



Doku Uygunluk Antijenleri Histocompatibility Antigens

Mustafa Yılmaz¹

¹Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Pediatrik Allerji/İmmünoloji Bilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

Human Leukocyte Antigen (HLA) is under the control of a gene region, which is called Major Histocompatibility Complex (MHC) Gene Region. This region consists of three main groups which are the MHC Class I (HLA-I, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Class II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, DN) and MHC Class III (C2, C4A, C4B, PF, TNF- a, b) antigens. Here is to give a brief overview of HLA and HAL typing.

Key words: HLA antigens, transplantation, major histocompatibility complex, antigens

ÖZET

İnsan Lökosit Antijenleri (HLA) "Majör Histokompatibilite kompleksi-Major Histocompatibility Complex Gen Region (MHC)" adı verilen bir gen bölgesinin kontrolü altındadır. Üç ana gruba ayrılan bu bölgede MHC Sınıf-I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Sınıf-II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN) ve MHC Sınıf-III (C2, C4A, C4B, PF, TNF- a, b) antijenleri yer almaktadır. Burada HLA ve HLA tiplendirimi ile ilgili özet bilgilerin sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: HLA antijenleri, transplantasyon, majör histokompatibilite kompleksi, antijen

Giriş

İmmün sistemin yabancı antijenleri tanınması için gerekli "Doku Uygunluk Antijenleri" veya "Transplantasyon Antijenleri" olarak isimlendirilen HLA, ilk kez lökositlerde gösterilmiş olmalarından dolayı "İnsan Lökosit Antijenleri" anlamına gelen İngilizce "Human Leukocyte Antigens" kısaltmasından gelmiştir. İmmün sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanınması için gerekli olan bu insan lökosit antijenlerini kodlayan gen bölgesi, insanda 6. kromozom üzerinde bulunur ve Büyük Doku Uyum Kompleksi, (MHC: Major Histocompatibility Complex



Gene Region) denir. Doku uygunluk antijenlerine MHC antijenleri adı da verilir. MHC yaklaşık 100 kadar ayrı genden oluşur ve yaklaşık 4000 kilobaz büyüklüğündeki bu bölgede immün yanıtla ilgisi tanımlanamamış bazı genler de yer alır. MHC, kodlanan proteinlerin özelliklerine göre Sınıf I, II, III olarak alt bölgelere ayrılır. Doku uygunluk antijenleri olarak adlandırılan Sınıf I ve II proteinleri T hücrelerine antijen sunumundan sorumludurlar. Doku atılımını belirleyen Sınıf I ve II molekülleri olarak tanımlanmıştır. Hücre yüzeyinde bulunan bu MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin efektör hücrelerine sunarak immün yanıtın başlamasında rol oynarlar. MHC Sınıf III olarak da adlandırılan HLA-DRB ile HLA-B bölgeleri arasında yer alan kompleman proteinlerinden C4, C2, ve faktör B, TNF, ısı şok proteinlerini kodlayan genler bulunur^{1,2}.

HLA sınıf I ve sınıf II genleri insan genomundaki en polimorfik genlerdir.. Bu genlerden bazıları için 200 allelik varyant tanımlanmıştır.. HLA sınıf I için 5301, sınıf II için 1509 farklı HLA alleli bulunmaktadır. MHC allelleri arasında görülen polimorfizmler peptid bağlayıcı oluğun içinde ve çevresindeki amino asit rezidülerinde bulunur. Her bir allelik formun peptid bağlayıcı özellikleri kendine özgüdür. MHC bölgeleindeki bu çoklu allelik formlar nokta mutasyonu, rekombinasyon ve gen değişimi gibi pek çok mekanizmalar ile olmaktadır^{1,2}. Bu çalışmada HLA ve HLA tiplendirmesiyle ilgili bilgilerin güncel literatür bilgileri ışığı altında sunulması amaçlanmıştır.

MHC Sınıf I Molekülleri

Sınıf I moleküller, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid zincirinden oluşmuş heterodimerlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekül α -1, α -2 ve α -3 olarak 3 domainden oluşur. Bu alfa ağır zincirine kovalan olmayan bağlarla bağlı serumda da bulunabilen bir polipeptit olan Beta-2 mikroglobulin (β 2-m) bulunur. Bu hafif zincir MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır. Sınıf I molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında α -1 ve α -2 distalde ve α -3 ve β 2-m proksimalde karşılıklı bulunur. α -1 ve α -2 bükümleri 8-10 aminoasit büyüklüğündeki hücre içi antijeni bağlayarak CD8+ T hücrelerine sunarlar. β 2-m molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol alır. Bütün çekirdekli hücrelerde bulunan Sınıf I molekülleri, hücre içi yerleşen virüsler ve diğer patojenlerin tanınması yanı sıra transformasyona uğrayan hücrelere karşı sitotoksik T hücrelerin uyararak immün yanıtta rol alır^{1,2}.

Sınıf I moleküllerini kodlayan genler, kodlama yapan 8 exon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren α -1 ve α -2 bölgeleri ekson 2-3 tarafından kodlanır. Ağır zincirleri kodlayan Sınıf I gen lokuslarında HLA -A,-B,-C-E, -F ve -G gibi işlevsel HLA izoformlarını kod sağlanmasında rol alır. layan genlerin yanı sıra HLA-H,- J,-K, --L, -X gibi psödogenler vardır. HLA-B lokusuna yakın yerde MIC A ve B genleri bulunur².

HLA-A, -B, -C gibi klasik moleküller oldukça polimorfik olup transplantasyonda önemli iken HLA-E,-F ve -G (sınıf Ib) ise az polimorfik olup immun yanıtta görev almaktadır. HLA-E ve -G, antijenik peptitleri bağlanabilir ve NK hücreleri tarafından tanınmasında rol oynar. Bu gün için henüz HLA-H,-J,-K ve -L'ların immünolojik rolü bilinmemektedir².

MHC Sınıf II Molekülleri

MHC Sınıf II bölgesi yaklaşık 1000 kb DNA genişliğinde olup HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DNA, -DMA, -DOB lokuslarını kodlayan genlerin yanı sıra çeşitli psödogenler, LMP1, LMP2, TAP1, TAP2 gibi antijen işlenmesinde rol alan genler bu bölgede yer alır².

Sınıf II molekülleri ise sadece monositler, aktive T lenfositleri ve B lenfositleri ile Langerhans ve dendritik hücre gibi antijen sunan bazı hücrelerde bulunur. MHC Sınıf II molekülleri kovalan olmayan bağlarla bağlı ağır (alfa) ve hafif (beta) glikoprotein zincirinden oluşan heterodimerlerdir. Alfa zincirlerinin (α -1 ve α -2) moleküler ağırlığı 30-34 kDa ve beta zincirlerinin (β -1 ve β -2) moleküler ağırlığı 26-29 kDa'dur. Her iki zincirin de hücre zarı dışında sırasıyla α -1, α -2 ve β -1, β -2 olmak üzere iki bölüme vardır. Karşılıklı bulunan α -1 ve β -1 zincirlerinin oluşturduğu kovuk 13-24 aminoasitten oluşan hücre içine alınmış yani eksojen kaynaklı antijenleri CD4⁺ T hücrelerine sunar. Membranın distalinde yerleşen α -1 ve β -1 zincirleri oldukça polimorfik bir yapı gösterir. α -2 ve β -2 bölgeleri Ig benzeri yapılar oluştururlar².

Alfa zinciri A, beta zinciri ise B genleri tarafından kodlanır. Bu nedenle Sınıf II bölgesinde yer alan DR, DQ ve DP bölgeleri sırasıyla DRA ve DRB, DQA ve DQB, DPA ve DPB olarak ikiye ayrılırlar. DR bölgesinde alfa zinciri kodlayan tek gen varken, beta zinciri için 9 farklı bölge vardır (DRB1-9). Bunların bir kısmı kodlama yapmayan genler olup; sadece DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 kodlayıcı genlerdir. DRB genlerinin ancak % 6 kadarı kodlama yapar. Ekson 1 sinyal peptidi için kodlama yaparken, ekson 2 polimorfik olan β 1 bölgesi, ekson 3 korunan β 2 bölgesi, ekson 4-6 ise transmembran ve sitoplazmik bölümler için kodlama yaparlar. DRB1 1-

18 arasında değişen büyük HLA-DR molekülünü kodlarken DRB3, DRB4, DRB5, DRB1 antijenlerine bağlı olarak eksprese edilen sırasıyla DR53, DR54, DR51 antijenleri için kodlama yaparlar. DQB zinciride DRB gibi oldukça polimorfik iken DPB daha az polimorfiktir. HLA-DQ'nun alfa ve beta zincirlerini kodlayan genler HLA-DQA1 ve -DQB1'dir².

İnsanda MHC genleri Mendel kuralına göre ebeveynlerinden çocuklara geçiş göstermektedir. Her bir bireyin anne ve babasında bulunan her bir allel bir blok olarak alır. Tek bir kromozomda yer alan ve birbirine yakın lokuslarda bulunan alel kompleksleri bir Haplotip olarak adlandırılır. Bir bireyde bulunan 2 haplotip o bireyin HLA genotipini oluşturur. Homolog kromozomlar arasında bir segment değişiminin olması ise rekombinasyon olarak tanımlanır. Görülme sıklığı %1-3 olup; en sık HLA-A, HLA-DP bölgelerinde görülür. Her bölgede yer alan alellerin sayısı göz önüne alındığında: toplumlarda beklenen teorik değerden daha az sayıda haplotip bulunduğu görülür. Bu durum, bazı alellerin birlikteliğinin rasgele olmadığını desteklemektedir. Bu durum "Linkage Disequilibrium" olarak bilinir. Bu eğilim, en çok B-Cw, DRB1-DRB3/4/5, DRB1-DQB1 arasında olmak üzere HLA-B ile HLA-DQB arasındaki bölge boyunca görülmektedir. Örneğin A1 allelinin sıklığı 0.17 ve B8 allelinin sıklığı da 0.11 ise A1B8 genotipinin sıklığının, bunların çarpımına esit olması gerekir, yani $0.17 \times 0.11 = \%1.9$ olur. Oysa bu sıklık değişiklik toplumlarda %13 ile %40 arasında. Arada yerleşmiş olan kompleman genlerini de kapsayan bazı haplotipler "genişletilmiş haplotipler" olarak adlandırılır²⁻⁷.

HLA Tipini İsimlendirme ve Belirleme Yöntemleri

HLA tipinin belirlenmesi için eskiden serolojik yöntemler kullanılırken son yıllarda çok duyarlı yöntemlerle yapılabilmektedir. Serolojik olarak Sınıf I ve II moleküllerin gösterilmesi Lenfosit mikrositotoksite testi olarak tanımlanan bu yöntem 1960'lardan beri kullanılmaktadır. Son yıllarda daha çok DNA temeline dayanan yüksek çözünürlükte HLA tiplendirimi kullanılmaktadır. HLA tiplerini tanımlarken kullanılan terminoloji de kullanılan yöntemlerle ilişkilidir. Örneğin serolojik olarak tespit edilen DR2 aleli DNA temelli moleküler yöntemler ile DRB1*1501 olarak tanımlanmaktadır. DNA kullanılarak yapılan HLA tiplendirme işlemlerinin duyarlılığı farklı düzeylerde olabilir. Düşük çözünürlükte bir çalışmada lokusun adını takiben koyulan asteriksdan sonraki iki basamakta o alelin serolojik karşılığı olan numara yer alırken bunu takip eden 2 basamakta bilinmiyor anlamına gelecek şekilde "xx" yazılır (HLADRB1*15xx gibi). Yüksek çözünürlükte bir çalışmada ise alelin en azından 4 basamağının doğru olarak tanımlanmış olması gerekir (DrB1*1501 gibi) Organ/doku nakli planlanan alıcı-vericiler için

HLA-A,B ve DR lokus alellerinin tiplendirilmesi gerekir. Hemopoetik kök hücre naklinde bu lokus sayısının arttığını (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ gibi) görülür²⁻⁶.

Sekansa Özgü Oligonukleotidler Kullanarak Hibridizasyon Yapılması ("Sequence Specific Oligonucleotide Hybridisation",SSO) yöntemi ile genellikle bir HLA lokusunun PCR ile çoğaltılmasını takiben alellere özgün olan oligonukleotidler kullanılarak bu çoğalmış DNA segmenti ile özgün oligonukleotidlerin katı bir ortam üzerinde hibridizasyon sonucunda bireyin hangi HLA alelini taşıdığı gösterilmiş olur^{8,9}.

Sekansa Özgün Primerler Kullanılması ("Sequence Specific Priming", SSP): Bu metod da bir öncekinden farklı olarak hedef bölgeyi (alel) amplifiye edecek primerler kullanılır. Deneyde kullanılan primerler, hangi alel için hazırlanmışlar ise DNA'nın o aleli taşıyan kısmına bağlanarak PCR reaksiyonun başlamasını sağlarlar^{8,9}.

Dizilim Analizine Dayanan Tiplendirme (Sequence Based Typing (SBT)): Bu yöntem, çoğaltılmış olan DNA'nın denatüre edilerek (SSCP) ya da renatüre olmuş "DNA duplex"i olarak (heteroduplex analysis) elektroforez sırasında hareket farklarının tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Dizi analizi, zahmetli ve karmaşık bir işlem olmasına rağmen özellikle SSP veya SSO ile tiplendirme yapılamayan nadir HLA tiplerinde, akraba dışı nakillerde alıcı-verici farklılıklarını saptamada kullanılması yararlıdır^{8,9}.

Sonuç

İnsan Lökosit Antijenleri (HLA) "Majör Histokompatibilite kompleksi-Major Histocompatibility Complex Gen Region (MHC)" adı verilen bir gen bölgesinin kontrolü altındadır. Altıncı kromozom üzerinde bulunan bu bölgede MHC Sınıf-I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Sınıf-II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN) ve MHC Sınıf-III (C2, C4A, C4B, PF, TNF- a, b) antijenleri yer almaktadır.

Kaynaklar

1. Roitt IM, Delves PJ. Roitt's Essential Immunology, 10th Edition. New York, Blackwell Science, 2001.
2. Roth DB. T cells and MHC. In Immunology, 7th Edition (Eds D Male, J Brostoff, DB Roth, I Roithl):105-24. New York, Elsevier, 2006.
3. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA et al. Nomenclature for factors of the HLA System. Hum Immunol. 2005; 66:571-636.

4. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens*. 2010; 75:291-455.
5. Klein JAN, Sato A. The HLA system: first of two parts. *New Engl J Med*. 2000; 343:702-9.
6. Chinen J, Buckley RH. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125:324-35.
7. Kılıçturgay K. İmmünolojiye Giriş, 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Yayınevi, 1994.
8. The IMGT/HLA Database; <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/> (accessed July, 2013)
9. Hurley KC, Tang T, Jennifer NG, Hartzman RJ. HLA typing by molecular methods. In *Manual of Laboratory and Clinical Immunology 5th Edition* (Ed. NR Rose):1098-111. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1997.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Mustafa Yılmaz
Çukurova Üniv. Tıp Fak.
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Adana, Turkey
e-mail: yilmazm@cu.edu.tr