er oprensede vha. kugler beklædt med anti-CD19 antistof, der er specifikt for B-lymfocytter. Ved serologisk typebestemmelse kan man kun bestemme de »brede« (supertypiske) HLA antigener, såkaldt *low resolution* typebestemmelse.

Der anvendes i stigende grad forskellige former for genteknik til HLA typebestemmelse, og disse metoder er de eneste, der muliggør en helt præcis og udtømmende bestemmelse af alle HLA typerne. Gentyperbestemmelse kan udføres både som *low resolution*, omtrent ligesom serologisk typebestemmelse, og som *high resolution*, der ofte kræver direkte sekvensering af udvalgte dele af det pågældende gen. Med genotype-

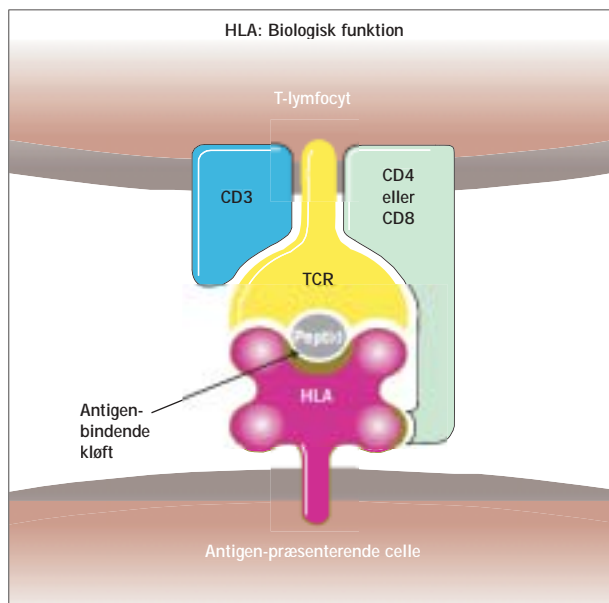


Fig. 3. HLA: struktur og biologisk funktion. HLA Klasse I og Klasse II molekyler, der findes på overfladen af forskellige antigenpræsenterende celler, har ret ensartet struktur, idet de begge danner en antigenbindende kløft, som binder peptider af 7-14 aminosyrers længde. Peptiderne præsenteres (sammen med dele af HLA molekylet) for T-lymfocytternes receptor (TCR). Dersom denne reagerer med HLA/peptidkomplekset, udløses der et signal i CD3 molekylet, som får T-lymfocytten til at reagere. Kontakten mellem de to celler styrkes vha. CD4 molekylet på T-hjælperceller, som reagerer med HLA Klasse II molekyler, eller vha. CD8 molekylet på cytotoxiske T-lymfocytter, der reagerer med HLA Klasse I molekyler på den præsenterende celle (se i øvrigt teksten).

bestemmelse opnås der yderligere underinddeling af HLA determinanter.

WHO HLA nomenklaturen, er illustreret i Tabel 1, hvoraf det fremgår, at man i nomenklaturen skelner mellem antigen og genniveau. Antigenerne er defineret med serologi, og man bemærkede tidligt, at mange HLA antistoffer (og dermed antigener) krydsreagerer. Anti-HLA-A10 er således et krydsreagerende antistof, der reagerer med både HLA-A25 og A26 antigenerne, og disse to antigener krydsreagerer derfor også. Det »brede« HLA-A10 antigen kaldes også »super-typisk«, mens HLA-A25 og A26 er »subtypiske«, og betegnes undertiden som *splits* af HLA-A10.

I gennomenklaturen anføres først locus efterfulgt af en asterisk (HLA-A*), som efterfølges af navnet på den pågældende allel, f.eks. HLA-A*02 for HLA-A2. Inden for HLA-A2 findes der imidlertid en lang række genvarianter, og disse præciseres i de næste to cifre, f.eks. HLA-A*0201, A*0202, op til A*0258, idet der kendes 58 undertyper af HLA-A2, når der types på genniveau.

HLA-molekyllernes struktur er betinget af deres biologiske funktion. Både Klasse I og Klasse II molekylerne har en såkaldt antigenbindende kløft som vist i Fig. 3. Denne kløfts funktion er at binde peptider af ca. 8-20 aminosyrers længde. Disse peptider præsenteres sammen med den omgivende del af HLA molekylet for T-lymfocytternes receptor (TCR) for antigen. Næsten al den genetiske polymorfi i HLA molekyl-

lerne er lokaliseret i eller omkring den antigenbindende kløft. Det er strukturen i den antigenbindende kløft, der bestemmer, hvilke peptider, der kan bindes i kløften. Kun personer, som har arvet et HLA-molekyle, der kan binde et bestemt peptid, kan altså præsentere dette for T-lymfocytterne, og kun disse personer kan altså reagere med cellemidiet immunitet mod dette peptid. Dette er baggrunden for HLA molekylernes funktion som specifikke immunrespons determinanter. Normalt er det individets egne (autologe) peptider, der er bundet i den antigenbindende kløft, og dette udløser ikke noget immunologisk respons, fordi T-lymfocytter med specificitet mod autoantigener elimineres i thymus. Ved en infektion nedbrydes virale proteiner inde i cellen, og mikrobielle peptider med den rette sekvens bindes til HLA molekylernes antigenbindende kløft og præsenteres herefter for TCR på T-lymfocytterne. T-lymfocytter med specificitet for fremmede, herunder virale peptider elimineres ikke i thymus, og når deres TCR reagerer mod de virale peptider, der er bundet til HLA, udløses et cellulært immunrespons. Klasse I molekylerne præsenterer deres peptider for CD8-positive cytotoxiske T-lymfocytter, som derved stimuleres til at lysere virusinficerede celler, der præsenterer viralt peptid på overfladen. HLA Klasse II molekyler præsenterer deres peptider for CD4-positive T-hjælper lymfocytter, som reagerer med frigivelse af en række cytokiner, som fremkalder inflammation, og dermed bekæmper infektion.

HLA Klasse I og II molekylerne på antigenpræsenterende celler spiller en central rolle under modningen af T-lymfocytter i thymus. T-lymfocytter med TCR, som binder stærkt til HLA/peptid komplekser, dvs. autoreaktive T-celler elimineres ved apoptose (såkaldt negativ selektion). T-celler, som slet ikke reagerer med HLA/peptid, elimineres ligeledes, mens T-celler med en svag binding til autologe HLA/peptid komplekser får lov til at overleve (positiv selektion) og forlade thymus. Disse overlevende T-celler, som altså i virkeligheden er autoreaktive, kræver nu stærkere signaler, før de kan reaktiveres, da de jo ellers vil fremkalde autoimmunitet. Disse T-celler har altså lært individets egne HLA molekyler at kende, men deres funktion er at reagere på fremmede, især mikrobielle antigener, der er bundet til HLA molekyler. HLA systemets basale rolle er således at sikre adækvate cellulære immunrespons ved infektion. Det er den positive selektion i thymus, der er baggrunden for HLA molekylernes funktion som stærke transplantationsantigener: T lymfocytterne har lært at reagere på strukturer, der ligner individets egne HLA molekyler, og det er jo netop det andre HLA-molekyler gør, idet alle HLA molekyler på trods af den store genetiske polymorfi har en del fælles træk, som er nødvendige, for at molekylerne kan bevare deres basale struktur. Den stærke reaktion på fremmede HLA molekyler skyldes således, at disse molekyler af T-lymfocytterne opfattes som individets egne HLA molekyler, som er blevet ændrede (*altered self*), dvs. de opfattes som om, de f.eks. var virusinficerede.

Årsagen til den meget store genetiske polymorfi for MHC Klasse I og Klasse II molekylerne er formentlig, at det er en fordel for arten, at der findes så mange forskellige MHC molekyler i befolkningen som muligt, således at der altid vil være enkelte individer, som kan reagere mod nye antigene varianter af forskellige mikrober. Det er vist hos mus, at der er en positiv selektion for MHC heterozygote individer, hvilket jo vil fremme polymorfien. Heterozygote individer har netop arvet forskellige gener fra hver af deres forældre, og de kan derfor reagere på dobbelt så mange forskellige antigene determinanter som homozygote individer. De er således bedre rustede til at bekæmpe f.eks. virusinfektioner.

Minor transplantationsantigener

Man kender et stort antal minor transplantationsantigener hos mus. Disse minor antigener er i virkeligheden polymorfe peptider, som præsenteres på MHC molekyler. Hos mennesker kender man endnu kun et begrænset antal minor antigener.

AB0-blodtyper indtager en speciel rolle som transplantationsantigener, hvilket skyldes, at der findes præformede (naturligt forekommende) anti-A og anti-B antistoffer hos personer, som ikke har arvet A og B blodtyperne. A og B blodtyperne er i modsætning til HLA molekylerne kulhydrater, idet A og B blodtypegenerne koder for hver sin kulhydrattransferase. De naturligt forekommende anti-AB antistoffer skyldes, at mange mikroorganismer herunder tarmbakterier indeholder AB0-lignende antigener, som immuniserer individet i løbet af det første leveår. Ved uforlig fremkalder anti-A og anti-B hyperakut rejektion ved transplantation af nyrer, hjerte og lunger. En del xenoantigener fra fjernere arter, som f.eks. grisene, fremkalder også hyperakut afstødning hos mennesket. Det skyldes, at alle mennesker har naturligt forekommende antistoffer mod et bestemt kulhydrat, som findes på alle grisens celler. Der er nu fremavlet grise, som ikke producerer dette kulhydrat, og disse grise vil muligvis en gang i fremtiden kunne anvendes som donorer af f.eks. nyrer og hjerter til mennesker, men der er endnu mange problemer, der skal løses.

Korrespondance: Arne Svejgaard, Vævstypelaboratoriet, Klinisk Immunologisk Afdeling 7631, H:S Rigshospitalet, DK-2100 København Ø.
E-mail: arnesvej@post4.tele.dk

Antaget den 9. oktober 2003.

H:S Rigshospitalet, Klinisk Immunologisk Afdeling, Vævstypelaboratoriet og Blodbanken.

Litteratur

1. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Tissue Antigens* 2002;60:407-64.
2. Svejgaard A, Fugger L, Ryder LP. Vævstyper, Major Histocompatibility Complex, HLA systemet. I: Bendtzen K, Marker O, Svehag SE et al, eds. *Basal og klinisk immunologi*. København: FADL's Forlag, 2000:69-79.