



## **Samenvatting proefschrift C.S.M. Kramer**

“Towards HLA epitope matching in clinical transplantation”

**Promotie: 1 oktober 2020  
Universiteit Leiden**

**Promotor:**  
Prof. dr. F.H.J. Claas

**Copromotor:**  
Dr. S. Heidt  
Dr. D.L. Roelen

HLA-matchen op antigeen niveau is nog steeds essentieel voor niertransplantatie, ondanks de verbeterde chirurgische technieken en immunosuppressiva. Maar de meerderheid van de ontvangers ontvangen een HLA gemismatchte transplantaat in verband met het hoge polymorfisme van HLA en schaarste aan organen. Een gevolg hiervan is dat de ontvanger antistoffen vormt die gericht zijn tegen de HLA van de donor, ook wel nieuwgevormde donor-specifieke antistoffen (DSA) genoemd, en die antistoffen kunnen leiden tot schade aan het orgaan en uiteindelijk zelfs afstoting. Daarbij compliceren DSA het vinden van een geschikte donor voor een nieuwe transplantatie. Maar niet elke HLA antigeen mismatch resulteert in een humorale antistof reactie, aangezien antistoffen worden geïnduceerd door lichaamsvreemde epitopen, of polymorfe aminozuur configuraties, aanwezig op donor HLA-antigeen. Elk HLA-molecuul bestaat uit een unieke combinatie van epitopen, maar een individuele epitootop kan worden gedeeld door verschillende HLA-moleculen. Het aantal epitootop verschillen hangt dus af van het fenotype van de ontvanger. Om HLA epitootop matchen te introduceren als nieuwe allocatie strategie om zo DSA-vorming na transplantatie te voorkomen is het van belang om de immunogene epitopen die een antistof reactie kunnen veroorzaken te identificeren. Het doel van het promotieonderzoek beschreven in “Towards HLA epitope matching in clinical transplantation” was het ontwikkelen van middelen die hieraan kunnen bijdragen.

Hoofdstukken 2 en 3 beschrijven we een overzicht van de verschillende benaderingen die zijn geïntroduceerd om de immunogeniciteit van HLA-moleculen te voorspellen en daarmee ook de kans op DSA-vorming kunnen voorspellen op populatieniveau. Daarnaast beargumenteren wij dat DSA-vorming niet afhankelijk is van het aantal epitootop verschillen, maar dat de immunogeniciteit van individuele epitopen bepalend is voor DSA-vorming (Hoofdstuk 3). We benadrukken ook het verschil tussen immunogeniciteit, wat veroorzaakt de antistof reactie, en antigeniciteit, de interactie tussen antistof en antigeen (Hoofdstuk 2).



Een van de meest bestudeerde benadering is eplets, dit zijn theoretisch bepaalde configuraties van aan de oppervlakte gelegen polymorfe aminozuren. Van deze eplets moet nog wel worden vastgesteld of een antistof er inderdaad aan kan binden. Dit kan worden gedaan met behulp van humaan HLA monoklonale antistoffen (mAbs), maar die ontbreken voor HLA klasse II. Daarom wilden wij HLA klasse II monoklonale antistoffen maken om epitopen te definiëren waaraan een antistof kan binden. In hoofdstuk 4 gebruiken we bestaande B-cel hybridoma's om een methode te verifiëren voor het genereren van recombinant humaan HLA monoklonale antistoffen van alle vier de IgG subklassen. Vervolgens gebruiken we deze methode in hoofdstuk 5 om recombinant humaan HLA-DR-specifieke monoklonale antistoffen te genereren uit geheugen (memory) B-cellen die door middel van HLA-DR tetrameren waren geïsoleerd uit perifeer bloed van zwangerschap geïmmuniseerde individuen. Reactiviteit analyse van deze monoklonale antistoffen resulteerde in de identificatie van een uniek aminozuur of aminozuur configuraties gedeeld op de reactieve HLA-allelen. Sommige van de geïdentificeerde configuraties kwamen overeen met bestaande eplets en daarmee bevestigden wij dat een antistof kan binden aan deze eplets en dus relevant zijn.

Een andere manier om de relevante epitopen te definiëren is door de immunogene polymorfe aminozuren te identificeren. In hoofdstuk 6 beschrijven wij de ontwikkeling van een gebruiksvriendelijke software HLA-EMMA dat aminozuur sequenties van gemismatchte donor HLA-allelen vergelijkt met de aminozuur sequenties van dezelfde locus van de ontvanger. HLA-EMMA bepaalt het aminozuur verschillen van zowel de hele sequentie als voor posities gedefinieerd als toegankelijk (solvent accessible). Naast de verschillen geeft HLA-EMMA ook de soort en positie van de gemismatchte aminozuren.

Aangezien DSA specifiek voor HLA klasse II het meest aanwezig zijn na transplantatie, wilden wij de meest immunogene HLA klasse II aminozuren identificeren. Hiervoor analyseerde wij in hoofdstuk 7 niet-geïmmuniseerde mannen die voor het eerst een niertransplantatie hadden ondergaan met minimaal één HLA antigeen mismatch maar die uiteindelijk hun transplantaat verloren als gevolg door immunologisch falen. Met HLA-EMMA bepaalde we de "solvent accessible" aminozuur verschillen voor HLA-DR en HLA-DQ-allelen en door de lage aantallen zagen wij alleen voor HLA-DQ een associatie met nieuwgevormde DSA. In tegenstelling tot andere studies, analyseerden wij de HLA-DQ-ketens (alfa en bèta keten) afzonderlijk met betrekking tot hun vermogen om een antistof reactie te induceren en toonde aan dat een enkel aminozuur op de alfa of op de bèta keten voldoende was om een antistof reactie te induceren.

In dit proefschrift zijn verschillende hulpmiddelen beschreven die de basis zullen vormen voor aanvullende studies die nodig zijn om HLA epitooop matchen te introduceren in de praktijk.