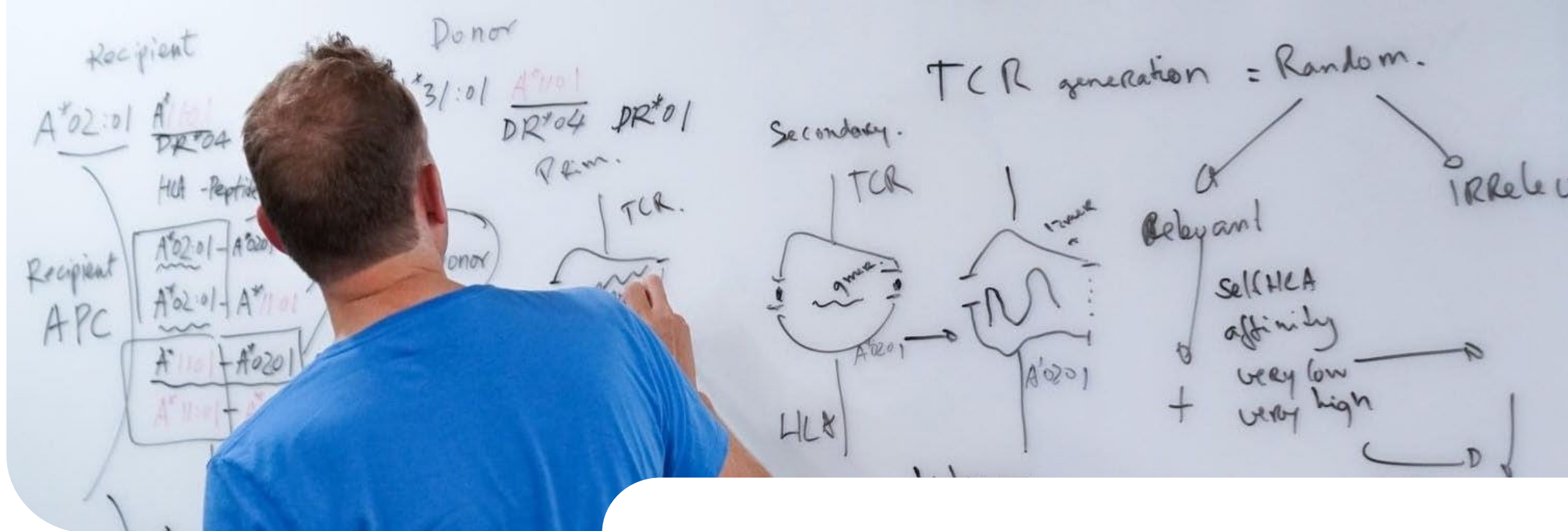




HLA epitopen: de sleutel tot de juiste HLA (mis)match

Eric Spierings (e.spierings@umcutrecht.nl)



UMC Utrecht

Nierpatiënten Vereniging Nederland
Wetenschapsdag 2023

disclosure:

- Het UMCU heeft diverse octrooien (ingediend) met betrekking tot het inschatten van immuunreactiviteit tegen vreemd HLA
- Ik sta op deze octrooien/octrooi aanvragen vermeld als uitvinder
- Ik ben wetenschappelijk adviseur voor PIRCHE AG

Inhoud van de presentatie

- **HLA epitopen – Hoe, wat en waarom?**
 - B cel epitopen
 - T cel epitopen
- **Klinische studies met HLA epitopen – een selectie**
- **Virussen en HLA epitopen – Recente nieuwe inzichten**
- **Op weg naar implementatie?**



HLA epitopen:

Hoe, wat en waarom?

Nierpatiënten Vereniging Nederland
Wetenschapsdag 2023

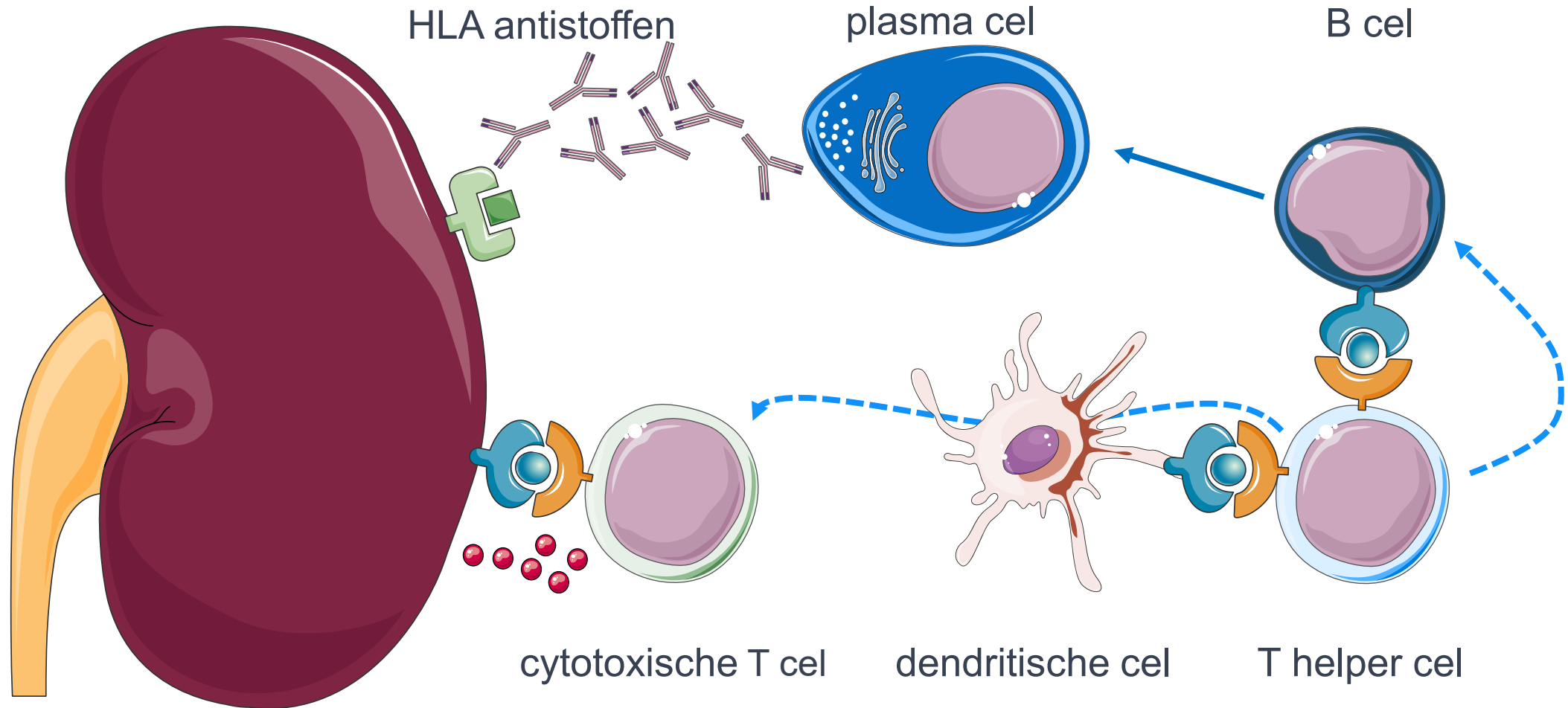


UMC Utrecht

Kenmerken van het adaptieve afweersysteem

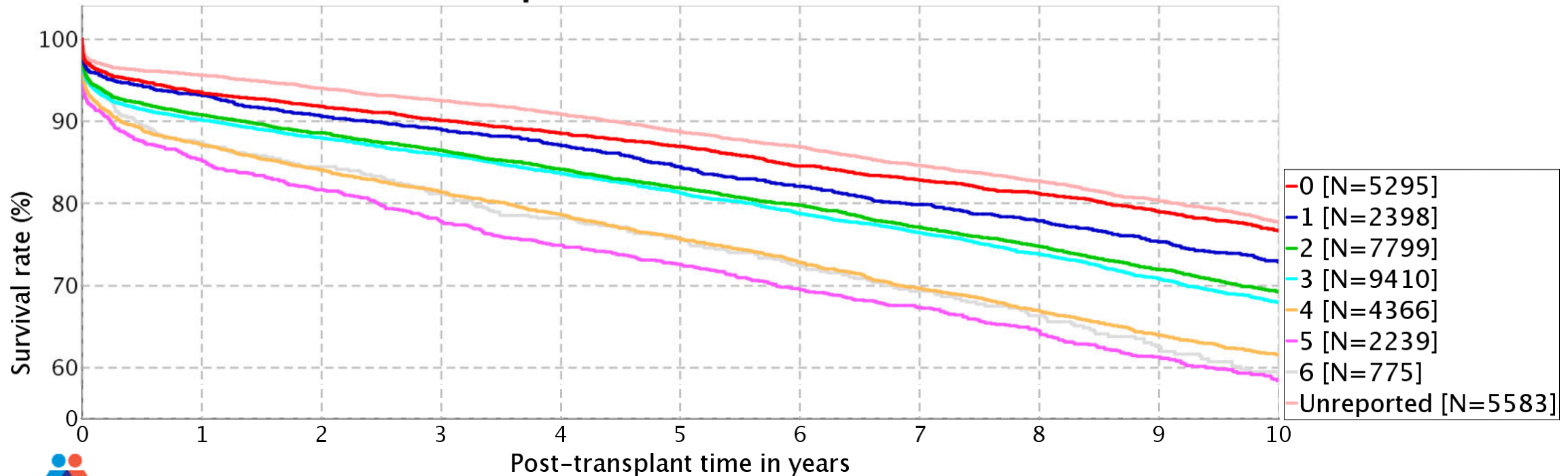
- Het adaptieve afweersysteem **past zich aan** aan specifieke bedreigingen
- Dit systeem produceert **antilichamen**, **B cellen** en **T-cellen**
- Deze componenten **herkennen** lichaamsvreemde componenten, zoals bacteriën en virussen, en **onthouden** deze om ze in de toekomst effectief te bestrijden
- Het biedt **langdurige** immuniteit

Specifieke afweerreacties na transplantatie

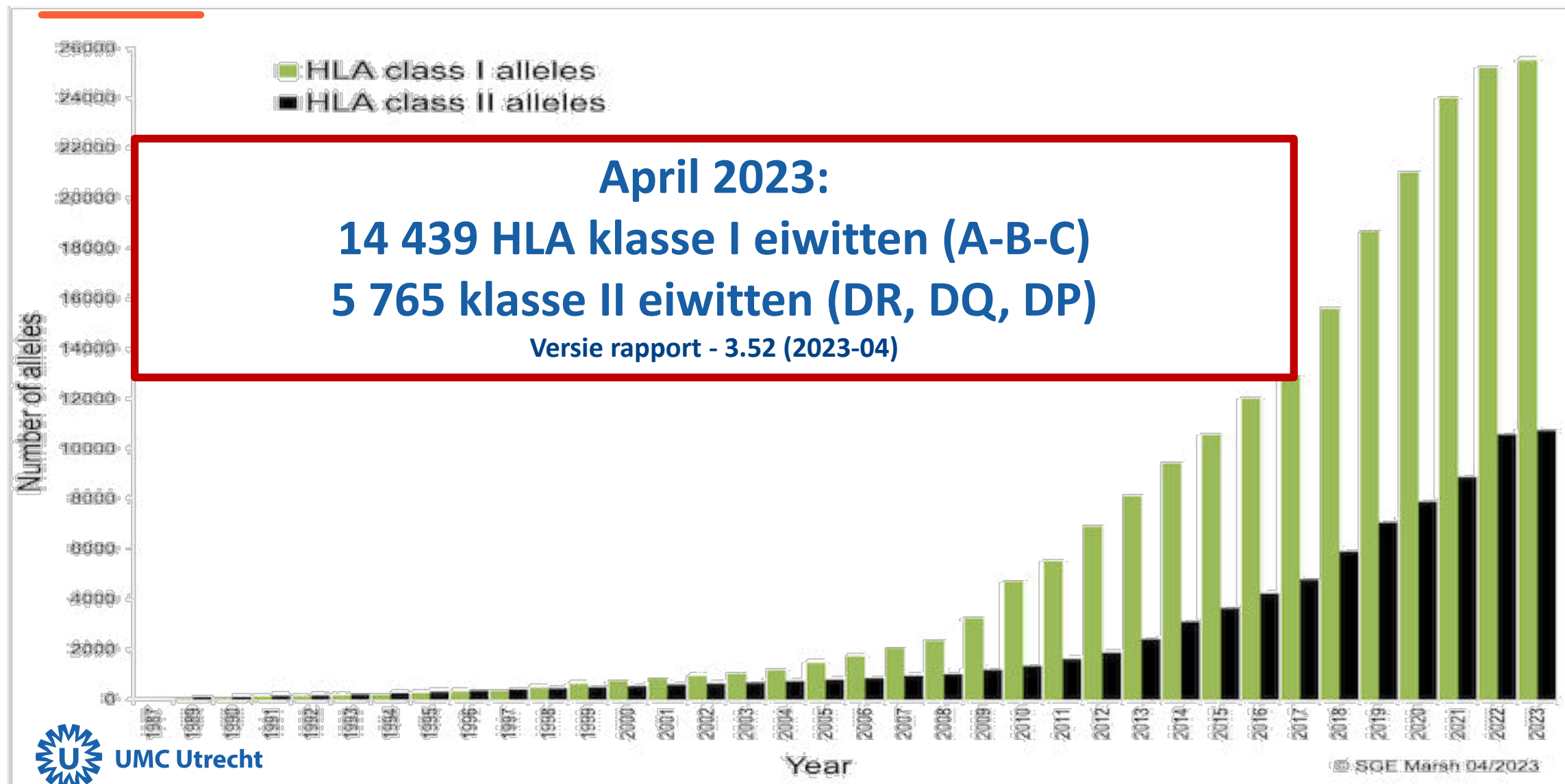


HLA mismatches verlagen de kans op succes

Kidney only transplant death censored graft survival rates stratified by HLA Mismatches. Transplants: 01.01.1999 to 01.01.2009



Er zijn meer dan 20 000 HLA varianten bekend



Kans op een volledige HLA match is zeer klein

Lage resolutie (serologische) typering

Ontvanger

Donor

HLA	A2, A11	HLA	A2, A24
	B40, B44		B40, B44
	DR1, DR7		DR1, DR7

Hoge resolutie typering (DNA sequencing)

Ontvanger

Donor

HLA	A*02:01, A*11:01	HLA	A* 02:02 , * 24:02
	B*40:01, B*44:03		B* 40:02 , * 44:02
	C*03:04, C*03:04		C* 02:02 , * 05:01
	DRB1*01:01, DRB1*07:01		DRB1* 01:02 , *07:01
	DQB1*05:01, DQB1*03:03		DQB1*05:01, * 02:02

Lage resolutie mismatch	Aantal	Percentage
0 mismatch	5295	16,4%
1 mismatch	2398	7,4%
2 mismatches	7799	24,2%
3 mismatches	9410	29,1%
4 mismatches	4366	13,5%
5 mismatches	2239	6,9%
6 mismatches	775	2,4%

8 van de 10 HLA eiwitten zijn niet gelijk tussen donor en ontvanger

HLA is big data – een rekenvoorbeeld

HLA Klasse I			
Locus	HLA-A	HLA-B	HLA-C
Allelen	7793	9274	7761
Eiwitten	4548	5580	4311

IPD-IMGT/HLA database
Version report - 3.52 (2023-04)

- HLA-A kent momenteel **4548 eiwitvarianten**
- Zonder enige matching vooraf leidt dit theoretisch tot ongeveer **20×10^6 gemismatchte HLA-A combinaties**
- Een **reductie van deze complexiteit** is noodzakelijk om acceptabele en niet-acceptabele mismatches te benoemen
- Dit kan door ieder HLA eiwit op te splitsen in de **eenheden** zoals **die door het afweersysteem herkend kunnen worden**

Definitie van een epitoot

epitoot

[ěp'ĩ-tōp']

zelfst. naamw.

de **positie** (τοπος) op (επι) een lichaams-vreemd eiwit leidend tot een afweerreactie

B-cel epitoot

[bě sěl ěp'ĩ-tōp']

zelfst. naamw.

epitoot welke in staat is een **B-cel** respons op te wekken

T-cel epitoot

[bě sěl ěp'ĩ-tōp']

zelfst. naamw.

epitoot welke in staat is een **T-cel** respons op te wekken

Welke mismatch wordt
immunologisch het beste
getolereerd?

Hoe gaat het adaptieve afweersysteem
om met deze verschillen?

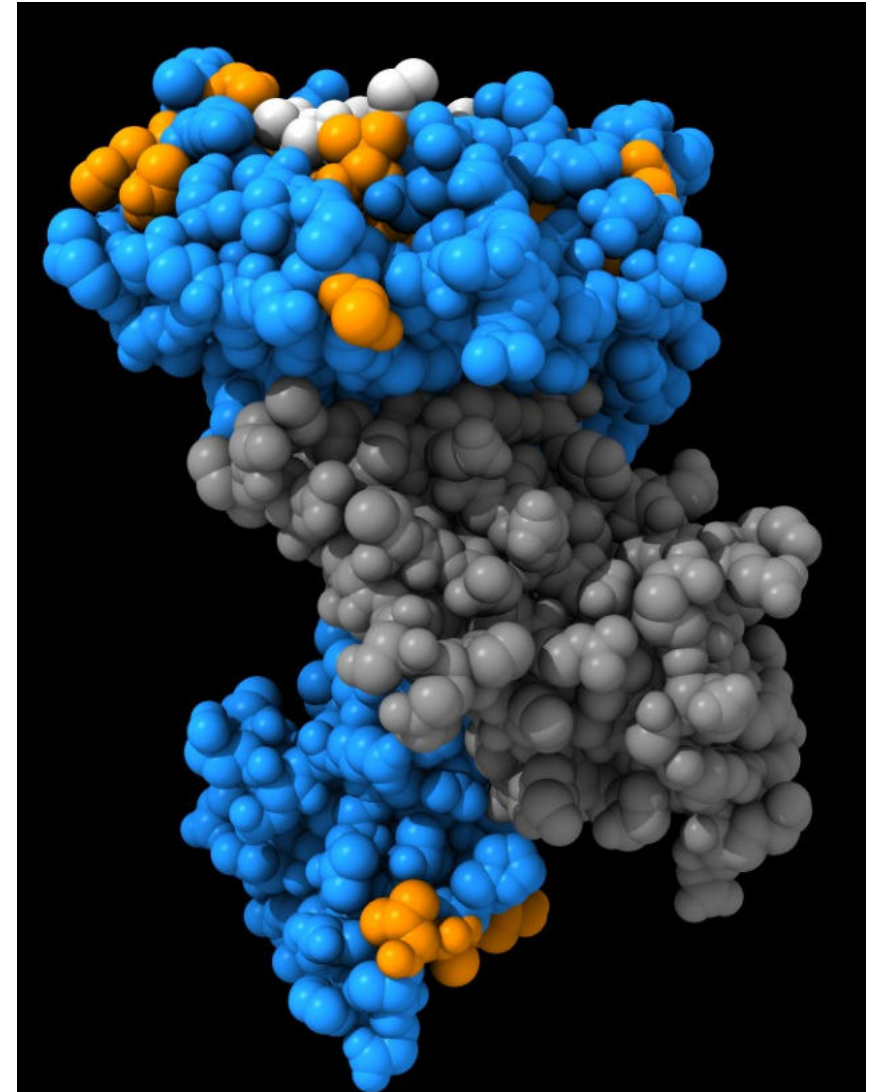
HLA epitopen



UMC Utrecht

HLA varianten verschillen slechts beperkt van aminozuren

AA Pos.	10	20	30	40	50
A*01:01	GSHSMRYFFT	SVSRPGRGEP	RFIAVGYVDD	TQFVRFDSDA	ASQKMEPRAP
A*02:01	-----	-----	-----	-----	---R-----
AA Pos.	60	70	80	90	100
A*01:01	WIEQEGPEYW	DQETRNMKAH	SQTDRLNLGT	LRGYYNQSED	GSHTIQIMYG
A*02:01	-----	-G-KV----	---H-VD---	-----A-	---V-R---
AA Pos.	110	120	130	140	150
A*01:01	CDVGPDGRFL	RGYRQDAYDG	KDYIALNEDL	RSWTAADMAA	QITKRKWEAV
A*02:01	---S-W---	---H-Y---	-----K---	-----	-T-H--A-
AA Pos.	160	170	180	190	200
A*01:01	HAAEQRRVYL	EGRCVDGLRR	YLENGKETLQ	RTDEPKTHMT	HHPISDHEAT
A*02:01	-V--L-A-	--T-EW---	-----	---A-----	--AV-----
AA Pos.	210	220	230	240	250
A*01:01	LRCWALGFYP	AEITLTWQRD	GEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	FQKWAADVVP
A*02:01	-----S---	-----	-----	-----	-----
AA Pos.	260	270	280	290	300
A*01:01	SGEEQRYTCH	VQHEGLPKPL	TLRWELSSQP	TIPIVGIIAG	LVLLGAVITG
A*02:01	--Q-----	-----	-----P-	-----	---F-----
AA Pos.	310	320	330	340	
A*01:01	AVVAVMWRR	KSSDRKGGSY	TQAASSDSAQ	GSDVSLTACK	V
A*02:01	-----	-----	S-----	-----	-



Regel 1: het adaptieve afweersysteem tolereert “zelf”

- B cellen en T cellen die reageren tegen lichaamseigen eiwitten worden er tijdens hun “opleiding” uitgefilterd.
 - Voor B cellen gebeurt dit in het beenmerg
 - Voor T cellen gebeurt dit in de thymus (zwezerik)
 - Deze eliminatie gebeurt om auto-immuunreacties te voorkomen
- ➡ **Overeenkomstige onderdelen** van HLA moleculen worden dus **niet** als **vreemd** herkend

HLA varianten verschillen slechts beperkt van aminozuren

AA Pos.	10	20	30	40	50
A*01:01	GSHSMRYFFT	SVSRPGRGEP	RFIAVG YVDD	TQFVRFDSDA	ASQKMEPRAP
A*02:01	-----	-----	-----	-----	---R-----

AA Pos.	60	70	80	90	100
A*01:01	WIEQEGPEYW	DQETRNMKAH	SQTD RANLGT	LRGYYNQSED	GSHTIQIMYG
A*02:01	-----	-G--KV--	---H-VD--	-----A--	---V-R---

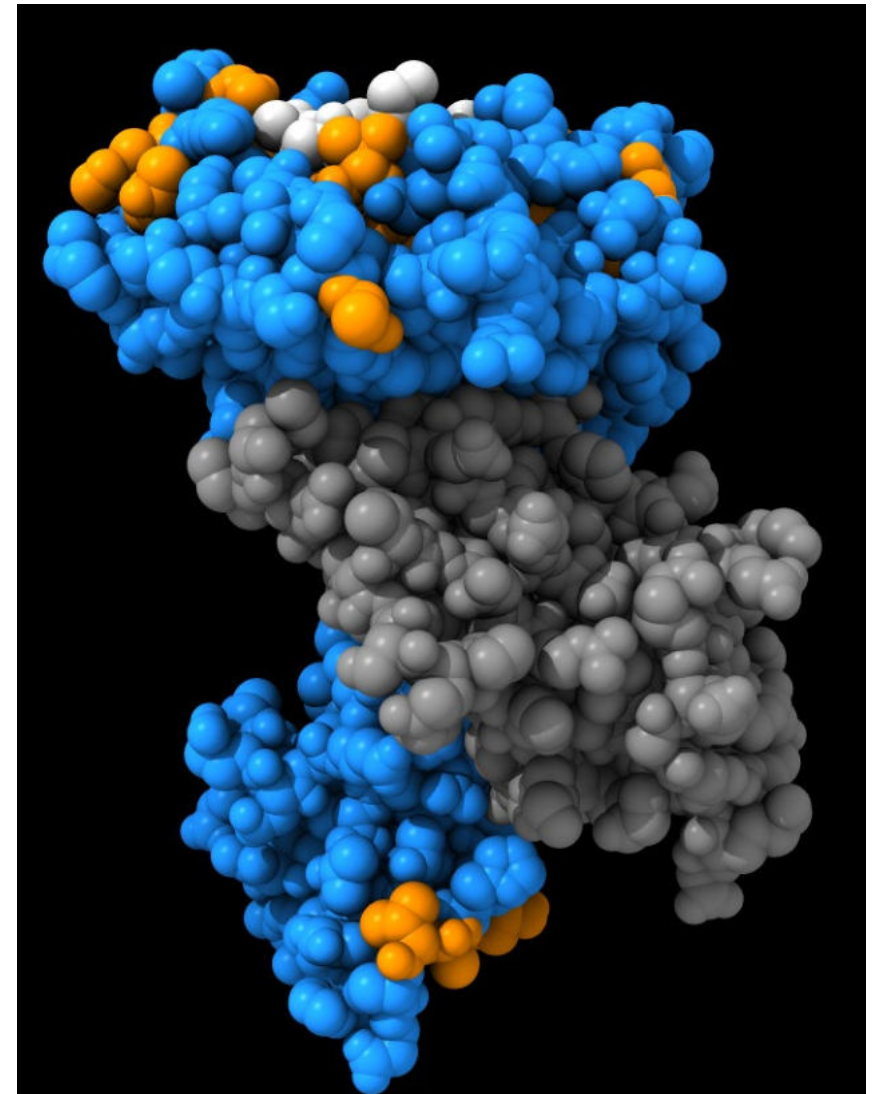
AA Pos.	110	120	130	140	150
A*01:01	CDVGPDGRFL	RGYRQDAYDG	KDYIALNEDL	RSWTAADMAA	QITKRKWEAV
A*02:01	---S-W---	---H-Y---	-----K---	-----	-T--H---A

AA Pos.	160	170	180	190	200
A*01:01	HAAEQRRVYL	EGRCVDGLRR	YLENGKETLQ	RTDPPKTHMT	HPISDHEAT
A*02:01	-V--L-A--	--T--EW--	-----	---A-----	--AV-----

AA Pos.	210	220	230	240	250
A*01:01	LRCWALGFYP	AEITLTWQRD	GEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	FQKWAADVVP
A*02:01	---S---	-----	-----	-----	-----

AA Pos.	260	270	280	290	300
A*01:01	SGEEQRYTCH	VQHEGLPKPL	TLRWELSSQP	TIPIVGIIAG	LVLLGAVITG
A*02:01	--Q-----	-----	---P---	-----	---F-----

AA Pos.	310	320	330	340
A*01:01	AVVAVMWRR	KSSDRKGGSY	TQAASSDSAQ	GSDVSLTACK V
A*02:01	-----	-----	S-----	-----



Tolerantie geldt voor alle zelf-HLA varianten

	10	20	30	40	50
B*51:01	GS	HS	MR	YFY	T
B*35:01	---	---	---	---	---
B*41:01	---	---	---	---	---
	60	70	80	90	100
B*51:01	WIE	QEG	PEY	W	DR
B*35:01	---	---	---	---	---
B*41:01	---	---	---	---	---
C*04:01	---	---	---	---	---
A*25:01	---	---	---	---	---
	110	120	130	140	150
B*51:01	CD	VGP	DGR	LL	RG
B*35:01	---	---	---	---	---
B*41:01	---	---	---	---	---

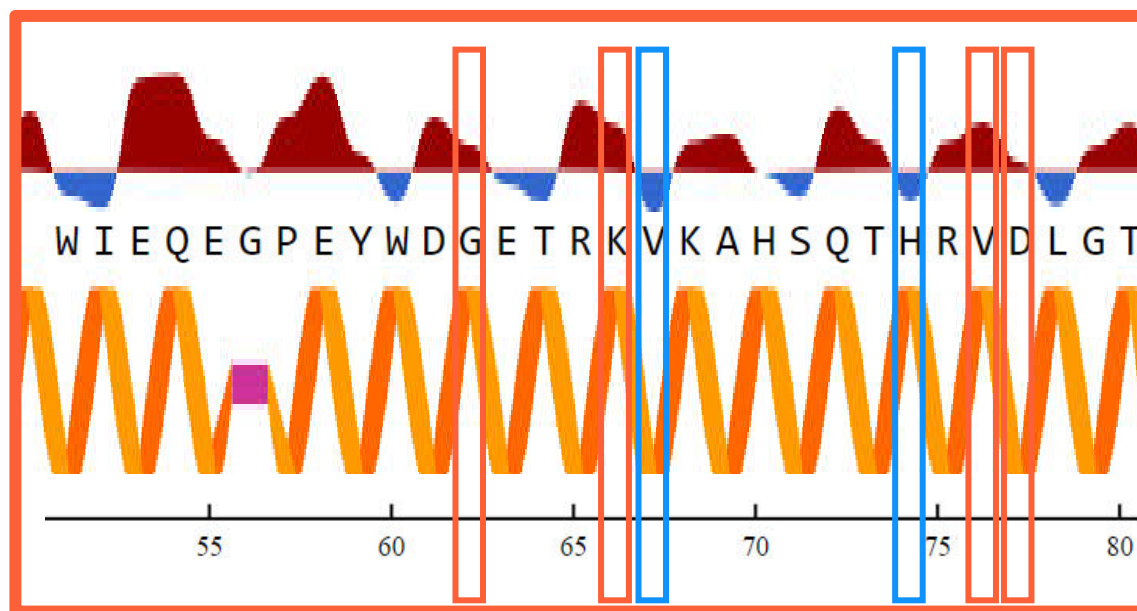
Regel 2: antistof herkent toegankelijke posities in 3D

- Aminoszuren aan de “**binnenkant**” van een eiwit zijn **niet toegankelijk**
- Aminoszuren aan de “**buitenkant**” van een eiwit zijn **wel toegankelijk**
- Om herkend kunnen worden door een **antistof** moet een aminoszuur aan de buitenkant zitten

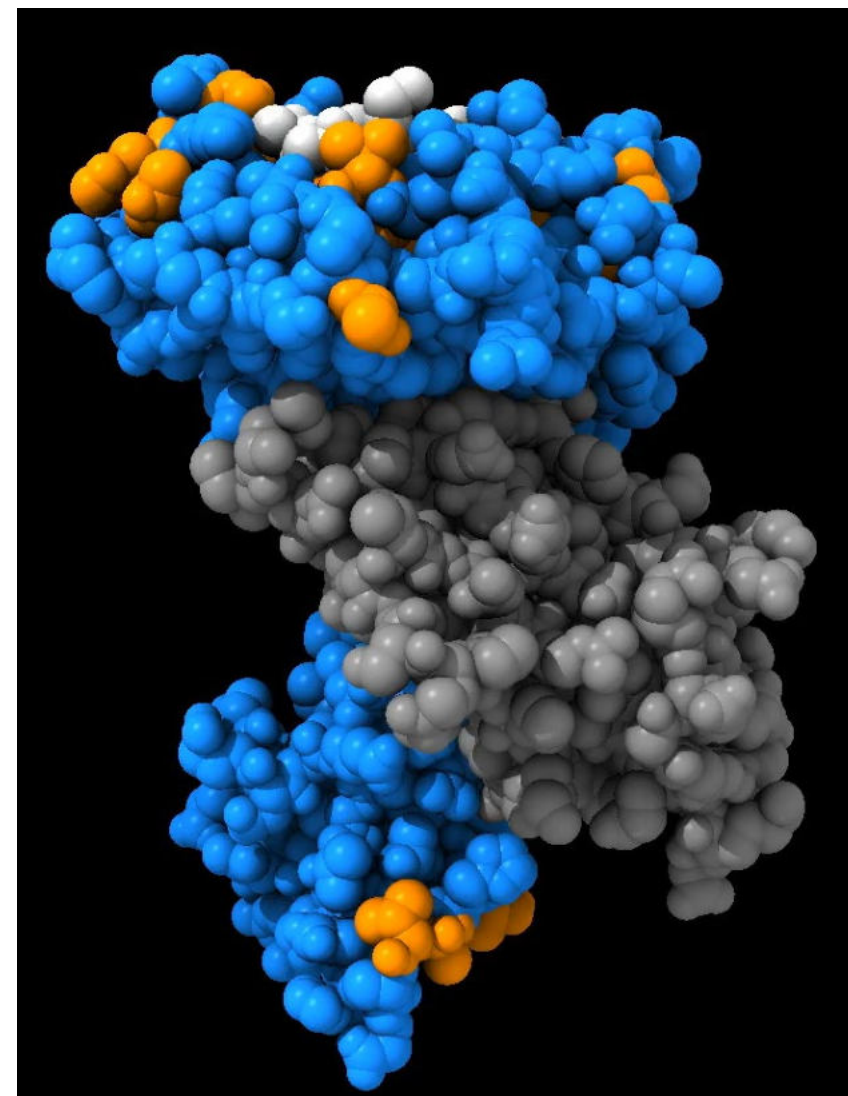
Welke varianten zitten aan de buitenkant?

AA Pos.	10	20	30	40	50
A*01:01	GSHSMRYFFT	SVSRPGRGEP	RFIAVG YVDD	TQFVRFDSDA	ASQKMEPRAP
A*02:01	-----	-----	-----	-----	---R-----

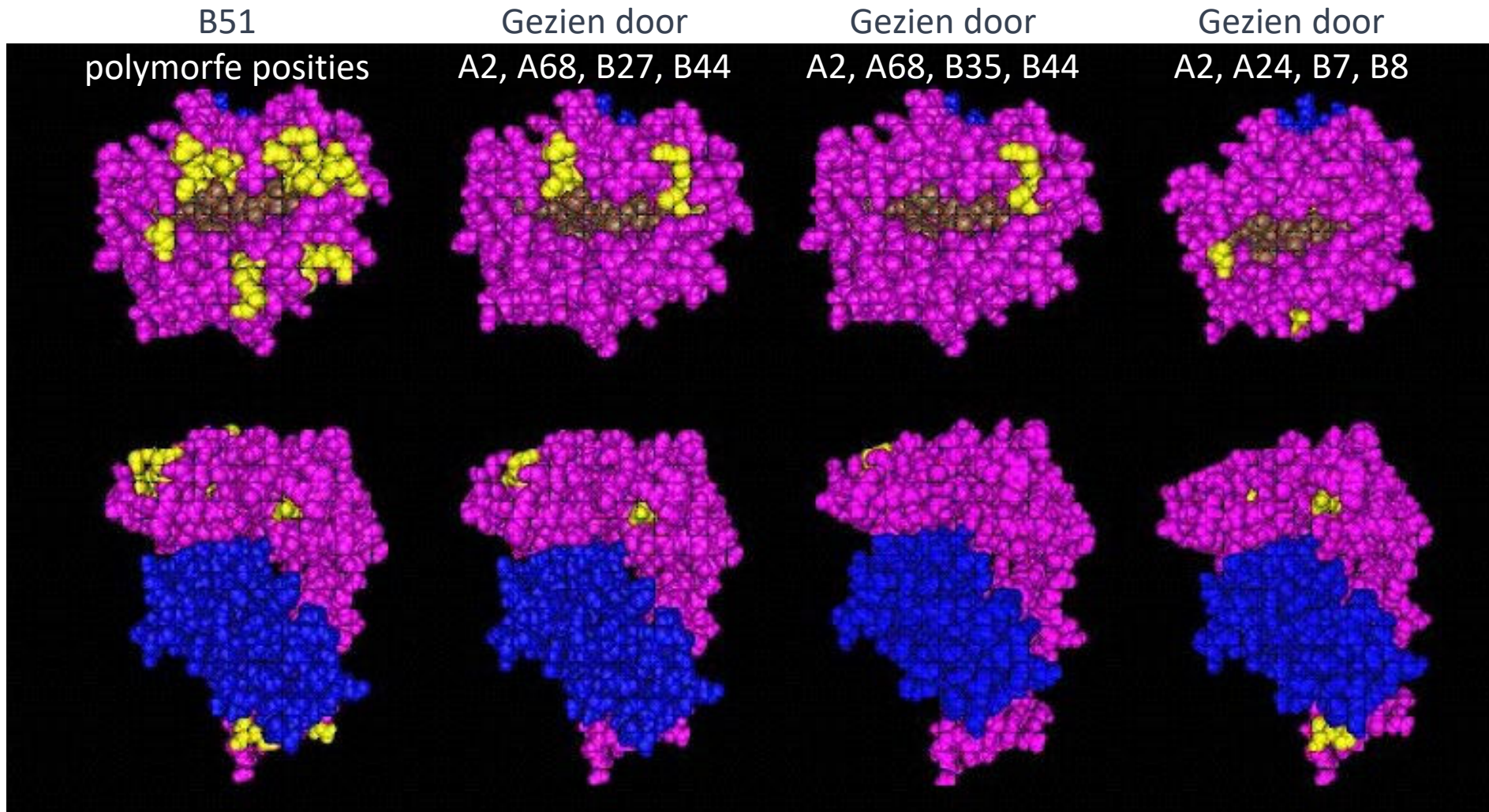
AA Pos.	60	70	80	90	100
A*01:01	WIEQEGPEYW	DQETRNMKAH	SQTD RANLGT	LRGYNQSED	GSHTIQIMYG
A*02:01	-----	-G---KV---	---H-VD---	-----A	---V-R---



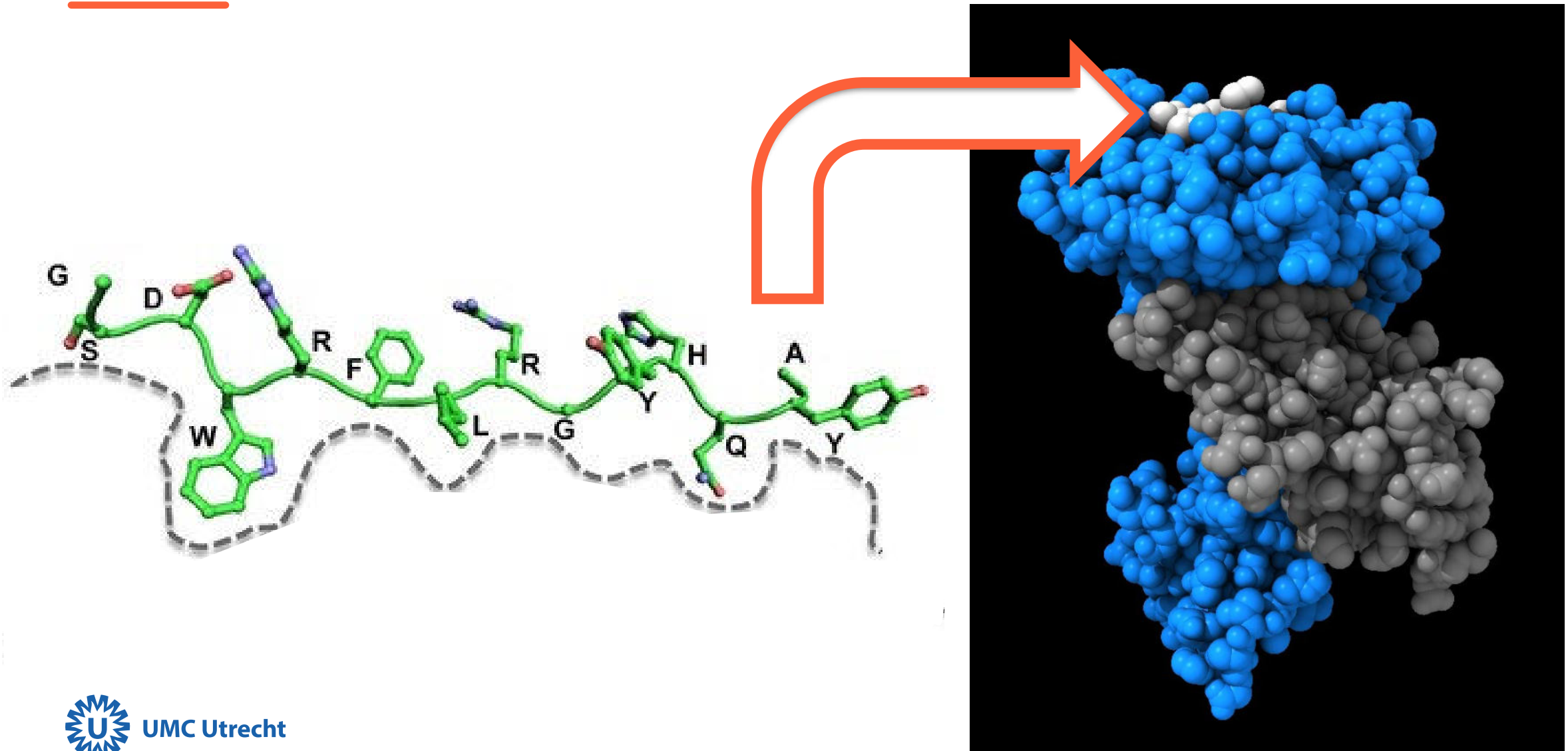
Relative Surface Accessibility: ▲ Red is exposed and blue is buried, thresholded at 25%.
Secondary Structure: 🌀 Helix, 📏 Strand, 📏 Coil.
Disorder: 📏 Thickness of line equals probability of disordered residue.



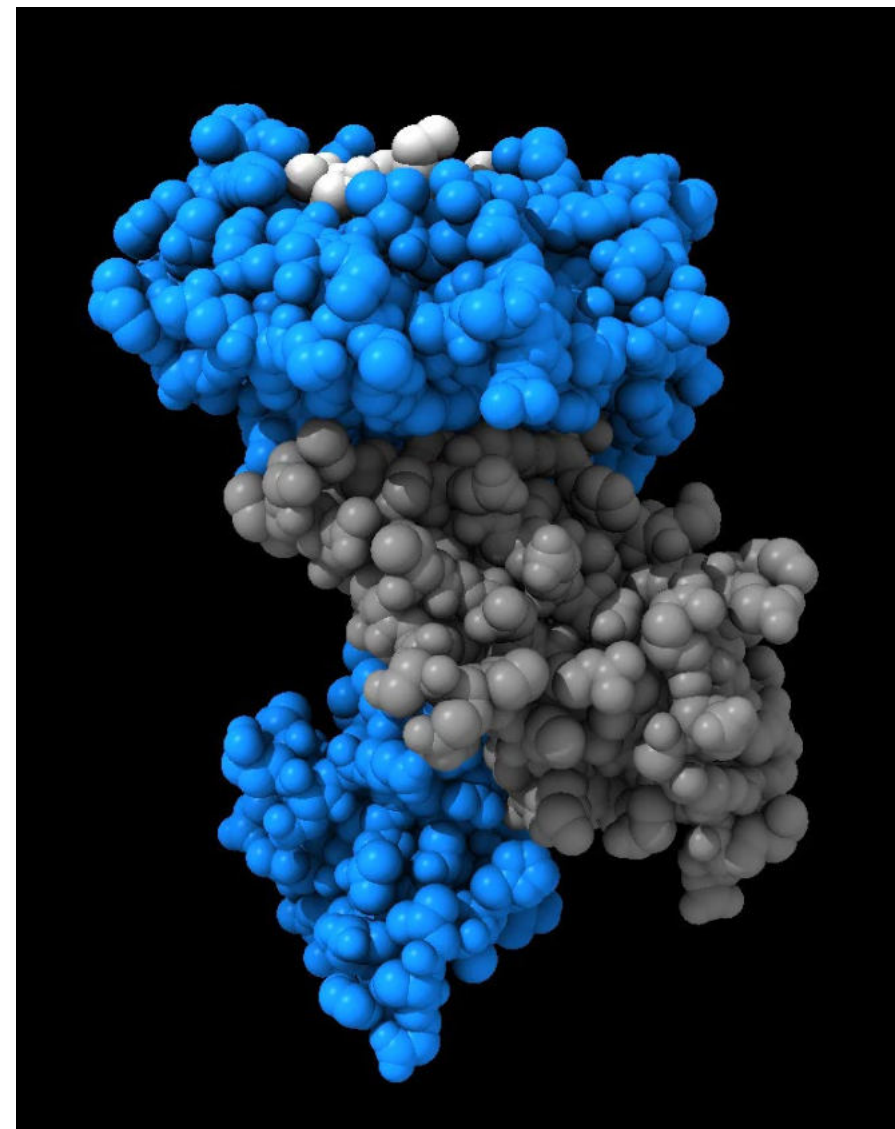
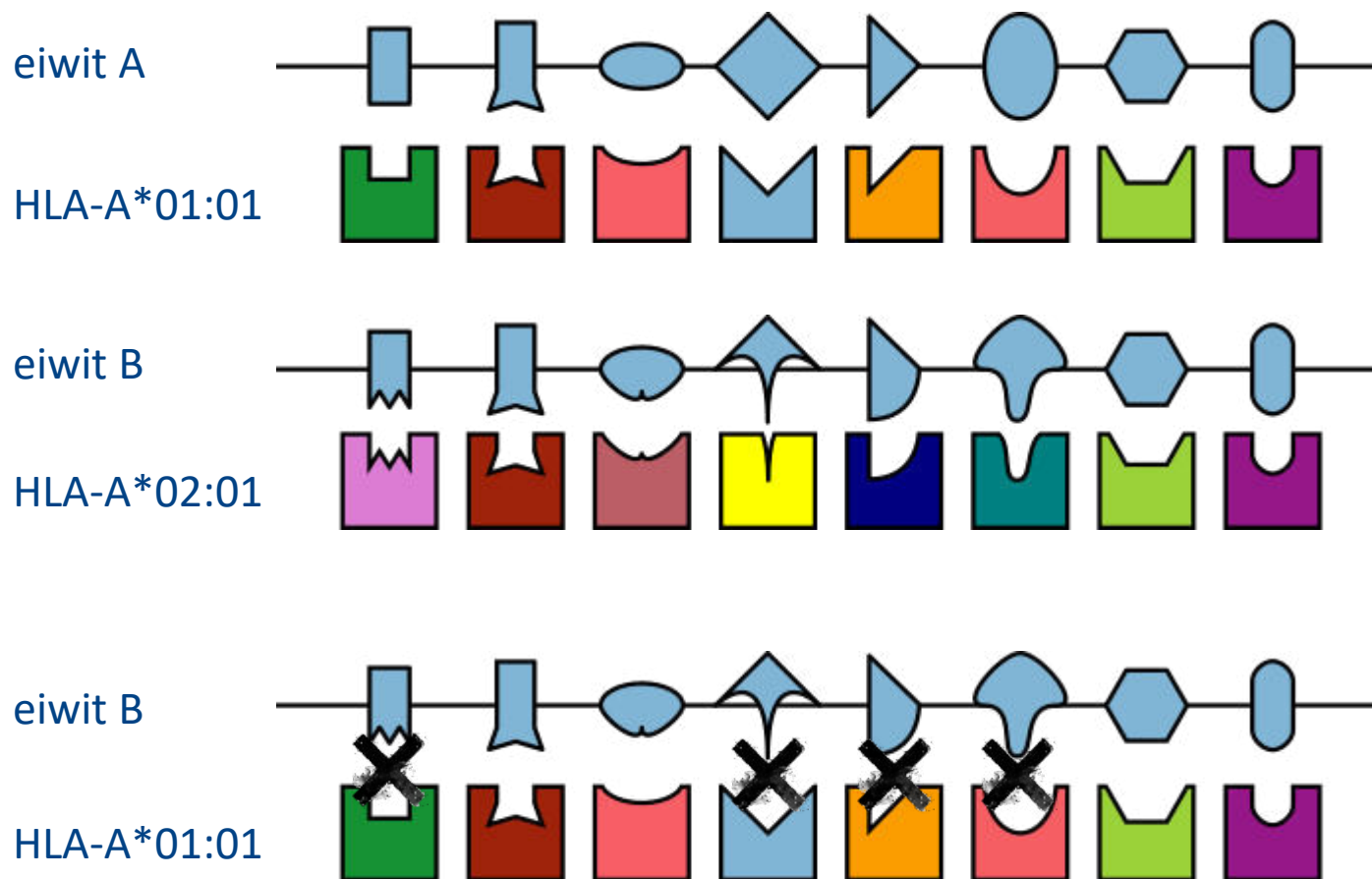
Hetzelfde antigeen door andere ogen



Regel 3: T cel herkent stukjes eiwit in HLA

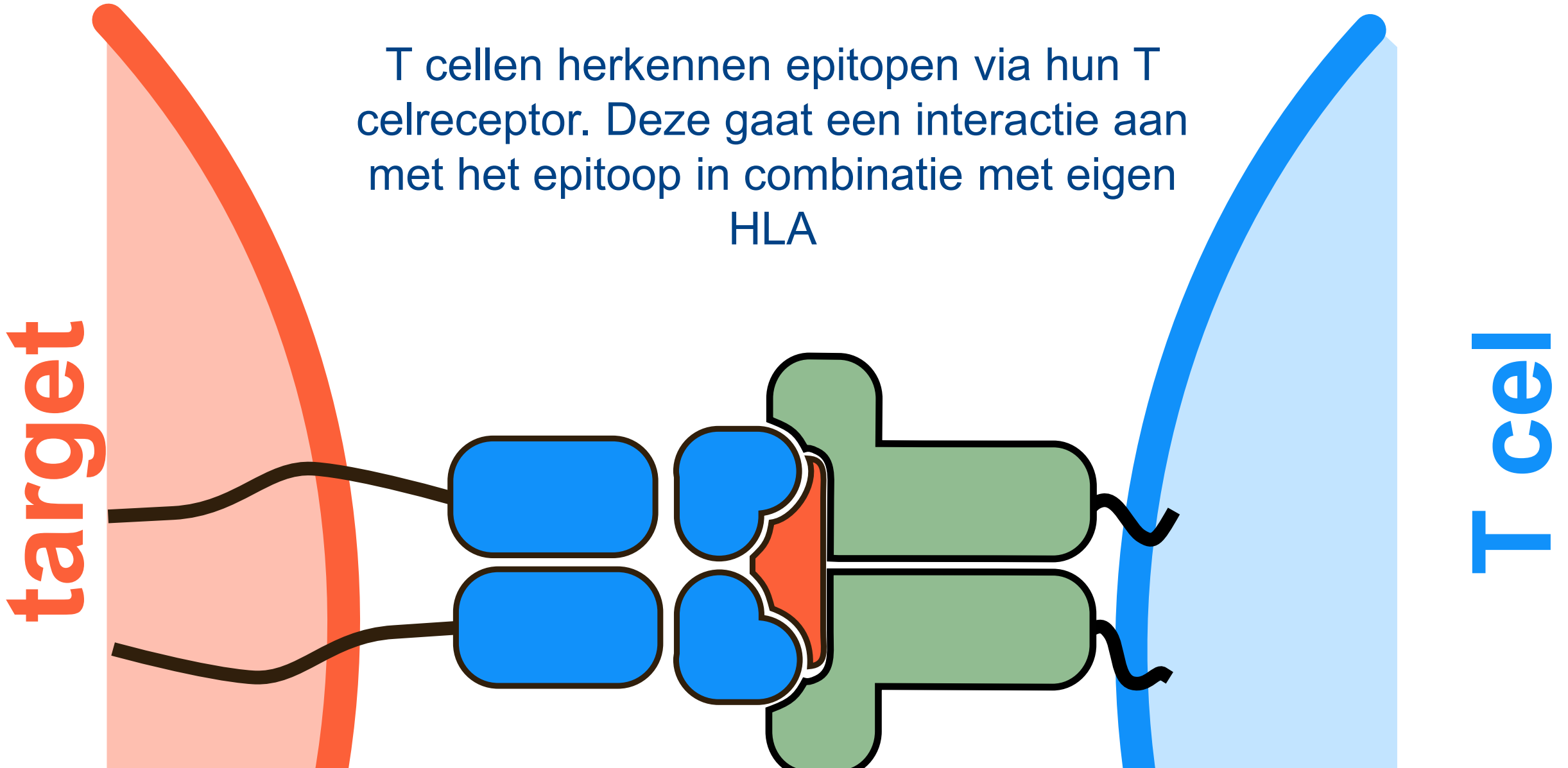


Regel 3: T cel herkent stukjes eiwit in HLA



Epitoopherkenning door T cellen via HLA

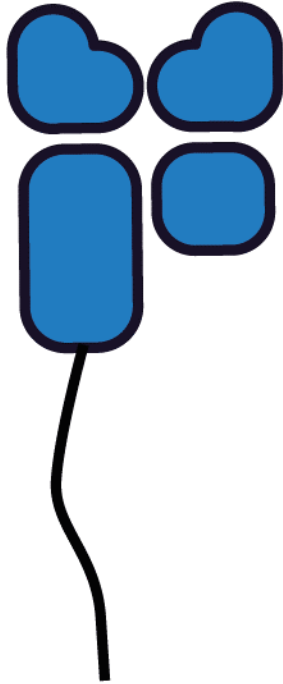
T cellen herkennen epitopen via hun T celreceptor. Deze gaat een interactie aan met het epitooop in combinatie met eigen HLA



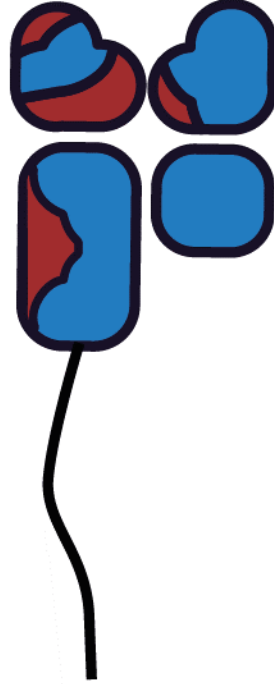
Regel 4: HLA presenteert ook (vreemd) HLA

- Vreemd HLA van de donor kan in stukjes **afgebroken** worden (peptiden)
- Deze peptiden kunnen **binden aan het eigen HLA** van de ontvanger
- T cellen kunnen dit **complex** als vreemd herkennen en een respons geven
- Daarmee wordt het een **T-cel epitoot**

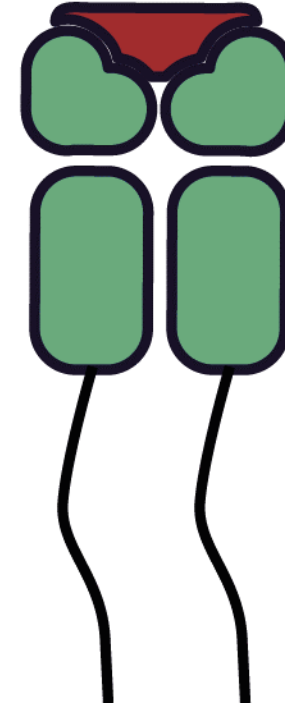
Een predictiemodel HLA presentative in transplantatie



recipient
HLA class I



donor
HLA class I



recipient
HLA class II

PIRCHE ['percə]

noun, acronym

Predicted Indirectly ReCognizable HLA Epitope

PIRCHE-I: presented by HLA class I → CD8 T cells (cytotoxic T cells)

PIRCHE-II: presented by HLA class II → CD4 T cells (helper T cells)



klinische studies met epitopen

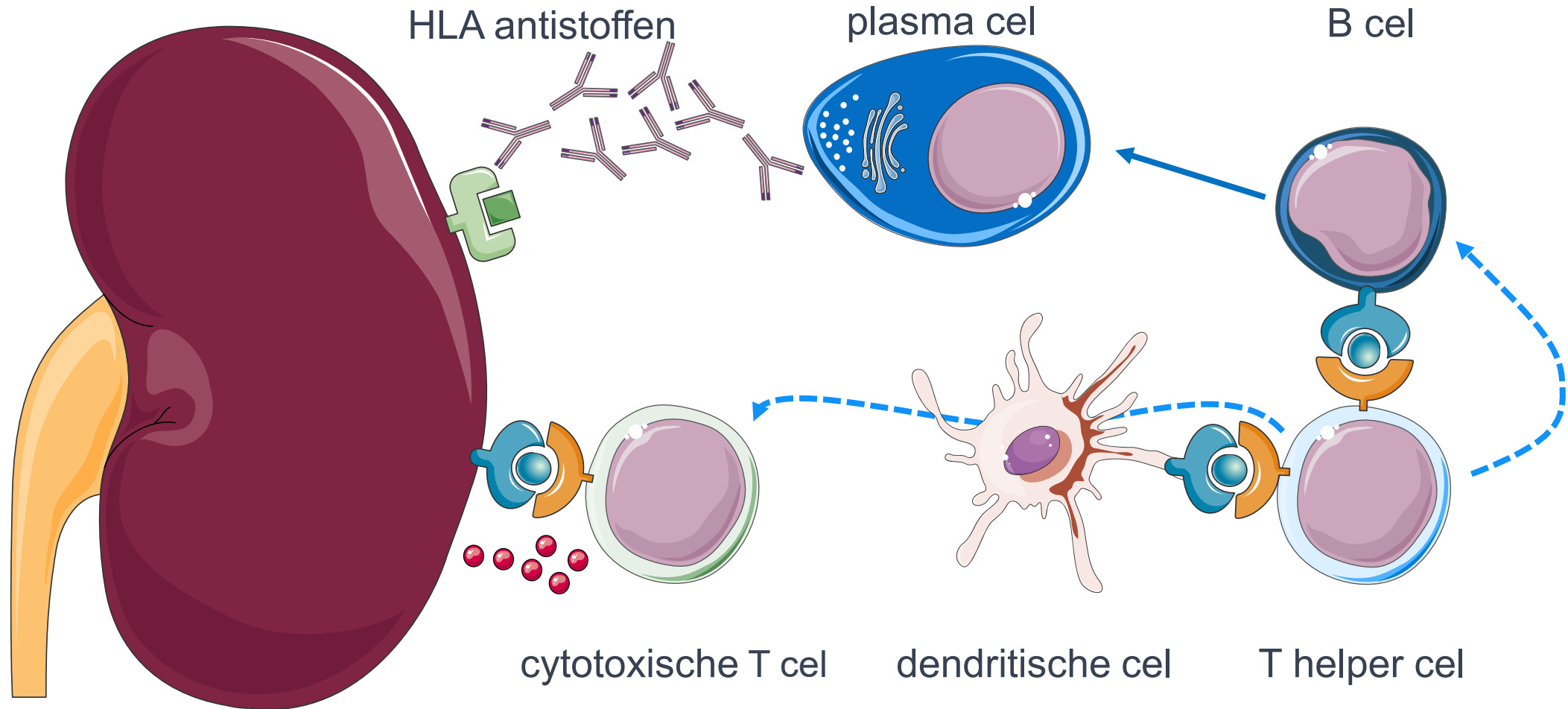
een selectie



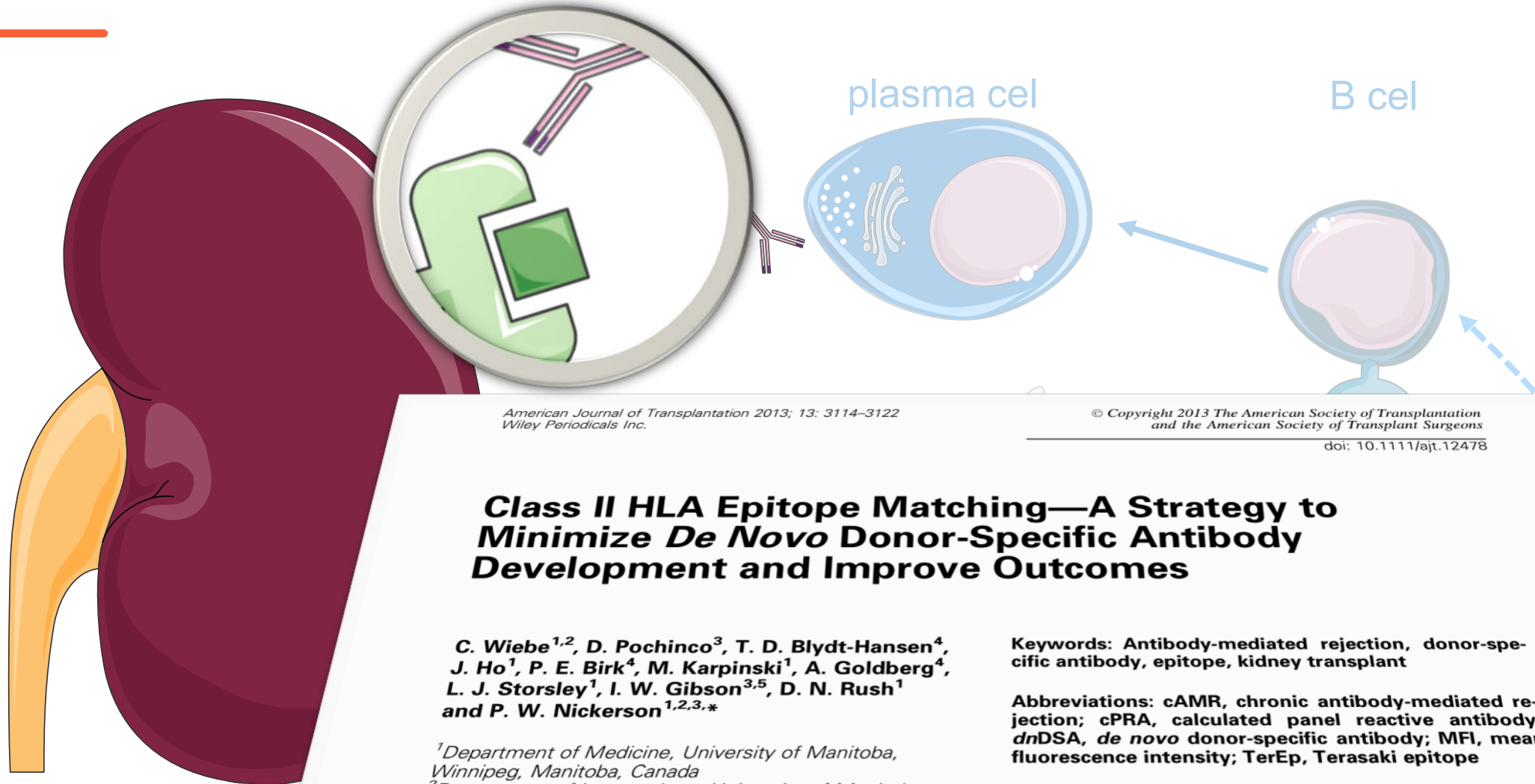
UMC Utrecht



Specifieke afweerreacties na transplantatie



Specifieke afweerreacties na transplantatie



American Journal of Transplantation 2013; 13: 3114–3122
Wiley Periodicals Inc.

© Copyright 2013 The American Society of Transplantation
and the American Society of Transplant Surgeons

doi: 10.1111/ajt.12478

Class II HLA Epitope Matching—A Strategy to Minimize *De Novo* Donor-Specific Antibody Development and Improve Outcomes

**C. Wiebe^{1,2}, D. Pochinco³, T. D. Blydt-Hansen⁴,
J. Ho¹, P. E. Birk⁴, M. Karpinski¹, A. Goldberg⁴,
L. J. Storsley¹, I. W. Gibson^{3,5}, D. N. Rush¹
and P. W. Nickerson^{1,2,3,*}**

¹Department of Medicine, University of Manitoba,
Winnipeg, Manitoba, Canada

²Department of Immunology, University of Manitoba,
Winnipeg, Manitoba, Canada

³Diagnostic Services of Manitoba, Winnipeg, Manitoba

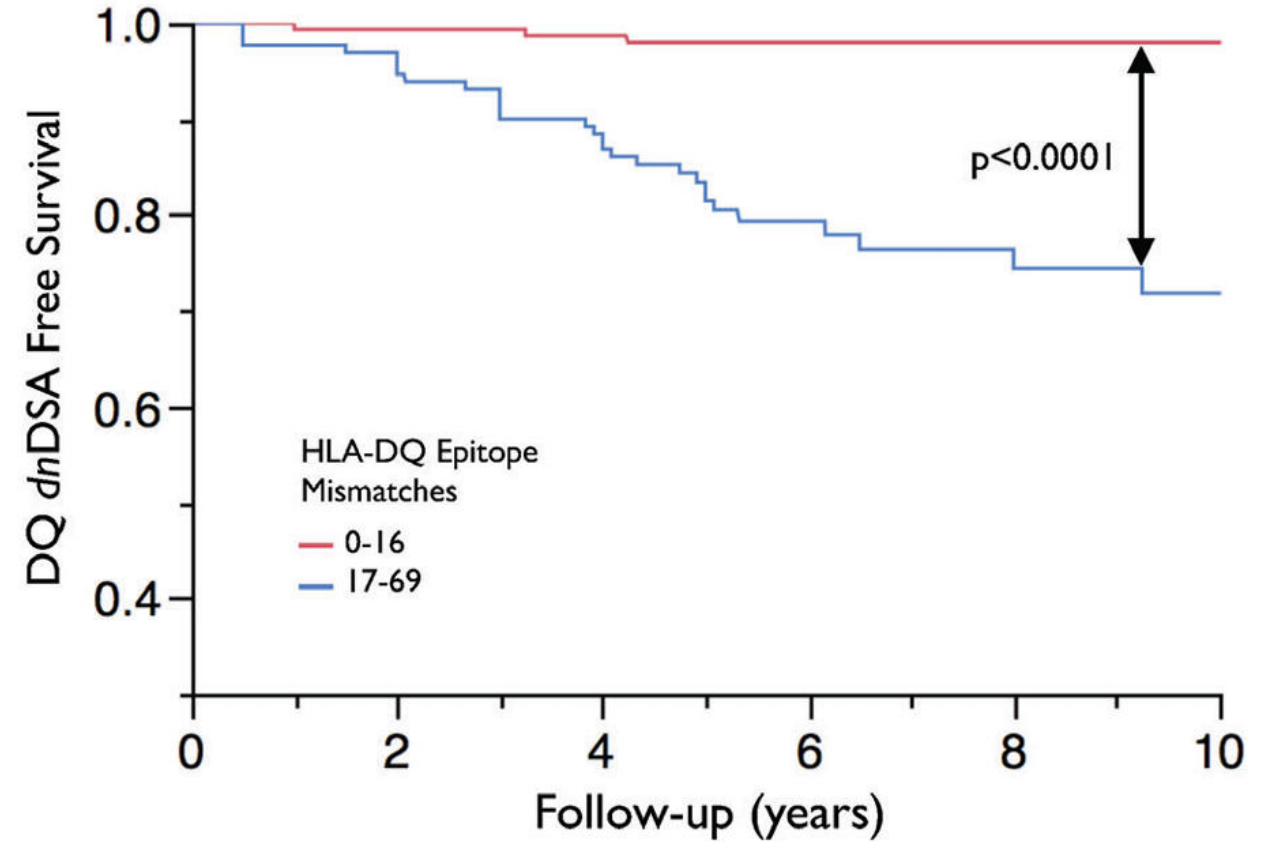
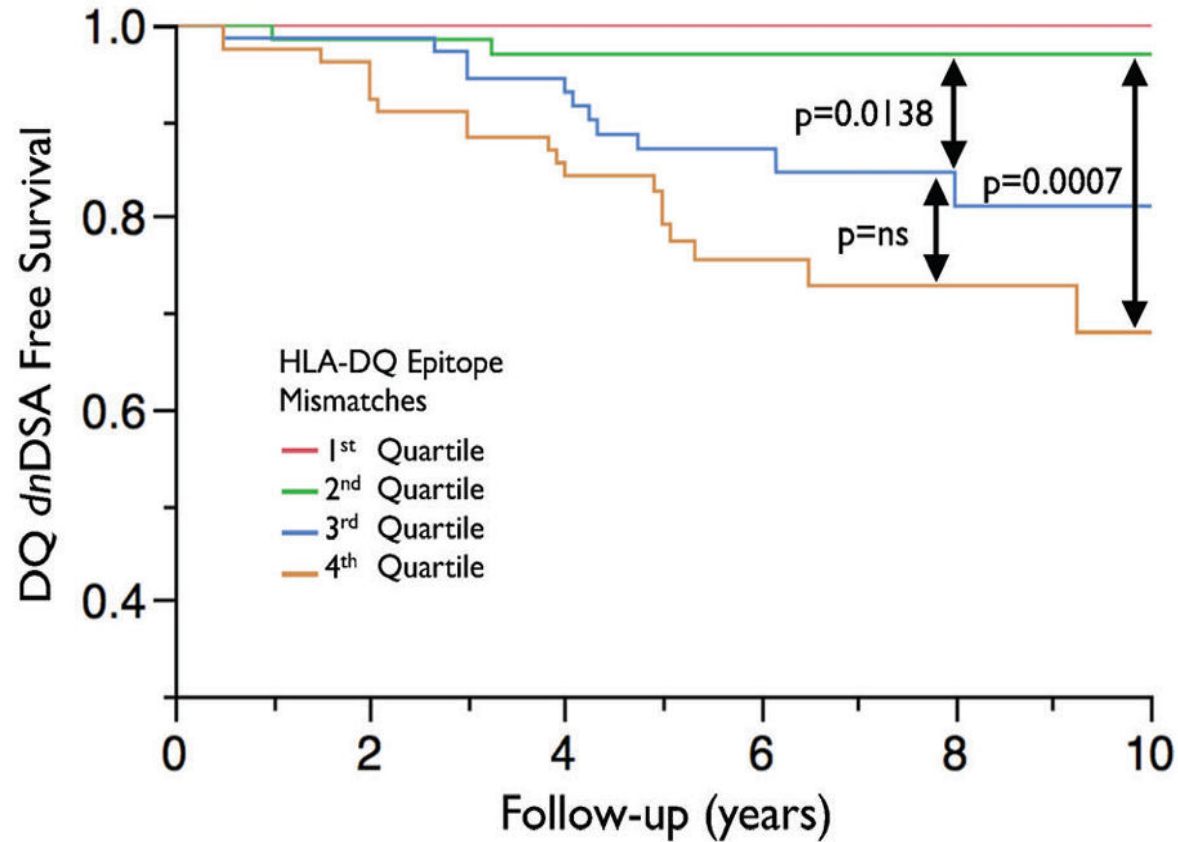
Keywords: Antibody-mediated rejection, donor-specific antibody, epitope, kidney transplant

Abbreviations: cAMR, chronic antibody-mediated rejection; cPRA, calculated panel reactive antibody; dnDSA, *de novo* donor-specific antibody; MFI, mean fluorescence intensity; TerEp, Terasaki epitope

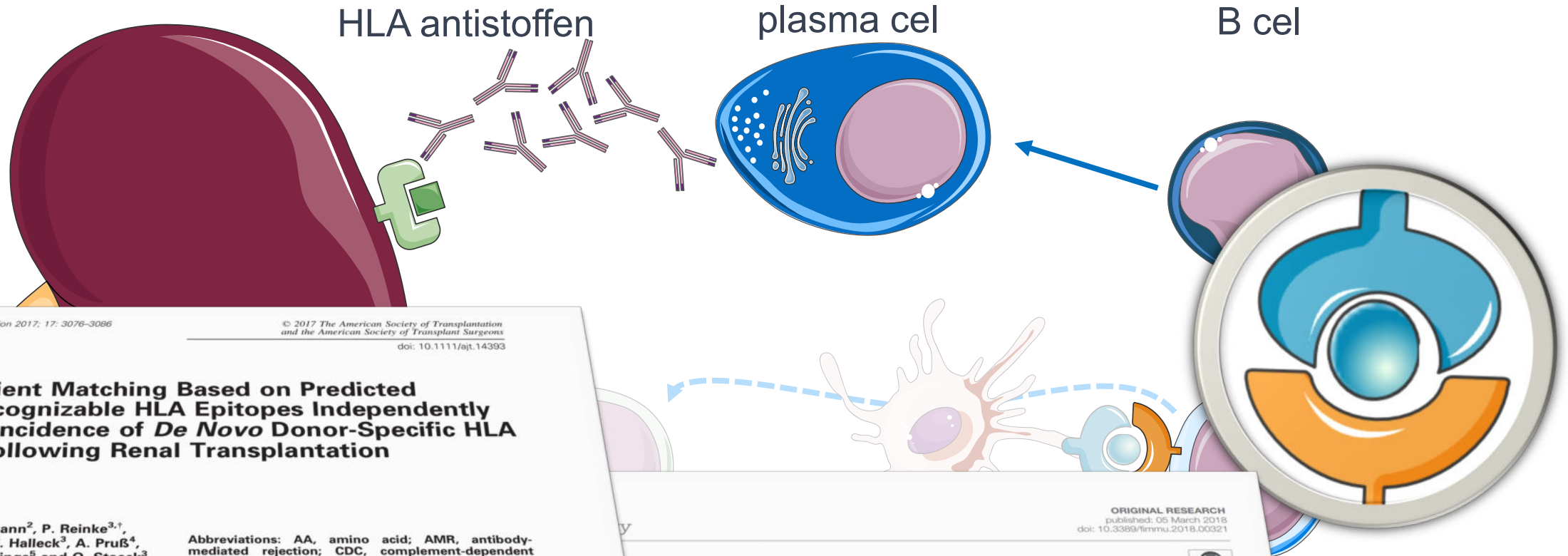
**Received 27 June 2013, revised 24 July 2013 and
accepted for publication 25 July 2013**

Antilichaam epitooop matching vermindert HLA antistoffen

Class II Epitope Matching to Minimize *De Novo* DSA



Specifieke afweerreacties na transplantatie



American Journal of Transplantation 2017; 17: 3076–3086
Wiley Periodicals Inc.

© 2017 The American Society of Transplantation
and the American Society of Transplant Surgeons
doi: 10.1111/ajt.14393

Donor–Recipient Matching Based on Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes Independently Predicts the Incidence of *De Novo* Donor-Specific HLA Antibodies Following Renal Transplantation

N. Lachmann^{1,*}, M. Niemann², P. Reinke^{3,†},
K. Budde³, D. Schmidt³, F. Halleck³, A. Pruß⁴,
C. Schönemann¹, E. Spierings⁵ and O. Staack³

[†]Center for Tumor Medicine, H&I Laboratory, Charité

Abbreviations: AA, amino acid; AMR, antibody-mediated rejection; CDC, complement-dependent cytotoxicity test; CI, confidence interval; dnDSA, *de novo* donor-specific HLA antibodies; DSA, donor-specific HLA antibody(ies); HLAab, HLA antibody(ies);

ORIGINAL RESEARCH
published: 05 March 2018
doi: 10.3389/fimmu.2018.00321



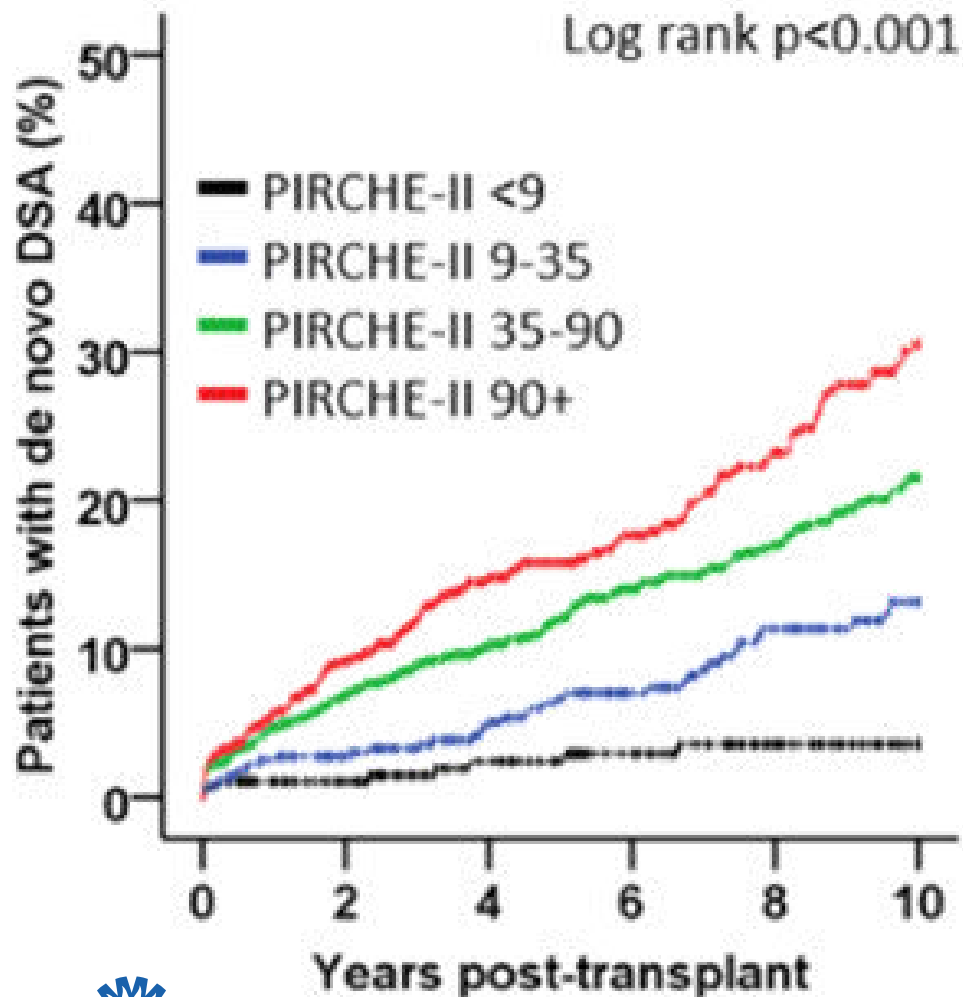
PIRCHE-II Is Related to Graft Failure after Kidney Transplantation

Kirsten Geneugelijk¹, Matthias Niemann², Julia Drylewicz¹, Arjan D. van Zuilen³, Irma Joosten⁴, Wil A. Allebes⁴, Arnold van der Meer⁴, Luuk B. Hilbrands⁵, Marije C. Baas⁵, C. Erik Hack¹, Franka E. van Reekum³, Marianne C. Verhaar³, Elena G. Kamburova¹, Michiel L. Bots⁶, Marc A. J. Seelen⁷, Jan Stephan Sanders⁷, Bouke G. Hepkema⁸, Annechien J. Lambeck⁸, Laura B. Bungener⁸, Caroline Roozendaal⁸, Marcel G. J. Tilanus⁹, Jeroen Venderboort¹⁰, Christian E. Voorter³, Lotte Winters³, Elly M. van Duinhouven¹¹

OPEN ACCESS

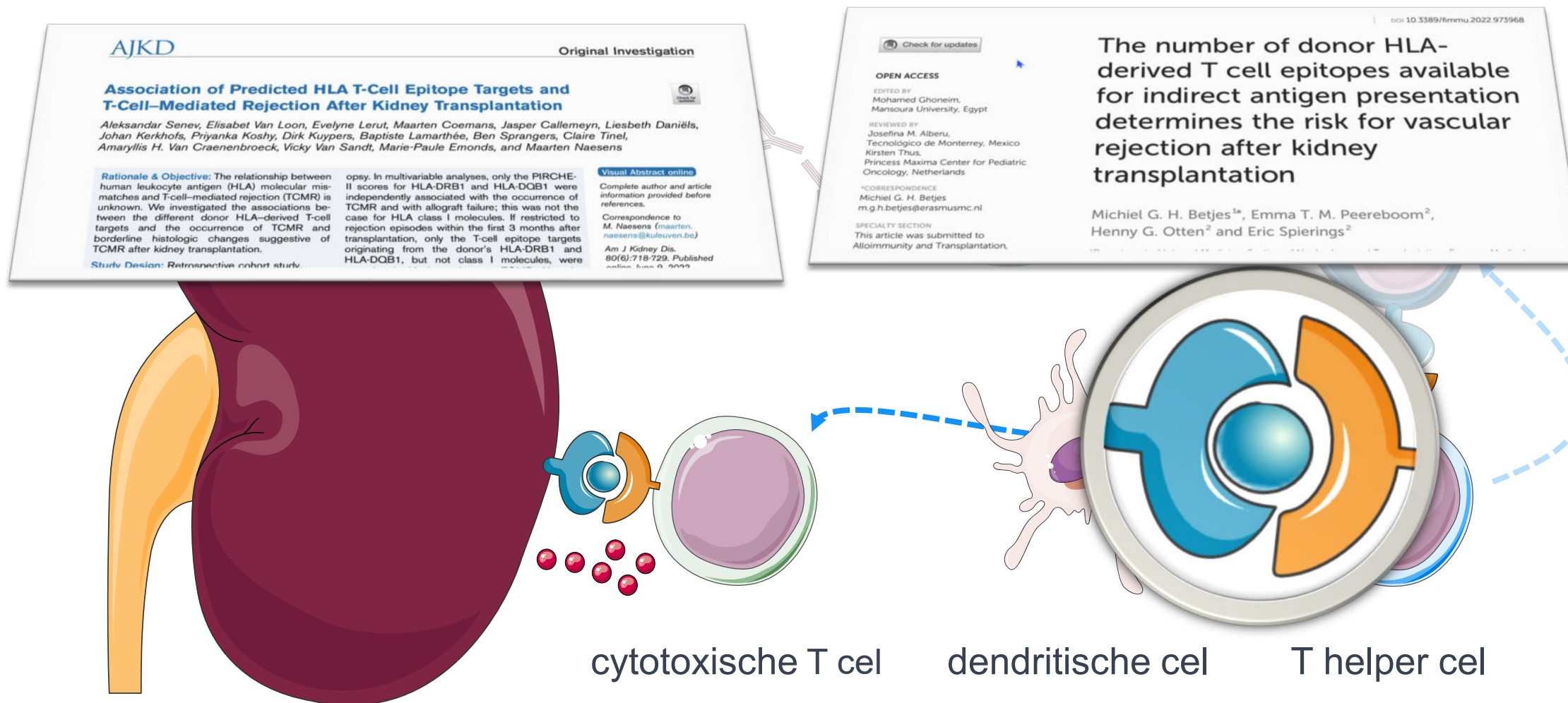
Edited by:
Aurore Saudemont,
INSERM, FRANCE

T cel epitopen versterken antistoffen en afstoting



	Multivariable model with forward stepwise selection		
	HR	95%-CI	p-value
T cel epitopen	1.11	1.04 - 1.17	0.001
B cell epitopen			ns
Number of A/B/DR mismatches			ns
Leeftijd ontvanger	0.99	0.99 - 1.00	<0.001
Leeftijd donor	1.02	1.02 - 1.03	<0.001
Transplantatiejaar	0.97	0.95 - 0.99	0.009
Immunisatiestatus			ns

Specifieke afweerreacties na transplantatie



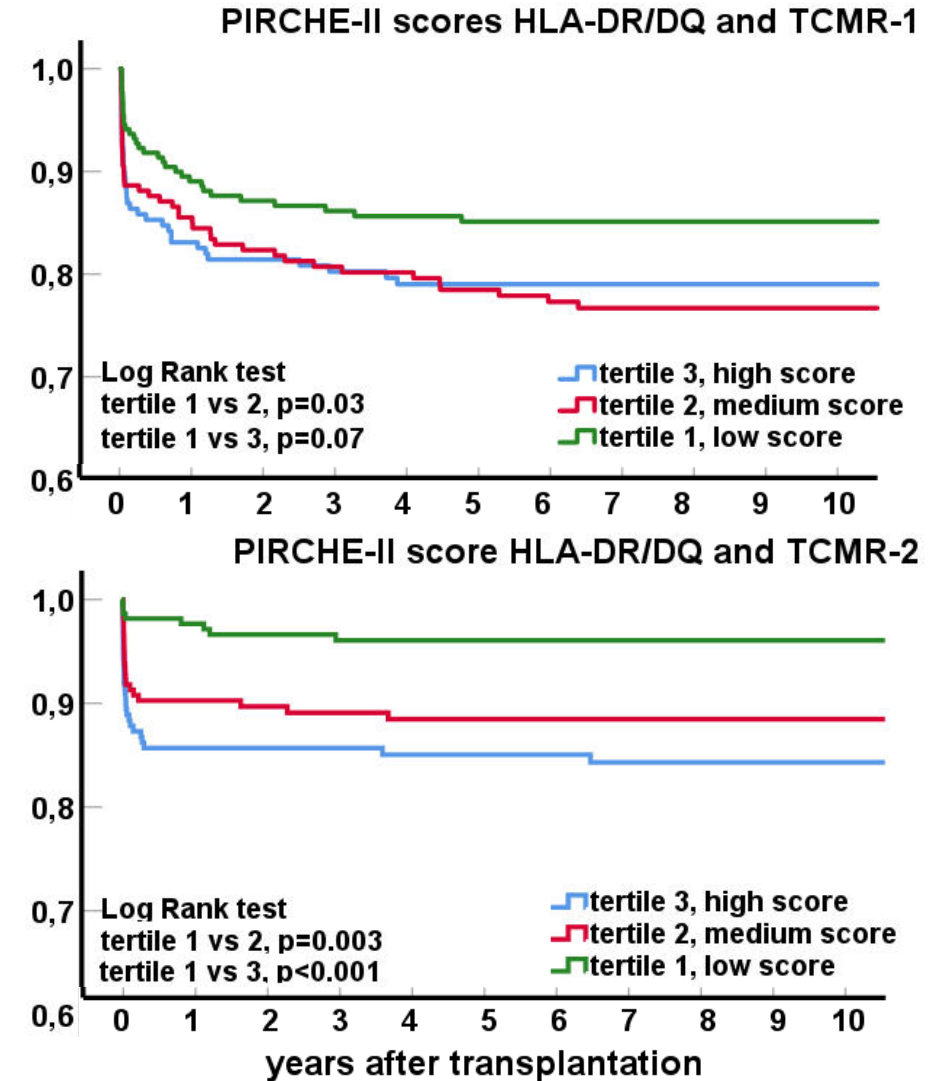
T cel epitopen versterken T cel gemedieerde afstoting

Table 1. Adjusted Hazard Ratios for Acute TCMR Only or Acute/Borderline TCMR by

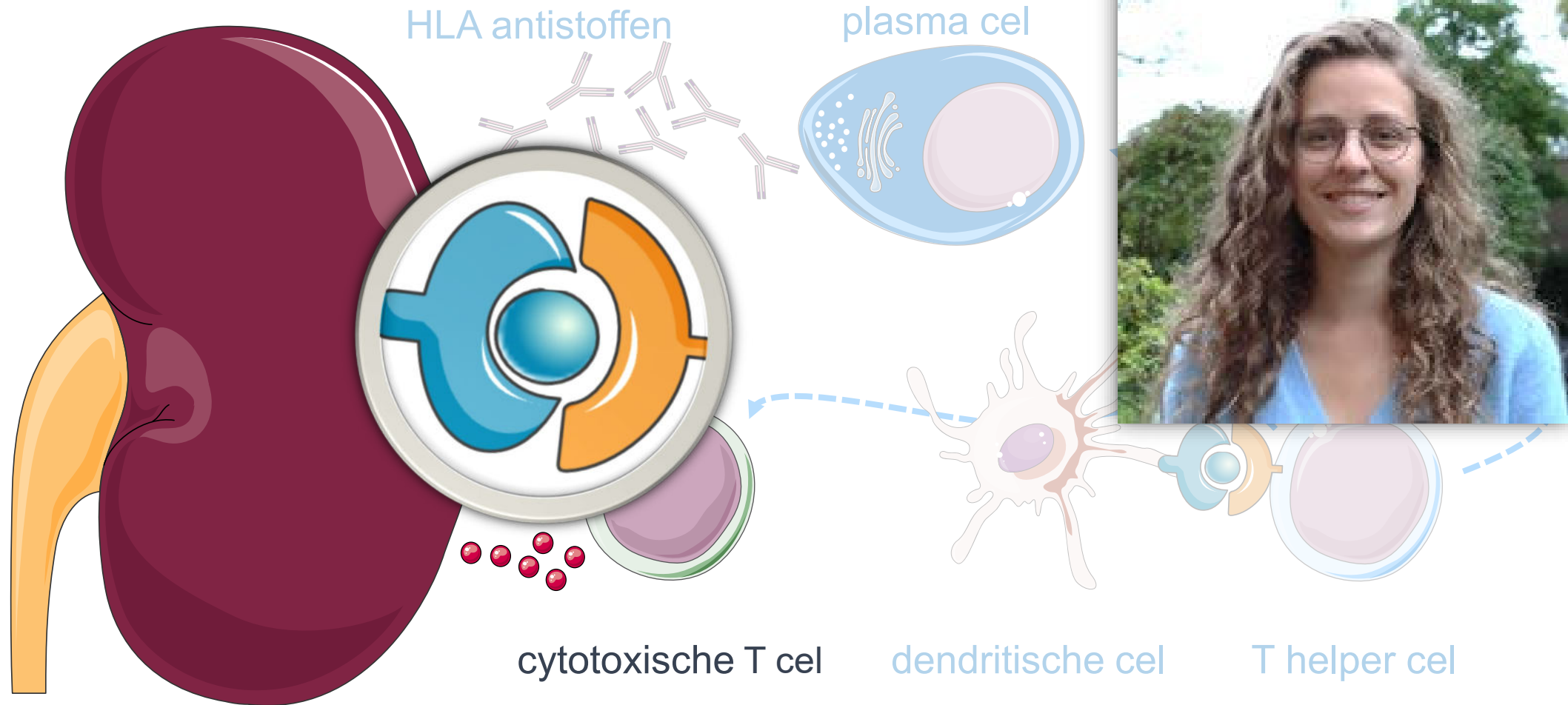
	Acute TCMR Only (277 Events)	
	AHR (95% CI)	P
Total PIRCHE-II score	1.01 (1.00-1.02)	0.009 ^a
PIRCHE-II score for HLA class I	1.00 (0.99-1.02)	0.7
PIRCHE-II score for HLA class II	1.01 (1.01-1.02)	0.002 ^a
PIRCHE-II score for HLA-DRB1/3/4/5	1.02 (1.00-1.04)	0.03 ^a
PIRCHE-II score for HLA-DRB1	1.08 (1.03-1.12)	<0.001 ^a
PIRCHE-II score for HLA-DRB3/4/5	1.01 (0.98-1.04)	0.4
PIRCHE-II score for HLA-DQA1/B1	1.02 (1.00-1.03)	0.01 ^a
PIRCHE-II score for HLA-DQA1	1.02 (1.00-1.04)	0.1
PIRCHE-II score for HLA-DQB1	1.03 (1.01-1.06)	0.005 ^a

N = 893. Each row represents a separate multivariable analysis, and each hazard ratio is estimated per 10-point greater PIRCHE-II score. All multivariable models were adjusted for donor and recipient age, donor type, cold ischemia time, repeat transplantation, panel-reactive antibody (%), and induction therapy (no induction vs basiliximab vs other treatment). Abbreviations: AHR, adjusted hazard ratio; HLA, human leukocyte antigen; PIRCHE-II, Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes by Recipient HLA Class II Molecules; TCMR, T-cell-mediated rejection.

^aStatistically significant value.



Specifieke afweerreacties na transplantatie





Overlap tussen CMV en HLA mismatch beïnvloed transplantatie

Infection meets alloimmunity

Emma Peereboom



UMC Utrecht

CMV and HLA kunnen T cel epitopen delen

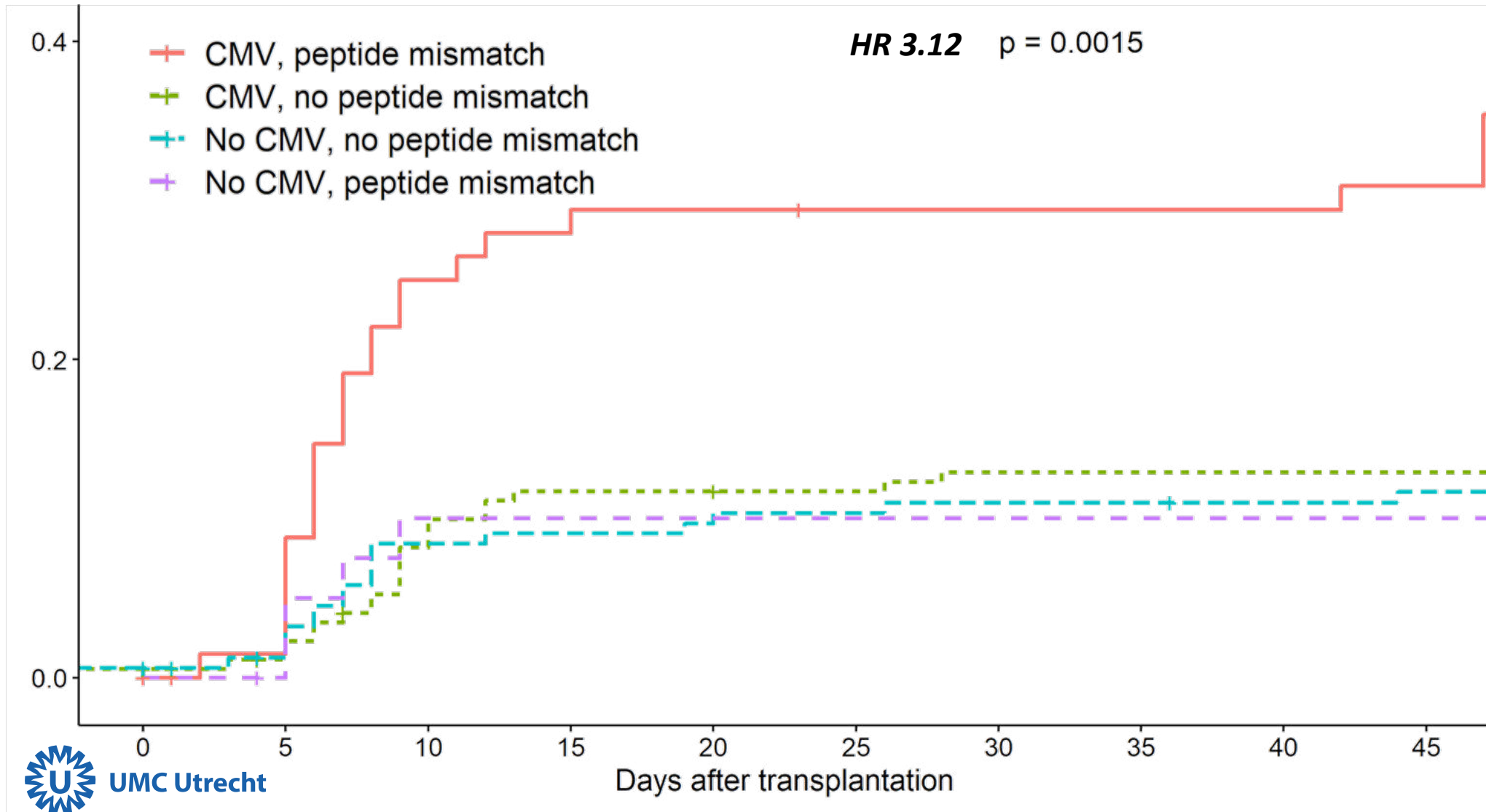
- Peptides komen overeen tussen specifieke HLA klasse I varianten en het CMV eiwit UL40

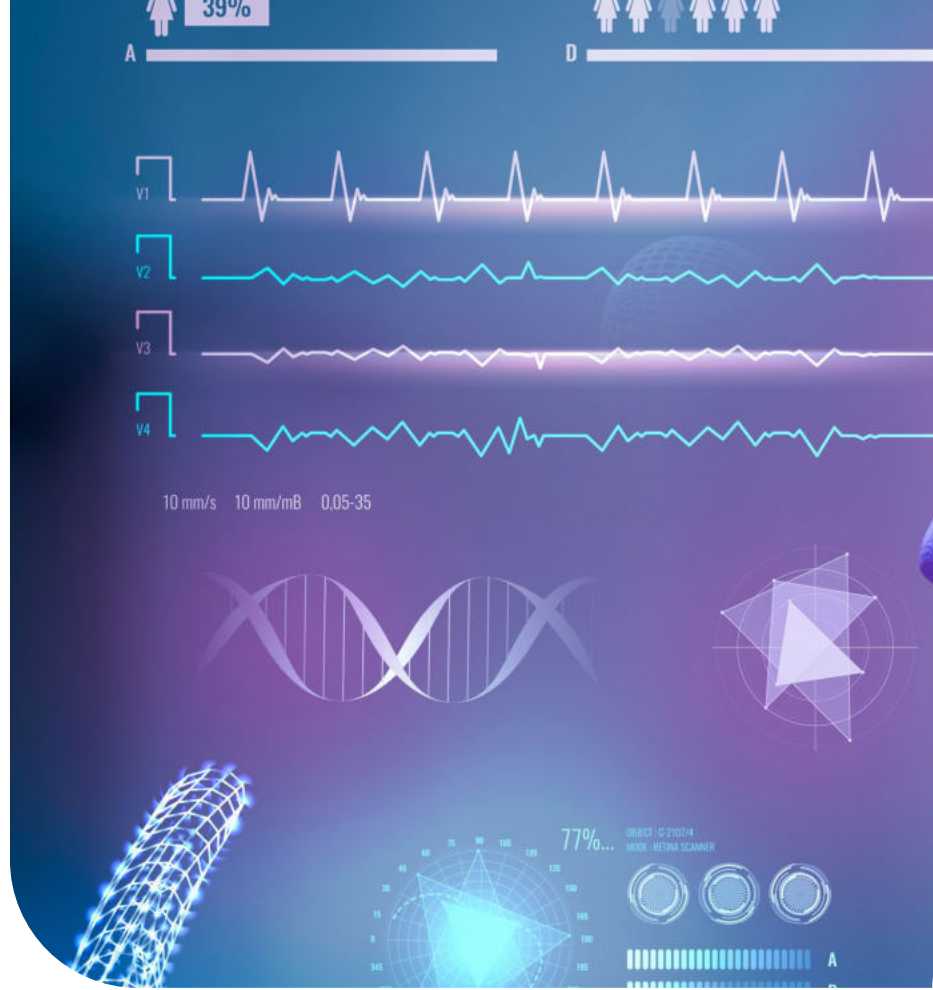
CMV stam	Peptide	Frequentie [1]	HLA klasse I
AD169	VMAPRTLIL	~30%	HLA-C

UL40 - AD169	MNKFSNTRIGFTCAVMAPRTLILTVGLLCMRIRSLCSPAETTVTTAAVTSAHGPLCPLV	60
HLA-C*03:03	-----MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSHSMRYFYTAVSRPGRGE-PHFI	47
HLA-C*07:01	-----MRVMAPRALLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVSRPGRGE-PRFI	47
HLA-C*02:02	-----MRVMAPRTLILLLSGALALTETWACSHSMRYFYTAVSRPSRGE-PHFI	47

[1] Heatley *et al.* J Biol Chem. 2013, Jouand *et al.* PLoS Pathog. 2018, Vietzen *et al.* mBio. 2021.

Kruisreactiviteit tussen CMV en HLA mismatch verhoogt de kans op acute T cel gemedieerde afstoting

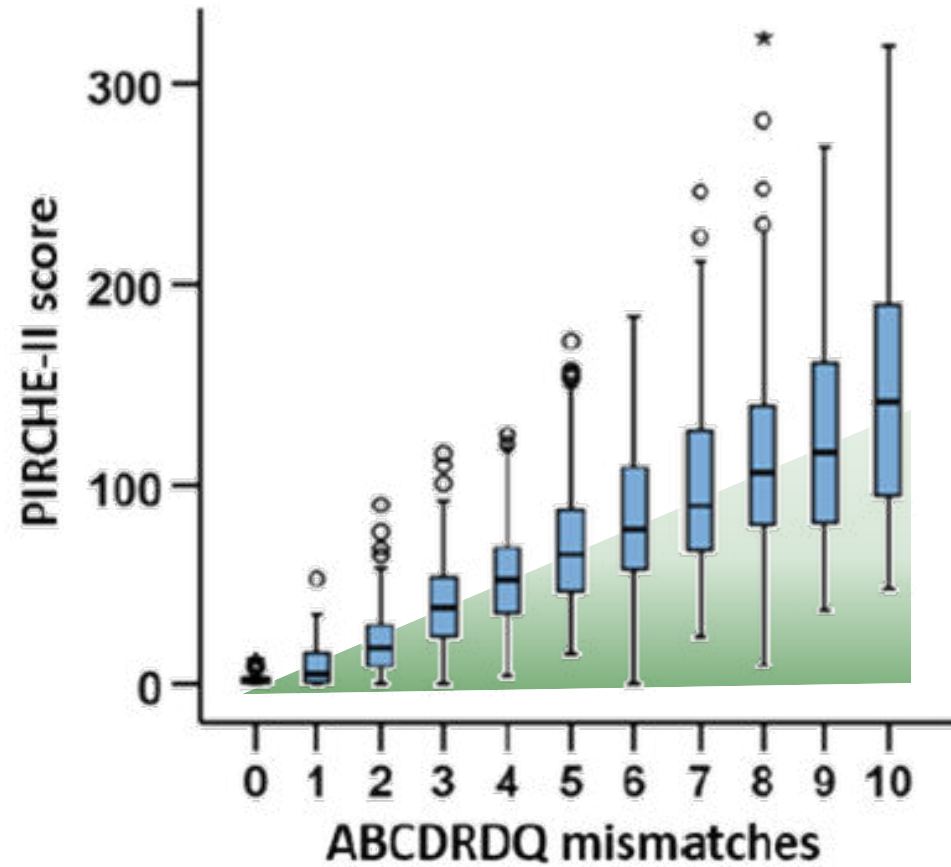




Op weg naar implementatie?

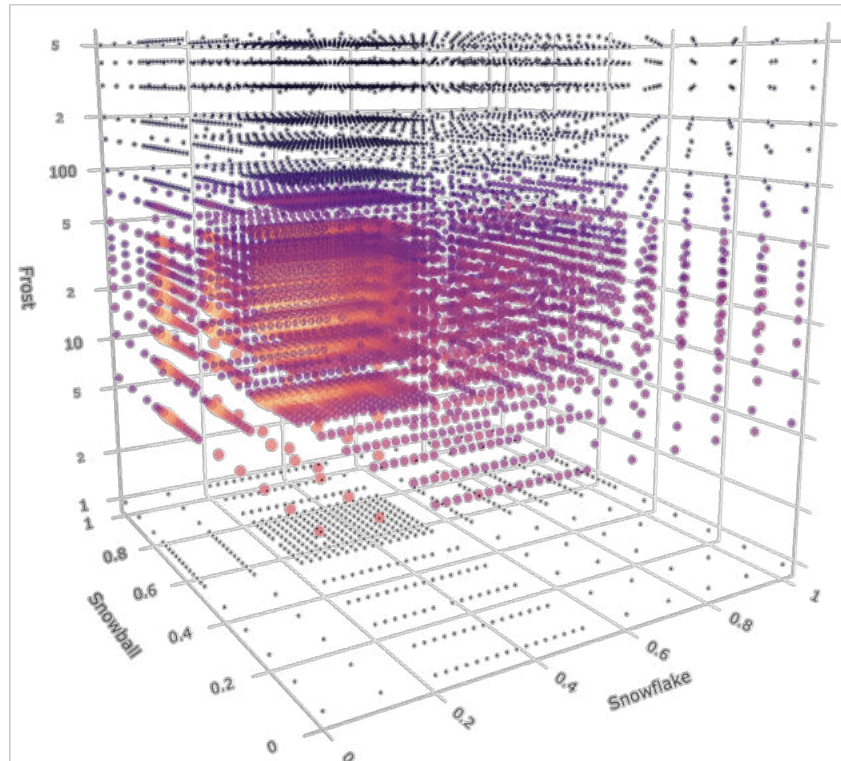
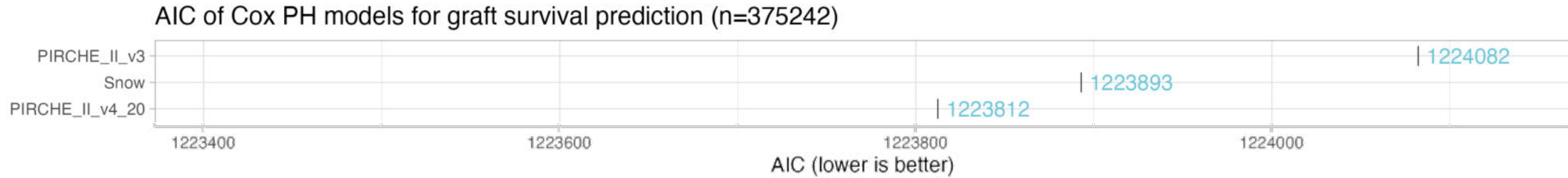
Modelevaluaties en simulatiestudies

HLA epitopen verfijnen de matchmogelijkheden



Lachmann *et al*, Am J Transpl 2017

integratie van modellen: het SRTR cohort



Akaike Information Criterion (AIC) wordt gebruikt om verschillende risicomodellen te vergelijken. Het model met de laagste score wordt als best passend beschouwd.

Nierallocatie op basis van T cel epitopen - simulaties

Virtuele populatie (n=400 000)

Genereer een virtueel donorcohort op basis van HLA populatiegegevens (Maiers *et al.*)

Virtuele wachtlijst (n=10 500)

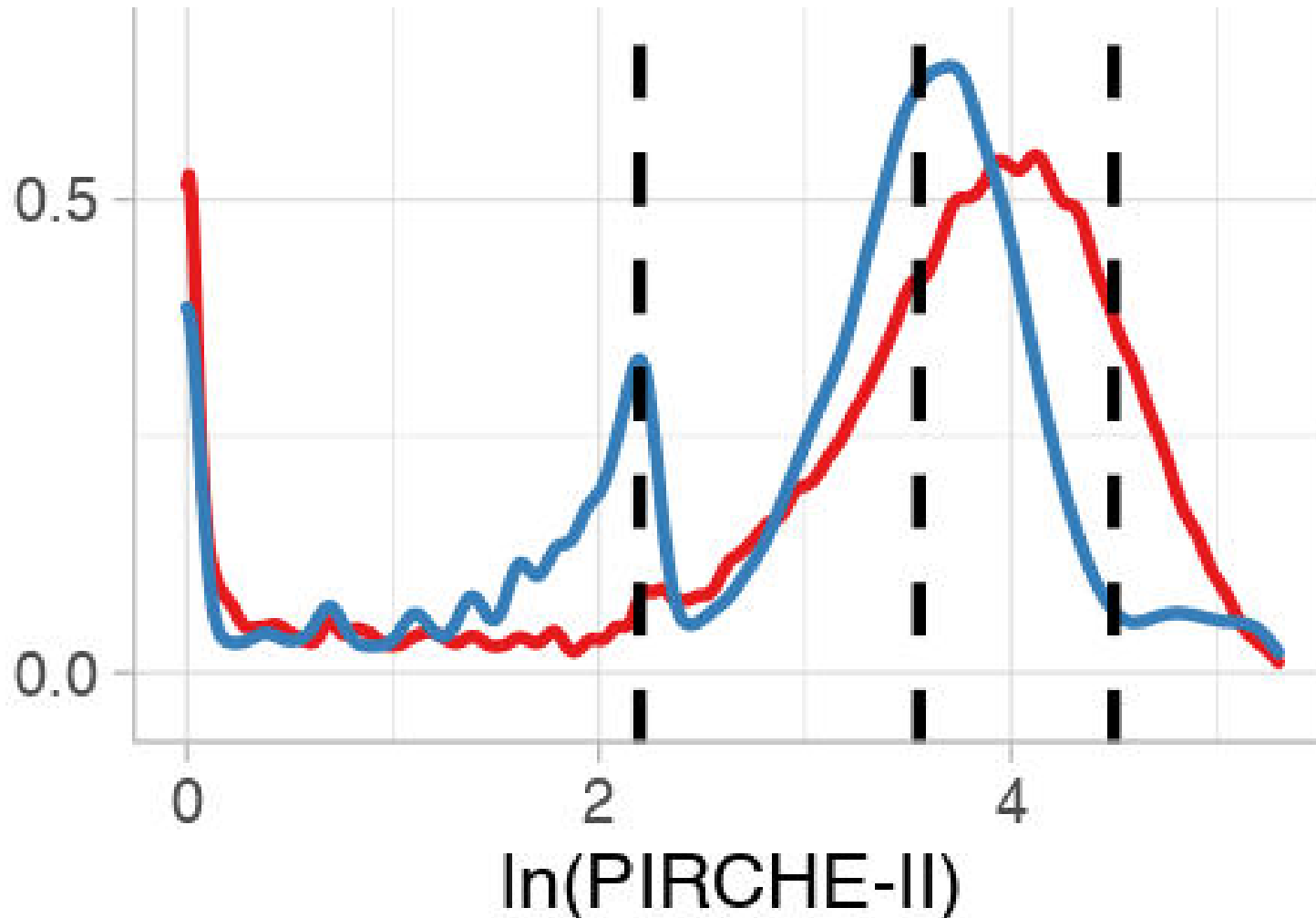
Bouw en onderhoud een virtuele wachtlijst op basis van de Eurotransplant jaarrapportages

- 10 jaar simulatieperiode volgens Markov Chain Monte Carlo simulatieprincipes
- Epitoopt matching was ingebouwd
 - Voor all ETKAS allocaties
 - Voor alleen Nederland, met reguliere ETKAS voor de overige ET landen
- T cel epitopes werden berekend volgens het PIRCHE-II algoritme; verschillende scenarios zijn geevalueerd



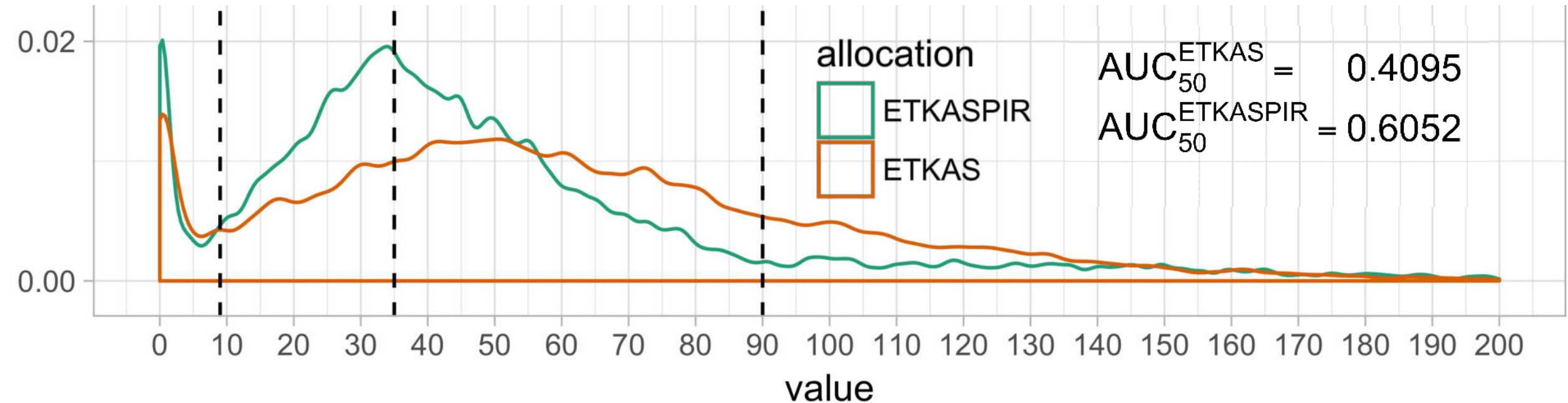
> 22 000 nierallocaties per scenario in drievoud

nierallocatie op basis van epitopen is mogelijk



ET epitoomatching alleen in Nederland

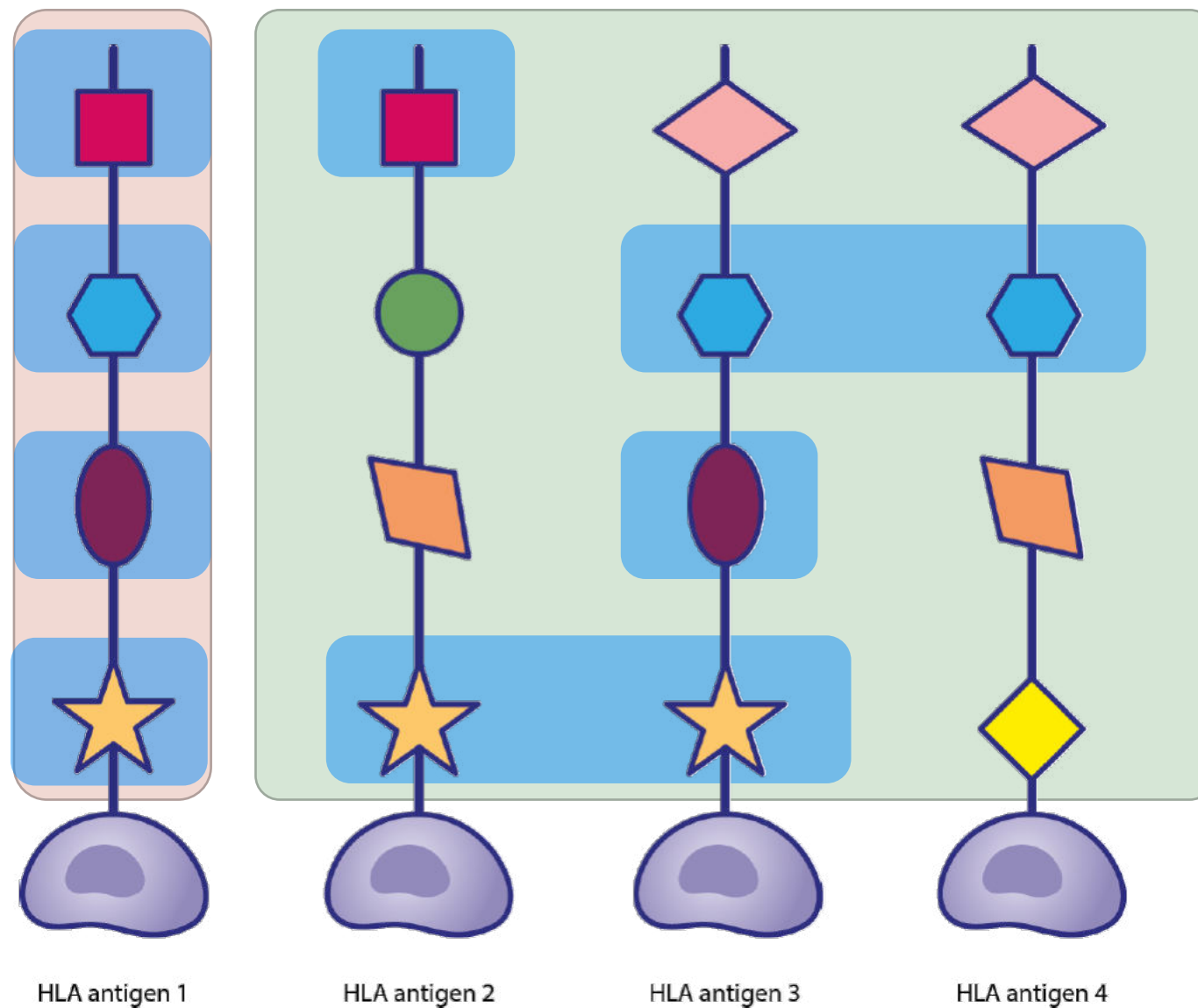
PIRCHE-II score dichtheid in gesimuleerde Nederlandse transplantaties



Value = epitoomscore
en correleert met het risico op afstoting

HLA epitopen: een samenvatting

Mismatch



Self HLA

Conclusies

- HLA-moleculen moeten in de transplantatie context niet als een enkele entiteit worden beschouwd, maar gezien worden vanuit het **perspectief van het afweersysteem -> epitopen**
- **T cel en B cel epitopen** bieden de mogelijkheid om bij een HLA mismatch **betere donoren** te vinden
- Simulaties laten zien dat dit **praktisch haalbaar** is **zonder nadelige effecten** op de Eurotransplant wachtlijst



HLA epitopen: de sleutel tot de juiste HLA (mis)match

Eric Spierings (e.spierings@umcutrecht.nl)

Nierpatiënten Vereniging Nederland
Wetenschapsdag 2023



UMC Utrecht