

Functionele eigenschappen van HLA-moleculen

H. OTTEN en E. SPIERINGS

Het succes van zowel stamcel- als orgaantransplantatie wordt voor een belangrijk deel bepaald door de mate van histocompatibiliteit tussen patiënt en donor. Indien onvoldoende weefselcompatibiliteit bestaat tussen patiënt en donor kan dit leiden tot afstoting in geval van orgaantransplantatie of graft-versus-hostziekte in geval van stamceltransplantatie. De belangrijkste soort eiwitten die bepalend zijn voor weefselcompatibiliteit zijn de HLA-eiwitten. Deze eiwitten presenteren onderdelen van andere eiwitten (zgn. peptides) aan T-cellen waardoor een afweerrespons op gang kan komen. Daarnaast fungeren HLA-moleculen als ligand voor 'killer immunoglobulin-like' receptoren (KIRs) welke tot expressie komen op het oppervlak van 'natural killer'(NK-)cellen, en in belangrijke mate hun celdodende activiteit reguleren.

Beide functionele eigenschappen van HLA-moleculen, antigeenpresentatie en regulatie van NK-activiteit, spelen een belangrijke rol in transplantatie.

Trefwoorden: HLA; antigeenpresentatie; killer immunoglobulin-like receptoren

Humane leukocytenantigenen (HLA) zijn antigenen die voorkomen op alle kernhoudende lichaamcellen en trombocyten. Het is de menselijke variant van het MHC (major histocompatibiliteitscomplex). De naam MHC is gekozen omdat deze antigenen ontdekt zijn in situaties waarin cellen van andere individuen immunologisch herkend werden, bijvoorbeeld ten gevolge van een zwangerschapssituatie (1). Later bleek ook dat verschillen in MHC tussen donor en ontvanger een belangrijke factor waren in het slagen van transplantaties. Daarom wordt tegenwoordig geprobeerd het HLA-type van donor en ontvanger zoveel mogelijk overeen te laten komen, omdat dit de kans op succes van de transplantatie enorm vergroot.

HLA als presentatiemolecuul voor lichaamsvreemde componenten

HLA als presenterend molecuul

De biologische functie van MHC is lang onduidelijk gebleven. De eerste suggestie dat het MHC-systeem betrokken is bij de immunologische herkenning van

lichaamsvreemde componenten werd in 1974 aangedragen door Zinkernagel and Doherty (2). Zij vonden in muizen dat cytotoxische T-cellen die reactief waren tegen LCMV (lymphocytic-choriomeningitis virus) de geïnfecteerde cellen alleen konden doden als deze geïnfecteerde cellen hetzelfde MHC-type hadden als de T-cellen. Deze bevinding werd later bevestigd voor geslachtsgerelateerde transplantatieantigenen, zowel in de muis (3) als in de mens (4). Deze laatste studie liet daarmee voor het eerst zien dat humane T-cellen die gericht waren tegen het transplantaat het HLA-molecuul nodig hadden om hun effect uit te kunnen oefenen.

Doherty en Zinkernagel kwamen destijds met twee hypothesen om deze observaties van MHC-gerestricteerde herkenning te kunnen verklaren (5). De eerste was dat T-cellen twee receptoren hebben; één die specifiek is voor het antigeen en een ander die zorg draagt voor de herkenning van zelf-MHC. De alternatieve hypothese was dat het antigeen en het MHC een interactie aangaan om een zogenaamd neoantigeen te vormen, welke op zijn beurt de T-cel via één enkele receptor kan stimuleren. Hoewel er divers bewijs was voor een fysieke interactie tussen MHC en antigeen, was het lange tijd onmogelijk om deze twee hypothesen te kunnen onderscheiden. Een tiental jaren later bleek middels kristallisatieanalyses dat zowel het MHC klasse I (6) als het MHC klasse II (7) een complex vormt met het antigeen.

Verskillende klassen van HLA

Binnen de familie van antigeenpresenterende HLA-moleculen kunnen we twee klassen onderscheiden: HLA klasse I en HLA klasse II. Daarnaast bestaat er de CD1-familie, die feitelijk buiten het HLA-systeem valt, maar er in vorm en functie zeer grote overeenkomsten mee vertoont. Iedere klasse heeft zijn eigen structuur, presenteert antigenen via een eigen route en leidt tot een specifieke immunologische respons.

HLA Klasse I

De HLA-klasse-I-groep kent een zestal loci op chromosoom 6, te weten HLA-A, -B, -Cw, -E, -F en -G. De moleculaire structuur van deze eiwitten vertoont grote overeenkomsten. Ze bestaan uit een alfa-keten die opgebouwd is uit een transmembraangedeelte en drie extracellulaire immunoglobulineachtige domeinen, $\alpha 1$, $\alpha 2$ en $\alpha 3$ (figuur 1a, 1b en 1c). Deze alfa-keten vormt een noncovalent complex met $\beta 2$ -microglobuline. Dit complex is alleen stabiel als er een eiwitfragment van 9 tot 11 aminozuren aanwezig is tussen de $\alpha 1$ - en de $\alpha 2$ -ketens. Deze smalle ruimte wordt ook wel de

Afdeling Immunologie, UMC Utrecht

Correspondentie: dr. E. Spierings, SMBWO immunologist, UMC Utrecht, Department of Immunology, Postvak F.03.722, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht
E-mail: E.Spierings@umcutrecht.nl

HLA-groeven genoemd worden. De samenstelling van deze groeven bepaalt het repertoire aan antigenen dat aan het HLA kan binden.

HLA-A, -B en -Cw worden als de klassieke HLA-moleculen, ofwel HLA klasse Ia, beschouwd. Deze moleculen zijn aanwezig op alle gezonde kernhoudende cellen in het lichaam. De eiwitfragmenten die door deze moleculen worden gepresenteerd zijn afkomstig van intracellulaire eiwitten. Deze eiwitfragmenten ontstaan doordat het proteasome eiwitten -waaronder ook virale eiwitten- afbreekt. Na afbraak transporteert een transmembraan eiwitkanaal, het TAP ('transporter protein associated with processing'), de eiwitfragmenten naar het endoplasmatisch reticulum. In het endoplasmatisch reticulum worden ze vervolgens geladen in HLA-klasse-I-moleculen en naar het celoppervlak getransporteerd ((8) voor een overzicht). Deze complexen worden vervolgens herkend door CD8+ T-cellen. De cel voorkomt op deze wijze dat intracellulaire pathogenen zich volledig onttrekken aan het immuunsysteem en is het immuunsysteem ook in staat gemuteerde eiwitten zoals oncogenen te herkennen.

Op basis van het expressiepatroon -ze komen namelijk niet op alle kernhoudende lichaamcellen voor- en hun lage graad van polymorfisme worden de HLA-E-, -F- en -G-moleculen ook wel aangeduid als HLA klasse Ib of niet-klassiek HLA (9). HLA-G komt alleen tot expressie op trofoblasten in de placenta. Mogelijk functioneert HLA-G als een remmer van NK-activiteit via interactie met de ILT2- of de ILT4-receptor op NK-cellen (10). De expressie van HLA-E is afhankelijk van de expressie van HLA klasse Ia. HLA-E is namelijk alleen stabiel in complex met β 2-microglobuline als er een eiwitfragment van HLA klasse Ia aan gebonden is (11). Dit complex van HLA-E met het eiwitfragment remt vervolgens de activiteit van NK-cellen via de CD94/NKG2 C-type lectinereceptoren. Sommige virussen misbruiken dit mechanisme om te voorkomen dat de cel waarin ze huizen door het immuunsysteem herkend wordt (12). Ze genereren namelijk eiwitten die lijken op delen van de HLA-klasse-Ia-sequentie. In tegenstelling tot HLA-G en HLA-E blijft de functie van HLA-F in immunologische processen slecht begrepen.

HLA Klasse II

Tot de HLA-klasse-II-moleculen behoren HLA-DR, -DQ en -DP, welke direct betrokken zijn bij antigeenpresentatie en tot expressie komen op professionele antigeenpresenterende cellen, en HLA-DM en -DO, welke een rol spelen bij het beladen van de HLA-DR, -DQ en -DP met eiwitfragmenten. Ook de genen voor HLA klasse II liggen op chromosoom 6. De HLA-klasse-II-moleculen bestaan uit een complex van twee ketens, te weten een alfa- en een beta-keten. Beide ketens hebben twee extracellulaire immunoglobuline-achtige domeinen (α 1 en α 2 voor de alfa-keten en β 1 en β 2 voor de beta-keten; figuur 1d, 1e en 1f), die in dit geval beide via een transmembraangedeelte verankerd zijn in de celmembraan. Samen vormen deze twee ketens de HLA-klasse-II-groeven die, parallel aan de HLA-klasse-I-groeven, eiwitfragmenten kan binden.

HLA-klasse-II-moleculen zijn aanwezig op professionele antigeenpresenterende cellen, zoals bijvoorbeeld B-cellen, macrofagen en dendritische cellen. Daarnaast kunnen deze moleculen ook tijdelijk opgereguleerd worden op andere cellen ten gevolge van ontstekingscomponenten als IFN- γ en TNF- α . De eiwitfragmenten die door deze moleculen gepresenteerd worden, zijn vaak afkomstig van extracellulaire eiwitten van bijvoorbeeld bacteriën. De bacteriën worden door de immuuncellen opgenomen door fagocytose in een fagosoom. Vervolgens fuseert het fagosoom met een lysosoom, dat enzymen bevat om de bacterie af te breken, tot een fagolysosoom (zie (8) voor een gedetailleerd overzicht). Het fagolysosoom bevat ook HLA-klasse-II-moleculen, welke de eiwitfragmenten vervolgens kunnen binden. Het HLA klasse II in complex met de eiwitfragmenten wordt tenslotte naar het celoppervlak getransporteerd, waar ze door CD4+ T-cellen herkend kunnen worden.

CD1-familie

De CD1-familie omvat de CD1a-, CD1b-, CD1c-, CD1d-, en CD1e-moleculen. De genen voor deze eiwitten liggen op chromosoom 1. Naar alle waarschijnlijkheid is de CD1-familie ontstaan uit de klassieke HLA-klasse-I-genen gedurende de evolutie van de gewervelde dieren. De structuur van deze eiwitten vertoont daarom ook een grote overeenkomst met de structuur van HLA-klasse-I-eiwitten: een alfa-keten met een transmembraandomein vormt een complex met β 2-microglobuline (figuur 1g, 1h, 1i). In tegenstelling tot de HLA-klasse-I-moleculen presenteert dit complex echter geen eiwitfragmenten, maar lipiden (13). CD1a, CD1b, CD1c en CD1e komen alleen tot expressie op professionele antigeenpresenterende cellen. CD1d daarentegen komt voor op alle cellen in het lichaam. De lipideantigenen die door deze moleculen gepresenteerd worden, zijn over het algemeen afkomstig van extracellulaire bronnen zoals bacteriën. De manier van belading valt daarom samen met de HLA-klasse-II-belading (zie (13) voor een gedetailleerd overzicht). Eenmaal op het celoppervlak kunnen de CD1-antigeencomplexen herkend worden door T-cellen met en zonder CD4+ of CD8+ en ook door NKT-cellen.

HLA als regulator eiwit voor 'natural' killer cellen

Mechanismen van cytotoxiciteit

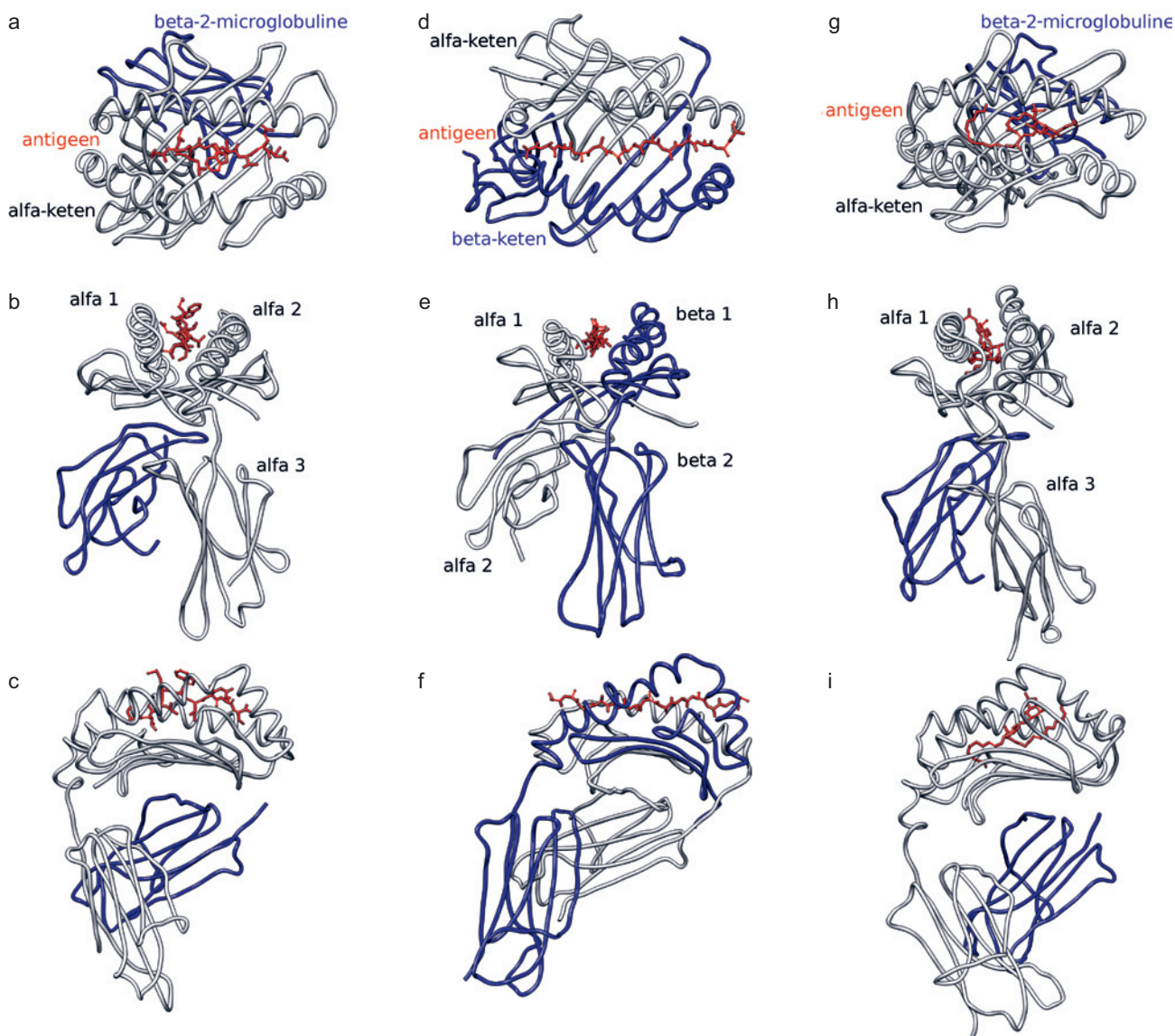
'Natural' killer (NK)-cellen zijn een belangrijk onderdeel van de aangeboren immuniteit tegen tumorcellen en virussen (14). De twee belangrijkste cytotoxische mechanismen die door NK-cellen worden gebruikt om cytotoxiciteit uit te oefenen, zijn exocytose van granules die perforine/granzym B bevatten en de expressie van het FAS-ligand (15). Binding van FAS-ligand op de NK-cel aan FAS/CD95 op doelcellen resulteert in FAS-trimerisatie wat een signaleringscascade door het 'FAS-associated death domain' start. Op zijn beurt leidt dit tot activatie van caspase-8 met geprogrammeerde celdood van de doelcel tot gevolg. Perforine en granzym B zijn aanwezig in cytoplasmatische granules van NK-cellen en geactiveerde cytotoxische T-cellen. Na interactie met doelcellen, zullen deze granules binnen

een paar seconden migreren naar de plaats van cellulaire interactie. Daarna fuseren deze granules met de buitenmembraan van de NK-cellen, waardoor hun inhoud vrij komt in de intracellulaire ruimte. Perforine draagt op twee manieren bij aan de eliminering van doelcellen. Na binding aan membranen van doelcellen, incorporeren de monomere perforinemoleculen in de plasmamembraan. Daarna aggregieren ze in polyperforines tot holle buisvormige structuren (pores), die direct necrose veroorzaken via osmolyse. Daarnaast fungeren deze pores als transportmedium voor granzym B wat caspase-8 en -3 activeert met geprogrammeerde celdood van de doelcel tot gevolg.

Herkenning van doelcellen

Op NK-cellen komen verschillende intracellulaire en extracellulaire eiwitten tot expressie die nodig zijn om doelcellen te kunnen herkennen en te elimineren. Die herkenning komt voort uit integratie van verschillende signalen van oppervlaktereceptoren op NK-cellen zoals adhesiemoleculen (CD2, CD11b/CD18, CD11c/

CD18, CD31, CD96, CD49A/CD29, CD226 enz.) en costimulatoire receptoren (CD244 en NKG2D) (16). Een centrale rol in dit activatieproces is echter weggelegd voor de 'killerimmunoglobulin-like' receptoren (KIRs) op NK-cellen. De nomenclatuur van KIRs is gerelateerd aan hun structurele en functionele eigenschappen, het aantal extracellulaire Ig-domeinen (2D of 3D) en de lengte van de intracytoplasmatische staart (short (S) of long (L)). Korte versus lange staarten geven intracellulair respectievelijk een activerend of inhiberend signaal aan de NK-cel af. De inhiberende KIRs herkennen HLA-Cw, -Bw4, -G en mogelijk -A3/A11. De liganden voor KIR2DL1 zijn HLA-Cw-moleculen met een aminozuur lysine op positie 80 (HLA-Cw groep 2), terwijl KIR2DL2 en -2DL3 juist HLA-Cw-moleculen herkennen met een asparagine op positie 80 (HLA-Cw groep 1). KIR3DL1 en KIR-2DL4 hebben respectievelijk HLA-Bw4 en HLA-G als ligand. Daarnaast zijn er indicaties dat HLA-A3/A11 functioneel wordt herkend door KIR3DL2 (17,18). Alhoewel de liganden voor activerende KIRs voorsnong onbe-

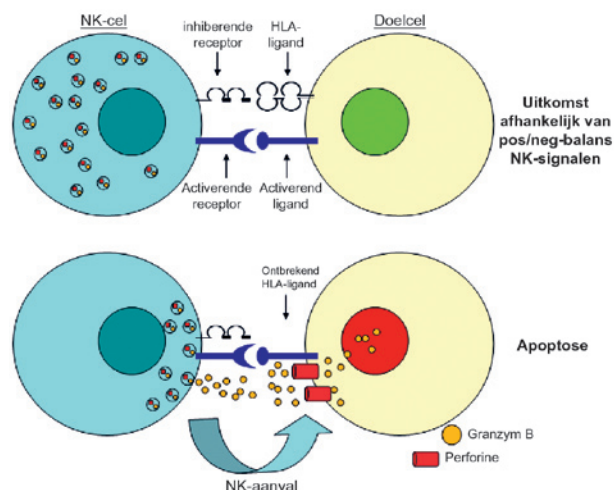


Figuur 1. In lichtgrijs de alfa-keten, in donkerblauw de beta-keten en in rood de antigene component. De transmembrane gedeeltes zijn niet weergegeven. Structuren zijn gevisualiseerd met Chimera 1.3 en de afbeeldingen zijn bewerkt met The Gimp 2.6. Linkerfiguren: HLA-A2 in complex met het tumorantigeen NY-ESO-1 (PDB Structuur 1S9W). Middelste figuren: HLA-DR1 in complex met het bacteriële superantigeen SEB (PDB Structuur 1SEB). Rechter figuren: CD1a in complex met sulfatide (PDB Structuur 1ONQ).

kend zijn, lijkt het er op dat deze liganden vrij breed tot expressie komen aangezien vrijwel alle celtypes kunnen worden gedood door NK-cellen. Indien een NK-cel een inhiberende KIR tot expressie brengt die niet wordt geligeerd door een HLA-molecuul op een doelcel, dan zal deze NK-cel geen negatief-regulerend signaal ontvangen, maar wel activerende signalen via de activerende KIRs. Het netto resultaat hiervan is dat de NK-cel wordt geactiveerd en de doelcel zal aanvallen. Dit principe wordt de 'missing-self' hypothese genoemd (figuur 2). Dit betekent dat als HLA op een tumorcel laag tot expressie komt, deze wel zou kunnen ontsnappen aan herkenning door cytotoxische T-cellen, maar niet aan herkenning door NK-cellen.

KIR en HLA

Voor zover bekend zijn er 14 functionele KIR-genen met elk een aantal allelvarianten. Uit populatiestudies is gebleken dat niet elk individu alle KIR-genen heeft, maar dat het KIR-genrepertoire onder is te verdelen in haplotypes. Zo zijn er b.v. haplotypes met vrijwel uitsluitend inhiberende KIRs (bijv. haplotype A) en haplotypes met weinig inhiberende maar juist veel activerende KIRs (haplotype B). De expressie van verschillende haplotypes is daarom geassocieerd met een verschil in functionele NK-celregulatie. De KIR-genen zijn gelokaliseerd op chromosoom 19 en erven onafhankelijk over van HLA-moleculen gecodeerd op chromosoom 6. Dit betekent dat HLA-matching bij een stamceltransplantatie niet automatisch leidt tot matching van het KIR-repertoire met het HLA van de patiënt. Indien een stamceltransplantatie wordt uitgevoerd met een HLA-mismatch, dan kan dit betekenen dat deze mismatch wordt herkend door NK-cellen van de donor indien daarop inhiberende KIRs aanwezig zijn die niet worden geligeerd door HLA-moleculen van de patiënt. Indien echter, ondanks een HLA-mis-

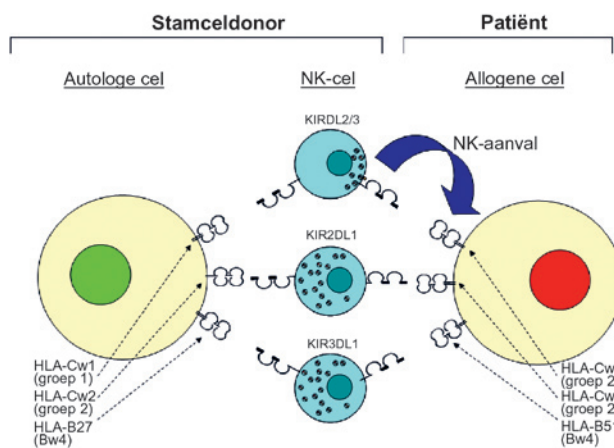


Figuur 2. Principe van de 'missing-self' hypothese. 'Killerimmunoglobulin-like' receptoren (KIRs) met een inhiberende functie herkennen o.a. HLA-Cw en/of -Bw4 als ligand. Als deze liganden aanwezig zijn, dan krijgt de NK-cel via deze KIRs een negatief regulatorisch signaal, en zal de uitkomst van de cellulair interactie afhangen van het geïntegreerde geheel van positieve en negatieve signalen. Indien deze HLA-liganden echter afwezig zijn, dan ontbreekt dit negatieve signaal waardoor de NK-cel tot aanval zal overgaan.

match, alle inhiberende KIRs op donor-NK-cellen toch worden geligeerd door hun respectievelijke HLA-liganden op patiëntencellen, dan zal er geen NK-cel-alloreactiviteit optreden (figuur 3). Een individuele NK-cel brengt in de praktijk slechts 1 of 2 van de aanwezige KIR-genen tot expressie. Dit betekent dat er in theorie autoreactieve NK-cellen zouden kunnen circuleren in gezonde individuen. Uit klonering- en flowcytometrische analyses is gebleken dat autoreactieve NK-cellen inderdaad aanwezig zijn in gezonde individuen, maar deze zijn anerg en komen slechts in zeer lage frequenties voor (19, 20). De HLA-moleculen die tot expressie komen in een individu selecteren in feite gedurende de ontwikkeling van NK-cellen een zelf-tolerant repertoire aan KIR-exprimerende NK-cellen.

Klinische relevantie van KIR-analyses

In verschillende studies rondom allogene stamceltransplantatie (SCT) zijn significante relaties gevonden tussen KIR-genen (de aanwezigheid van specifieke KIRs, het aantal KIRs, mismatching van inhiberende KIRs met hun respectievelijke liganden) en klinische kernparameters (zoals chronische graft-versus-host-ziekte, tumorrelapse, en CMV-reactivatie). In een studie met 112 SCTs ter behandeling van acute myeloïde leukemie, waarbij de stamcel donor een of meerdere HLA-mismatches had, werd verminderde relapse gevonden na SCT met ontbrekende KIR-liganden (17). Uit een cohortstudie met 2062 patiënten met acute myeloïde leukemie, chronische myeloïde leukemie of myelodysplastisch syndroom, die waren behandeld met HLA-identieke onverwante-donor-SCT, bleek dat de afwezigheid van KIR-liganden niet alleen geasso-



Figuur 3. Herkenning van patiëntencellen door donor-NK-cellen. Een HLA-Cw- of -Bw4-mismatch kan leiden tot alloreactiviteit van donor-NK-cellen indien het HLA-ligand benodigd voor een van de inhiberende KIRs ontbreekt. In dit voorbeeld brengt de donor HLA-B57 en de patiënt HLA-B27 tot expressie. Ondanks deze HLA-mismatch hebben de twee HLA-moleculen beide het HLA-Bw4-epitop en zullen ze dus als ligand functioneren voor KIR3DL1. Hetzelfde geldt voor donor HLA-Cw2 en patiënt HLA-Cw4 die beide een lysine-aminozuur op positie 80 hebben waardoor ze het ligand zijn voor KIR2DL1. In dit voorbeeld brengt de patiënt daarnaast HLA-Cw2 tot expressie wat niet wordt herkend als ligand door KIRDL2 of KIRDL3, die hebben HLA-Cw-moleculen zoals Cw1 met een asparagine op positie 80 als ligand, waardoor NK-celactivatie start en de patiëntencellen worden gelyseerd.

cieerd was met minder tumorrelapse maar helaas ook met een hogere incidentie en ernst van graft-versus-hostziekte (21). Ook is gerapporteerd in een studie naar 16 patiënten met lymfoma of een solide tumor - allen autoloog getransplanteerd - dat SCT met ontbrekende KIR-liganden significant geassocieerd was met verminderde tumorprogressie (22). Ook na navelstrengbloedtransplantaties blijkt dat KIR-ligandmismatches geassocieerd zijn met een verminderde incidentie van tumorrelapse (23). Daarnaast blijkt de aan- of afwezigheid van individuele KIRs geassocieerd te zijn met klinische parameters na SCT. Zo bleek uit twee verschillende studies naar patiënten die werden behandeld met een HLA-identieke SCT, dat de aanwezigheid van KIR2DS5 significant geassocieerd was met leukemievrije overleving (24, 25). Ook de aanwezigheid van KIR-haplotypes die meer of minder activerende/inhiberende KIRs bevatten blijkt geassocieerd met klinische parameters (26). Een studie met 448 patiënten met AML behandeld met onverwante SCT, liet zien dat donoren met KIR-haplotype B een significant verbeterde leukemievrije overleving opleveren (27). Stamceldonoren met KIR-haplotype B blijken CMV-heractivatie beter onder controle te kunnen houden dan donoren met haplotype A (28). Ook in niertransplantatie blijkt deze relatie te houden aangezien bij patiënten met KIR-haplotype B minder primaire infectie en reactivatie voorkomt dan die met haplotype A (29). In longtransplantatie kon deze relatie vooralsnog niet worden gevonden, maar wel werd een associatie gevonden tussen KIR-haplotype A en het significant vaker optreden van chronische afstoting (30). Alhoewel de bovenstaande data duiden op een rol van NK-cellen incl. hun regulerende KIRs in transplantatie, zijn er echter ook studies waarin eerder beschreven relaties tussen KIRs en klinische parameters niet konden worden bevestigd. Inmiddels wordt duidelijk dat details rondom behandeling (bijv. of er wel of geen ATG is gebruikt) en het soort maligniteit in SCT, leeftijd van de donor etc. cruciaal zijn om vast te stellen waar de klinische relevantie van KIR-analyses gepositioneerd moet worden.

Conclusie

Uit het bovenstaande verhaal mag blijken dat naast HLA-matching, de rol van KIRs bij stamceltransplantatie thans aandachtig wordt bestudeerd. In de komende jaren zal duidelijk worden wat de exacte positionering gaat worden van KIR-analyses in het selectieproces van stamceldonoren. De klinische relevantie van KIRs bij orgaantransplantatie is vooralsnog niet geheel duidelijk, maar de voorlopige data suggereren dat hun impact in deze setting zeker minder is dan bij stamceltransplantatie (30-32). Tenslotte, KIR-analyses liggen qua expertise, techniek en klinische relevantie in het verlengde van HLA-typeringen en worden daarom veelal in HLA-laboratoria uitgevoerd.

Literatuur

1. Rood JJ van, Eernisse JG, Leeuwen A van. Leucocyte antibodies in sera from pregnant women. *Nature* 1958; 181(4625): 1735-1736.

2. Zinkernagel RM, Doherty PC. Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature* 1974; 251(5475): 547-548.
3. Bevan MJ. The major histocompatibility complex determines susceptibility to cytotoxic T cells directed against minor histocompatibility antigens. *J Exp Med* 1975; 142(6): 1349-1364.
4. Goulmy E, Termijtelen A, Bradley BA, Rood JJ van. Y-antigen killing by T cells of women is restricted by HLA. *Nature* 1977; 266(5602): 544-545.
5. Doherty PC, Zinkernagel RM, Ramshaw IA. Specificity and development of cytotoxic thymus-derived lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *J Immunol* 1974; 112(4): 1548-1552.
6. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987; 329(6139): 506-512.
7. Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, Stern LJ, Urban RG, Strominger JL, et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 1993; 364(6432): 33-39.
8. Vyas JM, Veen AG van der, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(8): 607-618.
9. Geraghty DE, Koller BH, Orr HT. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84(24): 9145-9149.
10. Colonna M, Samaridis J, Cella M, Angman L, Allen RL, O'Callaghan CA, et al. Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *J Immunol* 1998; 160(7): 3096-3100.
11. Lee N, Goodlett DR, Ishitani A, Marquardt H, Geraghty DE. HLA-E surface expression depends on binding of TAP-dependent peptides derived from certain HLA class I signal sequences. *J Immunol* 1998; 160(10): 4951-4960.
12. Llano M, Guma M, Ortega M, Angulo A, Lopez-Botet M. Differential effects of US2, US6 and US11 human cytomegalovirus proteins on HLA class Ia and HLA-E expression: impact on target susceptibility to NK cell subsets. *Eur J Immunol* 2003; 33(10): 2744-2754.
13. Barral DC, Brenner MB. CD1 antigen presentation: how it works. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(12): 929-941.
14. Waldhauer I, Steinle A. NK cells and cancer immunosurveillance. *Oncogene* 2008; 27(45): 5932-5943.
15. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 735-747.
16. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nature Reviews Immunology* 2005; 5(3): 201-214.
17. Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, Urbani E, Carotti A, Aloisi T, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007; 110(1): 433-440.
18. Stern M, Ruggeri L, Capanni M, Mancusi A, Velardi A. Human leukocyte antigens A23, A24, and A32 but not A25 are ligands for KIR3DL1. *Blood* 2008; 112(3): 708-710.
19. Anfossi N, André P, Guia S, Falk CS, Roeytynck S, Stewart CA, et al. Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I. *Immunity* 2006; 25(2): 331-342.
20. Parham P. Taking license with natural killer cell maturation and repertoire development. *Immunol Rev* 2006; 214: 155-160.
21. Miller JS, Cooley S, Parham P, Farag SS, Verneris MR, McQueen KL, et al. Missing KIR ligands are associated with less relapse and increased graft-versus-host disease (GVHD) following unrelated donor allogeneic HCT. *Blood* 2007; 109(11): 5058-5061.

22. Leung W, Handgretinger R, Iyengar R, Turner V, Holladay MS, Hale GA. Inhibitory KIR-HLA receptor-ligand mismatch in autologous haematopoietic stem cell transplantation for solid tumour and lymphoma. *Br J Cancer* 2007; 97(4): 539-542.
23. Willemze et al, Annual EBMT meeting, Florence, Italy, 2008
24. Meer A van der, Schaap NP, Schattenberg AV, Cranenbroek B van, Tijssen HJ, Joosten I. KIR2DS5 is associated with leukemia free survival after HLA identical stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia patients. *Mol Immunol* 2008; 45(13): 3631-3638.
25. Schellekens J, Rozemuller EH, Petersen EJ, Tweel JG van den, Verdonck LF, Tilanus MG. Activating KIRs exert a crucial role on relapse and overall survival after HLA-identical sibling transplantation. *Mol Immunol* 2008; 45(8): 2255-2261.
26. Fauriat C, Andersson S, Björklund AT, Carlsten M, Schaffer M, Björkström NK, et al. Estimation of the size of the alloreactive NK cell repertoire: studies in individuals homozygous for the group A KIR Haplotype. *J Immunol* 2008; 181(9): 6010-6019.
27. Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, Saeteurn K, Klein J, Le CT, et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2008 Oct 22. [Epub ahead of print]
28. Cook M, Briggs D, Craddock C, Mahendra P, Milligan D, Fegan C, Darbyshire P, Lawson S, Boxall E, Moss P. Donor KIR genotype has a major influence on the rate of cytomegalovirus reactivation following T-cell replete stem cell transplantation. *Blood* 2006; 107(3): 1230-1232.
29. Stern M, Elsässer H, Hönger G, Steiger J, Schaub S, Hess C. The number of activating KIR genes inversely correlates with the rate of CMV infection/reactivation in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2008; 8(6): 1312-1317.
30. Kwakkel-van Erp JM, Graaf EA van de, Paantjens AW, Ginkel WG van, Schellekens J, Kessel DA van, Bosch JM van den, Otten HG. The killer immunoglobulin-like receptor (KIR) group A haplotype is associated with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27(9): 995-1001.
31. Hanvesakul R, Spencer N, Cook M, Gunson B, Hathaway M, Brown R, et al. Donor HLA-C genotype has a profound impact on the clinical outcome following liver transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8(9): 1931-1941.
32. Kreijveld E, Meer A van der, Tijssen HJ, Hilbrands LB, Joosten I. KIR gene and KIR ligand analysis to predict graft rejection after renal transplantation. *Transplantation* 2007; 84(8): 1045-1051.
33. Cooley S, McCullar V, Wangen R, Bergemann TL, Spellman S, Weisdorf DJ, Miller JS. KIR reconstitution is altered by T cells in the graft and correlates with clinical outcomes after unrelated donor transplantation. *Blood* 2005; 106(13): 4370-4376.

Summary

Otten H, Spierings E. Functional properties of HLA molecules. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 3-8

The success of stem cell and organ transplantation is predominantly determined by the extent of histocompatibility between patient and donor. In case insufficient histocompatibility exists between patient and donor, rejection may occur after organ transplantation whereas graft-versus-host disease may occur after stem cell transplantation. The most important molecules which determine histocompatibility are the HLA-molecules. Functionally, these proteins present parts of other proteins (peptides) to T cells which initiates immune responses. In addition, HLA-molecules act as ligand for killer immunoglobulin-like receptors (KIRs), which are expressed on the surface of natural (NK) killer cells and regulate their cytotoxic activity. Both functional properties of HLA-molecules -antigen presentation and regulation of NK cell activity- play an important role in transplantation.

Keywords: HLA; antigen presentation; killer immunoglobulin-like receptors

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 8-12

Inzicht in HLA-variantie: de complexiteit van HLA typeringen

C.E.M. VOORTER en M.G.J. TILANUS

Inzicht in HLA-diversiteit wordt niet alleen bepaald door begrip van de complexiteit van het polymorfisme van de HLA-genen maar vereist kennis over de bepalingen die verkregen worden met verschillende technieken. Een serologische typering identificeert HLA-antigenen op de celmembraan en toont de expressie van HLA-moleculen aan. Daarentegen identificeren DNA-technieken polymorfisme van de genen: de HLA-allelen. Meerdere verschillende allelen kunnen

tot een en dezelfde serologische groep behoren vanwege de herkenning van gemeenschappelijke epitopen op het molecuul door specifieke antisera. DNA-technologische benaderingen verschillen in de mate van resolutie: van identificatie van serologische equivalenten gebaseerd op DNA-polymorfisme tot het volledige genpolymorfisme, hoewel de laatste tot geselecteerde exonen die voor de peptidebindingsgroeve coderen beperkt kunnen zijn of het polymorfisme voor het hele gen bepalen. HLA typeren is alleen toegestaan in HLA-geaccrediteerde laboratoria die participeren in externe kwaliteitscontroles voor alle genen en technologieën die gebruikt worden. Vanwege het feit dat HLA een selectie criterium is in o.a. orgaan- en stamceltransplantaties is men op deze wijze van een goede toepassing en interpretatie van HLA-data verzekerd.

Transplantatie Immunologie, Laboratorium Weefseltypering, azM, Maastricht

Correspondentie: dr. Christien Voorter, Maastricht University Medical Center, P. Debyelaan 25, 6229 HX Maastricht.
E-mail: cvoo@lwee.azm.nl