

## VOL. 2° - XIX.8.2. - Il sistema HLA nell'uomo

Nel 1958 Dausset descrisse il primo gruppo leucocitario umano, l'antigene Mac. Numerosi altri antigeni, descritti negli anni successivi, hanno rivelato la complessità del sistema di istocompatibilità umano, denominato HLA da **Human Leukocyte Antigen**.

Numerose riunioni internazionali di lavoro, dette *workshops*, hanno permesso l'individuazione di circa 100 antigeni differenti. Il sistema HLA è l'equivalente del sistema H-2 del topo al quale somiglia nella sua organizzazione. Le due prime sottoregioni individuate, HLA-A e HLA-B, contengono i loci maggiori codificanti per gli antigeni di classe I. La regione codificante per gli antigeni di classe II, denominata HLA-D, è situata alla sinistra della regione HLA-B (più vicina al centromero) ed è suddivisa in 3 sottoregioni HLA-DP, DQ e DR.

### 8.2.a. Antigeni HLA di classe I - Genetica e sierologia

I loci **HLA-A** e **HLA-B** comprendono rispettivamente almeno **28 e 47 alleli**. Esiste un terzo locus di classe I, HLA-C (meno importante dei loci A e B) localizzato fra HLA-A e HLA-B, con otto alleli, vicino all'HLA-B. Ciascuna molecola presenta numerosi determinanti antigenici<sup>1</sup> [1] sia pubblici che privati. Alcuni determinanti pubblici sono portati dall'insieme delle molecole HLA; altri sono specifici delle molecole codificate in una sottoregione di classe I. I determinanti privati sono caratteristici del prodotto di un allele in un locus. Gli esperimenti di *capping* simultaneo indicano che le specificità private e pubbliche sono ben associate su una sola molecola. I determinanti pubblici spiegano alcune delle reazioni crociate osservate fra antigeni HLA, essendo le altre dovute ad una semplice somiglianza strutturale.

Il complesso HLA è situato **sul braccio corto del cromosoma 6**, su un segmento sufficientemente breve perché tutti i geni HLA portati da un cromosoma siano generalmente trasmessi in blocco dai genitori ai figli. Ogni genitore trasmette una serie di geni, il cosiddetto **aplotipo**.

**Gli alleli dei due aplotipi di un individuo sono espressi come tratti codominanti**, cioè sono tutti espressi negli eterozigoti. Tutti gli antigeni HLA non sono ancora conosciuti. Le ricombinazioni fra i due principali loci sono rare (dell'ordine dello 0,5%, come accade nel topo).

Essendo il numero degli alleli in ciascun locus HLA elevato, gli aplotipi di classe I possibili raggiungono un numero considerevole (superiore a 1.700) e corrispondono a un numero di genotipi (associazione di due aplotipi) vicino a  $10^6$ .

Differenze importanti possono sussistere nella frequenza dei differenti alleli fra una popolazione e l'altra. Ad esempio, gli alleli HLA-A1 e HLA-B8 sono particolarmente frequenti nei Caucasoidi (che comprendono gli Europei), mentre il B21 è osservato soprattutto nei Mediterranei, le cellule Aw36, Aw43 e Bw42 nei Negroidi e gli alleli Aw33 e Aw34 in Indonesia. Si immagina l'interesse di questi studi per le valutazioni retrospettive delle migrazioni geografiche delle popolazioni. **Le differenze razziali** possono essere legate ad un vantaggio selettivo di alcuni alleli o ad un'omogeneità particolare delle popolazioni considerate.

Gli antigeni HLA-C sono i meno immunogenici e ciò spiega perché si attribuisce loro minore importanza nella tipizzazione tissutale.

### Struttura

Le molecole antigeniche di classe I sono costituite da due catene polipeptidiche: una catena leggera identica per tutte le molecole, la  $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ 2m), e una catena pesante che è responsabile della variabilità. La  $\beta$ 2m è una proteina di membrana di 12 kDa codificata da un gene situato sul cromosoma 15. Essa assicura il mantenimento della conformazione della catena pesante alla quale è legata in maniera non covalente. La sua sequenza aminoacidica presenta un'omologia marcata con il dominio<sup>2</sup> [2] CH3 delle IgG e in minor grado con la regione costante delle catene leggere delle Ig e alcuni domini degli antigeni di istocompatibilità di classe I e II. La  $\beta$ 2m non è polimorfa.

La catena pesante è composta da tre segmenti: un segmento idrofilo extracellulare (residui 1-283), un segmento idrofobo transmembrana (284-307) e un segmento idrofilo intracellulare (308-312). Il segmento extracellulare a sua volta si suddivide in tre domini  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 e  $\alpha$ 3 sulla base di omologie esistenti fra i tre domini, la  $\beta$ 2m e i domini costanti delle Ig. I due primi domini sono nettamente più polimorfi del terzo. La molecola HLA-A2 è stata recentemente cristallizzata, cosa che ha permesso di proporre un modello di organizzazione spaziale.

Gli studi di biochimica e di *capping* hanno mostrato che le tre sottoregioni HLA codificano per tre molecole distinte, HLA-A, B e C, e che ciascuna molecola può portare almeno 3 o 4 epitopi distinti.

## Geni

I geni di classe I presentano 8 esoni. L'esone 1 codifica per il peptide segnale che regola il trasporto intracellulare. Gli esoni 2, 3 e 4 codificano per i domini extracellulari  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\alpha_3$ , l'esone 5 per il segmento transmembrana e gli esoni 6, 7 e 8 per il segmento intracitoplasmatico. Più di 10 loci di classe I sono stati individuati nella regione HLA ma non tutti i geni sono espressi (pseudogeni). È da notare che l'antigene CD1, equivalente probabile dell'antigene murino TL, potrebbe rappresentare un altro gene di classe I.

### 8.2.b. Antigeni HLA di classe II

La regione HLA-D è stata inizialmente definita attraverso lo studio degli alloantigeni stimolanti la reazione linfocitaria mista [3]. Il modello iniziale utilizzava cellule omozigoti come riferimento, consentendo la definizione di una decina di gruppi denominati Dw. L'aver evidenziato la presenza selettiva degli antigeni di classe II sui linfociti B permette di identificare questi gruppi con più precisione facendo ricorso a tecniche di linfocitotossicità su cellule B purificate. Si sa ormai che la realtà è più complessa: la regione D contiene tre loci DP, DQ, DR codificanti ognuno per antigeni distinti.

### Genetica e sierologia

La serie **HLA-DR** è stata la prima ad essere descritta. Circa **45 alleli DR** sono attualmente definiti. Fra essi solo una quindicina è accessibile alla tipizzazione sierologica (DR1-DR15). L'apporto di tecniche di biologia molecolare è stato fondamentale per l'evidenziazione e la caratterizzazione dei nuovi alleli.

La serie **HLA-DQ** è composta da **8 alleli sul locus DQA** e da circa **13 sul locus DQB**. Una minoranza fra essi è riconosciuta sierologicamente. Gli antigeni DQ non sono sempre espressi su alcune cellule DR<sup>+</sup>, soprattutto su alcuni monociti.

La serie **HLA-DP** è stata riconosciuta inizialmente mediante studi di reazione linfocitaria mista secondaria fra soggetti identici per HLA-A, B, C, DR e DQ (i linfociti di soggetti presensibilizzati contro un alloantigene DP danno luogo a una reazione secondaria intensa e rapida allorché si presenta loro lo stesso antigene). Questa serie, inizialmente chiamata SB, è codificata da un locus situato al di fuori delle regioni HLA-DR e DQ. Attualmente si contano una ventina di alleli DP accessibili alla tipizzazione genomica mediante la biologia molecolare.

### Struttura

Gli antigeni di classe II sono delle glicoproteine transmembrana costituite da una catena pesante  $\alpha$  di 33-35 kDa e da una catena leggera  $\beta$  di 27-30 kDa.

Le catene DQ $\alpha$  e  $\beta$  (l'equivalente A $\alpha$  e A $\beta$  degli antigeni I-A del topo) e DR $\beta$  (l'equivalente di E $\beta$  del topo) sono molto polimorfe secondo gli aplotipi, mentre DR $\alpha$  (l'equivalente di E $\alpha$ ) è monomorfa. È da notare, tuttavia, che gli studi biochimici su gel bidimensionali, confermati dalla sequenza genomica, hanno mostrato che alcuni individui non esprimono che un solo gene DR $\beta$  mentre altri ne esprimono 2 e più raramente 3. È anche da notare che nel citoplasma le catene  $\alpha$  o  $\beta$  in corso di maturazione sono associate a un terzo polipeptide non polimorfo, chiamato catena  $\gamma$  o *invariante*, proteina basica il cui gene non è localizzato nell'MHC.

Ciascun polipeptide è composto da tre domini globulari extracellulari di circa 90 aminoacidi, un breve segmento transmembrana idrofobo di 22-27 residui, e da un dominio intracitoplasmatico di lunghezza variabile che inizia con uno o più residui basici. La catena pesante presenta due residui glucidici.

Lo studio delle sequenze rivela una forte omologia fra le catene  $\alpha$  e  $\beta$ . I secondi domini ( $\alpha_2$  e  $\beta_2$ ) presentano inoltre un'omologia con i domini costanti delle Ig.

## Geni

I geni DR $\alpha$  possiedono 5 esoni mentre i geni A $\alpha$  ed E $\beta$  del sistema H-2 del topo ne hanno 6. Il polimorfismo è essenzialmente localizzato a livello del 2° esone che codifica per il 1° dominio esterno del polipeptide. Sedici loci di classe II sono stati individuati, ma non sono tutti espressi.

### Sottoregione DR

Il gene DRA, monomorfo, codifica una catena  $\alpha$  che si associa alla catena  $\beta_1$  codificata dal gene B1 polimorfo (35 alleli) per formare un dimero  $\alpha\beta_1$ . Il gene DRB2 è uno pseudogene, il gene DRB3 è espresso solo nei soggetti DR3, 5, 6 o 8.

---

Il dimero  $\alpha\beta 3$  corrisponde alla specificità supertipica DRw52 (4 alleli). Analogamente il gene DRB4 è espresso solo nei soggetti DR4, 7 o 9 (specificità supertipica DRw53). Infine, il gene DRB5 (4 alleli) è espresso solo nei soggetti DR2.

### **Sottoregioni DQ e DP**

Esse comprendono ciascuna 2 geni  $\alpha$  e 2 geni  $\beta$ , essendo funzionale una sola coppia. Bisogna aggiungere a questi geni un gene DN $\alpha$  e un gene DO $\beta$  i cui prodotti sono ancora sconosciuti.

### **8.2.c. Regione HLA**

È stato dimostrato che il complesso dei loci HLA A, B, C, DP, DR e DQ è situato sul **braccio corto del cromosoma 6**. La maggioranza dei dati concernenti i geni di classe I e II è tratta dallo studio sierologico o genomico di famiglie. Informazioni interessanti sono state ottenute anche da studi dimostranti l'associazione di alcuni fattori del sistema complementare<sup>4</sup> [4], talvolta chiamati antigeni di classe III, con antigeni HLA. I polimorfismi del fattore B (Bf), C2 e C4 sono legati a quelli degli antigeni HLA (si situano attualmente i locus C2 e C4 a destra del locus HLA-DR). Il clonaggio di determinati segmenti della regione HLA ha permesso di mettere in evidenza due geni codificanti per le 21-idrossilasi nei pressi del locus C4, geni codificanti per il TNFa, e altri geni la cui funzione non è ancora conosciuta. È anche da segnalare la presenza nella regione HLA del gene HFE codificante per l'emocromatosi.

Altri markers, senza legame apparente con il sistema immunitario, si sono rivelati preziosi per la loro vicinanza alla regione HLA. È il caso della glicosilasi eritrocitaria (Glo) e del terzo enzima della fosfoglucomutasi (PGM3). La frequenza di ricombinazioni fra ciascun locus HLA ha permesso di calcolare la distanza fra i geni.

### **8.2.d. Antigeni minori di istocompatibilità**

L'intervento di antigeni non HLA nel rigetto dei trapianti è stato dimostrato con l'osservazione di crisi di rigetto nei riceventi di un allotrapianto di rene proveniente da un fratello o una sorella HLA identico (a volte per i loci di classe I o II) e di reazione di trapianto contro ospite dopo trapianto di midollo tra fratelli o sorelle HLA identici. Gli antigeni minori di istocompatibilità in causa sono ancora poco conosciuti. L'antigene eritrocitario Lewis e gli antigeni maschili, codificati dal cromosoma Y, potrebbero, fra gli altri, avere un ruolo significativo.

### **VOL. 2° - XIX.8.3. - Funzioni degli antigeni di istocompatibilità**

Le funzioni degli antigeni di istocompatibilità sono multiple e complesse.

È opportuno insistere sulle loro due funzioni principali che rappresentano l'induzione del rigetto degli allotrapianti e la presentazione degli antigeni alle cellule T, la cui attivazione necessita del riconoscimento simultaneo sulla superficie di cellule viventi di questi antigeni e degli antigeni di istocompatibilità (classe I per la popolazione CD8<sup>+</sup>, classe II per la popolazione CD4<sup>+</sup>).

Si suppone che le altre funzioni degli antigeni di istocompatibilità derivano in qualche modo da queste due funzioni principali.

Tratto da: <http://www.summagallicana.it/Volume2/B.XVIII.08.2.htm>

---