

## Kapitel 21

# Gewebetypisierung und Spenderauswahl für hämatopoetische Stammzelltransplantationen: HLA-System und Transplantationsgenetik

**Prof. Dr. med. John A. Hansen**

Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA (*übersetzt und modifiziert von Dr. med. Wolfram Ebell, Charité, Berlin*)

### *Einleitung*

Die Transplantation eines Organs von einem Individuum auf ein zweites löst Reaktionen aus, die den Abwehr-/Immun-Reaktionen nach Infektionen oder Impfungen ähneln. Wenn diese ausreichend stark verlaufen, kann es zur Abstoßung (Empfänger-gegen-Spender-Reaktion) oder umgekehrt zur Graft-versus-Host-Reaktion (Spender-gegen-Empfänger-Reaktion) kommen. Zur Abstoßung kommt es, wenn ausreichend viele und noch funktionstüchtige Abwehrzellen des Patienten die Radio-/Chemotherapie vor Transplantation überleben. Somit ist also zur Vermeidung einer solchen Abstoßung bei den meisten Erkrankungen eine ausreichende Unterdrückung des Abwehrsystems (Immunsuppression) **vor** Transplantation nötig.

Umgekehrt können Immunzellen, die sog. T-Lymphozyten, mit den Transplantaten übertragen werden und beim Empfänger eine Reaktion auslösen, die Graft-versus-Host-Reaktion (GVH-Reaktion oder GVHD) genannt wird. Zur Vermeidung oder Verminderung dieser GVH-Reaktion ist entweder eine ausreichende Immunsuppression **nach** Transplantation oder eine Entfernung der besagten T-Lymphozyten aus dem Transplantat vor der Gabe erforderlich.

Der Schweregrad beider Transplantationsreaktionen hängt wesentlich davon ab, wie gut die Gewebemerkmale von Spender

und Empfänger übereinstimmen, die von den Genen des HLA-Systems bestimmt werden.

### ***Das HLA-System***

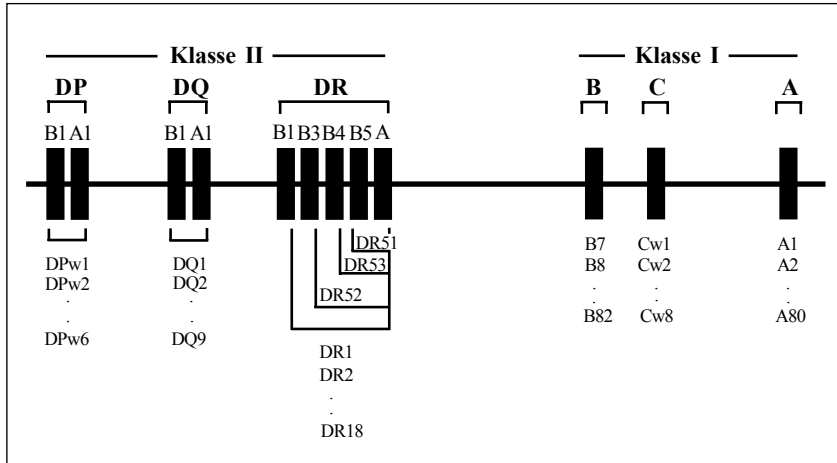
Die HLA-Merkmale werden von einer Gruppe nahe verwandter Gene kontrolliert, die als „Major-Histokompatibilitäts-Komplex“ (MHC) bezeichnet werden (Abb. 1). HLA-Merkmale finden sich auf der Oberfläche fast aller Zellen. Sie werden von fremden T-Lymphozyten erkannt und können mit speziellen HLA-Seren nachgewiesen werden. Die individuellen Gene, die für die HLA-Merkmale zuständig sind, werden als „Allele“ bezeichnet.

Die früher übliche serologische Testmethode kann die HLA-Merkmale bestimmten Gruppen zuordnen. Diese Methode erlaubt aber keine Feintypisierung. So stellen z. B. die beiden Merkmale DRB1\*0401 und DRB1\*0405 verschiedene Allele dar. Mit der serologischen Methode würden beide aber als DR04 typisiert. Obwohl die Merkmale DRB1\*0401 und DRB1\*0405 nahe verwandt sind, können sie doch von T-Zellen als unterschiedlich erkannt werden. Damit ist ein solcher Unterschied durchaus funktionell bedeutsam, und eine Spenderauswahl nach dem sehr groben Merkmal DR04 wäre nicht ausreichend, um eine genetische Übereinstimmung zu garantieren.

Die Gene des HLA-Systems liegen auf dem kurzen Arm von Chromosom 6, und zwar als Paar, von dem die eine Hälfte (Haplotyp) vom Vater, die zweite von der Mutter stammt. Auf jedem Haplotyp befinden sich wenigstens 6 verschiedene HLA-Merkmalgruppen, die für die Transplantation bedeutsam sind.

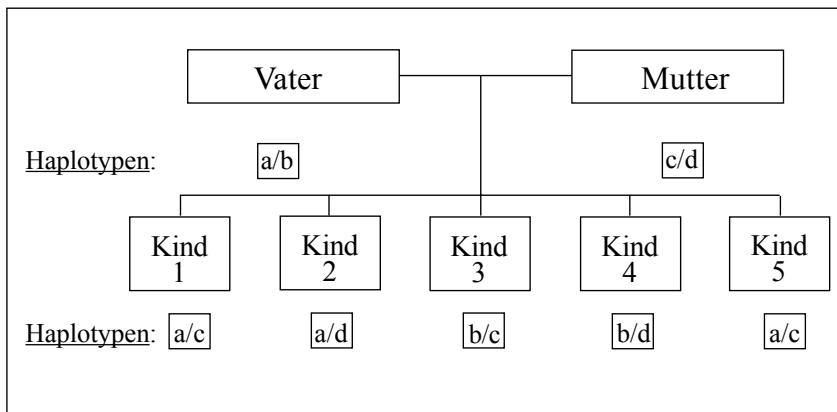
Die Merkmale HLA-A, B und C werden als Klasse I zusammengefasst, die Merkmale HLA-DR, DQ und DP als Klasse II. Die Klasse-I-Antigene bestehen an der Zelloberfläche aus zwei Eiweißketten, dem sog. Beta-2-Mikroglobulin und einer schweren, sog. Alpha-Kette, die von den HLA-A, B und C Genen bestimmt (kodiert) werden. Die Klasse-II-Antigene bestehen ebenfalls aus zwei Eiweißketten, die jeweils von den HLA-DR, DQ und DP

Alpha-Genen sowie den HLA-DR, DQ und DP Beta-Genen ko-  
diert werden. Schematisch ist dies in der Abb. 1 dargestellt.



**Abb. 1:** HLA-System

Die HLA-Gene werden, wie bereits erwähnt, je zur Hälfte von Vater und Mutter vererbt. Diese als Haplotyp bezeichneten Hälften verteilen sich innerhalb einer Familie wie folgt (Abb. 2).



**Abb. 2:** Vererbung des HLA-Musters

In diesem schematischen Beispiel vererbt der Vater die beiden Haplotypen a und b, die Mutter die Haplotypen c und d. Daraus ergibt sich eine Kombinationsmöglichkeit von 4 Haplotypen (a/c, a/d, b/c, b/d), die an die Kinder weitergegeben werden können und jeweils die bereits beschriebenen HLA-Merkmale A, B, C, DR, DQ und DP beinhalten. Statistisch wäre das 5. Kind wieder mit dem 1. Kind identisch. In der Praxis kann dies aber schon ein einziges Geschwisterkind sein - oder trotz zahlreicher Geschwister kein einziges dieser Kinder.

Lassen Sie uns auf die einzelnen HLA-Merkmale A, B, C (Klasse I), und DR, DQ, DP (Klasse II) zurückkommen. Wie schon erwähnt, bestehen die Merkmale A, B und C an der Zelloberfläche aus zwei Eiweißketten. Eine davon, das Beta-2-Mikroglobulin, unterscheidet sich nicht von Individuum zu Individuum. Die zweite, sog. schwere Kette, wird jedoch durch die entsprechenden HLA-Gene der Klasse I kodiert und weist eine große Vielfältigkeit (Polymorphismus) auf.

Die Merkmale DR, DQ und DP bestehen aus jeweils zwei schweren Ketten (Alpha- und Beta-Kette), die beide von HLA-Genen der Klasse II (A-Gen und B-Gen) kodiert werden. Die Alpha-Ketten (A-Gene) unterscheiden sich von Individuum zu Individuum nicht, während die Beta-Ketten (B-Gene) wiederum vielfältig sind. Die DR-Merkmale 1-18 entstehen aus einer Kombination des DRA- und DRB1-Gens. Gelegentlich kommen die Merkmale DR52 durch Kombination des DRA-Gens mit dem DRB3-Gen, DR53 durch Kombination des DRA-Gens mit dem DRB4-Gen sowie DR51 durch Kombination des DRA-Gens mit dem DRB5-Gen hinzu. Auch die HLA-Merkmale DQ und DP bestehen aus einer Alpha- und Beta-Kette, die von den beiden Genpaaren DQA1/DQB1 sowie DPA1/DPB1 kodiert werden.

Die HLA-Merkmale (Antigene) und ihre zugehörigen Gene (Allele) werden nach einer festen Übereinkunft benannt. Die Antigene an der Zelloberfläche, die mit der serologischen Methode typisiert werden, erhalten eine 2-stellige Zahl (z. B. A 02, DR 04, DR 11 etc.). Die Gen-Typisierung der HLA-Allele resultiert hingegen in einer 4- oder 5-stelligen Zahl. Zusätzlich weist ein Sternchen darauf hin, dass eine Gen-Typisierung (DNA-Typisierung) durch-

geführt wurde (z. B. A\*0201, A\*0202, DRB1\*0401 etc.). Eine solche DNA-Typisierung kann *niedrigauflösend* sein (z. B. A\*02XX, DRB1\*04XX etc.) und entspricht von der Qualität in etwa der serologischen Typisierung. Oder sie kann idealerweise *hochauflösend* sein (z. B. A\*0201, A\*0202 etc.).

### ***Die HLA-Typisierung***

Aus dem oben Gesagten ergibt sich, dass es zwei Typisierungsmöglichkeiten gibt, nämlich die serologische Typisierung und die Gen-Typisierung. Die Technik dieser Typisierungen und die daraus resultierende Spenderauswahl haben sich dabei in den letzten zwei Jahrzehnten erheblich verbessert.

#### ***Serologische Typisierung***

Für eine solche Typisierung werden Antikörper bzw. Antisera eingesetzt, die von transfundierten Patienten oder Frauen gewonnen werden, die mehrere Schwangerschaften hinter sich haben und dadurch in der Schwangerschaft gegen die vom Vater vererbten HLA-Merkmale des Kindes sensibilisiert wurden. Diese Methode war der Standard über mehr als 30 Jahre.

Die auf diese Weise gewonnenen Antikörper erkennen jedoch nicht alle individuellen Unterschiede des HLA-Systems, die im Gegensatz zu den Antikörpern von T-Zellen erkannt werden können und somit für die Transplantation relevant sind. Die serologische Typisierung dient deshalb heute allenfalls der Erstauswahl eines Spenders. Um alle genetischen HLA-Varianten feststellen und damit eine möglichst exakte Spenderwahl treffen zu können, wird die Gen-Typisierung hinzukommen müssen.

#### ***Gen-Typisierung***

Die Gen-Typisierung deckt entweder direkt die individuelle HLA-Sequenz der Kernsäuren (Nukleinsäuren) auf und wird dann als

„DNA-Sequenzierung“ bezeichnet, oder sie bedient sich indirekter Methoden, die SSP oder SSOP genannt werden und auf dem Einsatz spezifischer DNA-„Primer“ bzw. Sonden beruhen. Hinzu kommt die „Polymerase-Kettenreaktion“ (PCR), die zuvor das zu untersuchende DNA-Segment vervielfältigt (amplifiziert). Die Qualität der indirekten Methoden mittels SSP bzw. SSOP entspricht einer hochauflösenden Typisierung, hängt jedoch von der Untersuchungsstrategie und der Zahl der eingesetzten „Primer“ bzw. Sonden ab. Die Sequenzierung ist demgegenüber die sicherste, aber auch die teuerste und aufwendigste Methode, und somit schwerlich in großem Stil durchführbar.

Heute werden in vielen HLA-Laboratorien immer noch beide Methoden angewandt. Dabei dient die serologische Typisierung eher der Bestimmung der HLA-Merkmale A, B und C, während die Merkmale DR, DQ und DP mittels Gen-Typisierung bestimmt werden.

Auch wenn alle diese hochauflösenden Verfahren laborintensiv und zeitaufwendig sind, besteht heute doch die Übereinkunft, dass diese Methoden zur exakten HLA-Allel-Bestimmung und optimalen Spenderauswahl notwendig sind und ganz sicher in den nächsten Jahren noch weiterentwickelt werden. Die Erfahrungen zeigen, dass die Gen-Typisierung die früher zusätzlich angewendete „Gemischte Lymphozytenkultur“ ersetzen kann.

### ***HLA-Polymorphismus und Verteilung in der Bevölkerung***

Die große Zahl der HLA-Allele und die noch größere Kombinationsmöglichkeit der Allele bei der Zusammensetzung individueller HLA-Haplotypen führt theoretisch zu einer HLA-A, B, C, DR, DQ und DP Genotyp-Vielfalt, die die Zahl der Erdbevölkerung übersteigt.

Andererseits verteilen sich die HLA-Merkmale nicht gleichmäßig. Einige sind häufiger als andere. Auch setzen sich einige Haplotypen überzufällig häufig aus den gleichen Merkmalen zusammen.

So besteht für den Haplotyp HLA-A01, B08, DR03 eine rechnerische Häufigkeit von 0,02%. Die tatsächlich beobachtete Häufigkeit liegt jedoch bei 6,1%. Ein Individuum mit einem solchen häufigen Haplotyp wird also eher einen passenden Spender finden, als ein Patient mit einer seltenen Merkmalskombination.

### ***Spenderauswahl***

#### *HLA-identisches Geschwisterkind*

Der ideale Spender für eine hämatopoetische Stammzell-Transplantation ist ein gesundes HLA-identisches Geschwisterkind. Die Chance, dass zwei Geschwister HLA-identisch sind, beträgt 25%. Bei der durchschnittlichen Kinderzahl in Nordamerika und den meisten westlichen Industrienationen besteht etwa eine Chance von 30%, ein HLA-identisches Geschwisterkind zu haben. Bei genetischen Erkrankungen ist aber darauf zu achten, dass das potentielle Spenderkind nicht ebenfalls betroffen ist und dann natürlich als Spender entfällt.

#### *HLA-verträgliche unverwandte Spender*

Bei Fehlen eines passenden Geschwisterspenders stellt die Transplantation mit einem gut passenden unverwandten Spender heute die Methode der zweiten Wahl dar. Die Suche nach einem unverwandten Spender sollte so früh wie möglich erfolgen, bevor die Krankheitssituation kritisch wird. Die Suchen laufen über nationale Spender-Register und binden, wenn nötig, auch alle internationalen Spender-Banken ein.

Weltweit stehen gegenwärtig mehr als 9 Millionen Freiwilligen-spender zur Verfügung, die wenigstens für die HLA-Merkmale A und B typisiert sind. Mehr als 60% dieser Spender sind bereits auch für das Merkmal DR typisiert [Stand 2005]. Seit ca. 1999 liegt die Chance, einen HLA-A, B, DR identischen Spender zu

finden, bei 80%. Leider liegt die Chance für einige ethnische Minoritäten deutlich niedriger, da sie in den Registern unterrepräsentiert sind. Hier bleibt zu wünschen, dass sich diese Mitbürgergruppen vermehrt als Spender zur Verfügung stellen.

Zahlreiche potentielle Spender, die nach der Ersttypisierung geeignet erscheinen, werden nach der erneuten Typisierung doch entfallen müssen. So liegt die Chance bei 40%, dass ein nach der Ersttypisierung HLA-A, B, DR-identischer Spender auch bei der hochauflösenden DNA-Typisierung DRB1-Allel-identisch ist.

Liegen 2 oder 3 HLA-A, B, DR-identische Spender vor, steigt die Chance auf einen DRB1-identischen Spender auf 65-90%. Legt man die engeren Übereinstimmungskriterien zugrunde, liegt die Chance auf einen solchen idealen Spender insgesamt nicht mehr bei 80%, sondern nur noch bei 50%.

Die Suchdauer betrug 1993 im Durchschnitt noch 5,5 Monate (Schwankungsbreite 1 bis 48 Monate). Heute liegt sie in der Regel unter 3 Monaten, was für die meisten Patienten ausreichend ist. Für Patienten mit schweren aplastischen Anämien, Myelodysplasien und hoher Blastenzahl sowie Hochrisiko-Leukämien kann die Zeit aber immer noch kritisch lang sein. Deshalb ist bei jedem Patienten frühzeitig im Rahmen der Therapieplanung zu klären, ob eine unverwandte Transplantation infrage kommt und ein potentieller Spender zur Verfügung steht.

#### *HLA-partiell-identischer bzw. halbidentischer Familienspender*

Das Risiko einer Transplantatabstoßung oder umgekehrt einer Spender-gegen-Empfänger-Reaktion (GVH-Reaktion) nimmt mit dem Grad der HLA-Differenz zu. Dennoch können Transplantationen ohne weitere Transplantatmodifikationen mit Spendern erfolgreich sein, die lediglich *einen* Unterschied in den HLA-A, B- oder DR-Merkmalen aufweisen.

Besteht mehr als eine HLA-Differenz, muss in der Regel eine Aufarbeitung des Transplantats zur Vermeidung einer ansonsten tödlich verlaufenden GVH-Reaktion durchgeführt werden. Dabei



werden entweder die kritischen T-Lymphozyten aus dem Transplantat entfernt, oder umgekehrt die benötigten Stammzellen so angereichert, dass sie keine kritische Zahl an T-Zellen mehr enthalten.

Leider sind solche HLA-differenten Transplantationen bei Patienten mit Fanconi-Anämie (aber auch mit anderen Erkrankungen) nicht in gleicher Weise erfolgreich, wie solche mit HLA-passenden Geschwistern oder unverwandten Spendern. Zumal solche HLA-differenten Transplantationen eine intensivere Vorbehandlung (Konditionierung) zur Verhinderung einer Abstoßung und eine verstärkte Immunsuppression zur Vermeidung einer GVH-Reaktion erfordern, und dies gerade von Fanconi-Anämie-Patienten nicht gut vertragen wird. Sie stellen also allenfalls die Methode der dritten Wahl dar.

### ***Zusammenfassung***

Das Vorhandensein eines Spenders und die ideale HLA-Übereinstimmung stellen immer noch begrenzende Faktoren für Patienten dar, die einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation bedürfen. Die Wahl des richtigen Transplantationszeitpunkts kann kritisch für den Erfolg sein, und eine Spendersuche bleibt zeitaufwendig. Deshalb sollte frühzeitig im Rahmen der Therapieplanung eine eventuelle Transplantation bedacht werden, um die zeitgerechte Identifizierung eines passenden Spenders sicherzustellen.

Die Kriterien für die Spenderauswahl entwickeln sich ständig weiter. Wenn immer möglich, sollte die Suche so lange fortgeführt werden, bis ein idealer Spender gefunden wird. Jeder HLA-Allel-Unterschied erhöht das Risiko der Transplantatabstoßung und der GVH-Reaktion. Die Risiken solcher HLA-differenten Transplantationen haben in der Vergangenheit gerade bei Fanconi-Anämie-Patienten zur Vorsicht geraten.

Wirksamere immunsuppressive Therapien und weniger toxische Maßnahmen zur Beseitigung maligner Zellen sind nötig, um die

Transplantation zukünftig sicherer und effektiver zu machen und diese lebensrettende Maßnahme einer größeren Zahl von Patienten zukommen zu lassen.