14. BÖLÜM / CHAPTER 14

ALLOJENEİK HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE DONÖRÜ SEÇİMİNDE DPB1 T-HÜCRE EPİTOP ALGORİTMALARI

DPB1 T-CELL EPITOPE ALGORITHMS FOR SELECTION OF ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL DONOR

Demet KIVANÇ*, Hayriye ŞENTÜRK ÇİFTÇİ, S. Rüştü OĞUZ***, Fatma SAVRAN OĞUZ******

*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, HLA Laboratuvarı, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Bölümü
E-mail: demet.kivanc@istanbul.edu.tr

**İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, HLA Laboratuvarı
E-mail: hayriye.senturk@istanbul.edu.tr

***Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
E-mail: rusduoguz@gmail.com

****İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, HLA Laboratuvarı
E-mail:oguzsf@istanbul.edu.tr

DOI: 10.26650/B/ET07.2022.014

ÖZ

İnsan Lökosit Antijeni (HLA) ekspresyon seviyelerinin, UTR bölgelerindeki (untranslated region) tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tarafından genetik olarak kontrol edildiği düşünülmekte olup, ekspresyon varyantları hematopoietik kök hücre nakli (HKHN) başarısı ile ilişkilendirilmiştir. Akraba dışı donör taramasında genel olarak kabul edilen uyum oranı yüksek çözünürlükte HLA-A, -B, -C, -DRB1 ve -DQB1 lokusu seviyesinde iken son zamanlarda yürütülen çalışmalar, HLA-DPB1 lokusu için hasta ve donör arasında mevcut olan uyumsuzlukların alloreaktif T-hücre yanıtlarını indükleyebileceğini ve allojeneik hematopoietik kök hücre nakli (AHKHN) sonrası akut graft versus host hastalığı (aGvHH) gelişimi ve genel sağ kalım üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. HLA-DPB1 uyumsuzluklarının T hücre epitop (TCE) gruplarına dayalı olarak sınıflandırılmasının, AHKHN'den sonra tolere edilebilecek (permissive) ve tolere edilmeyen yani riskleri artıracak (non-permissive) uyumsuzlukları

belirlediği gösterilmiştir. HLA-DPB1 allelleri, T-hücre çapraz reaktivite paternleri temelinde yüksek, orta, düşük ve ara immünojenik potansiyele sahip olduğu tahmin edilen 4 farklı TCE grubu şeklinde sınıflandırılır. Permissive ve non permissive HLA-DPB1 uyumsuzluklarının ayrımı, hasta ve donör alellerinin aynı veya farklı TCE gruplarından olup olmamasına göre yapılır ve basit bir çevrimiçi araç ile HLA-DPB1 TCE eşleşmesi tahmin edilebilir. Son araştırmalar, HLA-DPB1 antijenlerini hedef alan T hücresi alloreaktivite modellerine dayalı olarak HLA-DPB1 uyumsuzluklarını analiz eden işlevsel "epitop tabanlı" bir algoritma geliştirilmesini sağlamıştır. Algoritmanın akraba dışı verici araştırılmalarında uygulanması için web tabanlı bir araç, IMGT-HLA veritabanı aracılığıyla kullanıma sunulmuştur (http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb.html). Bu algoritmalar, bir hasta ve donörün HLA-DPB1 tipinin çevrimiçi araca yüklenmesi ve AHKHN alıcıları için uygun donörleri seçerken tahmin edilen T Hücre epitoplarını ve sonuçta ortaya çıkan GvHH veya Host versus graft (HvG) yönündeki uyumsuzluk etkisinin tahmini olarak görüntülenmesine izin verir.

Anahtar Kelimeler: HLA-DPB1; T hücre epitop algoritması, Hematopoietik kök hücre nakli

ABSTRACT

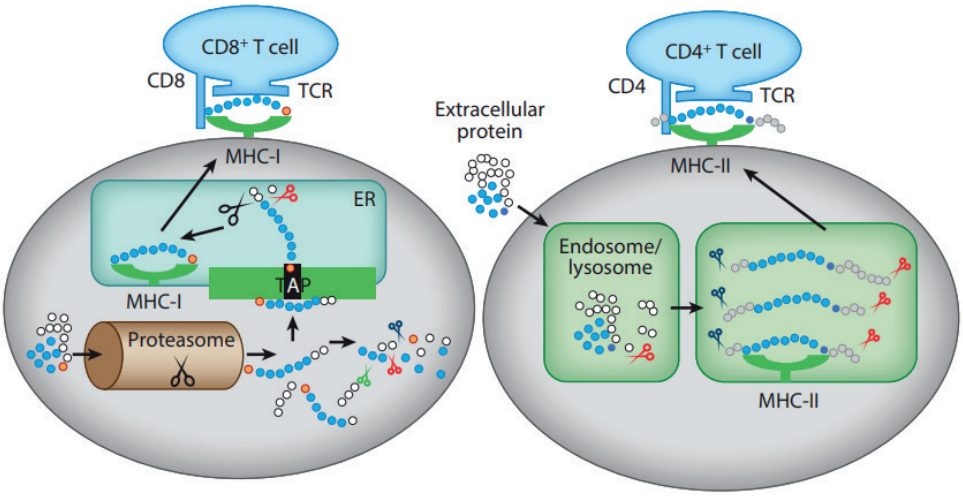
Human leukocyte antigen (HLA) expression levels have been thought to be genetically controlled by single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the untranslated regions (UTRs). HLA expression variants have been associated with successful hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The generally accepted match rate in unrelated donor searching is at the high-resolution HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, and HLA-DQB1 loci, but recent studies have shown that HLA-DPB1 mismatches between patient and donor can induce alloreactive T-cell responses, which has also been shown to be able have an effect on the development of acute graft-versus-host disease (aGvHD) and overall survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT). The classification of HLA-DPB1 mismatches based on T cell epitope (TCE) groups has been shown to determine permissive and non-permissive mismatches after AHSCT. HLA-DPB1 alleles are classified under four different TCE groups, which are predicted to have a high, moderate, low, or intermediate immunogenic potential based on their T-cell cross-reactivity patterns. The distinction between permissive and non-permissive HLA-DPB1 mismatches is based on whether donor and patient alleles are from the same or different TCE groups, and the HLA-DPB1 TCE match can be estimated using a simple online tool. Recent research has led to the development of a functional epitope-based algorithm that analyzes HLA-DPB1 mismatches based on T-cell alloreactivity patterns targeting HLA-DPB1 antigens. A web-based tool for applying the algorithm to unrelated donor searches is available using the IMGT-HLA database (http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb.html). These algorithms allow a patient and donor to load the HLA-DPB1 type into the online tool and display the predicted T-cell epitopes and the resulting mismatch effect in the direction of GvHD or Host-versus-graft (HvG) disease when selecting suitable donors for AHSCT recipients.

Keywords: HLA-DPB1, T-cell epitope algorithms, hematopoietic stem cell transplantation

Allojeneik hematopoietik kök hücre nakli (AHKHN) pek çok malign ve malign olmayan hematolojik hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan bir yöntemdir. AHKHN'de hasta ve donörünün, insan lökosit antijeni (HLA) lokus uyumsuzluğu, güçlü alloreaktiviteye neden olur ve nakil sonrası graft-versus-host hastalığını (GVHH), engraftman başarısızlığını ve nakille ilişkili mortaliteyi olumsuz yönde etkiler (Sasazuki,1998; Lee, 2007; Morishima, 2015). Dolayısıyla hasta ve donör adayı arasındaki HLA uyum oranı AHKHN başarısını etkileyen en önemli parametrelerden biri olarak kabul edilmektedir (Shaw, 2010).

HLA genleri 6. kromozomun kısa kolu üzerinde (6p21.31) Büyük Doku Uyumu Kompleksi (MHC) gen bölgesinde bulunur. MHC gen bölgesi, kodlanan proteinlerin özellikleri, dokulardaki dağılımı ve fonksiyonuna göre sınıf I, sınıf II ve sınıf III olarak 3 bölüme ayrılmıştır (Petersdorf, 2013). Sınıf I ve Sınıf II bölgesinde bulunan klasik HLA allelleri (HLA-A, -B, -C, DRB1, DQB1, DPB1) AHKHN sonucu ile ilişkilendirilmiş en önemli immünogenetik faktörlerdir (Tiercy, 2016).

T hücreleri, HLA sınıf I moleküllerini eksprese eden çekirdekli hücrelerin, HLA sınıf I-II moleküllerini eksprese eden profesyonel antijen sunan hücrelerin ve lenfoid soyunun diğer hücrelerinin yüzeylerinde kendilerine sunulan HLA ligandlarını tanırlar. Ayrıca HLA molekülleri, T hücrelerinin patojenlerden türetilen antijenleri ve kanser hücreleri tarafından eksprese edilen anormal antijenlerin varlığını saptamasına da izin verirler (Şekil 1). HLA moleküllerinin kompleksleri ve ligandları, HLA sınıf I ve HLA sınıf II için farklı olan özel organelleri ve süreçleri içeren bir dizi enzimatik olaydan oluşan antijen işleme ve sunum yolları tarafından üretilir. İlk yaklaşım olarak, sınıf I molekülleri her hücrenin içinde üretilen protein ve peptitlerin (endojen antijen sunumu), sınıf II molekülleri ise hücre dışı ortamda yani sitoplazmada bulunan proteinlerin ve peptitlerin sunumunu gerçekleştirirler (ekzojen antijen sunumu). HLA'lar tarafından sunulan antijenin T hücresinin yüzeyindeki spesifik antijen reseptörüne bağlanan ve bir bağışıklık tepkisini uyarabilen kısmına epitop denir. Bir epitopu tanıyan T hücreleri, enflamatuar veya düzenleyici sitokinlerin üretimi, sitotoksisite ve antikor yanıtlarının gelişimini ve olgunlaşmasını düzenleyen B hücrelerine yardım sağlama gibi doğrudan efektör işlevleri uygulayabilir. Bir epitopun tanınması üzerine, T hücreleri, diğer hücrelerde aynı epitopu algılayabilen ve konağın aynı epitopla sonraki karşılaşmalarına hızla yanıt vermesini sağlayan uzun ömürlü bellek popülasyonları oluşturabilen bir efektör popülasyonu oluşturmak üzere çoğalır (Paul, 2008). Bu nedenle, T hücresi epitop tanıma, AHKHN sonrası GvHH oluşumu ya da graft versus lösemi etkisi yönünden adaptif immün yanıtların oluşumunda kritik bir adımdır.



Şekil 1: T hücre epitoplarının tanınmasında yer alan ana hücresel mekanizmalara genel bakış (Peters, 2020)

MHC gen bölgesi oldukça polimorfik olup bugüne kadar 31.552 farklı HLA alleli tanımlanmıştır (http://hla.alleles.org/alleles/index.html). HLA fenotiplerinin ortaya çıkan çeşitliliği, AHKHN için HLA tam uyumlu donör bulma şansını oldukça azaltmaktadır.

AHKHN için donör seçiminde ilk tercih HLA tam uyumlu akraba donör olup kardeş donörlerde en azından HLA-A, -B ve -DRB1 allellerinin uyumlu olması beklenmektedir ancak hastalar için HLA tam uyumlu akraba donör adayı bulma oranı yaklaşık %30 gibi küçük bir oran olarak belirlenmiştir ve bu yönden geriye kalan %70 oranındaki hasta grubu için akraba dışı donörlerden nakil olasılığını iyileştirmek oldukça önem kazanmaktadır (Petersdorf, 2008).

Akraba dışı donör taramasında genel olarak kabul gören uyum oranı yüksek çözünürlükte HLA-A,-B,-C,-DRB1 ve -DQB1 lokusu seviyesindedir (10/10 uyum). İlk çalışmalar, HLA-DPB1 farklılıklarının artan GvHH riski ve aynı zamanda azalmış nüks oranlarıyla da ilişkili olduğunu göstermiş (Petersdorf, 1995; Shaw, 2006) fakat mortalite üzerinde bir etki gözlenmediği için o zamanlar HLA-DPB1 alleli doku tipleme ve eşleştirme stratejilerine dahil edilmemiştir. Ayrıca HLA-DPB1 allellerini diğer klasik HLA moleküllerinden ayıran ve aşağıda maddeler halinde özetlenen özellikler de HLA-DPB1 eşleşmesinin AHKHN'de öneminin uzun süre tanımlanamamasının nedenleri arasında sayılabilmektedir.

- HLA-sınıf II molekülleri, bir alfa ve bir beta zincirinin heterodimerleri olarak oluşturulur ve bu moleküllerin antijen tanıma alanı, alfa-1 ve beta-1 zinciri tarafından

meydana getirilir. Çoğu polimorfizm, beta-1 alanı (ilgili genin ekson 2) içinde bulunur ve bu polimorfizmler, klasik HLA moleküllerinin allotipleri arasında neredeyse eşit olarak dağılmıştır. Buna karşılık, HLA-DPB1 için polimorfizmlerin çoğu, özellikle HLA-DPB1 geninin 2. ekzonu boyunca yer alan altı polimorfik bölgede gözlenir ve bu HLA-DPB1 alleli için benzer immünojeniteye sahip birkaç küme oluşumu ile sonuçlanır (Zino, 2004). Bu durum HLA-DPB1 allelinin T hücre epitopları ile ilgili önemli ölçüde daha az çeşitliliğe yol açar.

- Klasik HLA genleri arasındaki bağlantı dengesizliği, özellikle HLA-B/C ve HLA-DR/DQ genleri için çok güçlüdür ve bu alleller için sıklıkla gözlenen korunmuş haplotipler oluşturur (Sanchez-Mazas, 2000). Bununla birlikte HLA-DPB1 ve diğer klasik HLA-genleri arasındaki bağlantı, HLA-DQ ve HLA-DP genleri arasındaki bir rekombinasyon noktası nedeniyle oldukça düşüktür, bu durum HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1 uyumlu kardeş donörler ve akraba dışı donörler arasında HLA-DPB1 farklılıklarına yol açar (Fleischhauer, 2000; Koskela, 2018).
- HLA-DPB1'in ekspresyon seviyesi, HLA-DRB3/4/5 ve HLA-DQB1 antijenlerininkine benzer olmasına rağmen klasik HLA-antijenleri HLA-A, -B, -C ve -DRB1 ile karşılaştırıldığında düşüktür (Fernandez-Vina, 2013; Nunez, 1985).
- HLA-DPB1 için serolojik tiplendirme, uygun antiserum olmaması nedeniyle her zaman çok daha zor olmuştur. Sadece iki set dimorfik amino asit epitopunun gözlemlenen serolojik reaksiyon modellerinin çoğunu oluşturduğu ve bunun diğer klasik HLA antijenlerine kıyasla önemli ölçüde daha az çeşitlilik ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Cano, 2009).

Bununla birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalar, HLA-DPB1 lokusu için hasta ve donör arasında mevcut olan uyumsuzlukların alloreaktif T-hücre yanıtlarını indükleyebileceğini ve AHKHN sonrası akut GvHH gelişimi ve genel sağ kalım üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir (Shaw, 2010; Rutten, 2010). Bu durum araştırıcıları AHKHN sonrası nakil başarısının en yüksek düzeyde tutulmasını sağlamak için HLA-DPB1 uyumsuzluğunu tolere edilebilecek donör seçimi konusunda farklı stratejiler geliştirmeye yöneltmiştir.

İlk zamanlarda HLA-DP moleküllerinin hücresel immün reaktivitesi karışık lenfosit kültürü testi (mix lenfosit) kullanılarak gösterilmekte (Oğuz, 1998; Olerup, 1990) iken 2004 yılında Zino E. ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada karışık lenfosit kültürüne dayalı in vitro testler ile sitotoksisite deneyleri kullanılarak HLA-DPB1 allellerinin T-hücre epitop immünojenitelerine göre (düşük, orta ve yüksek) gruplandırılabileceği keşfedilmiştir (Tablo 1). (Zino,

2004). Bu çalışma, HLA-DPB1 allellerinin kombinasyonlarına göre T hücre epitop eşleşmesi olarak da bilinen TCE-3 gruplamasının gelişmesine, hasta ve donör arasındaki DPB1 uyumsuzluklarının izin verilen (permissive) ve izin verilmeyen (non-permissive) uyumsuzluklar olarak gruplara ayrılmasına olanak tanıyan T-hücresi epitop eşleştirme algoritmasının geliştirilmesine yol açmıştır (Fleischhauer, 2012; Pidala, 2014).

Tablo 1. DPB1 Alellerinin Epitop Gruplarına Göre Sınıflandırılması

Epitop Grup	DPB1*	T Hücre Reaktivitesi	
		501	538
1	0901, 1001, 1701	+	+
2	0301, 0502, 1401, 4501	+	–
	8601¶	–	+
3	0101, 0201, 0202, 0401, 0402, 0501, 0601, 1101, 1301, 1501, 1601, 1901, 2001, 2301, 4601	–	–
3§	0102, 0203, 0302, 0403, 0602, 0801, 0802, 1002, 1502, 1802, 1902, 2201, 2401, 2801, 3101, 3201, 3301, 3401, 3801, 3901, 4001, 4101, 4701, 4801, 4901, 5101, 5301, 5701, 5901, 6001, 6201, 6301, 6501, 6801, 7101, 7201, 7301, 7501, 7701, 8001, 8101, 8201, 8301, 8401, 9401, 9501, 9601, 9701, 9901	N.D.	N.D.
Sınıflandırılmadı	0902, 1102, 1302, 1402, 1602, 1702, 1801, 2101, 2501, 2601, 2701, 2901, 3001, 3501, 3601, 3701, 4401, 5001, 5201, 5401, 5501, 5601, 5801, 6101N, 6401N, 6601, 6701, 6901, 7001, 7401, 7601, 7801, 7901, 8501, 8701, 8801, 8901, 9001, 9101, 9201, 9301, 9801	N.D.	N.D.

Bu TCE modelinde izin verilen (permissive) ve izin verilmeyen (non permissive) HLA-DPB1 uyumsuzluklarının ayrımı, donör ve hasta alellerin aynı veya farklı TCE gruplarından olup olmamasına göre yapılmakta ve basit bir çevrimiçi araç ile HLA-DPB1 TCE eşleşmesi tahmin edilebilmektedir.

Son araştırmalar, HLA-DPB1 antijenlerini hedef alan T hücresi alloreaktivite modellerine dayalı olarak HLA-DPB1 uyumsuzluklarını analiz eden işlevsel "epitop tabanlı" bir algoritma geliştirilmesini sağlamıştır. Algoritmanın akraba dışı donör araştırılmalarında uygulanması için web tabanlı bir araç, IMGT-HLA veritabanı aracılığıyla kullanıma sunulmuştur (http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb.html).

Bu algoritmalar, bir hasta ve donörün HLA-DPB1 tipinin çevrimiçi araca yüklenmesi ve AHKHN hastaları için uygun donörleri seçerken tahmin edilen T Hücre epitoplarını ve sonuçta ortaya çıkan GvHH veya Host versus Graft (HvG) yönündeki uyumsuzluk etkisinin tahmini olarak görüntülenmesine izin verir.

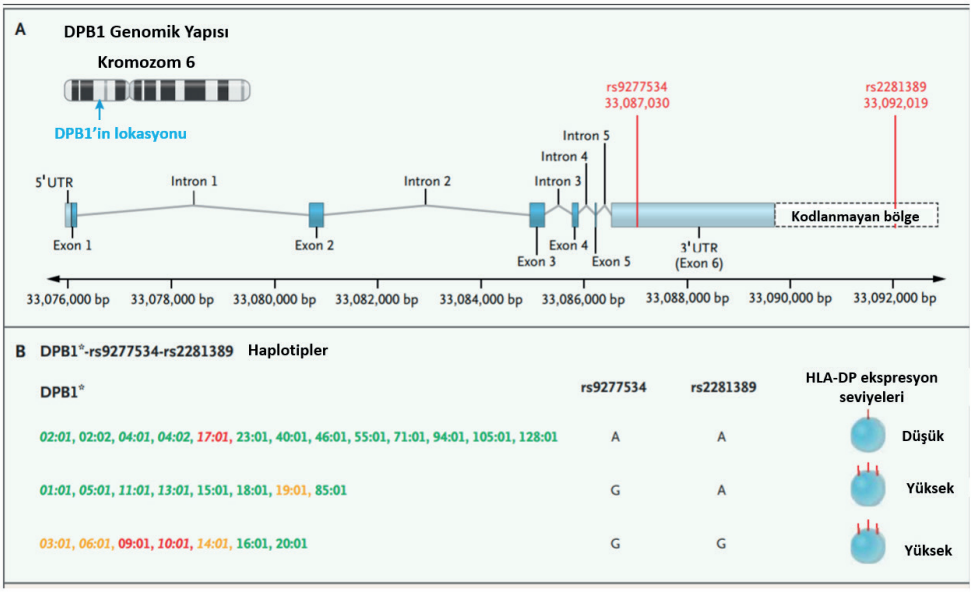
Mevcut çevrim içi araçta;

- Hasta ve donörün sahip olduğu tüm aleller aynı TCE grubunda ise,
- Hasta ve donör 1. gruptan (immünojenik grup) en az 1 alel taşıyor ise ya da
- Hasta ve donör 1. gruptan hiç alel taşımayıp, herhangi bir gruptan en az 2 alel taşıyor ise;

hasta ve donör arasındaki HLA-DPB1 uyumsuzluğu izin verilebilir (permissive) uyumsuzluk olarak tanımlamaktadır (Fleischhauer, 2012).

Bu 3 ihtimalin dışında kalan tüm hasta-donör HLA-DPB1 allel kombinasyonları ise izin verilmeyen (non-permissive) uyumsuzluk olarak tanımlanmaktadır. Mevcut çevrim içi araç, izin verilmeyen (non permissive) uyumsuzlukların AHKHN sonucunu hangi yönde (GvHH/HvG) etkileyeceğini hasta ve donör HLA-DPB1 allellerinin bulunduğu TCE grubuna göre tahmin etmektedir. Hastanın taşıdığı HLA-DPB1 alleleri, donörün taşıdığı allellerden daha yüksek immünojenitede bir TCE grubuna aitse bu HLA-DPB1 allel uyumsuzluğunun AHKHN sonucunu GvHH yönünde etkileyeceği, tam tersi durum söz konusu olduğunda ise HvG yönünde etkileyeceği tahmin edilmektedir (Fleischhauer, 2012).

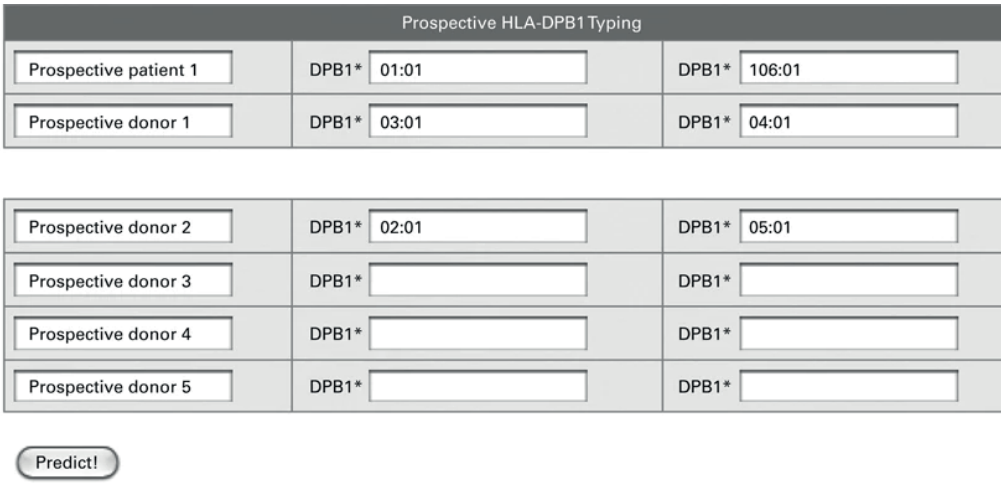
HLA ekspresyon seviyelerinin, UTR (untranslated region) bölgelerdeki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tarafından genetik olarak kontrol edildiği öne sürülerek ekspresyon varyantları, hematopoietik kök hücre transplantasyonunun (HSCT) sonucu ile ilişkilendirilmiştir. Buna bağlı olarak TCE modelinin, 3'untranslated bölgede SNP rs9277534 tarafından yönetilen HLA-DP ekspresyon seviyelerini dikkate alan HLA-DPB1 eşleşmesinde daha yeni bir modelle yüksek derecede örtüştüğü gösterilmiştir (Petersdorf, 2015). Hastada yüksek ekspresyonlu rs9277534 varyantı ile HLA-DPB1 alellerini içeren uyumsuzluklar, diğerlerine kıyasla anlamlı derecede daha yüksek akut GvHH riskleri ile ilişkilendirilmiştir. rs9277534 SNP, HLA-DPB1 alelleri ile sıkı bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) içindedir, yüksek ve düşük ekspresyon varyantı, bazı istisnalar olmasına rağmen, sırasıyla TCE grupları 1/2 ve TCE grup 3'ten en sık görülen alellerle ilişkilidir. Bu ilişkiler nedeniyle, TCE modeli ve HLA-DPB1 uyumsuzluklarının ifade modeli, birbirlerinin yerine kullanılabileceklerini veya alternatif olarak birbirleriyle sinerji oluşturabileceklerini düşündüren belirgin bir örtüşme derecesine sahiptir (Şekil 2) (Petersdorf, 2015; Fleischhauer, 2015).



Şekil 2: DPB1 Genomik Yapısı, İlişkili DPB1 Tek-Nükleotid-Polimorfizm Haplotipleri ve Ortaya çıkan HLA-DP İfadesi. Panel A, DPB1 genomik yapısını gösterir. DPB1 transkriptinin grafik gösterimi Ensembl Genome Browser'dan elde edildi (www.ensembl.org). Koyu mavi kutular kodlama ekzonlarını, açık mavi kutular UTR (untranslated) bölgelerini ve kutuları birbirine bağlayan çizgiler intronları temsil eder. İki tek nükleotid polimorfizmi (3′ UTR'de rs9277534 ve aşağı yönde kodlama yapmayan bir bölgede 4989 bp'de rs2281389) kırmızı ile belirtilmiştir. İnsan kromozomu 6'nın sitogenetik ideogramında DPB1'in kromozomal konumu, karşılık gelen bölgenin bir baz çifti ölçeğinde olduğu gibi gösterilmektedir. Panel B, Petersdorf ve meslektaşları tarafından rapor edildiği gibi DPB1-rs9277534-rs2281389 haplotiplerini gösterir. Avrupa kökenli beyaz kişilerde en az %1 sıklıkta meydana gelen DPB1 alelleri italik olarak gösterilmiştir. T-hücre epitop grubu 1'deki (yüksek immünojenisite) DPB1 allelleri kırmızı, grup 2'dekiler (orta immünojenisite) turuncu ve grup 3'tekiler (düşük immünojenisite) yeşildir. Çeşitli haplotiplerle ilişkili HLA-DP ekspresyon seviyeleri de tasvir edilmiştir. (Petersdorf, 2015).

HLA-DPB1 T-hücresi epitop eşleştirme algoritmasının klinik uygulamada kullanımı

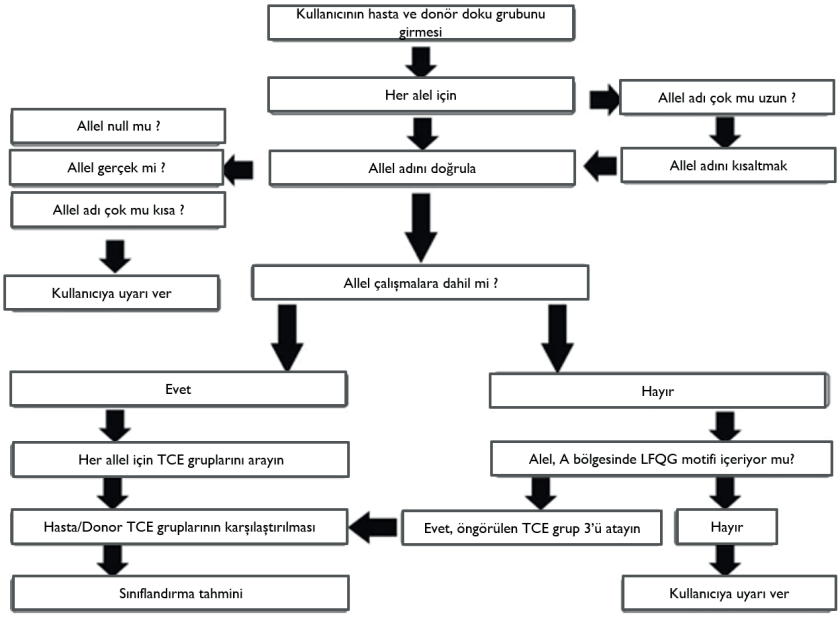
- Mevcut çevrim içi aracın kullanımında ilk adım kullanıcı tarafından hasta ve donör HLA-DPB1 allellerinin sisteme yüklenmesidir (Şekil 3).



Şekil 3: Hasta ve donör HLA-DPB1 allellerinin sisteme yüklenmesi

- İkinci adım çevrim içi aracın kendi içindeki doğrulama adımlarından oluşur (Shaw, 2013).

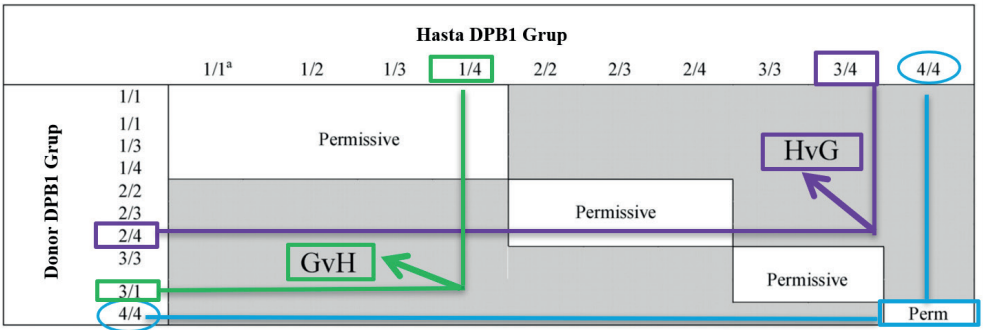
- Çevrim içi araç tanımlanamamış (ambiguous) HLA-DP tipleri ile sorgulama yapılmasına izin vermez.
- Mutlaka hasta ve donör için ikişer allel girilmelidir. Homozigotluk durumlarında, ilgili HLA alleli iki kez girilmelidir (DPB1*01:01,*01:01 gibi) aksi takdirde sistem bir hata bildirilecektir.
- Sistem tarafından tek alanlı alel adlarına, (yani DPB1*01 gibi) izin verilmez ve hata bildirilir.
- Geçersiz alleller ya da boş alleller hata olarak rapor edilir ve henüz tanımlanmamış allel adlarının girilmesi sonucu da çevrim içi araç kullanıcıya sorunu detaylandıran bir uyarı verir.
- Sessiz ve kodlamayan varyantları gösteren üç veya daha fazla alanın allel türleri, iki alanlı türler olarak kabul edilir, yani DPB1*01:01:02, DPB1*01:01 olarak kısaltılır (Şekil 4).



Şekil 4: Çevrim içi aracın doğrulama adımları

Zino E ve ark.'ları tarafından yapılan iki çalışma sonucunda, 72 HLA-DPB1 protein dizisi hakkında veri sağlanmıştır. Bunlardan 23 allel, fonksiyonel çalışmalarda doğrudan test edilerek sınıflandırılmış, kalan 49 allel ise fonksiyonel veriler temelinde TCE grup 3'e dahil edilmiştir. Bu çalışmalar HLA-DPB1'in A bölgesindeki LFQG motifinin, alloreaktif T-hücresi çapraz reaktivitesini ortadan kaldırmak için yeterli olduğunu ve bu nedenle alleli düşük immünojenite ile TCE grup 3'e dahil etmek için yeterli olduğunu göstermektedir (Zino, 2004; Zino, 2007). Çevrim içi araçta bu aleller TCE grubu 3§ olarak etiketlenir ve kullanıcıya uyarı verir.

- Üçüncü adım çevrim içi aracın, kullanıcının sisteme yüklediği HLA-DPB1 allel bilgilerine göre hasta/donör TCE gruplarını karşılaştırmasını yapmasıdır (Şekil 5). Bu karşılaştırmada hasta ve donörün HLA-DPB1 allellerinin ait olduğu TCE grupları ve birbirlerine karşı immünijenite durumları belirlenir.



Şekil 5: T hücre epitop algoritması

- Son adım ise çevrim içi aracın tahmin ekranını kullanıcı ile paylaşmasıdır (Şekil 4). Bu tahmin ekranında ilk sütunda kullanıcının hasta ve donör için sisteme yüklediği HLA-DPB1 allelleri, ikinci sütunda bu allellerin hangi TCE grubuna ait olduğu (1,2,3,4), üçüncü sütunda immünijenite durumları (düşük, orta, yüksek) ve en alt satırda ise HLA-DPB1 uyumsuzluğunun izin verilebilir ya da izin verilemez olduğunun tahmini yer alır (permissive/non permissive-GvHD/non permissive-HvG) (Şekil 6).

Predicted Immunogenecity

Patient Typings: PROSPECTIVEPATIENT1

Allele	TCE Group	Predicted Immunogenicity	Comments
DPB1*09:01	1	High	
DPB1*17:01	1	High	

Donor Typings: PROSPECTIVEDONOR1

Allele	TCE Group	Predicted Immunogenicity	Comments
DPB1*09:01	1	High	
DPB1*10:01	1	High	
The predicted immunogenecity of the DPB1 matching for this pair is: **Permissive**			

Şekil 6: Çevrim içi aracın tahmin sonucu ekranı

Sonuç olarak; HLA-DPB1 T hücre epitop algoritmaları ile ilgili literatürde yer alan pek çok klinik çalışma donör seçiminde HLA-DPB1 T-hücresi epitoplarının dikkate alınmasının ve bunun için geliştirilen algoritmaların kullanımının, GvHH'nin morbidite ve mortalitesini azaltmak ve AHKHN sonuçlarını iyileştirmek için fayda sağlayabileceğini göstermektedir (Fleischhauer, 2012; Crocchiolo, 2021; Kantarcıoglu, 2017).

Kaynakça / References

Cano, P., Fernandez-Vina, M. (2009). Two sequence dimorphisms of DPB1 define the immunodominant serologic epitopes of HLA-DP. *Hum Immunol*, 70, 836–43. 10.1016/j.humimm.2009.07.011.

Crocchiolo, R., Mele, L., Testi, M., Chiara, M. S., Murgia, B., Rossi, A. …Miotti V. (2021). Use of DPB1 T-cell epitope algorithm among italian transplant centers: A survey on behalf of Associazione Italiana di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti. HLA, 98(2):114-121. doi: 10.1111/tan.14347.

Fernandez-Vina, M.A., Klein, J.P., Haagenson, M., Spellman, S.R., Anasetti C., Noreen H. …de Lima M. (2013). Multiple mismatches at the low expression HLA loci DP, DQ, and DRB3/4/5 associate with adverse outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 121:4603–10. 10.1182/blood-2013-02-481945.

Fleischhauer, K. (2015). Immunogenetics of HLA-DP – A new view of permissible mismatches. *N Engl J Med,* 373(7):669–672. doi: 10.1056/NEJMe1505539.

Fleischhauer, K., Shaw, B.E., Gooley, T., Malkki, M., Bardy, P., Bignon, J.D. …Petersdorf, E.W. (2012). Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol*, 13:366–74. 10.1016/S1470-2045(12)70004-9.

IMGT HLA Database http://hla.alleles.org/alleles/index.html (Erişim tarihi: 11.10.2021)

Kantarcioglu, B., Bekoz, H. S., Hindilerden, I. Y., Kivanc, D., Ogret, Y.D., Besisik, S. K. …Sargin, D. (2017). Impact of HLA-DPB1 Matching in Unrelated Allogeneic Stem Cell Transplantation: Results of Two Centers From Turkey. International Journal of Hematology and Oncology, (27):2.

Koskela, S., Ritari, J., Hyvarinen, K., Kwan, T., Niittyvuopio, R., Itälä-Remes, M. ...Partanen J. (2018). Hidden genomic MHC disparity between HLA-matched sibling pairs in hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Rep*, 8:5396. 10.1038/s41598-018-23682-y.

Lee, S.J., Klein, J., Haagenson, M., Baxter-Lowe, L., Confer D.L., Eapen M. …Anasetti C. (2007). High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*, 110(13):4576-4583.

Morishima, Y., Kashiwase, K., Matsuo, K., Azuma, F., Morishima, S., Onizuka, M. …Sasazuki, T. (2015). Japan Marrow Donor Program. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. *Blood*, 125(7):1189-1197.

Nunez, G., Ball, E.J., Myers, L.K., Stastny, P. (1985). Allostimulating cells in man. Quantitative variation in the expression of HLA-DR and HLA-DQ molecules influences T-cell activation. *Immunogenetics*, 22:85–91. 10.1007/BF00430597.

Oğuz, F.S., Aydın, F., Gürtekin, M., Çarin, M. (1998). HLA-DPB1 ve Karışık Lenfosit Kültür İlişkisi. İst Tıp Fak Mec 61(4):443-446.

Olerup, O., Möller, E., Persson, U. (1990). HLA-DP incompatibilities induce significant proliferation in primary mixed lymphocyte cultures in HLA-A, -B, -DR and -DQ compatible individuals: implications for allogeneic bone marrow transplantation. Tissue Antigens, 36(5):194-202.

Paul, W.E. (2008). Fundamental Immunology. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.

Peters, B., Nielsen M., and Sette A. (2020). T Cell Epitope Predictions. Annual Review of Immunology. 38:123–45

Petersdorf, E.W. (2013). Genetics of graft-versus-host disease: The major histocompatibility complex. Blood Rev, 27:1–12.

Petersdorf, EW. (2008). Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. Curr Opin Immunol. 20(5):588-93.

Petersdorf, E.W., Longton, G.M., Anasetti, C., Martin, P.J., Mickelson, E.M., Smith, A.G., Hansen, A. (1995). The significance of HLA-DRB1 matching on clinical outcome after HLA-A, B, DR identical unrelated donor marrow transplantation. *Blood,* 86(4):1606–13.

Petersdorf, E.W., Malkki, M., O'hUigin, C., Carrington, M., Gooley, T., Haagenson, M.D. ...Stevenson P. (2015). High HLA-DP expression and graft versus host disease. *N Engl J Med,* 373(7):599–609. doi: 10.1056/NEJMoa1500140

Pidala, J., Lee, S.J., Ahn, K.W., Spellman, S., Wang, H.L., Aljurf, M. ...Anasetti C. (2014). Nonpermissive HLA-DPB1 mismatch increases mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 124:2596–606. 10.1182/blood-2014-05-576041.

Rutten, C.E., van Luxemburg-Heijs, S.A., van der Meijden, E.D., Griffioen M., Oudshoorn, M., Willemza E. Falkenburd, J.H.F. (2010). HLA-DPB1 mismatching results in the generation of a full repertoire of HLA-DPB1 specific CD4+ T-cell responses showing immunogenicity of all HLA-DPB1 alleles. Biol Blood Marrow Transpl, 16:1282–92.

Sanchez-Mazas, A., Djoulah, S., Busson, M., Le Monnier de Gouville, I., Poirier, J.C., Dehay, C. …Hors, J. (2000). A linkage disequilibrium map of the MHC region based on the analysis of 14 loci haplotypes in 50 French families. *Eur J Hum Genet*, 8:33–41. 10.1038/sj.ejhg.5200391.

Sasazuki, T., Juji, T., Morishima, Y., Kinukawa, N., Kashiwabara, H., Inoko H. …Takaku F. (1998). Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. Japan Marrow Donor Program. *N Engl J Med*, 339(17):1177-1185.

Shaw, B.E., Arguello, R., Garcia-Sepulveda, C.A., Madrigal, J.A. (2010). The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. Br J Haematol 150: 251-258.

Shaw, B.E., Marsh, S.G., 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):1220–6.

Shaw, B.E., Robinson J., Fleischhauer K., Madrigal, J.A., Marsh, S.G.E. (2013). Translating the HLA-DPB1 T-cell epitope-matching algorithm into clinical practice. Bone Marrow Transplant, 48(12):1510-2. doi: 10.1038/bmt.2013.91.

Tiercy, J.M. (2016). How to select the best available related or unrelated donor of hematopoietic stem cells? *Haematologica,* 101(6):680–7.

Zino, E., Frumento, G., Marktel, S., Sormani, M.P., Ficara, F., Di Terlizzi, S. …Fleischhauer K. (2004). A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood*, 103:1417–24. 10.1182/blood-2003-04-1279.

Zino, E., Vago, L., Di Terlizzi, S., Mazzi, B., Zito, L., Sironi, E. …Fleischhauer K. (2007). Frequency and targeted detection of HLA-DPB1 T cell epitope disparities relevant in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 13: 1031–1040.