

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Vojtěch Graman

Význam hlavního histokompatibilního systému pro transplantace krvetvorných kmenových buněk

Significance of the major histocompatibility complex for hemopoietic stem cell transplantation

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. MUDr. Antonij Slavčev, CSc.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část, nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

Podpis

Vojtěch Graman

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli doc. MUDr. Antonij Slavčevovi, CSc. za odborné vedení, věnovaný čas, cenné rady a notnou dávku trpělivosti při psaní této závěrečné práce. Zároveň bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům za významnou podporu.

ABSTRAKT

Geny tvořící hlavní histokompatibilní systém se nacházejí na krátkém raménku chromozomu 6 a kódují povrchové glykoproteiny (HLA glykoproteiny), které zajišťují prezentaci vlastních a cizích peptidů na buněčném povrchu. Ty jsou následně rozpoznávány T-lymfocyty a dalšími buňkami imunitního systému. Když je komplex HLA-peptid rozpoznán jako cizí, dochází k aktivaci T-lymfocytů a dalších složek imunitního systému, a k eliminaci cizorodých buněk. Zejména z tohoto důvodu je inkompatibilita HLA mezi dárce a příjemcem při transplantaci krvetvorných kmenových buněk (HSCT) původcem silné imunitní odpovědi proti transplantovaným buňkám, a je tedy hlavním kritériem při výběru vhodných dárců kmenových buněk.

Tato práce stručně shrnuje dosavadní poznatky o struktuře a funkci HLA antigenů I. a II. třídy. Zaměřuje se na techniky HLA typizace, mezi něž patří serologické metody a dále moderní techniky molekulárně-genetické typizace založené na metodách PCR a sekvenace druhé generace (next-generation sequencing), postupy a význam pro HSCT. Dále se zabývá samotnými procesy HSCT a přípravnou terapií, ale hlavní důraz je kladen na význam HLA inkompatibility mezi příjemci a dárci kmenových buněk a jejich vliv na výsledek HSCT.

Klíčová slova

HLA, transplantace krvetvorných kmenových buněk, PCR, sekvenace druhé generace

ABSTRACT

The genes of the major histocompatibility complex are located on the short arm of chromosome 6 and encode surface glycoproteins (HLA glycoproteins), which ensure the presentation of self and foreign peptides on the cell surface. These glycoproteins are subsequently recognized by T-lymphocytes and by other cells of the immune system. When the HLA-peptide complex is recognized as foreign, T-lymphocytes and other components of the immune system are activated, and the foreign cell is destroyed. Therefore, in hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), HLA incompatibility between donor and recipient causes a strong immune response against the transplanted cells, and is therefore a major criterion in selecting suitable stem cell donors.

This work briefly summarizes the current knowledge about the structure and function of HLA class I and class II antigens. The work focuses on HLA typing techniques to help understand the HLA system, which include serological typing methods, as well as modern molecular typing methods based on PCR and next-generation sequencing, and their relevance for HSCT. We also focus on HSCT processes and preparatory therapy, but the main emphasis is on the importance of HLA incompatibilities between stem cell recipients and donors and their effect on HSCT outcome.

Key words

HLA, hematopoietic stem cell transplantation, PCR, next-generation sequencing

Seznam zkratek

APC	buňka předkládající antigen	antigen-presenting cell
CLIP		class II-associated invariant chain peptide
DNA	deoxyribonukleová kyselina	deoxyribonucleic acid
GvH	štěp proti hostiteli	graft-versus-host
GvHD	reakce štěpu proti hostiteli	graft-versus-host disease
GvL efekt	reakce štěpu proti leukémii	graft-versus-leukemia effect
HLA	hlavní lidský antigen	human leucocyte antigen
HvG	hostitel proti štěpu	host-versus-graft
HSCT	transplantace krvetvorných kmenových buněk	hematopoietic stem cell transplantation
IFN γ	interferon gama	
Ig	imunoglobulinová doména	immunoglobuline domain
Ii	invariantní řetězec	invariant chain
KIR	inhibiční receptor NK buněk	killer inhibitory receptor
MHC	hlavní histokompatibilní komplex	major histocompatibility complex
MICA		MHC class I polypeptide-related sequence A
MIIC		MHC class II loading Compartment
PCR	polymerázová řetězová reakce	polymerase chain reaction
PLC	peptide-loading komplex	peptide-loading complex
SBT		sequence based typing
SSOP	PCR se sekvenčně specifickými oligonukleotidovými sondami	PCR – sequence specific oligonucleotide probe
SSP	PCR se sekvenčně specifickými primery	PCR – sequence specific primer
TCE	T-buněčný epitop	T-cell epitope
TCR	receptor T-lymfocytů pro antigen	T-cell receptor

OBSAH

1	Úvod.....	1
2	Hlavní histokompatibilní systém.....	1
2.1	Polymorfismus MHC.....	2
2.2	HLA antigeny	3
2.2.1	HLA antigeny I. třídy	3
2.2.2	HLA antigeny II. třídy.....	3
2.3	Struktura HLA antigenů	3
2.3.1	Struktura HLA antigenů I. třídy	3
2.3.2	Struktura antigenů HLA II. třídy.....	4
2.4	Funkce HLA antigenů	5
2.4.1	Funkce HLA antigenů I. třídy	5
2.4.2	Funkce HLA antigenů II. třídy.....	6
3	HLA typizace	6
3.1	HLA nomenklatura	7
3.2	Serologická typizace.....	9
3.3	Typizace HLA na základě molekulárně-genetických metod.....	9
3.3.1	SSP typizace	10
3.3.2	SSOP typizace	10
3.3.3	SBT typizace	11
3.4	Next Generation Sequencing	11
3.5	Sekvenování třetí generace	12
4	Transplantace krvetvorných kmenových buněk.....	12
4.1	Přípravná terapie před transplantací	14
4.2	Autologní transplantace	14
4.3	Alogenní transplantace	14
4.3.1	Transplantace od nepříbuzných dárců.....	16
4.3.2	Haploidentická transplantace od příbuzných dárců	16
5	Vliv neshody HLA na výsledky HSCT	16
5.1	Vliv HLA-A a HLA-B.....	17
5.2	Vliv HLA-C	18
5.3	Vliv HLA-DRB1 a HLA-DRB3/4/5.....	18
5.4	Vliv HLA-DQA1 a DQB1	19
5.5	Vliv HLA-DPB1	19
6	Závěr.....	20
	Seznam použité literatury.....	21

1 Úvod

Geny hlavního histokompatibilního systému jsou hlavním kritériem při výběru vhodného dárce pro transplantaci krvetvorných kmenových buněk (Spellman et al., 2008). Neshody v HLA mezi dárce a příjemcem způsobují patologické reakce, jako jsou GvHD anebo relaps onemocnění. Objevy v oblasti HLA typizace umožnily jak hlubší pochopení polymorfismu HLA komplexu, tak i zlepšení vyhledávací strategie dárců kmenových buněk.

Tato práce se zabývá velmi stručně současnými znalostmi struktury, genetiky a polymorfismu HLA komplexu a jeho vlivu na výsledek transplantace krvetvorných kmenových buněk.

2 Hlavní histokompatibilní systém

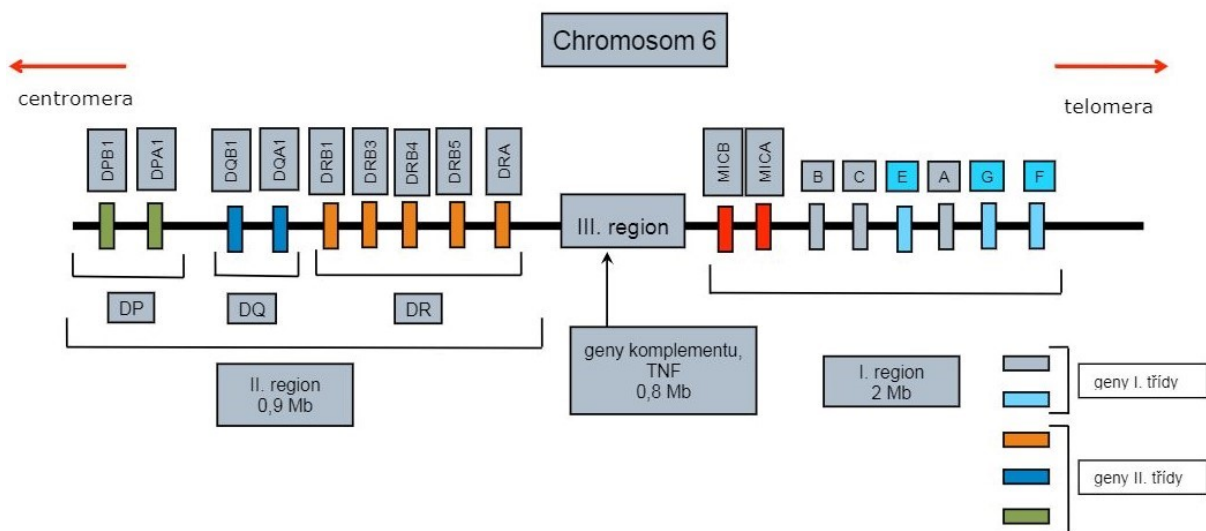
Hlavní histokompatibilní systém (MHC) vznikl nejspíše při tzv. MHC – big bangu (Rached et al., 1999). Tak se označuje duplikační událost v evoluci obratlovců, při které došlo k vytvoření paralogních genových oblastí, tedy genů vzniklých duplikací genů původních (ancestrálních). V lidském genomu se vyskytují tři takovéto homologní genové oblasti, které obsahují velký počet genů. Výše zmíněná duplikace umožnila evoluci hlavního histokompatibilního systému u obratlovců (Flajnik, 2014), který umožňuje imunitnímu systému sledovat vnitřní a vnější prostředí. Staré a nepotřebné proteiny jsou buněčným metabolismem rozkládány a jejich fragmenty jsou následně prezentovány jako peptidy na buněčném povrchu v kapsách HLA antigenů I. třídy, zatímco extracelulární antigeny jsou prezentovány imunitnímu systému HLA antigeny II. třídy (Doherty & Zinkernagel, 1975).

Rozpoznání vlastních a nevlastních antigenů je závislé na genetickém pozadí jedince. Skupina genů zodpovědná za rozpoznání cizích antigenů byla u myši pojmenována histocompatibility-2 (H-2) (Klein, 1986; Snell, 1978). Stejná genová rodina byla později nalezena i u člověka, kde kóduje povrchové antigeny způsobující agregaci dárcovských leukocytů po transfúzích krve (Degos, 2009). Tyto povrchové antigeny jsou kódovány geny patřícími do hlavního histokompatibilního systému (MHC), u člověka nazýván Human Leucocyte Antigens (HLA) (Nakamura et al., 2019). MHC systém hraje důležitou roli při transplantaci, kdy je orgán nepříbuzného jedince transplantován jinému (Moreso et al., 2018).

2.1 Polymorfismus MHC

U lidí bylo zjištěno velké množství (alelických) variant pro každý HLA gen (de Groot et al., 2016; de Groot et al., 2015). Polymorfismus HLA komplexu je spojen s jejich funkcí prezentovat peptidy imunitnímu systému (Horton et al., 2008) a tato variabilita tak ovlivňuje rozmanitost prezentovaných peptidů (Parham et al., 1988). Jelikož množství genových polymorfismů se rovněž nachází v promotorových a nepřekládaných oblastech HLA genů, tyto variace mohou ovlivnit expresi HLA molekul. Molekuly HLA hrají roli v imunitních reakcích proti infekcím, v auto-imunitních procesech a v protinádorové imunitě (Jongsma et al., 2019).

Všechny HLA geny jsou lokalizovány na krátkém raménku chromozomu 6 (Mungall et al., 2003). Komplex HLA genů je tvořen genovými lokusy HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ a HLA-DP (Nakamura et al., 2019) a je rozdělený na 3 regiony. V prvním a druhém regionu jsou lokalizovány klasické a neklasické HLA geny. Klasické geny jsou rozděleny podle funkce na HLA I. třídu (HLA-A, HLA-B a HLA-C) a HLA II. třídu (HLA-DR, HLA-DQ a HLA-DP). Kombinace těchto polymorfních alel vytváří obrovské množství výsledných haplotypů (Nakamura et al., 2019). Pod tímto termínem rozumíme sadu genů, která je děděna společně, jeden od matky, druhý od otce. HLA alely jsou ve vazebné nerovnováze, což znamená, že určité kombinace alel jsou děděny společně a mezi nimi nedochází často k rekombinaci (Slavčev & Stríž, 2001).



Obrázek 1. Základní struktura HLA komplexu na chromozomu 6 (Slavčev, 2019)

2.2 HLA antigeny

HLA molekuly jsou glykoproteiny a jsou zásadní pro správné fungování imunitního systému, jak bylo výše uvedeno (Hořejší Václav et al., 2017a).

2.2.1 HLA antigeny I. třídy

Hlavní funkcí HLA molekul I. třídy je prezentace antigenů T-lymfocytům (Geraghty et al., 1987). Transkripce těchto genů je regulována pomocí NLRC5 regulátoru (Jongsma et al., 2019).

Pouze limitovaný polymorfismus projevují neklasické HLA molekuly I. třídy, mezi které se řadí HLA-E, HLA-F, HLA-G, MICA (MHC class I polypeptide-related sequence A) a další. Tyto glykoproteiny zastávají různé funkce v imunitním systému (Rich R. Robert et al., 2019), jako například přispívání k toleranci plodu v děloze (HLA-G), protinádorové imunitě (HLA-E) (Hořejší Václav et al., 2017b).

2.2.2 HLA antigeny II. třídy

Mezi HLA molekuly II. třídy patří HLA-DR, HLA-DP a HLA-DQ, které jsou kódovány dvěma geny. Jeden gen kóduje α -řetězec a druhý β -řetězec. Geny HLA-DRA1, HLA-DQA1 a HLA-DPA1 kódují výše zmíněné α -řetězce, a HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5 (HLA-DRB3/4/5), HLA-DQB1 a HLA-DPB1 kódují β -řetězce. Geny HLA II. třídy jsou lokalizovány blíže k oblasti centromery než geny HLA I. třídy (Shiina et al., 2009).

2.3 Struktura HLA antigenů

2.3.1 Struktura HLA antigenů I. třídy

HLA glykoproteiny I. třídy jsou složeny z těžkého α -řetězce sestaveného z $\alpha 1$, $\alpha 2$ a $\alpha 3$ domén. Alfa-řetězec se nekovalentně váže na β -2 mikroglobulin a vytváří tak molekulu HLA I. třídy (Natarajan et al., 1999). Hmotnost α -řetězce je 45kDa a hmotnost β -2 mikroglobulinu je přibližně 12 kDa (Ploegh et al., 1981). Domény $\alpha 1$ a $\alpha 2$ spolu vytváří peptid-vazebný žlábek, kam se váží intracelulárně derivované anebo virové peptidy (Natarajan et al., 1999). HLA molekuly I. třídy mají transmembránovou doménu, která zajišťuje zakotvení

v buněčné membráně (Ploegh et al., 1981). Stabilní struktura vzniká až po navázání proteolyticky derivovaného peptidu do peptid-vazebného žlábků (Elliott et al., 1991).

U HLA glykoproteinů I. třídy je vazebný žlábek uzavřený. Do peptid-vazebného žlábků se tak mohou vázat pouze peptidy/fragmety o délce 8-10 aminokyselin. Pro správnou vazbu peptidu jsou důležité jeho koncové aminokyseliny (Matsumura et al., 1992). Různé alelické formy HLA molekul vykazují odlišný tzv. vazebný motiv, který předurčuje, jaké peptidy se budou moci vázat (Hořejší Václav et al., 2017c).

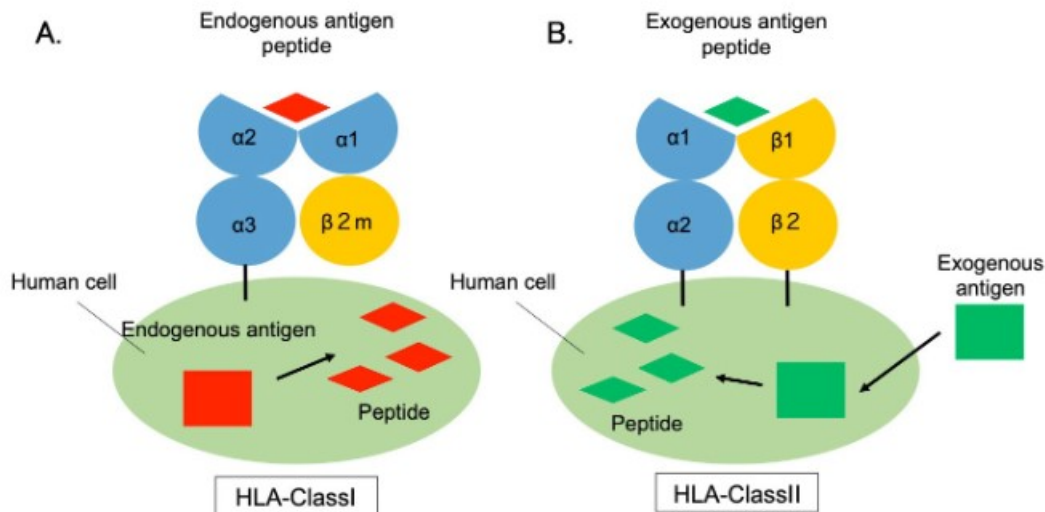
2.3.2 Struktura antigenů HLA II. třídy

Jak již bylo zmíněno, HLA glykoproteiny II. třídy jsou tvořeny dvěma řetězci. Řetězcem α , který tvoří domény $\alpha 1$ a $\alpha 2$, a řetězcem β (Nakamura et al., 2019). Molekulární hmotnost α -řetězce se pohybuje mezi 33-35 kDa a pro β -řetězec mezi 27-29 kDa (Kaufman et al., 1984). V α i β řetězci se nachází transmembránové části, jejichž C-terminální sekvence zajišťují ukotvení v membráně (Kaufman et al., 1984). Oba řetězce jsou spolu spojeny nekovalentní vazbou (Brown et al., 1993) a ke vzniku stabilní struktury dochází, stejně jako u HLA I. třídy, až po navázání peptidu do vazebného místa (Nakamura et al., 2019). Na rozdíl od HLA glykoproteinů I. třídy se na HLA glykoproteiny II. třídy váží delší peptidy, konkrétně o délce 13-25 aminokyselin. Jejich vazebný žlábek není uzavřený a peptidy mohou „viset“ z vazebné kapsy (Chicz et al., 1992).

K vytvoření HLA molekul II. třídy dochází v endoplazmatickém retikulu. Při skládání dochází k vytvoření komplexu s tzv. invariantním řetězcem (Ii), který blokuje předčasnou vazbu peptidů (Roche & Cresswell, 1990) a je následně proteolyticky odštěpen po transportu komplexu (Wieczorek et al., 2017) do MIIC (MHC class II Loading compartment) (Jongsma et al., 2019). Tento komplex je spojen s endocytickou dráhou (Jongsma et al., 2019) a pozdními endosomy, kde je invariantní řetězec štěpen katepsinovými proteázami (Wieczorek et al., 2017). Invariantní řetězec však není odštěpen úplně. Malý fragment CLIP (class II-associated invariant chain peptide) zůstává v peptid-vazebném žlábků a stále zamezuje předčasnému navázání jiných peptidů (Wieczorek et al., 2017).

V pozdních endosomech se nacházejí proteolyticky degradované extracelulární proteiny, které byly pohlceny buňkou. Tyto peptidy mají vyšší afinitu k vazebnému žlábků než fragment CLIP a dojde k jejich výměně (Wieczorek et al., 2017). Výměna těchto fragmentů extracelulárními peptidy je katalyzována HLA-DM, která je svou strukturou velice podobná

HLA molekulám II. třídy, ale její peptid-vazebný žlábek je zablokován tudíž nemá schopnost vázat a prezentovat peptidy (Pos et al., 2012).



Obrázek 2. **A** Struktura HLA I. třídy. Endogenní antigeny jsou prezentovány v peptid-vazebném žlábku. **B** Struktura HLA II. třídy. Exogenní antigeny pohlcené fagocyty jsou prezentovány v peptid-vazebném žlábku. (Nakamura et al., 2019)

2.4 Funkce HLA antigenů

2.4.1 Funkce HLA antigenů I. třídy

HLA molekuly I. třídy jsou glykoproteiny exprimované na všech jaderných buňkách a destičkách a prezentují peptidy vzniklé proteolytickým štěpením endogenně exprimovaných a virových proteinů. Komplexy peptid-MHC třídy I. jsou všudypřítomně exprimovány (Jongsma et al., 2019) a jsou následně na buněčném povrchu rozpoznány receptory (TCRs) cytotoxických CD8⁺ T-lymfocytů (Wieczorek et al., 2017).

Endogenní peptidy jsou zpracovány v proteazomech a následně transportovány do endoplazmatického retikula TAP1/TAP2 transportérem (Jongsma et al., 2019). Hned po syntéze těžkého α -řetězce a β -2 mikroglobulinu dochází v lumen endoplazmatického retikula k jejich interakci (Wright et al., 2004; Jongsma et al., 2019). Ke složení a navázání peptidu dochází uvnitř peptide-loading komplexu (PLC) (Wright et al., 2004), kde se navazují endogenní nebo virové vazebné peptidy z proteazomu (Jongsma et al., 2019). V PLC se nachází

enzym tapasin, který společně s chaperony katalyzuje navázání zpracovaných endogenně exprimovaných a virových peptidů s nejvyšší afinitou k vazebnému žlábků HLA molekuly I. třídy (Wright et al., 2004).

Velmi významná je interakce HLA molekul I. třídy a NK buněk. Na povrchu NK buněk jsou tzv. KIR receptory (Killer Inhibitory Receptor), které rozpoznávají HLA molekuly I. třídy a při aktivaci inhibují cytotoxickou aktivitu. Zničeny jsou tedy pouze buňky, které na svém povrchu z nějakého důvodu neexprimují HLA glykoproteiny I. třídy (Bessoles et al., 2014).

2.4.2 Funkce HLA antigenů II. třídy

Komplexy peptid-HLA II. třídy se nachází na buněčném povrchu antigen prezentujících buněk (APCs) a dále na některých buněčných typech při zánětlivých podmínkách. Mezi APCs patří dendritické buňky, B-lymfocyty, makrofágy a aktivované T-lymfocyty (Jongsma et al., 2019).

APC(s) endocytózou pohlcují buňky těla nevlastní, jako například buňky bakterií a hub. Pohlcené antigeny jsou degradovány pomocí lysozomů a vzniklé antigenní fragmenty jsou prezentovány na povrchu buňky HLA molekulami II. třídy (Sadegh-Nasseri & Kim, 2015).

Po navázání peptidů s nejvyšší afinitou a jejich prezentaci na povrchu buňky, jsou HLA glykoproteiny II. třídy rozeznány TCR (T-cell receptor) CD4⁺ T-lymfocytů. Po rozpoznání dochází k tvorbě cytokinů Th1 a Th2 buňkami (O'Garra, 1998; Sher & Coffman, 1992). Dojde tak k produkci IL-2 a IFN- γ Th1 buňkami a IL-4 Th2 buňkami. IL-2 a IFN- γ aktivují cytotoxické CD8⁺ T-lymfocyty a NK buňky schopné zničit buňky obsahující prezentované peptidy (Nakamura et al., 2019). IL-4 stimuluje B-lymfocyty. Dojde k produkci protilátek a opsonizaci buněk nesoucí HLA molekuly II. třídy (Moore et al., 2001).

3 HLA typizace

Pod termín HLA typizace spadají metody pro určení individuálních polymorfismů HLA antigenů (genů) (Howell et al., 2010). HLA antigeny jsou exprimovány kodominantně, tedy dochází vždy k expresi obou HLA genů (Slavčev & Stříž, 2001). Mezi metody HLA typizace se řadí serologické typizace a typizace HLA za využití molekulárně genetických metod (DNA metody) (Howell et al., 2010).

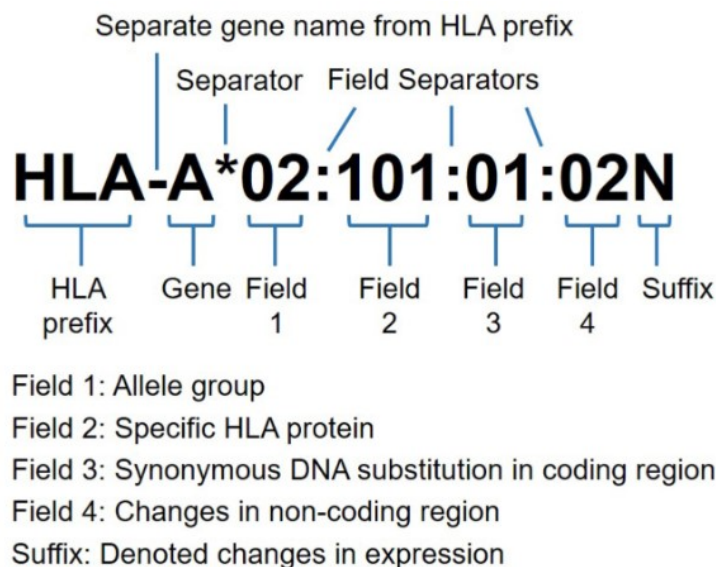
HLA shoda je jedním z hlavních kritérií při výběru potencionálních dárců u transplantace krvetvorných kmenových buněk (Fung & Benson, 2015), kde je testování

zaměřeno hlavně na polymorfické α -řetězce HLA-A, HLA-B a HLA-C, β -řetězce HLA-DR a α - a β -řetězce HLA-DQ a HLA-DP. Shoda v HLA komplexu mezi donorem a recipientem je nutná pro přijetí alogenních krvetvorných kmenových buněk a pro prevenci vzniku GvHD (Fleischhauer, 2019). Testování je zaměřeno zejména na identifikaci polymorfismů v exonech 2 a 3 pro geny HLA I. třídy a v exonu 2 pro geny HLA II. třídy. Může však dojít k nedostatečné nebo změněné expresi HLA molekuly, což je dáno polymorfismy mimo testované exony. Pro lépe dosažitelnou typizaci s vysokým rozlišením bylo u příjemců a dárců HSCT přidáno testování exonu 4, který kóduje α 3 doménu HLA I. třídy a transmembránovou doménu HLA II. třídy (Fung & Benson, 2015).

Významný pokrok v metodách HLA typizace a zlepšení přípravné terapie vedl k tomu, že nepříbuzní dárci se stali preferovaným zdrojem krvetvorných kmenových buněk (Auletta et al., 2021; Passweg et al., 2022). Moderní techniky typizace HLA s vysokým rozlišením umožnily výrazný nárůst počtu dostupných dospělých dobrovolníků zapsaných v mezinárodních registrech, a tedy i rychlejší vyhledání vhodného dárce (World Marrow Donor Association [WMDA]; <https://statistics.wmda.info/>).

3.1 HLA nomenklatura

Nomenklatura HLA komplexu se v průběhu let výrazně měnila. Po zavedení molekulárních metod pro účely typizace HLA bylo nutné nomenklaturu HLA výrazně aktualizovat (Marsh et al., 2010). Molekulární nomenklatura je, na rozdíl od původní serologické, označena hvězdičkou (*) za označením lokusu HLA a následně až 4 poli. Ta jsou od sebe oddělena dvojtečkou (:) a každé je jinak definováno: první pole obecně označuje skupinu alel, které většinou odpovídají serologickým specifitám, druhé pole definuje specifický HLA protein s jedinečnou sekvencí aminokyselin, třetí označuje skupinu alel se synonymní nukleotidovou substitucí v kódující oblasti a čtvrté ukazuje rozdíly v nekódujících oblastech (Nunes et al., 2011).



Obrázek 3. Nomenklatura HLA s rozlišením alel ve čtyřech polích (osm číslic). Obvykle předpona HLA následovaná názvem genu a čtyřmi poli alely (Kishore & Petrek, 2018)

Molekulární nomenklatura popsaná výše byla zavedena poté, co nové DNA metody HLA typizace odhalily skutečnost, že mnoho serologicky definovaných antigenů je ve skutečnosti kódováno více alelami. Ty byly identifikovány a definovány molekulárními metodami HLA typizace. Jejich odhalení bylo důležitým krokem vpřed, jelikož jednotlivé alely, které kódují stejný serologický HLA antigen, ovlivňují správný výběr dárců pro HSCT (Fung & Benson, 2015).

Typizaci HLA obecně dělíme na typizaci s nízkým a vysokým rozlišením. Typizace s nízkým rozlišením je vztažena k prvnímu poli. Typizace s vysokým rozlišením odkazuje na druhé pole HLA nomenklatury a je to tedy výsledek typizace HLA na základě DNA (Tiercy, 2016). Jsou tak definovány alely kódující stejnou sekvencí peptid-vazebné oblasti HLA molekul a jsou vyloučeny ty, které nejsou exprimovány jako proteiny na buněčném povrchu (Marsh et al., 2010; Nunes et al., 2011).

Na konci označení alely může být přidána přípona označující její expresní stav: „L“ pro nízkou expresi na buněčném povrchu, „S“ znamená sekretovaná molekula, „C“ nacházející se v cytoplazmě, „N“ neexprimovaná null alela, atd (Marsh et al., 2010).

Jako shoda alel se při výběru dárců pro HSCT využívá výsledků typizace s vysokým rozlišením, a tedy typizace v druhém poli HLA nomenklatury (Fleischhauer, 2019).

3.2 Serologická typizace

HLA polymorfismus byl identifikován a charakterizován detekcí exprimovaných molekul HLA, které jsou přítomné na povrchu separovaných T- a B-lymfocytů, pomocí komplement-dependentního testu cytotoxicity (Mittal et al., 1968). T- a B-lymfocyty od pacienta nebo dárce jsou in vitro inkubovány se sérem, obsahujícím specifické protilátky proti určitému typu HLA. Jestliže je přítomen antigen k těmto specifickým protilátkám, dochází k aktivaci komplementu, což vede k detekovatelné buněčné smrti. Na základě reaktivity protilátek tak bylo objeveno cca 100 serologických typů (Terasaki & McClelland, 1964). Typ HLA jedince tak byl určen sérií serologických testů s různými HLA specifickými protilátkami na tzv. Terasakiho destičkách (Fung & Benson, 2015).

Možnost identifikace typů HLA molekul serologickými metodami je závislá na dostupnosti sér obsahujících specifické protilátky (Fung & Benson, 2015), jsou vyžadovány živé lymfocyty a typizační rozlišení získané serologickými metodami je nízké, ale po dlouhou dobu bylo postačující pro potřeby orgánových transplantací. Kvůli těmto omezením nejsou serologické metody vhodné pro typizaci pacientů a dárců, kteří podstupují HSCT. Serologické metody hrály zásadní roli při rozluštění struktury HLA komplexu a jsou dnes v některých centrech využívány jako doplňkové metody k typizaci na základě DNA (Howell et al., 2010). U pacienta nebo dárce se mohou vyskytovat tzv. „null“ alely, tedy alely, které jsou identifikovány molekulárními metodami typizace, ale nejsou exprimovány na buněčném povrchu. Pro identifikaci těchto alel jsou pak stále používány serologické metody (Elsner & Blasczyk, 2004).

3.3 Typizace HLA na základě molekulárně-genetických metod

Oproti sérologické typizaci má typizace HLA na základě DNA řadu výhod, počínaje vyšším rozlišením, ztrácí se potřeba dostupnosti živých lymfocytů a mnoha sér s protilátkami proti různým HLA molekulám a lze tak stanovovat HLA antigeny, proti kterým není možné vyrobit séra (Fung & Benson, 2015). DNA se dá extrahovat z jakékoliv jaderné buňky, ale preferovaným zdrojem pro metody typizace je DNA extrahovaná z lymfocytů, nacházejících se v periferní krvi (Howell et al., 2010).

Geny HLA se vyznačují polymorfismem ve více místech, avšak většina této variability je soustředěna v exonu 2 a 3 pro HLA geny I. třídy a exonu 2 pro HLA geny II. třídy. Potřebné DNA sondy a primery jsou pak syntetizovány a dodávány v komerčních testovacích sadách (Fung & Benson, 2015). V současnosti se ve světě používá několik metod typizace na základě

DNA, které jsou všechny založeny na PCR amplifikaci cílových sekvencí ve zkoumaných genech (Howell et al., 2010).

Molekulární metody typizace jsou obecně rozděleny do 3 kategorií, o kterých je pojednáno níže: metody typizace využívající PCR za použití sekvenčně specifických primerů (SSP), sekvenčně specifických oligonukleotidových sond (SSOP) a sekvenování (Sangerovo a sekvenování druhé generace (NGS)) (Wittig et al., 2015).

Díky metodám typizace HLA na základě DNA došlo ke zlepšení rozlišení HLA, čímž se výrazně přispělo k lepší typizaci pacientů podstupujících transplantaci krvetvorných kmenových buněk (Gandhi et al., 2017; Hosomichi et al., 2015).

3.3.1 SSP typizace

Běžně používaným postupem je použití sekvenčně specifických primerů, které nasedají na specifické sekvence konkrétní alely nebo skupiny alel HLA. Do jamky je přidán specifický primer a je přidána extrahovaná DNA. Pokud je alela nebo skupina alel v DNA komplementární, primer se naváže a dojde k amplifikaci úseku pomocí termostabilní DNA polymerázy. Výsledky reakce jsou následně stanoveny pomocí elektroforézy v agarovém gelu. Reakce tedy probíhá v několika jamkách k určení přítomnosti nebo nepřítomnosti konkrétních polymorfismů HLA oblasti (Bunce et al., 1995).

Jak již bylo zmíněno, metoda se používá jak k detekci skupin alel (low resolution), tak i při typizaci s vysokým rozlišením. Není však vhodná pro testování velkého množství vzorků (Howell et al., 2010). K provedení SSP typizace je za potřeby základní vybavení laboratoře, kvůli čemuž je SSP stále jednou z nejpoužívanějších metod HLA typizace (Spellman et al., 2008).

3.3.2 SSOP typizace

Při typizaci metodou SSOP dochází k hybridizaci PCR fragmentů se sekvenčně specifickými oligonukleotidovými sondami. SSOP metody se dělí na forward a reversní uspořádání. Při reversní SSOP jsou nukleotidové sondy ukotveny na pevném nosiči a komplementární PCR fragmenty k nim hybridizují. U forward uspořádání jsou na pevném nosiči ukotveny PCR fragmenty, se kterými hybridizují oligonukleotidové sondy přítomné v kapalně fázi (Spellman et al., 2008).

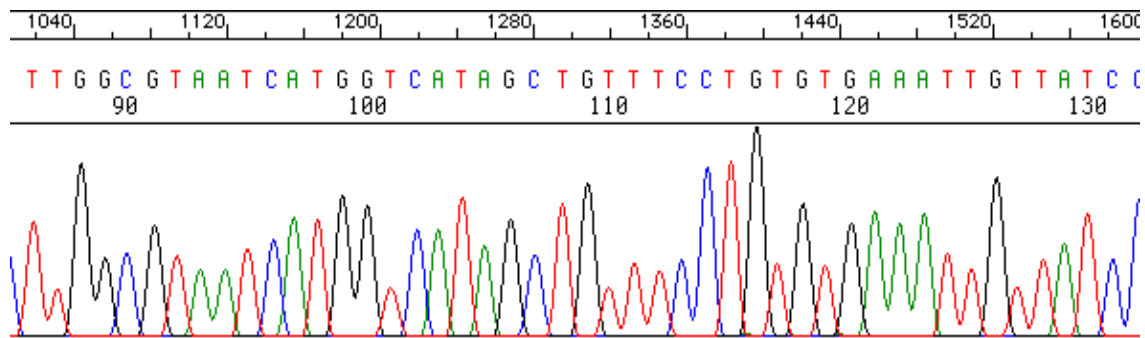
Nově vzniklé metody využívají spojení oligonukleotidových sond se specifickými fluorescenčně značenými mikrokuličkami. Identifikace jednotlivých alel je pak prováděna

průtokovým cytometrickým testem, který využívá technologii X-Map (Itoh et al., 2005). Tato metoda je dnes využívána v klinické praxi a je tak vhodná pro typizaci menšího, středního a také velkého počtu vzorků, se středně vysokým až vysokým rozlišením (Itoh et al., 2005).

3.3.3 SBT typizace

SBT je možné provádět Sangerovou metodou anebo pomocí sekvenace nové generace (Fung & Benson, 2015). Používá se k dosažení typizace HLA na vysokém rozlišení, která je vyžadována pro pacienty a dárce transplantace krvevorných kmenových buněk, jak již bylo řečeno dříve (Abbott et al., 2006).

SBT poskytuje informaci o každém nukleotidu ve zkoumaném řetězci DNA a není tak omezoována nutností předem znát HLA polymorfismy. Skládá se ze dvou PCR reakcí, při čemž druhá reakce využívá fluorescenčně značené ddNTP (dideoxynukleotidtrifosfáty). Po navázání ddNTP není už DNA polymeráza schopna dále syntetizovat. Vznikají tak různě dlouhé amplikony (fragменты vzniklé amplifikací nukleové kyseliny) s fluorescenčně značenými konci. Následně se provede kapilární elektroforéza v sekvenátoru, která je schopna rozdělit fragmenty na přesnost jednoho nukleotidu a zároveň zachytit fluorescenční signál. Výsledky jsou pak překresleny počítačem do elektroforeogramu.



Obrázek 4. Elektroforeogram

3.4 Next Generation Sequencing

Přístupy sekvenování druhé generace jsou založeny na vysoce výkonném sekvenování genů HLA oblasti a v kombinaci s bioinformatickými nástroji poskytují kompletní informaci o HLA oblasti jedince. Mezi platformy využívané k sekvenování druhé generace patří metody

jako Ion torrent (Thermo Fisher), Illumina, SOLiD, PacBio a Oxford Nanopore (Kishore & Petrek, 2018).

Při sekvenování druhé generace nejprve dojde k amplifikaci cílové oblasti, kvantifikaci a čištění amplikonů. Následně dojde k jejich ligaci a purifikaci a přípravě knihovny amplikonů o přesné velikosti. Vybrané amplikony jsou poté sekvenovány a data jsou analyzována za použití vhodného softwaru (Gandhi et al., 2017; Hosomichi et al., 2015).

Sekvenování druhé generace bylo vyvinuto jako nástroj pro detekci jednonukleotidových polymorfismů a pro zvýšení rozlišení typizace HLA genů. Jeho zavedení mělo za následek, mimo jiné, značný nárůst v počtu nových sekvencí genů a nových alel HLA (Kishore & Petrek, 2018). To také vedlo ke zlepšení typizace dárců v mezinárodních registrech, a v důsledku i snížení vyhledávací doby nepříbuzných dárců (Tiercy, 2016).

3.5 Sekvenování třetí generace

Nedávný nástup takzvaného sekvenování třetí generace dlouhých úseků DNA umožnil vysoce výkonnou typizaci celé exon-intronové oblasti genů HLA, což vedlo k typizaci s ultra vysokým rozlišením a jednoznačnou typizací všech 4 polí (Mayor et al., 2019).

4 Transplantace krvetvorných kmenových buněk

Transplantace krvetvorných kmenových buněk (HSCT - Haematopoietic stem cell transplantation) je metoda, která se používá k léčbě řady maligních onemocnění a některých forem vrozených imunodeficitů (Balassa et al., 2019). Je aplikována také při léčbě závažných onemocnění jako je aplastická anémie (Peinemann et al., 2011), dědičné syndromy selhání kostní dřeně (Dalle & de Latour, 2016), srpkovitá anémie (Gluckman et al., 2017), některé dědičné imunodeficiency (Wahlstrom et al., 2015) a určité metabolické poruchy (Krivit, 1995). Jak udávají data EBMT (The European Society for Blood and Marrow Transplantation), roku 2019 bylo celosvětově provedeno 48512 transplantací krvetvorných kmenových buněk (alogenní a autologní dohromady) (Passweg et al., 2021). V roce 2020 a 2021 došlo ke snížení počtu transplantací, což bylo způsobeno pandemií onemocnění SARS-CoV-2 (Passweg et al., 2022).

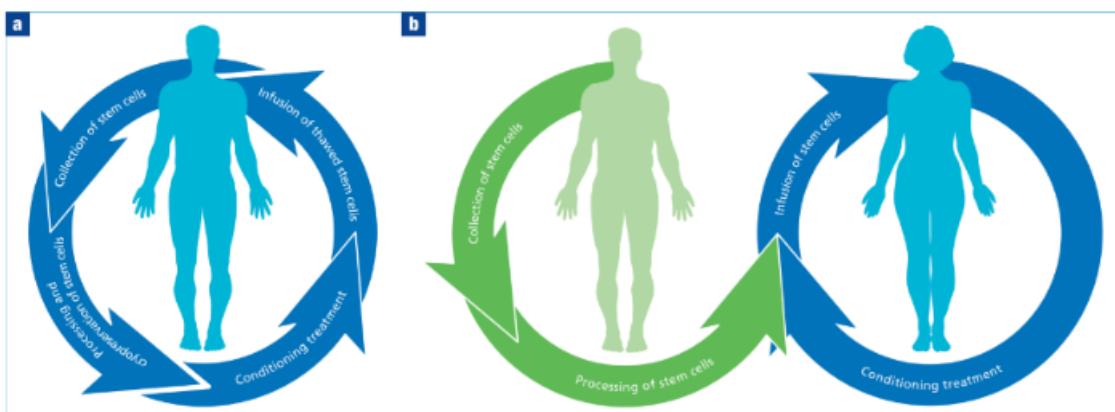
Metoda HSCT sestává z několika kroků. Nejprve se provádí deplece kostní dřeně pomocí myeloablativní terapie, například pomocí chemoterapie (viz Přípravná terapie před

transplantaci). Následně jsou krvetvorné kmenové buňky odebrány a poté infúzí aplikovány pacientovi, kde posléze generují nový krvetvorný a imunitní systém (Balassa et al., 2019).

Kmenové buňky používané při HSCT jsou získávány ze tří zdrojů, a to z kostní dřeně, periferní krve a pupečnickové krve (Sureda et al., 2015). První zavedenou metodou byl odběr kmenových buněk z dárcovské kostní dřeně v celkové anestezii (Miller et al., 2008). V dnešní době je však nejpoužívanější metodou odběr kmenových buněk z periferní krve, které jsou odebrány po zavedení faktoru stimulujícího kolonie granulocytů. Výhodou této metody je rychlejší obnova bílých krvinek a imunitního systému příjemce, při nižším riziku selhání štěpu. Nevýhodou je ovšem vyšší výskyt rejekční reakce (odhojení) (Schmitz et al., 2006).

Po dokončení přípravné terapie a odebrání kmenových buněk dárce, jsou krvetvorné kmenové buňky vpraveny do těla pacienta. Po tomto zákroku je ihned zahájena profylaxe proti infekčním i neinfekčním onemocněním, jako jsou bakteriální onemocnění, herpetické viry atd (Tomblyn et al., 2009).

Existují dva základní typy HSCT: autologní transplantace (viz. Autologní transplantace), kdy jsou kmenové krvetvorné buňky pacienta odebrány a později reinfúzovány a alogenní transplantace (viz. Alogenní transplantace), při které se kmenové buňky odebírají příbuznému nebo shodnému nepříbuznému dárci a jsou následně transplantovány pacientovi (Sureda et al., 2015). V dalších částech této práce se budeme vyloženě zabývat problematikou alogenní transplantace kmenových buněk. V posledních padesáti letech došlo k výraznému pokroku v oblasti typizace HLA, vylepšení profylaxe a přípravné terapie, což umožnilo rozšíření přístupnosti HSCT širší skupině pacientů s výrazně lepšími výsledky (Abecasis et al., 2020).



Obrázek 5. a) Autologní transplantace b) Alogenní transplantace (Balassa et al., 2019)

4.1 Přípravná terapie před transplantací

Přípravná terapie se provádí chemoterapií, radioterapií anebo kombinací obou a jejím cílem je ablace kostní dřeně recipienta, která umožní přihojení dárcovských krvetvorných kmenových buněk. (Bazinet & Popradi, 2019).

Chemoterapie a radioterapie jsou zatěžující rizikové zákroky s velkou mírou toxicity a někteří pacienti nejsou zdravotně způsobilí, aby mohli tuto léčbu absolvovat. Je nutné, aby funkce srdce, ledvin, jater a dalších orgánů byly adekvátní a pacient by neměl mít aktivní infekci. Kteří pacienti jsou způsobilí zvládnout toto období, je na jedné straně dáno jejich zdravotním stavem a na druhé také jejich věkem. Horní povolená věková hranice je určena věkem biologickým (Bazinet & Popradi, 2019). V závislosti na stavu pacienta se přípravná terapie dělí na myeloablativní (vysoká intenzita), se sníženou intenzitou a nemyeloablativní (nízká intenzita) (Bacigalupo et al., 2009). Použití myeloablativní terapie vede k pancytopenii (Bacigalupo et al., 2009), tedy k snížení množství všech druhů krevních elementů (Bagwe et al., 2017).

4.2 Autologní transplantace

Jak již bylo řečeno, při autologní transplantaci jsou krvetvorné kmenové buňky odebrány samotnému pacientovi a posléze reinfúzovány (Sureda et al., 2015). Po odebrání jsou kmenové buňky zmrazeny, aby mohly být zpětně podány pacientovi po absolvování myeloablativní terapie (Bazinet & Popradi, 2019).

Hlavní léčivý účinek autologní transplantace je způsoben myeloablativní terapií, tedy efekty chemoterapie a radioterapie (Balassa et al., 2019).

Téměř všechny autologní transplantace jsou prováděny pro léčbu maligních onemocnění, jako jsou mnohočetné myelomy a lymfomy. Pouze malé procento léčby je zaměřeno na autoimunitní onemocnění (Balassa et al., 2019).

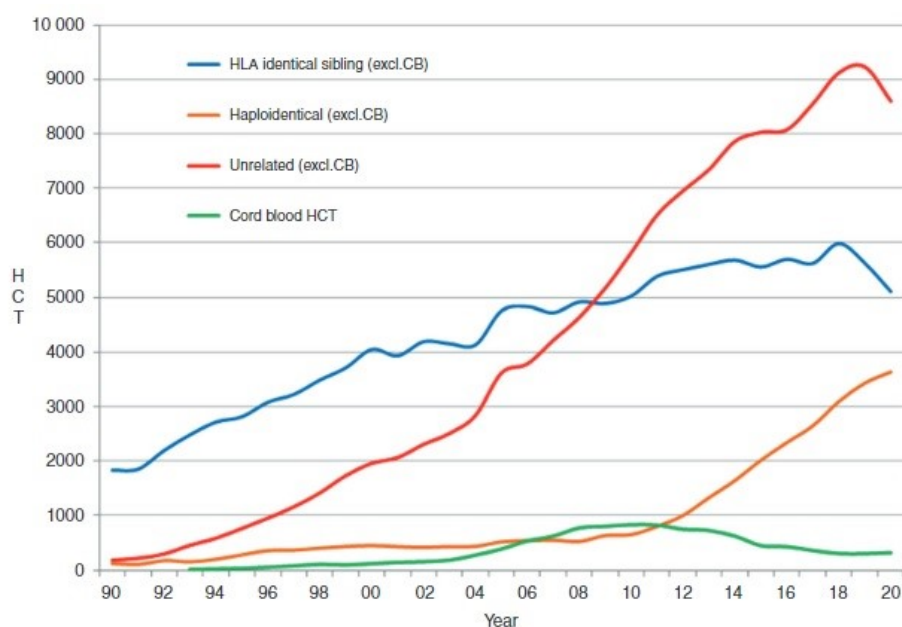
4.3 Alogenní transplantace

Jak již bylo zmíněno, při alogenní transplantaci jsou kmenové buňky zdravého příbuzného anebo nepříbuzného dárce aplikovány pacientovi (Balassa et al., 2019). Tato metoda je zpravidla používána k léčbě hematologických malignit, jako je akutní myeloidní leukémie a akutní lymfoidní leukémie (Balassa et al., 2019), metabolických poruch (Wahlstrom et al., 2015) a některých vrozených imunodeficientů (Krivit, 1995).

Při alogenní transplantaci, na rozdíl od autologní, maligní buňky, které nebyly zničeny myeloablativní terapií, mohou být eliminovány aktivitou transplantovaných krvetvorných buněk, tzv. reakcí štěpu proti leukémii (Graft vs Leukemia effect – GvL) (Horowitz et al., 1990). Ta spočívá v tom, že imunitní buňky ve štěpu jsou schopny rozpoznat maligní buňky jako cizorodé a následně je zničit (Weiden et al., 1979).

Alogenní transplantace vyžadují vhodnou volbu dárce, kterým může být buď příbuzný, nebo nepříbuzný pacienta (Petersdorf, 2013). Výběr vhodného dárce záleží zejména na shodě mezi dárcovými a pacientovými HLA antigeny, ze kterých jsou testovány geny HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ a -DP. Mezi další důležité faktory patří pohlaví a věk dárce, ale i shoda v krevní skupině (AB0) (Petersdorf, 2013).

Celkový počet transplantovaných pacientů se v posledních desetiletích zvyšoval. Stejně tak jsou transplantovaní pacienti ve vyšším věku (Abecasis et al., 2020). Data z roku 2020 však ukazují, že došlo ke snížení počtu HSCT, jak již bylo uvedeno výše, z důvodu pandemie SARS-CoV-2 (Passweg et al., 2022). Okolo 30 % pacientů podstupujících alogenní transplantaci má k dispozici příbuzného, vhodného pro dárcovství (HLA shodný anebo haploidentický, viz vysvětlení níže). Další alternativou je najít nepříbuzného dárce z mezinárodních registrů dárců kostní dřeně (Gragert et al., 2014). V posledních letech se však zvýšil počet příbuzných dárců kvůli rostoucím počtům haploidentických transplantací (Passweg et al., 2022).



Obrázek 6. Změny ve výběru dárce v letech 1990-2020 (Passweg et al., 2022)

4.3.1 Transplantace od nepříbuzných dárců

Počet nepříbuzných dárců v průběhu let 1987-2017 výrazně narostl (Abecasis et al., 2020). Optimalizace myeloablativní terapie a pokroky v typizaci HLA antigenů, umožnily lepší výběr HLA shodných nepříbuzných dárců, což přispělo k celkově lepší míře přežití, která je u 10/10 shodných nebo dokonce u 9/10 shodných dárců srovnatelná s HLA-identickými příbuznými dárci (Abecasis et al., 2020; Jorge et al., 2018; Kröger et al., 2009). Použití 9/10 shodných nepříbuzných dárců je stále předmětem debat s tím, že některé výsledky ukazují horší celkové přežití a jiné ukazují podobné celkové přežití, GvHD (Graft vs Host Disease), úmrtnost spojenou s transplantací a relaps, tj. navrácení onemocnění, v porovnání s 10/10 shodnými dárci (Abecasis et al., 2020; Jorge et al., 2018; Kröger et al., 2009; Michallet et al., 2015).

4.3.2 Haploidentická transplantace od příbuzných dárců

Pokud není k dispozici HLA-identický příbuzný anebo nepříbuzný dárc, je stále častější využití příbuzných haploidentických dárců (Bittencourt & Ciurea, 2020).

Původně byla tato metoda prováděna pomocí štěpů s depletovanými T-buňkami. Bylo tak dosaženo dobrých antileukemických účinků, ale docházelo k velkému množství mortalit spojených s opožděnou rekonstitucí imunitního systému. Po zavedení terapií cyklofosfoamidem došlo k výraznému zlepšení výsledků haploidentické transplantace s výrazně nižší mírou GVHD a celkového přežití pacientů. Dosud se obecně má za to, že cyklofosfoamid cytotoxicky eliminuje rychle proliferující aloreaktivní T-buňky, přičemž neničí pomalu se dělící paměťové a regulační T-buňky. Tím snižuje riziko GVHD a relapsu a zároveň umožňuje rychlejší rekonstituci imunitního systému (Ciurea et al., 2012).

5 Vliv neshody HLA na výsledky HSCT

Histokompatibilita pacienta a dárce hraje významnou roli pro výsledek transplantace. Neshody v HLA systému mohou vyvolávat různé imunologické procesy (Eyrich & Schulze, 2019; Fürst et al., 2019) v závislosti na tom, zda je reakce ve směru štěp vs. hostitel (GvH) anebo hostitel vs. štěp (HvG) (Eyrich & Schulze, 2019). Reakce GvH je reakce dárcovských buněk proti tkáni příjemce. Ta se může vyvinout v imunoterapeutický efekt štěpu proti leukémii (GvL), avšak je hlavně spojena s vývojem GvHD, což je hlavní faktor morbidity a mortality související s transplantací krvetvorných kmenových buněk (Zeiser & Blazar, 2017). Při reakci HvG dochází k rozpoznání dárcovských HLA molekul T-lymfocyty pacienta, což způsobí

odmítnutí štěpu (Eyrich & Schulze, 2019). Aloreaktivita při HSCT je téměř výhradně zprostředkována T-lymfocyty, které jsou přítomny ve štěpu a jsou nově tvořeny dárcovskými kmenovými buňkami (Distler et al., 2011). B-lymfocyty jsou rekonstituovány až později po transplantaci ačkoli stále hrají důležitou roli při GvHD (Marie-Cardine et al., 2008).

Histokompatibilita HLA je jedním z nejdůležitějších kritérií při výběru nepříbuzných dárců (Fürst et al., 2019). V současné době nejdůležitějšími imunogenetickými faktory jsou klasické HLA geny (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 (Fürst et al., 2013; Horan et al., 2012; Lee et al., 2007; Marsh et al., 2010) a HLA-DPB1 (Fleischhauer et al., 2012a; Shaw et al., 2010)), o kterých pojednává tato kapitola. Těchto 6 genů na diploidním lidském genomu sčítá 12 lokusů. Dnes se považuje za plně shodnou sada dárce-příjemce jako 10/10 (bez HLA-DP) (Marsh et al., 2010).

Přítomnost neshody v HLA je spojena s vyšší mírou incidence akutní GvHD se stupněm II-IV, chronické GvHD a s celkově nižším přežitím ve srovnání s 10/10 shodnými jedinci. Zatím však není jasné, který lokus je spojen se zvýšením celkové mortality (Picardi et al., 2021). Touto problematikou se budeme zabývat dále v kapitole.

5.1 Vliv HLA-A a HLA-B

HLA-A a HLA-B vykazují nejvyšší expresi mezi molekulami HLA I. třídy (Apps et al., 2015) a všechny větší studie ukazují, že neshoda v HLA-A nebo HLA-B zvyšuje riziko mortality (Fürst et al., 2013; Kanda et al., 2013; Lee et al., 2007; Verneris et al., 2015). Typizace s vysokým rozlišením těchto genů je u HSCT povinná, protože pro jednotlivé neshody HLA-A a HLA-B byly hlášeny poměry relativního rizika v hodnotách 1,17-2,20 a 1,16-1,90 (Fürst et al., 2013; Kanda et al., 2013; Lee et al., 2007; Verneris et al., 2015), což odpovídá jednomu nebo dvěma úmrtím u 10 léčených pacientů pouze v důsledku neshody v HLA (Fürst et al., 2013; Kanda et al., 2013; Lee et al., 2007).

Jen HLA-A neshodné páry dárce-příjemce měly významně vyšší 100 denní kumulativní výskyt akutní GvHD ve srovnání se shodnými páry. Horší výsledek HSCT výrazně souvisel také s inkompatibilitou v HLA-B, při které dochází k vyššímu výskytu akutní GvHD, častější incidenci chronické GvHD a relapsu původního onemocnění. Neshoda v HLA-A a HLA-B tak způsobuje nižší celkové přežití (Picardi et al., 2021) a dárci prokazující neshody v těchto lokusech by neměli být bráni v potaz (Fürst et al., 2013; Lee et al., 2007; Verneris et al., 2015).

5.2 Vliv HLA-C

Typizace a shoda v HLA-C byly zahrnuty do strategií vyhledávání vhodných dárců poté, co bylo zjištěno, že neshoda v HLA-C sebou nese zvyšující se riziko úmrtnosti (Passweg et al., 2015). Poměry rizik při neshodě antigenů HLA-C jsou srovnatelné s riziky jakékoliv jiné HLA inkompatibility (Fürst et al., 2013; Lee et al., 2007). Výsledek transplantace může být ovlivněn výskytem tzv „permissivních neshod“ HLA-C. Tyto permissivní alely jsou postupně rozpoznávány, díky čemuž je možné segregovat neshody HLA-C s nízkým nebo žádným účinkem od inkompatibilit se závažnými účinky na výsledek HSCT (Fernandez-Viña et al., 2014).

Aloreaktivita zprostředkovaná HLA-C neshodou je ovlivňována mnoha faktory. Exprese HLA-C molekul na buněčném povrchu je závislá na genetických polymorfismech v blízkosti HLA-C genu (Apps et al., 2013; Thomas et al., 2009) a je nižší než exprese HLA-A a HLA-B (Apps et al., 2015).

Kombinace inkompatibilit HLA-C hrají klíčovou roli při snižování rizika relapsu, protože hrají roli při GvL efektu. Jelikož nepermissivní HLA-C neshody jsou silným rizikovým faktorem incidence těžké akutní GvHD, jsou při výběru dárce brány jako nebezpečné (Picardi et al., 2021).

Všechny alely HLA-C lze rozdělit do dvou skupin. Skupina 1 je charakterizována asparaginem v poloze aminokyseliny 80 a skupina 2 je charakterizována lysinem v poloze 80. Alely HLA-C skupiny 1 interagují s receptory KIR2DL2/3 a KIR2DS2/3 a alely HLA-C skupiny 2 interagují s receptory KIR2DL1 a KIR2DS1/5. Existují určité důkazy, že tyto interakce mohou ovlivňovat aloreaktivitu zprostředkovanou NK buňkami a potenciálně kontrolu relapsu (Venstrom et al., 2012).

5.3 Vliv HLA-DRB1 a HLA-DRB3/4/5

Gen HLA-DRB1 vykazuje nejvyšší polymorfismus mezi geny HLA II. třídy. Kóduje β -řetězec antigenu HLA-DR a je nejvíce exprimovaný antigen HLA II. třídy (Brooks & Moore, 1988). Neshody v genu HLA-DRB1 vykazují vysoké riziko mortality spojené s transplantací (Fürst et al., 2013; Lee et al., 2007), protože způsobují vysokou incidenci akutní GvHD (Verneris et al., 2015). Na druhou stranu vliv neshody HLA-DRB1 na vývoj chronické GvHD a relapsu zřejmě není tak silný (Fürst et al., 2013; Lee et al., 2007).

S genem HLA-DRB1 jsou úzce spojeny lokusy HLA-DRB3/4/5, které kódují antigeny HLA-DR52, HLA-DR53 a HLA-DR51 (Rollini et al., 1985). Ty jsou exprimovány na nižší

úrovni než antigeny kódované HLA-DRB1, ale jsou dobře detekovatelné serologickými metodami. (Tsamadou et al., 2021).

Geny HLA-DRB3/4/5 vykazují silnou vazebnou nerovnováhu s HLA-DRB1 a tvoří tzv. konzervované haplotypy. V rámci těchto haplotypů je přítomnost nebo nepřítomnost genu HLA-DRB3/4/5 určována genem HLA-DRB1 (Tsamadou et al., 2021). Existují data, že neshody v HLA-DRB1 mohou být dále umocňovány rozdíly v HLA-DRB3/4/5 (Detrait et al., 2015; Grubic et al., 2018). Podle studie provedené v letech 2000-2014 bylo celkové přežití recipientů výrazně lepší při transplantaci od 10/10-shodných nepříbuzných dárců, kteří byli shodní také v HLA-DRB3/4/5, ve srovnání s dárci, kteří vykazovali neshodu v HLA-DRB3/4/5 (Tsamadou et al., 2021).

5.4 Vliv HLAD-DQA1 a DQB1

Gen HLA-DQA1 kódující α -řetězec obsahuje pouze limitovaný polymorfismus, ale v posledních letech byl zařazen mezi typizované geny (Little et al., 2021). Pokud je dárcé shodný v HLA-DRB1 s pacientem neshody v HLA-DQB1 jsou celkem vzácné kvůli silné vazebné nerovnováze mezi geny DRB1 a DQB1 (Sanchez-Mazas et al., 2000). Nebylo zatím prokázáno, že by inkompatibilita v genu HLA-DQB1 výrazně ovlivňovala výsledek HSCT (Lee et al., 2007; Morishima et al., 2015). Neshody v alelách nezpůsobovaly výrazně zvýšené riziko GvHD, zatímco inkompatibility na úrovni antigenů HLA-DQ jsou rizikové, a proto je HLA-DQB1 zahrnut do typizační strategie (Little et al., 2021).

Pokud není dostupný 10/10-shodný dárcé, je nejčastěji vybrán dárcé s rozdílem právě v HLA-DQB1. Neshody v HLA-DQB1 i tak mohou zvyšovat komplikace spojené s HSCT, hlavně de novo vznikem protilátek HLA-DQB1/HLA-DQA1, které mohou vést k odmítnutí štěpu (Yabe et al., 2016).

5.5 Vliv HLA-DPB1

Neshody v HLA-DPB1 vedou ke zvýšenému riziku GvHD, ale zároveň ke snížení míry relapsu (Little et al., 2021; Shaw et al., 2006, 2007). Alely HLA-DPB1 lze seskupit podle jejich imunogenicity do tří skupin (nízká, střední a vysoká) (Zino, 2003). Tento objev vedl k vyvinutí algoritmu T-buněčného epitopu (TCE), který kategorizuje alely podle funkční a strukturální odlišnosti (Crivello et al., 2015), do tří (nebo čtyř) skupin antigenů, které vyvolávají podobnou reaktivitu T-buněk. Toto seskupení se ukázalo jako prediktivní pro výsledek HSCT (Fleischhauer et al., 2012b). Nepermissivní neshody HLA-DPB1 jsou spojeny se zvýšenou

celkovou mortalitou a vyšším rizikem incidence GvHD ve srovnání s HLA-DPB1 shodnými anebo permissivními (Pidala et al., 2014). Algoritmus T-buněčného epitopu je tak dnes používán jako jedno z kritérií při výběru, pokud není 10/10-shodný dárců k dispozici. Mezi geny HLA-DPB1 a HLA-DQB1 se nachází „rekombinační hotspot“ (Cullen et al., 1997) a kvůli tomu je téměř 80% párů shodných v HLA-DR/DQ neshodných v HLA-DPB1 (Begovich et al., 1992; Fleischhauer et al., 2012b).

6 Závěr

HLA systém hraje zásadní roli pro výsledek HSCT. Neshody v HLA antigenech mezi dárci a příjemci jsou asociovány s vyšší incidencí GvHD, relapsu onemocnění a úmrtností spojenou s transplantací.

Nové metody HLA typizace, například sekvenace druhé generace, umožňují provést důkladnou typizaci HLA genů na úrovni vysokého rozlišení, a tedy i vyhnout se nebezpečným neshodám v HLA komplexu. Navíc, tyto techniky umožňují zkrácení doby při hledání vhodného dárců v mezinárodních registrech.

Pokroky v myeloablativní terapii a následné terapii po transplantaci umožnily v posledních letech vývoj léčebných metod, jako je haploidentická transplantace. Počty těchto transplantací, oproti transplantacím používající kmenové buňky od HLA shodných nepříbuzných dárců, v posledních letech rostou a naše porozumění role HLA systému v tomto kontextu se rychle vyvíjí.

Seznam použité literatury

- Abbott, W. G. H., Tukuitonga, C. F., Ofanoa, M., Munn, S. R., & Gane, E. J. (2006). Low-cost, simultaneous, single-sequence genotyping of the HLA-A, HLA-B and HLA-C loci. *Tissue Antigens*, *68*(1), 28–37. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2006.00620.x>
- Abecasis, M., Miranda, N., Ferreira, I., Teixeira, G., Moita, F., da Costa, F. L., Gutierrez, M. J., Espadinha, C., & Esteves, S. (2020). How allogeneic hematopoietic stem cell transplantation has evolved over time: 30-years' experience at a single institution. *Acta Medica Portuguesa*, *33*(2), 116–123. <https://doi.org/10.20344/AMP.11768>
- Apps, R., Meng, Z., del Prete, G. Q., Lifson, J. D., Zhou, M., & Carrington, M. (2015). Relative Expression Levels of the HLA Class-I Proteins in Normal and HIV-Infected Cells. *The Journal of Immunology*, *194*(8), 3594–3600. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1403234>
- Apps, R., Qi, Y., Carlson, J. M., Chen, H., Gao, X., Thomas, R., Yuki, Y., del Prete, G. Q., Goulder, P., Brumme, Z. L., Brumme, C. J., John, M., Mallal, S., Nelson, G., Bosch, R., Heckerman, D., Stein, J. L., Soderberg, K. A., Moody, M. A., ... Carrington, M. (2013). Influence of HLA-C Expression Level on HIV Control. *Science*, *340*(6128), 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.1232685>
- Auletta, J., Kou, J., Chen, M., & Shaw, B. E. (2021). Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR US summary slides, 2021. <Http://Www.Cibmtr.Org>.
- Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Giral, S., Lazarus, H., Ho, V., Apperley, J., Slavin, S., Pasquini, M., Sandmaier, B. M., Barrett, J., Blaise, D., Lowski, R., & Horowitz, M. (2009). Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *15*(12), 1628–1633. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.07.004>
- Bagwe, S. M., Kale, P. P., Bhatt, L. K., & Prabhavalkar, K. S. (2017). Herbal approach in the treatment of pancytopenia. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, *14*(1). <https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0053>
- Balassa, K., Danby, R., & Rocha, V. (2019). Haematopoietic stem cell transplants: Principles and indications. *British Journal of Hospital Medicine*, *80*(1), 33–39. https://doi.org/10.12968/HMED.2019.80.1.33/ASSET/IMAGES/LARGE/HMED.2019.80.1.33_F01.JPEG
- Bazinet, A., & Popradi, G. (2019). A General Practitioner's Guide to Hematopoietic Stem-cell Transplantation. *Current Oncology*, *26*(3), 187–191. <https://doi.org/10.3747/co.26.5033>
- Begovich, A. B., McClure, G. R., Suraj, V. C., Helmuth, R. C., Fildes, N., Bugawan, T. L., Erlich, H. A., & Klitz, W. (1992). Polymorphism, recombination, and linkage disequilibrium within the HLA class II region. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *148*(1), 249–258.

- Bessoles, S., Grandclément, C., Alari-Pahissa, E., Gehrig, J., Jeevan-Raj, B., & Held, W. (2014). Adaptations of Natural Killer Cells to Self-MHC Class I. *Frontiers in Immunology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00349>
- Bittencourt, M. C. B., & Ciurea, S. O. (2020). Recent Advances in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 26(9), 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2020.06.007>
- Brooks, C. F., & Moore, M. (1988). Differential MHC class II expression on human peripheral blood monocytes and dendritic cells. *Immunology*, 63, 303–311.
- Brown, J. H., Jardetzky, T. S., Gorga, J. C., Stern, L. J., Urban, R. G., Strominger, J. L., & Wiley, D. C. (1993). Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature*, 364(6432), 33–39. <https://doi.org/10.1038/364033a0>
- Bunce, M., Fanning, G. C., & Welsh, K. I. (1995). Comprehensive, serologically equivalent DNA typing for HLA-B by PCR using sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens*, 45(2), 81–90. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1995.tb02422.x>
- Chicz, R. M., Urban, R. G., Lane, W. S., Gorga, J. C., Stern, L. J., Vignali, D. A. A., & Strominger, J. L. (1992). Predominant naturally processed peptides bound to HLA-DR1 are derived from MHC-related molecules and are heterogeneous in size. *Nature*, 358(6389), 764–768. <https://doi.org/10.1038/358764a0>
- Ciurea, S. O., Mulanovich, V., Saliba, R. M., Bayraktar, U. D., Jiang, Y., Bassett, R., Wang, S. A., Konopleva, M., Fernandez-Vina, M., Montes, N., Bosque, D., Chen, J., Rondon, G., Alatrash, G., Alousi, A., Bashir, Q., Korbling, M., Qazilbash, M., Parmar, S., ... Champlin, R. E. (2012). Improved Early Outcomes Using a T Cell Replete Graft Compared with T Cell Depleted Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 18(12), 1835–1844. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2012.07.003>
- Crivello, P., Zito, L., Sizzano, F., Zino, E., Maiers, M., Mulder, A., Toffalori, C., Naldini, L., Ciceri, F., Vago, L., & Fleischhauer, K. (2015). The Impact of Amino Acid Variability on Alloreactivity Defines a Functional Distance Predictive of Permissive HLA-DPB1 Mismatches in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 21(2), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.10.017>
- Cullen, M., Noble, J., Erlich, H., Thorpe, K., Beck, S., Klitz, W., Trowsdale, J., & Carrington, M. (1997). Characterization of recombination in the HLA class II region. *American Journal of Human Genetics*, 60(2), 397–407.
- Dalle, J.-H., & de Latour, R. P. (2016). Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes. *International Journal of Hematology*, 103(4), 373–379. <https://doi.org/10.1007/s12185-016-1951-0>
- de Groot, N. G., Blokhuis, J. H., Otting, N., Doxiadis, G. G. M., & Bontrop, R. E. (2015, September 18). Co-evolution of the MHC class I and KIR gene families in rhesus macaques: ancestry and plasticity. *Immunological Reviews*, 228–245. <https://doi.org/10.1111/imr.12313>

- de Groot, N. G., Heijmans, C. M. C., van der Wiel, M. K. H., Blokhuis, J. H., Mulder, A., Guethlein, L. A., Doxiadis, G. G. M., Claas, F. H. J., Parham, P., & Bontrop, R. E. (2016). Complex MHC Class I Gene Transcription Profiles and Their Functional Impact in Orangutans. *The Journal of Immunology*, *196*(2), 750–758. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500820>
- Degos, L. (2009). Jean Dausset a scientific pioneer: intuition and creativity for the patients (1916-2009). *Haematologica*, *94*(9), 1331–1332. <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.014126>
- Detrait, M., Morisset, S., Chalandon, Y., Yakoub-Agha, I., Dufossé, F., Labalette, M., Top, I., Elsermans, V., Barraco, F., Quintela, A., Tedone, N., Michallet, M., Raus, N., Tiercy, J.-M., & Dubois, V. (2015). Suggestive evidence of a role of HLA-DRB4 mismatches in the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with HLA-10/10-matched unrelated donors: a French–Swiss retrospective study. *Bone Marrow Transplantation*, *50*(10), 1316–1320. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.157>
- Distler, E., Bloetz, A., Albrecht, J., Asdufan, S., Hohberger, A., Frey, M., Schnurer, E., Thomas, S., Theobald, M., Hartwig, U. F., & Herr, W. (2011). Alloreactive and leukemia-reactive T cells are preferentially derived from naive precursors in healthy donors: implications for immunotherapy with memory T cells. *Haematologica*, *96*(7), 1024–1032. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.037481>
- Doherty, P. C., & Zinkernagel, R. M. (1975). A biological role for the major histocompatibility antigens. *The Lancet*, *305*(7922), 1406–1409. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(75\)92610-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(75)92610-0)
- Elliott, T., Cerundolo, V., Elvin, J., & Townsend, A. (1991). Peptide-induced conformational change of the class I heavy chain. *Nature*, *351*(6325), 402–406. <https://doi.org/10.1038/351402a0>
- Elsner, H.-A., & Blasczyk, R. (2004). Immunogenetics of HLA null alleles: implications for blood stem cell transplantation. *Tissue Antigens*, *64*(6), 687–695. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00322.x>
- Eyrich, M., & Schulze, H. (2019). HLA Matching in Pediatric Stem Cell Transplantation. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *46*(5), 348. <https://doi.org/10.1159/000502422>
- Fernandez-Viña, M. A., Wang, T., Lee, S. J., Haagenon, M., Aljurf, M., Askar, M., Battiwalla, M., Baxter-Lowe, L.-A., Gajewski, J., Jakubowski, A. A., Marino, S., Oudshoorn, M., Marsh, S. G. E., Petersdorf, E. W., Schultz, K., Turner, E. V., Waller, E. K., Woolfrey, A., Umejiego, J., ... Setterholm, M. (2014). Identification of a permissible HLA mismatch in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, *123*(8), 1270–1278. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-532671>
- Flajnik, M. F. (2014). Re-evaluation of the immunological big bang. In *Current Biology* (Vol. 24, Issue 21, pp. R1060–R1065). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.070>
- Fleischhauer, K. (2019). Selection of matched unrelated donors moving forward: from HLA allele counting to functional matching. *Hematology: The American Society of*

Hematology Education Program, 2019(1), 532.

<https://doi.org/10.1182/HEMATOLOGY.2019000057>

- Fleischhauer, K., Shaw, B. E., Gooley, T., Malkki, M., Bardy, P., Bignon, J.-D., Dubois, V., Horowitz, M. M., Madrigal, J. A., Morishima, Y., Oudshoorn, M., Ringden, O., Spellman, S., Velardi, A., Zino, E., & Petersdorf, E. W. (2012a). Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *The Lancet Oncology*, 13(4), 366–374. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70004-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70004-9)
- Fleischhauer, K., Shaw, B. E., Gooley, T., Malkki, M., Bardy, P., Bignon, J.-D., Dubois, V., Horowitz, M. M., Madrigal, J. A., Morishima, Y., Oudshoorn, M., Ringden, O., Spellman, S., Velardi, A., Zino, E., & Petersdorf, E. W. (2012b). Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *The Lancet Oncology*, 13(4), 366–374. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70004-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70004-9)
- Fung, M. K., & Benson, K. (2015). Using HLA Typing to Support Patients with Cancer. *Cancer Control*, 22(1), 79–86. <https://doi.org/10.1177/107327481502200110>
- Fürst, D., Müller, C., Vucinic, V., Bunjes, D., Herr, W., Gramatzki, M., Schwerdtfeger, R., Arnold, R., Einsele, H., Wulf, G., Pfreundschuh, M., Glass, B., Schrezenmeier, H., Schwarz, K., & Mytilineos, J. (2013). High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood*, 122(18), 3220–3229. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-02-482547>
- Fürst, D., Neuchel, C., Tsamadou, C., Schrezenmeier, H., & Mytilineos, J. (2019). HLA Matching in Unrelated Stem Cell Transplantation up to Date. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 46(5), 326. <https://doi.org/10.1159/000502263>
- Gandhi, M. J., Ferriola, D., Huang, Y., Duke, J. L., & Monos, D. (2017). Targeted Next-Generation Sequencing for Human Leukocyte Antigen Typing in a Clinical Laboratory: Metrics of Relevance and Considerations for Its Successful Implementation. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 141(6), 806–812. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0537-RA>
- Geraghty, D. E., Koller, B. H., Orr, H. T., & Amos, D. B. (1987). A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. In *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (Vol. 84). <https://doi.org/10.1073/pnas.84.24.9145>
- Gluckman, E., Cappelli, B., Bernaudin, F., Labopin, M., Volt, F., Carreras, J., Pinto Simões, B., Ferster, A., Dupont, S., de la Fuente, J., Dalle, J.-H., Zecca, M., Walters, M. C., Krishnamurti, L., Bhatia, M., Leung, K., Yanik, G., Kurtzberg, J., Dhedin, N., ... Eapen, M. (2017). Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 129(11), 1548–1556. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-10-745711>
- Gragert, L., Eapen, M., Williams, E., Freeman, J., Spellman, S., Baitty, R., Hartzman, R., Rizzo, J. D., Horowitz, M., Confer, D., & Maiers, M. (2014). HLA Match Likelihoods

- for Hematopoietic Stem-Cell Grafts in the U.S. Registry. *New England Journal of Medicine*, 371(4), 339–348. <https://doi.org/10.1056/NEJMsa1311707>
- Grubic, Z., Maskalan, M., Radmanic, L., Stingl Jankovic, K., Burek Kamenaric, M., & Zunec, R. (2018). The distribution of the DRB4*01:03:01:02N null allele in HLA-DRB1~DQB1 haplotypes in the Croatian population. *HLA*, 91(1), 23–28. <https://doi.org/10.1111/tan.13178>
- Horan, J., Wang, T., Haagenson, M., Spellman, S. R., Dehn, J., Eapen, M., Frangoul, H., Gupta, V., Hale, G. A., Hurley, C. K., Marino, S., Oudshoorn, M., Reddy, V., Shaw, P., Lee, S. J., & Woolfrey, A. (2012). Evaluation of HLA matching in unrelated hematopoietic stem cell transplantation for nonmalignant disorders. *Blood*, 120(14), 2918–2924. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-417758>
- Hořejší Václav, Bartůňková Jiřina, Brdička Tomáš, & Špíšek Radek. (2017a). *Základy imunologie* (Juhaňák Stanislav, Ed.; 6th ed., pp. 74–75). TRITON.
- Hořejší Václav, Bartůňková Jiřina, Brdička Tomáš, & Špíšek Radek. (2017b). *Základy imunologie* (Juhaňák Stanislav, Ed.; 6th ed., pp. 82–83). TRITON.
- Hořejší Václav, Bartůňková Jiřina, Brdička Tomáš, & Špíšek Radek. (2017c). *Základy imunologie* (Juhaňák Stanislav, Ed.; 6th ed., pp. 78–78). TRITON.
- Horowitz, M. M., Gale, R. P., Sondel, P. M., Goldman, J. M., Kersey, J., Kolb, H. J., Rimm, A. A., Ringdén, O., Rozman, C., & Speck, B. (1990). Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, 75(3), 555–562.
- Horton, R., Gibson, R., Coggill, P., Miretti, M., Allcock, R. J., Almeida, J., Forbes, S., Gilbert, J. G. R., Halls, K., Harrow, J. L., Hart, E., Howe, K., Jackson, D. K., Palmer, S., Roberts, A. N., Sims, S., Stewart, C. A., Traherne, J. A., Trevanion, S., ... Beck, S. (2008). Variation analysis and gene annotation of eight MHC haplotypes: The MHC Haplotype Project. *Immunogenetics*, 60(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00251-007-0262-2>
- Hosomichi, K., Shiina, T., Tajima, A., & Inoue, I. (2015). The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *Journal of Human Genetics*, 60(11), 665–673. <https://doi.org/10.1038/jhg.2015.102>
- Howell, W. M., Carter, V., & Clark, B. (2010). The HLA system: Immunobiology, HLA typing, antibody screening and crossmatching techniques. In *Journal of Clinical Pathology* (Vol. 63, Issue 5, pp. 387–390). <https://doi.org/10.1136/jcp.2009.072371>
- Itoh, Y., Mizuki, N., Shimada, T., Azuma, F., Itakura, M., Kashiwase, K., Kikkawa, E., Kulski, J. K., Satake, M., & Inoko, H. (2005). High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR–SSOP–Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics*, 57(10), 717–729. <https://doi.org/10.1007/s00251-005-0048-3>
- Jongsma, M. L. M., Guarda, G., & Spaapen, R. M. (2019). The regulatory network behind MHC class I expression. *Molecular Immunology*, 113, 16–21. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2017.12.005>

- Jorge, A. S., Suárez-Lledó, M., Pereira, A., Gutierrez, G., Fernández-Avilés, F., Rosiñol, L., Llobet, N., Solano, T., Urbano-Ispizua, Á., Rovira, M., & Martínez, C. (2018). Single Antigen–Mismatched Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using High-Dose Post-Transplantation Cyclophosphamide Is a Suitable Alternative for Patients Lacking HLA-Matched Donors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *24*(6), 1196–1202. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.01.021>
- Kanda, Y., Kanda, J., Atsuta, Y., Maeda, Y., Ichinohe, T., Ohashi, K., Fukuda, T., Miyamura, K., Iida, H., Mori, T., Iwato, K., Eto, T., Kawa, K., Morita, S., & Morishima, Y. (2013). Impact of a single human leucocyte antigen (HLA) allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow. *British Journal of Haematology*, *161*(4), 566–577. <https://doi.org/10.1111/bjh.12279>
- Kaufman, J. F., Auffray, C., Korman, A. J., Shackelford, D. A., & Strominger, J. (1984). The Class II Molecules of the Review Human and Murine Major Histocompatibility Complex. In *Cell* (Vol. 36).
- Kishore, A., & Petrek, M. (2018). Next-Generation Sequencing Based HLA Typing: Deciphering Immunogenetic Aspects of Sarcoidosis. *Frontiers in Genetics*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00503>
- Klein, J. (1986). Seeds of Time: Fifty Years Ago Peter A. Gorer Discovered the H-2 Complex. In *Immunogenetics* (Vol. 24).
- Krivit, W. (1995). Microglia: The effector cell for reconstitution of the central nervous system following bone marrow transplantation for lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Cell Transplantation*, *4*(4), 385–392. [https://doi.org/10.1016/0963-6897\(95\)00021-O](https://doi.org/10.1016/0963-6897(95)00021-O)
- Kröger, N., Zabelina, T., Binder, T., Ayuk, F., Bacher, U., Amtsfeld, G., Lellek, H., Schrum, J., Erttmann, R., Eiermann, T., & Zander, A. (2009). HLA-Mismatched Unrelated Donors as an Alternative Graft Source for Allogeneic Stem Cell Transplantation after Antithymocyte Globulin-Containing Conditioning Regimen. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *15*(4), 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.01.002>
- Lee, S. J., Klein, J., Haagenon, M., Baxter-Lowe, L. A., Confer, D. L., Eapen, M., Fernandez-Vina, M., Flomenberg, N., Horowitz, M., Hurley, C. K., Noreen, H., Oudshoorn, M., Petersdorf, E., Setterholm, M., Spellman, S., Weisdorf, D., Williams, T. M., & Anasetti, C. (2007). High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*, *110*(13), 4576–4583. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-097386>
- Little, A., Akbarzad-Yousefi, A., Anand, A., Diaz Burlinson, N., Dunn, P. P. J., Evseeva, I., Latham, K., Poulton, K., Railton, D., Vivers, S., & Wright, P. A. (2021). BSHI guideline: HLA matching and donor selection for haematopoietic progenitor cell transplantation. *International Journal of Immunogenetics*, *48*(2), 75–109. <https://doi.org/10.1111/iji.12527>
- Marie-Cardine, A., Divay, F., Dutot, I., Green, A., Perdrix, A., Boyer, O., Contentin, N., Tilly, H., Tron, F., Vannier, J.-P., & Jacquot, S. (2008). Transitional B cells in humans: Characterization and insight from B lymphocyte reconstitution after hematopoietic stem

- cell transplantation. *Clinical Immunology*, 127(1), 14–25.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2007.11.013>
- Marsh, S. G. E., Albert, E. D., Bodmer, W. F., Bontrop, R. E., Dupont, B., Erlich, H. A., Fernández-Viña, M., Geraghty, D. E., Holdsworth, R., Hurley, C. K., Lau, M., Lee, K. W., Mach, B., Maiers, M., Mayr, W. R., Müller, C. R., Parham, P., Petersdorf, E. W., Sasazuki, T., ... Trowsdale, J. (2010). Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens*, 75(4), 291–455. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x>
- Matsumura, M., Fremont, D. H., Peterson, P. A., & Wilson, Ian A. (1992). Emerging Principles for the Recognition of Peptide Antigens by MHC Class I Molecules. *Science*, 257(5072), 927–934. <https://doi.org/10.1126/science.1323878>
- Mayor, N. P., Hayhurst, J. D., Turner, T. R., Szydlo, R. M., Shaw, B. E., Bultitude, W. P., Sayno, J.-R., Tavarozzi, F., Latham, K., Anthias, C., Robinson, J., Braund, H., Danby, R., Perry, J., Wilson, M. C., Bloor, A. J., McQuaker, I. G., MacKinnon, S., Marks, D. I., ... Marsh, S. G. E. (2019). Recipients Receiving Better HLA-Matched Hematopoietic Cell Transplantation Grafts, Uncovered by a Novel HLA Typing Method, Have Superior Survival: A Retrospective Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 25(3), 443–450. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.12.768>
- Michallet, M., Sobh, M., Serrier, C., Morisset, S., Labussière, H., Ducastelle, S., Barraco, F., Gilis, L., Thomas, X., & Nicolini, F. E. (2015). Allogeneic hematopoietic stem cell transplant for hematological malignancies from mismatched 9/10 human leukocyte antigen unrelated donors: comparison with transplants from 10/10 unrelated donors and human leukocyte antigen identical siblings. *Leukemia & Lymphoma*, 56(4), 999–1003. <https://doi.org/10.3109/10428194.2014.944518>
- Miller, J. P., Perry, E. H., Price, T. H., Bolan, C. D., Karanes, C., Boyd, T. M., Chitphakdithai, P., & King, R. J. (2008). Recovery and Safety Profiles of Marrow and PBSC Donors: Experience of the National Marrow Donor Program. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 14(9), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.05.018>
- Mittal, K. K., Mickey, M. R., Singal, D. P., & Terasaki, P. I. (1968). Serotyping for homotransplantation. 18. Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. *Transplantation*, 6(8), 913–927. <https://doi.org/10.1097/00007890-196811000-00006>
- Moore, B. B., Moore, T. A., & Toews, G. B. (2001). Role of T- and B-lymphocytes in pulmonary host defences. *European Respiratory Journal*, 18(5), 846–856. <https://doi.org/10.1183/09031936.01.00229001>
- Moreso, F., Crespo, M., Ruiz, J. C., Torres, A., Gutierrez-Dalmau, A., Osuna, A., Perelló, M., Pascual, J., Torres, I. B., Redondo-Pachón, D., Rodrigo, E., Lopez-Hoyos, M., & Seron, D. (2018). Treatment of chronic antibody mediated rejection with intravenous immunoglobulins and rituximab: A multicenter, prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Am J Transplant*, 18. <https://doi.org/10.1111/ajt.14520>
- Morishima, Y., Kashiwase, K., Matsuo, K., Azuma, F., Morishima, S., Onizuka, M., Yabe, T., Murata, M., Doki, N., Eto, T., Mori, T., Miyamura, K., Sao, H., Ichinohe, T., Saji, H., Kato, S., Atsuta, Y., Kawa, K., Kodera, Y., & Sasazuki, T. (2015). Biological

- significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. *Blood*, 125(7), 1189–1197. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-10-604785>
- Mungall, A. J., Palmer, S. A., Sims, S. K., Edwards, C. A., Ashurst, J. L., Wilming, L., Jones, M. C., Horton, R., Hunt, S. E., Scott, C. E., Gilbert, J. G. R., Clamp, M. E., Bethel, G., Milne, S., Ainscough, R., Almeida, J. P., Ambrose, K. D., Andrews, T. D., Ashwell, R. I. S., ... Beck, S. (2003). The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature*, 425(6960), 805–811. <https://doi.org/10.1038/nature02055>
- Nakamura, T., Shirouzu, T., Nakata, K., Yoshimura, N., & Ushigome, H. (2019). The role of major histocompatibility complex in organ transplantation- donor specific anti-major histocompatibility complex antibodies analysis goes to the next stage. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184544>
- Natarajan, K., Li, H., Mariuzza, R. A., & Margulies, D. H. (1999). MHC class I molecules, structure and function. *Reviews in Immunogenetics*, 1(1), 32–46.
- Nunes, E., Heslop, H., Fernandez-Vina, M., Taves, C., Wagenknecht, D. R., Eisenbrey, A. B., Fischer, G., Poulton, K., Wacker, K., Hurley, C. K., Noreen, H., & Sacchi, N. (2011). Definitions of histocompatibility typing terms. *Blood*, 118(23), e180–e183. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-353490>
- O’Garra, A. (1998). Cytokines Induce the Development of Functionally Heterogeneous T Helper Cell Subsets. *Immunity*, 8(3), 275–283. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80533-6](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80533-6)
- Parham, P., Lomen, C. E., Lawlor, D. A., Ways, J. P., Holmes, N., Coppin, H. L., Salter, R. D., Wan, A. M., & Ennis, P. D. (1988). Nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(11), 4005–4009. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.11.4005>
- Passweg, J. R., Baldomero, H., Chabannon, C., Basak, G. W., de la Cámara, R., Corbacioglu, S., Dolstra, H., Duarte, R., Glass, B., Greco, R., Lankester, A. C., Mohty, M., Peffault de Latour, R., Snowden, J. A., Yakoub-Agha, I., & Kröger, N. (2021). Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplantation* 2021 56:7, 56(7), 1651–1664. <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01227-8>
- Passweg, J. R., Baldomero, H., Chabannon, C., Corbacioglu, S., de la Cámara, R., Dolstra, H., Glass, B., Greco, R., Mohty, M., Neven, B., Peffault de Latour, R., Perić, Z., Snowden, J. A., Yakoub-Agha, I., Sureda, A., & Kröger, N. (2022). Impact of the SARS-CoV-2 pandemic on hematopoietic cell transplantation and cellular therapies in Europe 2020: a report from the EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplantation*. <https://doi.org/10.1038/s41409-022-01604-x>
- Passweg, J. R., Schanz, U., Chalandon, Y., Güngör, T., Baldomero, H., Heim, D., Nair, G., Medinger, M., Masouridi-Levrat, S., de Faveri, G. N., & Tiercy, J.-M. (2015). High-resolution HLA matching in unrelated donor transplantation in Switzerland: differential impact of class I and class II mismatches may reflect selection of nonimmunogenic or weakly immunogenic DRB1/DQB1 disparities. *Bone Marrow Transplantation*, 50(9), 1201–1205. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.129>

- Peinemann, F., Grouven, U., Kröger, N., Bartel, C., Pittler, M. H., & Lange, S. (2011). First-Line Matched Related Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation Compared to Immunosuppressive Therapy in Acquired Severe Aplastic Anemia. *PLoS ONE*, *6*(4), e18572. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018572>
- Petersdorf, E. W. (2013). Genetics of graft-versus-host disease: The major histocompatibility complex. *Blood Reviews*, *27*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2012.10.001>
- Picardi, A., Sacchi, N., Miotti, V., Lorentino, F., Oldani, E., Rambaldi, A., Sessa, M., Bruno, B., Cerno, M., Vago, L., Bernasconi, P., Arcese, W., Benedetti, F., Pioltelli, P., Russo, D., Farina, L., Fagioli, F., Guidi, S., Saporiti, G., ... Bonifazi, F. (2021). Allelic HLA Matching and Pair Origin Are Favorable Prognostic Factors for Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Neoplastic Hematologic Diseases: An Italian Analysis by the Gruppo Italiano Trapianto di Cellule Staminali e Terapie Cellulari, Italian Bone Marrow Donor Registry, and Associazione Italiana di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti. *Transplantation and Cellular Therapy*, *27*(5), 406.e1-406.e11. <https://doi.org/10.1016/J.JTCT.2020.11.021>
- Pidala, J., Lee, S. J., Ahn, K. W., Spellman, S., Wang, H.-L., Aljurf, M., Askar, M., Dehn, J., Fernandez Viña, M., Gratwohl, A., Gupta, V., Hanna, R., Horowitz, M. M., Hurley, C. K., Inamoto, Y., Kassim, A. A., Nishihori, T., Mueller, C., Oudshoorn, M., ... Anasetti, C. (2014). Nonpermissive HLA-DPB1 mismatch increases mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, *124*(16), 2596–2606. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-576041>
- Ploegh, H. L., Orr, H. T., & Strominger, J. L. (1981). Major histocompatibility antigens: The human (HLA-A,-B,-C) and murine (H-2K, H-2D) class I molecules. *Cell*, *24*(2), 287–299. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90318-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90318-4)
- Pos, W., Sethi, D. K., Call, M. J., Schulze, M. S. E. D., Anders, A. K., Pyrdol, J., & Wucherpennig, K. W. (2012). Crystal Structure of the HLA-DM - HLA-DR1 Complex Defines Mechanisms for Rapid Peptide Selection. *Cell*, *151*(7), 1557. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.11.025>
- Rached, L. A., McDermott, M. F., & Pontarotti, P. (1999). The MHC Big Bang. *Immunological Reviews*, *167*(1), 33–45. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1999.tb01380.x>
- Rich R. Robert, Fleisher A. Thomas, Shearer T. William, Schroeder W. Harry, Jr., Frew J. Anthony, & Weyand M. Cornelia. (2019). *Clinical Immunology: Principles and Practise* (5th ed.). Elsevier.
- Roche, P. A., & Cresswell, P. (1990). Invariant chain association with HLA-DR molecules inhibits immunogenic peptide binding. *Nature*, *345*(6276), 615–618. <https://doi.org/10.1038/345615a0>
- Rollini, P., Mach, B., & Gorski, J. (1985). Linkage map of three HLA-DR beta-chain genes: evidence for a recent duplication event. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *82*(21), 7197–7201. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.21.7197>

- Sadegh-Nasseri, S., & Kim, A. (2015). Exogenous antigens bind MHC class II first, and are processed by cathepsins later. *Molecular Immunology*, *68*(2), 81–84. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.07.018>
- Sanchez-Mazas, A., Djoulah, S., Busson, M., le Monnier de Gouville, I., Poirier, J.-C., Dehay, C., Charron, D., Excoffier, L., Schneider, S., Langaney, A., Dausset, J., & Hors, J. (2000). A linkage disequilibrium map of the MHC region based on the analysis of 14 loci haplotypes in 50 French families. *European Journal of Human Genetics*, *8*(1), 33–41. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200391>
- Schmitz, N., Eapen, M., Horowitz, M. M., Zhang, M.-J., Klein, J. P., Rizzo, J. D., Loberiza, F. R., Gratwohl, A., & Champlin, R. E. (2006). Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood or bone marrow: a report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*, *108*(13), 4288–4290. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-024042>
- Shaw, B. E., Gooley, T. A., Malkki, M., Madrigal, J. A., Begovich, A. B., Horowitz, M. M., Gratwohl, A., Ringdén, O., Marsh, S. G. E., & Petersdorf, E. W. (2007). The importance of HLA-DPB1 in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood*, *110*(13), 4560–4566. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-095265>
- Shaw, B. E., Marsh, S. G. E., Mayor, N. P., Russell, N. H., & Madrigal, J. A. (2006). HLA-DPB1 matching status has significant implications for recipients of unrelated donor stem cell transplants. *Blood*, *107*(3), 1220–1226. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-08-3121>
- Shaw, B. E., Mayor, N. P., Russell, N. H., Apperley, J. F., Clark, R. E., Cornish, J., Darbyshire, P., Ethell, M. E., Goldman, J. M., Little, A.-M., Mackinnon, S., Marks, D. I., Pagliuca, A., Thomson, K., Marsh, S. G. E., & Madrigal, J. A. (2010). Diverging effects of HLA-DPB1 matching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. *Leukemia*, *24*(1), 58–65. <https://doi.org/10.1038/leu.2009.239>
- Sher, A., & Coffman, R. L. (1992). Regulation of Immunity to Parasites by T Cells and T Cell-Derived Cytokines. *Annual Review of Immunology*, *10*(1), 385–409. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.10.040192.002125>
- Shiina, T., Hosomichi, K., Inoko, H., & Kulski, J. K. (2009). The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *Journal of Human Genetics*, *54*, 15–39. <https://doi.org/10.1038/jhg.2008.5>
- Slavčev, A. (2019). Hlavní histokompatibilní komplex u člověka (HLA) – diagnostika a význam pro transplantace orgánů. *Postgraduální Medicína*, *21*(4), 277–281. www.postgradmed.cz
- Slavčev, A., & Stríž, I. (2001). Hlavní histokompatibilní komplex u člověka a autoimunitní onemocnění. *Alergie*, *3*(1), 40–43.
- Snell, G. D. (1978). T Cells, T Cell Recognition Structures, and the Major Histocompatibility Complex. *Immunological Reviews*, *38*(1), 3–69. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1978.tb00384.x>

- Spellman, S., Setterholm, M., Maiers, M., Noreen, H., Oudshoorn, M., Fernandez-Viña, M., Petersdorf, E., Bray, R., Hartzman, R. J., Ng, J., & Hurley, C. K. (2008). Advances in the Selection of HLA-Compatible Donors: Refinements in HLA Typing and Matching over the First 20 Years of the National Marrow Donor Program Registry. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *14*(9), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.05.001>
- Sureda, A., Bader, P., Cesaro, S., Dreger, P., Duarte, R. F., Dufour, C., Falkenburg, J. H. F., Farge-Bancel, D., Gennery, A., Kröger, N., Lanza, F., Marsh, J. C., Nagler, A., Peters, C., Velardi, A., Mohty, M., & Madrigal, A. (2015). Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplantation*, *50*(8), 1037–1056. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.6>
- Terasaki, P. I., & McClelland, J. D. (1964). Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins. *Nature*, *204*(4962), 998–1000. <https://doi.org/10.1038/204998b0>
- Thomas, R., Apps, R., Qi, Y., Gao, X., Male, V., O’huigin, C., O’Connor, G., Ge, D., Fellay, J., Martin, J. N., Margolick, J., Goedert, J. J., Buchbinder, S., Kirk, G. D., Martin, M. P., Telenti, A., Deeks, S. G., Walker, B. D., Goldstein, D., ... Carrington, M. (2009). HLA-C cell surface expression and control of HIV/AIDS correlate with a variant upstream of HLA-C. *Nature Genetics*, *41*(12), 1290–1294. <https://doi.org/10.1038/ng.486>
- Tiercy, J.-M. (2016). How to select the best available related or unrelated donor of hematopoietic stem cells? *Haematologica*, *101*(6), 680–687. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.141119>
- Tomblyn, M., Chiller, T., Einsele, H., Gress, R., Sepkowitz, K., Storek, J., Wingard, J. R., Young, J.-A. H., & Boeckh, M. A. (2009). Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: A Global Perspective. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *15*(10), 1143–1238. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.06.019>
- Tsamadou, C., Engelhardt, D., Platzbecker, U., Sala, E., Valerius, T., Wagner-Drouet, E., Wulf, G., Kröger, N., Murawski, N., Einsele, H., Schaefer-Eckart, K., Freitag, S., Casper, J., Kaufmann, M., Dürholt, M., Hertenstein, B., Klein, S., Ringhoffer, M., Frank, S., ... Fuerst, D. (2021). HLA-DRB3/4/5 Matching Improves Outcome of Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Frontiers in Immunology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.771449/FULL>
- Venstrom, J. M., Pittari, G., Gooley, T. A., Chewning, J. H., Spellman, S., Haagenson, M., Gallagher, M. M., Malkki, M., Petersdorf, E., Dupont, B., & Hsu, K. C. (2012). HLA-C–Dependent Prevention of Leukemia Relapse by Donor Activating KIR2DS1. *New England Journal of Medicine*, *367*(9), 805–816. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200503>
- Verneris, M. R., Lee, S. J., Ahn, K. W., Wang, H.-L., Battiwalla, M., Inamoto, Y., Fernandez-Vina, M. A., Gajewski, J., Pidala, J., Munker, R., Aljurf, M., Saber, W., Spellman, S., & Koreth, J. (2015). HLA Mismatch Is Associated with Worse Outcomes after Unrelated Donor Reduced-Intensity Conditioning Hematopoietic Cell Transplantation: An Analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biology of*

- Blood and Marrow Transplantation*, 21(10), 1783–1789.
<https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.05.028>
- Wahlstrom, J. T., Dvorak, C. C., & Cowan, M. J. (2015). Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Severe Combined Immunodeficiency. *Current Pediatrics Reports*, 3(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s40124-014-0071-7>
- Weiden, P. L., Flournoy, N., Thomas, E. D., Prentice, R., Fefer, A., Buckner, C. D., & Storb, R. (1979). Antileukemic Effect of Graft-versus-Host Disease in Human Recipients of Allogeneic-Marrow Grafts. *New England Journal of Medicine*, 300(19), 1068–1073. <https://doi.org/10.1056/NEJM197905103001902>
- Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J., Álvaro-Benito, M., Stolzenberg, S., Noé, F., & Freund, C. (2017). Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology*, 8(MAR). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00292>
- Wittig, M., Anmarkrud, J. A., Kassens, J. C., Koch, S., Forster, M., Ellinghaus, E., Hov, J. R., Sauer, S., Schimpler, M., Ziemann, M., Gorg, S., Jacob, F., Karlsen, T. H., & Franke, A. (2015). Development of a high-resolution NGS-based HLA-typing and analysis pipeline. *Nucleic Acids Research*, 43(11), e70–e70. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv184>
- Wright, C. A., Kozik, P., Zacharias, M., & Springer, S. (2004). Tapasin and other chaperones: models of the MHC class I loading complex. *Biological Chemistry*, 385(9). <https://doi.org/10.1515/BC.2004.100>
- Yabe, H., Morimoto, T., Takakura, H., Okuya, M., Ikegaya, R., Kato, S., Sugimoto, T., Tsuchida, F., Murakami, M., Mochizuki, H., & Yabe, M. (2016). Post-transplantation-emerging anti-HLA DQA1/DQB1 antibody possibly responsible for graft rejection after myeloablative-unrelated marrow grafting. *Bone Marrow Transplantation*, 51(4), 601–603. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.292>
- Zeiser, R., & Blazar, B. R. (2017). Acute Graft-versus-Host Disease Biology, Prevention and Therapy HHS Public Access. *N Engl J Med*, 377(22), 2167–2179. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1609337>
- Zino, E. (2003). A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood*, 103(4), 1417–1424. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-04-1279>