

## **КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ МИНОРНЫЕ АНТИГЕНЫ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ДЛЯ РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРОВИ**

**Романюк Д.С., Хмелевская А.А., Постовская А.М., Малько Д.Б.,  
Кузьмина Е.П., Хамаганова Е.Г., Ефимов Г.А.**

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения  
РФ, Москва, Россия*

**Резюме.** Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от здорового донора применяется при лечении неопластических заболеваний кроветворной системы. Одним из осложнений трансплантации является развитие аллоиммунной реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), которая в случае полной совместимости по аллелям генов главного комплекса гистосовместимости (HLA) обусловлена различиями в пептидах, представляемых молекулами HLA на поверхности клеток. Такие полиморфные пептиды – минорные антигены гистосовместимости (МАГ) – могут происходить из любых генов, в том числе специфично экспрессированных в клетках кроветворной системы. В этом случае развивается реакция «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ), которая препятствует развитию рецидива. Одним из самых частых аллелей HLA для европейской части России является аллель A\*02:01. Нами были оценены частоты 20 полиморфизмов, приводящих к появлению МАГ, представляемых в контексте молекул A\*02:01, для потенциальных доноров костного мозга или стволовых клеток крови (СКК) регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, также мы определили встречаемость иммуногенных несоответствий в реальных парах донор – реципиент. Всего было генотипировано 608 потенциальных доноров, 90 доноров и 92 пациента. При сравнении с публичными базами данных частот полиморфизмов было показано, что частоты аллелей МАГ в российской популяции наиболее близки к частотам европейской популяции. На основании этих данных была рассчитана вероятность возникновения после ТГСК аллоиммунного ответа, направленного против МАГ: в 33 и 75% случаев родственной и неродственной ТГСК, соответственно, ожидается три и более генетических иммуногенных несоответствия (ИН). Подсчет реального числа ИН в 20 родственных и 20 неродственных парах донор – реципиент согласуется с теоретическим расчетом. Исходя из определенных частот, самыми перспективными для российской популяции мишенями для разработки направленной клеточной терапии злокачественных заболеваний кроветворной системы являются МАГ LB-NDC80-1P/A, LB-CCL4-1T и HA-1. Полученные данные можно использовать при планировании алло-ТГСК для российских пациентов.

*Ключевые слова:* минорные антигены гистосовместимости, МАГ, HA-1, ОНП, АСП, аллель-специфичный праймер, АС-ПЦР-РВ, аллель-специфичная ПЦР в реальном времени, РТПХ, РТПЛ

### **Адрес для переписки:**

*Ефимов Григорий Александрович  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский  
центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ  
125167, Россия, Москва, Новый Зыковский проезд, 4.  
Тел.: 8 (495) 612-44-43.  
E-mail: efimov.g@blood.ru*

### **Address for correspondence:**

*Efimov Grigory A.  
National Research Center for Hematology  
125167, Russian Federation, Moscow, Novy Zykovsky pass., 4.  
Phone: 7 (495) 612-44-43.  
E-mail: efimov.g@blood.ru*

### **Образец цитирования:**

*Д.С. Романюк, А.А. Хмелевская, А.М. Постовская,  
Д.Б. Малько, Е.П. Кузьмина, Е.Г. Хамаганова,  
Г.А. Ефимов «Клинически значимые минорные антигены  
гистосовместимости для российских пациентов,  
получающих трансплантацию стволовых клеток  
крови» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 5.  
С. 847-860. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-847-860  
© Романюк Д.С. и соавт., 2019*

### **For citation:**

*D.S. Romaniuk, A.A. Khmelevskaya, A.M. Postovskaya,  
D.B. Malko, E.P. Kuzminova, E.G. Khamaganova,  
G.A. Efimov “Clinically relevant minor histocompatibility  
antigens for Russian patients undergoing hematopoietic  
stem cell transplantation”, Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 5,  
pp. 847-860. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-847-860  
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-847-860*

# CLINICALLY RELEVANT MINOR HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS FOR RUSSIAN PATIENTS UNDERGOING HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Romaniuk D.S., Khmelevskaya A.A., Postovskaya A.M., Malko D.B., Kuzminova E.P., Khamaganova E.G., Efimov G.A.

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from healthy donors is used for blood cancer treatment. Alloreactive graft-versus-host disease (GvHD) is one of the post-transplant detrimental side effects, and the main reason for GVHD after HSCT fully matched for human leukocyte peptide antigens (HLA) presented by HLA molecules on cell surface. These polymorphic peptides, minor histocompatibility antigens (MiHA), arise from any genes, including those expressed at hematopoietic tissues. The latter may lead to the s.c. graft-versus-leukemia effect (GvL), thus preventing relapse of a malignancy. A\*02:01 is one of the most frequent HLA alleles for European part of Russia. We assessed frequencies for 20 MiHA-encoded genetic polymorphisms, presented *via* A\*02:01 allele, for plausible bone marrow donors, or hematopoietic stem cells (HSC) from the Donor Registry at Russian National Research Center for Hematology, we have also determined a number of immunogenic mismatches for these 20 MiHA in real donor – recipient pairs. A total of 608 potential donors, 90 donors and 92 recipients were genotyped. Using public data, we have shown that frequencies for MiHA coding genes are most close to appropriate frequencies among the European population. We have calculated probability of MiHA-specific alloimmune response after HSCT: there are chances of 33 and 75% for three or more immunogenic mismatches (IM) for related and unrelated HSCTs, respectively. Real frequencies for immune mismatch in 20 related and 20 unrelated donor – recipient pairs are in accordance with estimated theoretical probabilities. As based on the calculated frequencies, we suggest the LB-NDC80-1P/A, LB-CCL4-1T, and HA-1 MiHA to be the most promising minor antigens for targeted cell therapies of hematopoietic tissue malignancies. The data obtained could be used for planning allo-HSCTs in Russian patients.

**Keywords:** minor histocompatibility antigen, MiHA, HA-1, SNP, ASP, allele-specific primer, AS-qPCR, allele-specific qPCR, GvHD, GvL

Статья написана при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 17-15-01512).

## Введение

Минорные антигены гистосовместимости (МАГ) являются полиморфными пептидами, которые презентуются на поверхности клетки молекулами главного комплекса гистосовместимости (HLA) I или II классов. МАГ чаще всего возникают в результате несинонимических однонуклеотидных замен (нсОНП), инсерций и делеций [12]. Как правило, кодирующие МАГ полиморфизмы биаллельные, и только один из аллелей является иммуногенным – приводит к презентации пептида на поверхности клетки [29]. При трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) может развиваться иммунный ответ на МАГ [4]. Таким образом, минорные антигены гистосовместимости могут влиять на исход трансплантации

гемопоэтических стволовых клеток. Несовпадение донора и реципиента по МАГ может приводить к отторжению трансплантата, развитию реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) или реакции «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ) [11, 19]. Отдельные МАГ, специфично экспрессируемые в гемопоэтической ткани реципиента, могут быть мишенями для Т-клеточной иммунотерапии [20].

Каждый МАГ представляется, как правило, одним, а в редких случаях несколькими аллелями HLA. Аллель HLA-A\*02:01 является самым распространенным в российской популяции. В московском регионе частота аллельной группы A\*02 достигает 29% (база данных «Allele Frequency Net», <http://www.allelefrequency.net>), при этом известно, что доля аллеля A\*02:01 для серотипа A\*02 достигает 98% (база данных «IPD-IMGT/HLA», <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>). Это значит, что около 50% пациентов и доноров яв-

ляются носителями HLA-A\*02:01. Для того чтобы выявить наиболее иммуногенные в российской популяции МАГ и в том числе наиболее перспективные в качестве мишеней для клеточной терапии, мы проанализировали частоты встречаемости 20 HLA-A\*02:01-рестрицированных минорных антигенов среди 608 потенциальных доноров стволовых клеток крови (СКК) регистра костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, а также 90 доноров СКК и 92 реципиентов, участвовавших в алло-ТГСК в «НМИЦ гематологии».

#### Экспериментальная часть

##### Образцы ДНК

Для анализа были взяты образцы геномной ДНК регистра потенциальных доноров костного мозга и стволовых клеток крови ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, а также образцы ДНК, выделенной из периферической крови реципиентов до алло-ТГСК и их доноров. Геномную ДНК потенциальных доноров из регистра выделяли с помощью прибора Arrow и наборов реагентов для него Arrow Blood DNA 200 (NorDiag, Норвегия). Геномную ДНК пар донор – реципиент выделяли с помощью набора для очистки Wizard (Promega, США). Всего было генотипировано 790 образцов ДНК: 608 потенциальных доноров регистра, 90 доноров СКК и 92 пациента до проведения алло-ТГСК. Аллели HLA при этом не учитывались.

##### Генотипирование

20 МАГ, презентруемые в HLA-A\*02:01, были выбраны на основе литературных данных (табл. 1). Все выбранные для исследования полиморфизмы не связаны между собой и наследуются независимо. Быстрое генотипирование полиморфизмов, кодирующих МАГ, проводилось методом мультиплексной ПЦР в реальном времени с аллель-специфичными праймерами (АС-ПЦР-РВ), описанным ранее [28]. Для каждого образца ДНК определяли аллели 19 нсОНП и одной делеции гена. АС-ПЦР-РВ проводили готовыми растворами, содержащими следующие компоненты: смесь для проведения ПЦР-РВ qPCRmix-HS (Евроген, Россия); праймеры и зонды для генотипирования, сгруппированные для референсных и альтернативных аллелей нсОНП по четыре; набор праймеров и зондов к гену В2М в качестве внутреннего контроля. Для определения делеции гена UGT2B17 в обеих АС-ПЦР-РВ использовались одинаковые праймеры и зонд. Готовые реакционные смеси для АС-ПЦР-РВ предварительно проверялись. В качестве контроля использовались фрагменты генов, содержащие исследуемые нсОНП, кло-

нированные с помощью вектора pJet1.2 в составе набора CloneJET PCR Cloning (Thermo Fisher Scientific, США) и бактериального штамма *E. coli* DH5 $\alpha$ . Выделение плазмид осуществлялось с помощью набора GeneJET Plasmid Miniprep (Thermo Fisher Scientific, США), их проверка проводилась методом секвенирования по Сэнгеру с использованием реактивов и секвенатора ABI 3500 фирмы Applied Biosystems (США).

Результат генотипирования определяли по разнице пороговых циклов ПЦР-РВ для двух реакций: АС-ПЦР-РВ, содержащей аллель-специфичный праймер к референсному аллелю нсОНП, и АС-ПЦР-РВ, содержащей аллель-специфичный праймер к альтернативному состоянию нсОНП. Референсное состояние нсОНП определялось согласно референсному геному человека: <http://ensembl.org>, сборка генома GRCh38. Всего было генотипировано 790 человек. После этого были отсеяны образцы, где отсутствовали данные хотя бы для одного локуса.

Как иммуногенные несоответствия определялись такие: у реципиента есть один или два иммуногенных аллеля МАГ, а донор гомозигота по неиммуногенному аллелю. Иммуногенный (доминантный) аллель определялся по литературным данным, для всех этих аллелей показано присутствие соответствующего пептида на поверхности клетки в комплексе с молекулами HLA-A\*02:01 (табл. 1), также для них показана индукция специфического иммунного ответа. Для МАГ LB-SSR1-1S, LB-NISCH-1A, LB-CLYBL-1Y и LB-NDC80-1P показано присутствие на поверхности клетки продуктов альтернативных аллелей – пептидов LB-SSR1-1L, LB-NISCH-1V, LB-CLYBL-1D и LB-NDC80-1A соответственно [4, 12]. Для таких МАГ иммуногенное несоответствие определялось по тому же алгоритму, но для каждого из двух аллелей.

##### Статистический анализ

Статистический анализ выполнялся с использованием программного обеспечения RStudio версии 1.0.143 и языка программирования R версии 3.5.1. Образцы ДНК были разделены на две части. В одну часть вошли потенциальные доноры СКК регистра, а также пациенты и доноры СКК, которые после фильтрации не имели генотипированной пары. Дополнительно из этой группы были отсеяны образцы ДНК от родственников: случайным образом оставляли только один образец ДНК от связанных людей. Полученные данные для оставшихся 365 людей проверялись и использовались для расчета частот аллелей МАГ, как описано далее. Во вторую часть вошли пары

**ТАБЛИЦА 1. МИНОРНЫЕ АНТИГЕНЫ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫЕ В КОНТЕКСТЕ АЛЛЕЛЯ HLA A\*02:01**

TABLE 1. MINOR HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS PRESENTED VIA HLA-A\*02:01 ALLELE

МАГ MiHA	Ген Gene	Хр. Ch.	Нт. Nt.	АК AA	Номер ID	Ссылка Ref.
HER-2/NEU	<i>ERBB2</i>	17	<b>C/G</b>	<b>P/A</b>	rs1058808	[23]
HA-1/A2	<i>ARHGAP45</i>	19	<b>G/A</b>	<b>R/H</b>	rs1801284	[24]
HA-2	<i>MYO1G</i>	7	<b>C/T</b>	<b>V/M</b>	rs61739531	[25]
UTA2-1	<i>KIAA1551</i>	12	<b>T/C</b>	<b>L/P</b>	rs2166807	[26]
LB-ADIR-1F	<i>TOR3A</i>	1	<b>T/C</b>	<b>F/S</b>	rs2296377	[27]
LB-CLYBL-1Y	<i>CLYBL</i>	13	<b>G/T</b>	<b>D/Y</b>	rs17577293	[28]
C19ORF48	<i>C19ORF48</i>	19	<b>T/A</b>	<b>T/S</b>	rs3745526	[29]
TRIM22	<i>TRIM22</i>	11	<b>C/T</b>	<b>R/C</b>	rs187416296	[30]
LB-PRCP-1D	<i>PRCP</i>	11	<b>T/G</b>	<b>E/D</b>	rs2229437	[32]
LB-SSR1-1S	<i>SSR1</i>	6	<b>A/G</b>	<b>L/S</b>	rs10004	[32]
LB-WNK1-1I	<i>WNK1</i>	12	<b>G/T</b>	<b>M/I</b>	rs12828016	[32]
T4A1	<i>TRIM42</i>	3	<b>C/A</b>	<b>A/E</b>	rs9876490	[33]
HA-8	<i>PUM3</i>	9	<b>C/G</b>	<b>R/P</b>	rs2173904	[34]
LB-HIVEP1-1S	<i>HIVEP1</i>	6	<b>A/G</b>	<b>N/S</b>	rs2228220	[35]
LB-NISCH-1A(V)	<i>NISCH</i>	3	<b>C/T</b>	<b>A/V</b>	rs887515	[35]
UGT2B17/A2	<i>UGT2B17</i>	4			esv3600873	[36]
LB-CCL4-1T	<i>CCL4</i>	17	<b>T/A</b>	<b>S/T</b>	rs1719152	[10]
LB-NCAPD3-1Q	<i>NCAPD3</i>	11	<b>C/T</b>	<b>R/Q</b>	rs12292394	[10]
LB-NDC80-1P(A)	<i>NDC80</i>	18	<b>G/C</b>	<b>A/P</b>	rs9051	[10]
WDR27-1L	<i>WDR27</i>	6	<b>A/G</b>	<b>L/P</b>	rs4236176	[1]

Примечание. Хр. – хромосома, содержащая представленный ген; Нт. – нуклеотидный полиморфизм; АК – аминокислотная замена; Номер – идентификационный номер полиморфизма, согласно базам данных dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) и Ensembl (<http://www.ensembl.org>). Иммуногенный аллель и соответствующие нуклеотид и аминокислота выделены жирным, первым идет референсный аллель, согласно базе данных Ensembl (<http://ensembl.org>, версия генома – GRCh38).

Note. MiHA, minor histocompatibility antigen; Ch., chromosome, containing MiHA coding gene; Nt., nucleotide polymorphism; AA, amino acid substitution; ID, identification number for polymorphism, according dbSNP and Ensembl databases (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>, <http://www.ensembl.org>). Ref., reference. Immunogenic allele and corresponding nucleotide and amino acid are in bold, reference MiHA allele stands first (Ensembl database, reference genome – GRCh38).

донор – реципиент: всего 79 человек, из них 39 человек, участвовавших в неродственной алло-ТГСК (у одного пациента было два донора), и 40 человек для родственной алло-ТГСК. Для этих пар определяли иммуногенные несоответствия по приведенному выше алгоритму.

Далее полученные генотипы МАГ для первой группы – 365 человек – переводились в цифровую кодировку, где 0 соответствовал гомозиготе по референсному аллелю нсОМП, 1 – гетерозиготе, а 2 – гомозиготе по альтернативному аллелю.

Расчет частоты аллелей производили по формуле (1).

$$p = \frac{2 \cdot \text{homo} + \text{hetero}}{2 \cdot n}, \quad (1)$$

где homo – количество всех гомозигот для данного аллеля, hetero – количество гетерозигот, а n – количество образцов.

Использованный метод генотипирования не позволяет определять количество копий гена для делеции гена UGT2B17 – невозможно разделить две копии гена и моноаллельную делецию,

**ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ ИММУНОГЕННЫХ АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ, КОДИРУЮЩИХ МАГ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ И В ПЯТИ СУПЕРПОПУЛЯЦИЯХ ПРОЕКТА «1000 ГЕНОМОВ» (<http://www.internationalgenome.org>), РАНЖИРОВАННЫЕ ПО ЧАСТОТАМ РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

TABLE 2. IMMUNOGENIC ALLELES FREQUENCIES FOR POLYMORPHISMS, CODING MiHA, FOR RUSSIAN POPULATION AND FIVE SUPER POPULATIONS FROM 1000 GENOMES PROJECT (<http://www.internationalgenome.org>), SORTED BY FREQUENCIES FOR RUSSIAN POPULATION

МАГ MiHA	RUS	EUR	AMR	EAS	AFR	SAS
HA-2	0,788	0,770	0,814	0,905	0,871	0,940
WDR27-1L	0,693	0,708	0,447	0,063	0,520	0,557
UGT2B17/A2	0,608	0,632	0,655	0,174	0,755	0,392
T4A1	0,485	0,467	0,494	0,610	0,728	0,616
HA-8	0,397	0,458*	0,496	0,459	0,367	0,380
HA-1/A2	0,374	0,345	0,386	0,361	0,527	0,360
HER-2/NEU	0,348	0,327	0,520	0,598	0,808	0,391
LB-WNK1-1I	0,322	0,388**	0,322	0,281	0,552	0,475
C19ORF48	0,290	0,301	0,217	0,654	0,132	0,375
LB-SSR1-1S	0,288	0,246	0,155	0,261	0,514	0,181
UTA2-1	0,266	0,211**	0,182	0,176	0,094	0,165
LB-ADIR-1F	0,264	0,288	0,357	0,332	0,012	0,284
LB-CCL4-1T	0,249	0,249	0,118	0,276	0,049	0,228
LB-NDC80-1P	0,234	0,229	0,136	0,125	0,124	0,312
LB-PRCP-1D	0,145	0,187*	0,130	0,113	0,105	0,171
LB-NISCH-1A	0,130	0,176**	0,189	0,022	0,692	0,119
LB-HIVEP1-1S	0,118	0,116	0,101	0,130	0,180	0,186
LB-CLYBL-1Y	0,082	0,030***	0,003	0,000	0,000	0,006
LB-NCAPD3-1Q	0,068	0,054	0,023	0,015	0,001	0,045
TRIM22	0,007	0,010	0,010	0,000	0,001	0,000

**Примечание.** RUS – российская популяция; EUR, AMR, EAS, AFR и SAS – суперпопуляции, согласно проекту «1000 геномов» – европейская, смешанная американская, восточноазиатская, африканская и южноазиатская соответственно. Отмечена статистическая значимость различий европейской и российской популяций: \*, \*\* и \*\*\* –  $p < 0,05$ ,  $0,005$  и  $0,0001$  соответственно.

Note. MiHA, minor histocompatibility antigen; RUS, Russian population; EUR, AMR, EAS, AFR and SAS, European, Ad Mixed American, East Asian, African and South Asian super population respectively, according to 1000 Genomes Project. Statistically significant difference between Russian and European populations are marked with asterisks: \*, \*\* and \*\*\*,  $p < 0.05$ ,  $0.005$  and  $0.0001$  respectively.

поэтому частота делеции определялась через закон Харди–Вайнберга (ЗХВ), так как, согласно [30], распределение этой делеции в суперпопуляциях проекта «1000 геномов» соответствует ЗХВ. Далее проверялось соответствие ЗХВ частот генотипов нсОНП, при этом нсОНП, кодирующий МАГ TRIM22 с частотой одного из аллелей менее 0,01, был исключен из анализа. Ожидаемое

количество генотипов для каждого нсОНП сравнивалось с наблюдаемым с использованием критерия хи-квадрат. Все 18 нсОНП соответствовали ЗХВ ( $p = 1 \times 10^{-6}$ ). Для сравнения данных «НМИЦ гематологии» с данными проекта «1000 геномов» (<http://www.internationalgenome.org>) генотипы 2504 человек для 19 нсОНП были загружены и приведены к описанной выше кодировке дан-

ТАБЛИЦА 3. ИНДЕКС ИММУНОГЕННОСТИ (ИИ) МАГ В РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ДЛЯ НЕРОДСТВЕННЫХ ПАР ДОНОР – РЕЦИПИЕНТ

TABLE 3. MiHA IMMUNOGENIC INDEX FOR UNRELATED MATCHED DONOR – RECIPIENT PAIRS FOR DIFFERENT POPULATIONS

МАГ MiHA	RUS	EUR	AMR	EAS	AFR	SAS
LB-SSR1-1	0,328	0,302	0,227	0,311	0,375	0,253
<b>LB-NDC80-1</b>	0,299	0,291	0,207	0,195	0,194	0,337
C19ORF48	0,250	0,250	0,237	0,106	0,186	0,238
LB-WNK1-1I	0,249	0,235	0,221	0,218	0,147	0,211
UTA2-1	0,249	0,250	0,243	0,247	0,024	0,250
LB-ADIR-1F	0,248	0,234	0,248	0,250	0,160	0,199
<b>LB-CCL4-1T</b>	0,246	0,248	0,177	0,135	0,036	0,233
HER-2/NEU	0,245	0,246	0,173	0,249	0,087	0,241
<b>HA-1/A2</b>	0,239	0,245	0,235	0,242	0,174	0,242
HA-8	0,232	0,207	0,190	0,207	0,240	0,237
T4A1	0,198	0,203	0,190	0,129	0,068	0,126
LB-PRCP-1D	0,198	0,248	0,260	0,042	0,336	0,187
LB-NISCH-1	0,197	0,224	0,184	0,168	0,160	0,215
LB-HIVEP1-1S	0,173	0,171	0,155	0,184	0,220	0,224
LB-CLYBL-1	0,139	0,056	0,006	0,000	0,000	0,012
UGT2B17/A2	0,133	0,117	0,105	0,217	0,056	0,233
LB-NCAPD3-1Q	0,114	0,094	0,044	0,029	0,002	0,080
WDR27-1L	0,086	0,078	0,212	0,108	0,177	0,158
<b>HA-2</b>	0,041	0,050	0,034	0,009	0,016	0,004
TRIM22	0,014	0,019	0,020	0,000	0,002	0,000

Примечание. МАГ ранжированы по ИИ для российской популяции. Жирным выделены специфические для гемопоэтической ткани МАГ. МАГ – минорный антиген гистосовместимости; RUS – российская популяция; EUR, AMR, EAS, AFR и SAS – европейская, смешанная американская, восточноазиатская, африканская и южноазиатская, соответственно, суперпопуляции из проекта «1000 геномов» (<http://www.internationalgenome.org>).

Note. MiHA are sorted according immunogenic index for Russian population. MiHA specific for hematopoietic tissue are in bold. MiHA – minor histocompatibility antigen; RUS, Russian population; EUR, AMR, EAS, AFR and SAS, European, Ad Mixed American, East Asian, African and South Asian super population respectively, according to 1000 Genomes Project (<http://www.internationalgenome.org>).

ных, а популяции были сгруппированы согласно списку пяти суперпопуляций этой базы данных. Два человека были исключены, так как имели редкие третьи аллели нсОНП. Анализ частоты делеции гена UGT2B17 по данным проекта «1000 геномов» был проведен ранее [30], полученные в этой работе частоты делеции гена UGT2B17 использовались нами для дальнейшего анализа. Первые две главные компоненты метода главных компонент, примененного к частотам аллелей МАГ, использовались для отображения популя-

ционных различий. Сравнение частот аллелей МАГ для российской популяции и европейской суперпопуляции осуществлялось с помощью точного теста Фишера.

Расчет вероятности иммуногенного несоответствия в паре донор – реципиент для полученных частот аллелей проводился методом Монте-Карло с помощью написанной для этих целей программы, используя по 100 тысяч симуляций родственных и неродственных аллотГСК. Для сравнения количества иммуногенных

**ТАБЛИЦА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕВАЛИРУЮЩИХ ДЛЯ КРОВЕТВОРНОЙ ТКАНИ МАГ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ ПРОЕКТА «БЕЛКОВЫЙ АТЛАС ЧЕЛОВЕКА» (<https://www.proteinatlas.org/>)**

**TABLE 4. DETERMINATION OF HEMATOPOIETIC TISSUE SPECIFIC MiHA USING HUMAN PROTEIN ATLAS PROJECT DATA (<https://www.proteinatlas.org/>)**

МАГ MiHA	Представленность Expression	Ткань с макс. ПНМ Tissue with max. TPM	Кр. ткань / РТПХ-ткань Blood-TPM / GvHD-TPM
HA-1/A2	Тканеспецифичная Tissue enhanced	Легкие Lungs	3,31
LB-NDC80-1	Смешанная Mixed	Прямая кишка Colon	1,80
HA-2	Тканеспецифичная Tissue enhanced	Легкие Lungs	1,34
LB-CCL4-1T	Тканеспецифичная Tissue enhanced	Желчный пузырь Gallbladder	1,17
LB-NCAPD3-1Q	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	1,00
LB-ADIR-1F	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	0,70
C19ORF48	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	0,67
HA-8	Повсеместно Ubiquitous	Пищевод Esophagus	0,51
TRIM22	Повсеместно Ubiquitous	Легкие Lungs	0,50
UTA2-1	Повсеместно Ubiquitous	Желчный пузырь Gallbladder	0,48
LB-SSR1-1	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	0,46
LB-WNK1-1I	Повсеместно Ubiquitous	Пищевод Esophagus	0,43
LB-HIVEP1-1S	Смешанная Mixed	Эндокринная система Endocrine tissues	0,42
WDR27-1L	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	0,39
LB-NISCH-1	Повсеместно Ubiquitous	Кожа Skin	0,26
LB-PRCP-1D	Повсеместно Ubiquitous	Почки Kidneys	0,18
LB-CLYBL-1	Повсеместно Ubiquitous	Почки Kidneys	0,05
HER-2/NEU	Повсеместно Ubiquitous	Эндокринная система Endocrine tissues	0,01
UGT2B17/A2	Тканеспецифичная Tissue enhanced	Тонкий кишечник Small intestine	0,00
T4A1	Тканеспецифичная Tissue enhanced	НД NA	НД NA

**Примечание.** Доля белков, кодирующих МАГ, в кроветворной системе сравнивалась с представленностью этих белков в тканях, где может развиваться РТПХ. Представленность – приводится оценка распределения белков, кодирующих МАГ по тканям по данным проекта «Белковый атлас человека». Ткань с макс. ПНМ – не кроветворная ткань, с наибольшей экспрессией белка, кодирующего МАГ, в которой может развиваться РТПХ, ПНМ – нормированное на миллион прочтений количество прочтений целевого транскрипта в ходе РНК-секвенирования. Кр. ткань / РТПХ-ткань – отношение ПНМ белка, кодирующего МАГ в кроветворной ткани к ткани с максимальным ПНМ, где может развиваться РТПХ; значения больше единицы скорее будут приводить к РТПХ.

Note. Fraction of the protein, containing MiHA, in hematopoietic system was compared with the protein abundance in GvHD tissues. MiHA – minor histocompatibility antigen. Expression, MiHA proteins tissue distribution, according to Human Protein Atlas Project. Tissue with max. TPM, non-hematopoietic tissue with maximum MiHA protein expression, where GvHD can take place. TPM, transcripts per million, is the number of the target RNA reads normalized for million reads during RNAseq. Blood-TPM / GvHD-TPM, ratio of TPM for MiHA protein in the haematogenic tissue to the tissue with maximum TPM for the MiHA protein; if value is more than one – GvL reaction is more plausible in case of MiHA mismatch.

несоответствий в реальных парах доноров и реципиентов использовались критерий Фишера и t-критерий Стьюдента.

Расчет индекса иммуногенности осуществляли с использованием частот иммуногенных аллелей, кодирующих МАГ (табл. 1), согласно формулам, подробно разобранным в [7]. Для доминантных МАГ использовалась формула 2, для кодоминантных – 3.

$$ИИ_{дом} = A^2 \times (1 - A^2), \quad (2)$$

где  $A$  – частота доминантного, кодирующего МАГ аллеля.

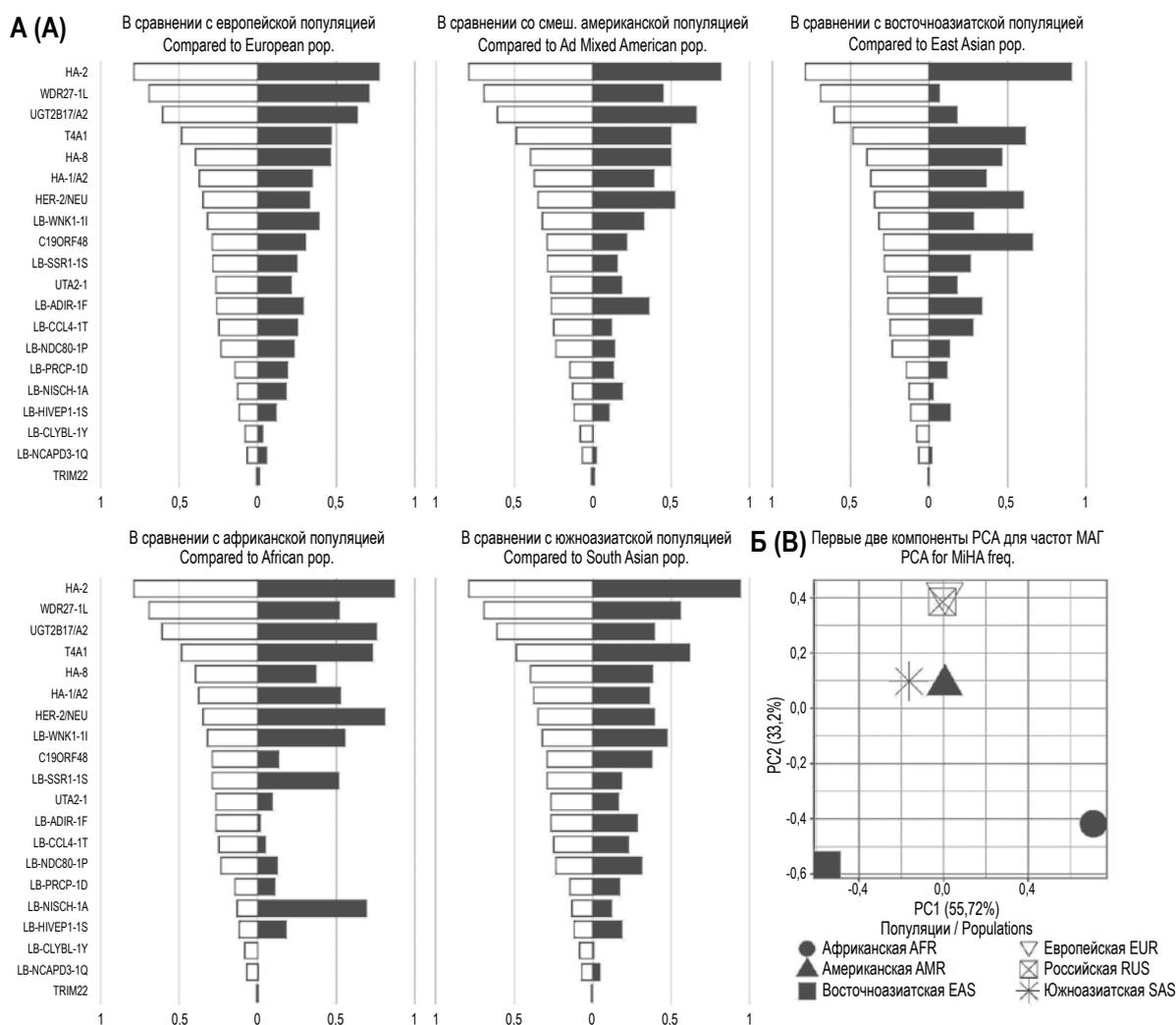
$$ИИ_{код} = A^2 \times (1 - A^2) + B^2 \times (1 - B^2), \quad (3)$$

где  $A$  и  $B$  – частоты двух аллелей, кодирующих кодоминантные МАГ.

Расчет ИИ для родственных пар осуществлялся по формуле 4.

$$ИИ_{род} = A \times (1 - A)^2 \times (4 - A) / 4, \quad (4)$$

где  $A$  – частота доминантного, кодирующего МАГ аллеля.



**Рисунок 1. Частоты иммуногенных аллелей МАГ российской популяции наиболее близки к частотам для европейской популяции**

**Примечание. А.** Частоты иммуногенных аллелей МАГ в российской популяции и соответствующие частоты суперпопуляций проекта «1000 геномов» (<http://www.internationalgenome.org>), для кодоминантных МАГ указана только частота одного из двух аллелей. Слева (белые столбцы) – частоты по данным «НМИЦ гематологии», справа (черные столбцы) – частоты для соответствующей суперпопуляции из «1000 геномов». **Б.** Сопоставление описанных частот методом главных компонент (PCA), проецирующим все частоты для каждой популяции на одну плоскость.

Figure 1. MiHA immune allele frequencies for the Russian population are most similar to the European population

Note. A. MiHA immune allele frequencies in the Russian population in comparison with 1000 Genomes project frequencies for five superpopulations (<http://www.internationalgenome.org>), only one allele frequency shown for codominant MiHA. White bars – the NRCH data, black bars – 1000 Genomes data. B. Principal component analysis for MiHA frequencies.

Для родственных пар для кодоминантных МАГ ИИ считался по аналогии с ИИ для неродственных пар – ИИ рассчитывался по формуле 4 для обоих аллелей МАГ и суммировался.

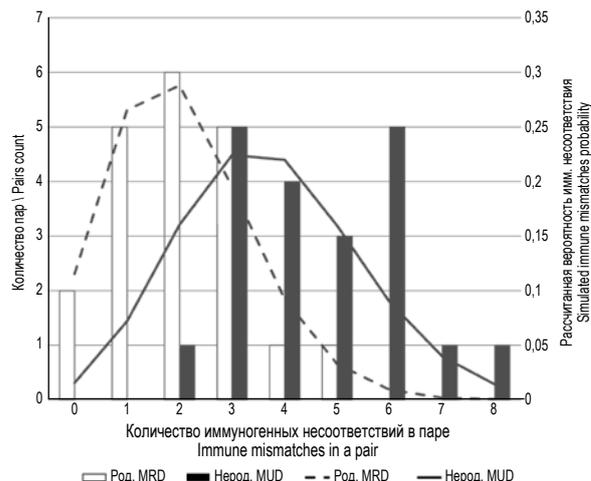
Для предсказания РТПХ и РТПО после ТГСК, вызванных несоответствиями по МАГ, использовались данные базы «Белковый атлас человека» (<https://www.proteinatlas.org/>). Представленность МАГ для кроветворной ткани определялась как отношение ПНМ (прочтений целевого транскрипта, нормированного на миллион прочтений) в костном мозге для белков, кодирующих МАГ, к наибольшему значению ПНМ для тканей, где может развиваться РТПХ (легкие, прямая кишка, желчный пузырь, эндокринная система, пищевод, кожа, почки, тонкий кишечник). Данный расчет не проводился для МАГ T4A1 ввиду неполноты данных РНК-секвенирования (табл. 4).

## Результаты

Всего было генотипировано 790 образцов (608 потенциальных доноров регистра, 90 доноров СКК и 92 пациента до алло-ТГСК). Аллели HLA при этом не учитывались. После предварительной фильтрации данных были получены генотипы 20 полиморфизмов, кодирующих МАГ, представляемые в контексте HLA A\*02:01 (табл. 1), для 444 человек. Распределение частот генотипов нсОМП, кодирующих МАГ, соответствовало закону Харди–Вайнберга. Для делеции гена UGT2B17 и нсОМП rs187416296, кодирующего МАГ TRIM22, данная проверка не осуществлялась ввиду технических ограничений.

Полученные частоты аллелей МАГ были сопоставлены с частотами для пяти суперпопуляций из проекта «1000 геномов» (рис. 1А). Как и ожидалось, российская популяция наиболее схожа с европейской суперпопуляцией (рис. 1Б). Мы отдельно сравнили частоты аллелей МАГ для российской и европейской популяций, как наиболее близких. Статистически достоверные различия в частотах между российской популяцией и европейской суперпопуляцией наблюдались только для нсОМП, кодирующих МАГ UTA2-1, LB-CLYBL-1Y, LB-PRCP-1D, LB-WNK1-1I, HA-8, LB-NISCH-1A. При этом в абсолютных значениях различие частоты аллелей для этих двух популяций не превышало 7% (МАГ LB-WNK1-1I) (табл. 2).

На основе данных о частотах аллелей для каждого МАГ был рассчитан индекс иммуногенности (ИИ) – вероятность того, что в паре донор – реципиент из одной популяции у реципиента есть хотя бы один иммуногенный аллель, а донор гомозигота по неиммуногенному аллелю. Вви-



**Рисунок 2. Распределение вероятности числа иммуногенных несоответствий МАГ для родственных и неродственных пар**

**Примечание.** Количество иммуногенных несоответствий для родственных и неродственных пар в российской популяции было рассчитано в результате компьютерной симуляции (ломаные линии) и определено в 40 HLA-совместимых парах донор – реципиент: 20 родственных и 20 неродственных пар (столбики).

Figure 2. Immune MiHA mismatch probability distribution for related and unrelated donor – recipient pairs

Note. Simulated immune mismatches frequencies for related (dashed line) and unrelated pairs (solid line) for the Russian population and observed immune mismatch count for 40 HLA-matched donor-recipient pairs: 20 related (white bars) and 20 unrelated (black bars).

ду генетической схожести для родственных пар донор – реципиент вероятность иммуногенного несоответствия ниже, поэтому ИИ для родственных пар рассчитывался по другой формуле [21]. На основе ИИ для неродственных пар мы составили список самых иммуногенных МАГ для российской популяции и сравнили этот показатель с ИИ для суперпопуляций проекта «1000 геномов» (табл. 3). Наиболее иммуногенным для российской и европейской популяций является МАГ LB-SSR1-1S. Несовпадение по этому МАГ, приводящее к развитию аллореактивного иммунного ответа, может возникнуть более чем в 33% неродственных алло-ТГСК. Эту информацию мы совместили с данными по экспрессии МАГ для того, чтобы разделить МАГ, способные приводить только к РТПЛ или РТПЛ и РТПХ (табл. 4). Наиболее перспективным для терапии является МАГ HA-1, его уровень экспрессии в гемопоэтической ткани более чем в три раза превосходит уровень экспрессии в любой из тканей, поражаемых РТПХ, при этом иммуногенные несоответствия по HA-1 возникают в 24% случаев. Также потенциальными мишенями являются LB-NDC80-1P/A, LB-CCL4-1T, чья экспрессия в кроветворной ткани повышена, а индекс имму-

ногенности составляет 30 и 25% соответственно. Необходимо отметить, что аллели LB-NDC80-1A и LB-NDC80-1P – кодоминантные – оба аллеля приводят к презентации пептидов, отличающихся на одну аминокислоту. Было показано, что такого различия достаточно для МАГ-специфичного Т-клеточного ответа [4]. Таким образом, для кодоминантных МАГ иммуногенными могут быть как тот, так и другой аллели, *in vivo* иммуногенность альтернативного аллеля для LB-NDC80-1P не была экспериментально подтверждена [33].

Для того чтобы рассчитать распределение количества несоответствий донора и реципиента алло-ТГСК для всех 20 МАГ, мы провели компьютерную симуляцию, взяв за основу ИИ для исследуемых МАГ. Поскольку родственные пары имеют меньший ИИ, симуляция для сиблингов проводилась отдельно. Было показано, что при алло-ТГСК от неродственного донора в 72,7% случаев ожидается 3 и более несоответствия по МАГ, в то время как для родственных доноров эта цифра составила 30,5% (рис. 2).

Помимо этого, были генотипированы 40 HLA-совместимых пар доноров и реципиентов, прошедших трансплантацию в «НМИЦ гематологии» и определено количество иммуногенных несоответствий в каждой паре. Изучено 20 родственных и 20 неродственных пар донор – реципиент. Как и ожидалось по данным симуляции, реципиенты, получившие СКК от родственного HLA-совместимого донора, имели достоверно меньше иммуногенных несоответствий, чем реципиенты, которым был подобран неродственный HLA-совместимый донор СКК: в среднем 2,05 и 4,65 различий соответственно ( $p = 1,54 \times 10^{-6}$ ) (рис. 2).

## Обсуждение

Имуногенное несовпадение по МАГ, способное привести к развитию аллореактивного иммунного ответа после алло-ТГСК, определяется конкретным сочетанием генотипов донора и реципиента. Информация о частоте встречаемости в исследуемой популяции полиморфизмов, кодирующих МАГ, позволяет предсказывать вероятность возникновения иммуногенного несоответствия. Ранее проводился анализ частот аллелей МАГ для населения Тайваня [18] и Туниса [27], при этом в обеих работах анализировались только 2 МАГ: HA-1 и HA-2.

Предварительно нами было проведено сравнение различных методов генотипирования полиморфизмов, кодирующих МАГ [1], что привело к разработке нового подхода, до этого

не используемого для генотипирования МАГ – мультиплексной ПЦР в реальном времени с аллель-специфичными праймерами [28]. Используя этот высокопроизводительный метод, мы определили частоты полиморфизмов, кодирующих 20 МАГ, рестрицированных по аллелю HLA-A\*02:01 (табл. 1) в российской популяции.

Существуют исследования, в которых проводился анализ частот МАГ, основанный на данных проекта «1000 геномов» [23]. В данной работе мы использовали наиболее свежие данные этого проекта с увеличенным по сравнению с опубликованным ранее исследованием количеством генотипированных образцов (2502 против 1092), что позволило уточнить частоты для различных суперпопуляций. Сравнение определенных нами частот для 20 полиморфизмов с частотами в различных суперпопуляциях проекта «1000 геномов» показало, что по полиморфизмам, кодирующим МАГ, российская популяция наиболее близка к европейской. Однако при этом для некоторых исследованных полиморфизмов частоты существенно отличались (рис. 1, табл. 2). Это согласуется с опубликованными ранее данными, что частоты генетических полиморфизмов, кодирующих МАГ, варьируют для разных этносов [23], что делает необходимым оценку частоты МАГ для конкретных популяций.

Известно, что число несовпадений по МАГ может определять вероятность развития РТПЛ и РТПХ [9, 15, 28]. Кроме того, показано, что количество несоответствий по нсОМП, кодирующим МАГ, соотносится с общим количеством нсОМП несоответствий для пары донор – реципиент [21]. В нашей работе мы предсказали вероятность иммуногенных несоответствий для каждого МАГ с помощью компьютерной симуляции. Наиболее иммуногенными для российской популяции являются МАГ LB-SSR1-1S и C19ORF48, приводящие к РТПХ, а также LB-NDC80-1, приводящий к РТПЛ. Также нами были генотипированы пары донор – реципиент, проходившие ТГСК. Количество иммуногенных несоответствий хорошо предсказывается методом компьютерной симуляции.

Учитывать несоответствия по МАГ при подборе донора на сегодняшний день неосуществимо ввиду ограниченного размера донорских регистров, однако информация об иммуногенных несоответствиях по МАГ в паре донор – реципиент может быть учтена при выборе иммуносупрессивной терапии и для направленной клеточной терапии [10, 14, 34, 35].

Часть МАГ экспрессируется только в гемопоэтической ткани, в этом случае иммунный ответ, направленный против них, будет вызывать РТПЛ и потенциально снижать риск развития рецидива [25]. Учитывая данные по экспрессии генов, кодирующих МАГ в различных тканях (табл. 4), мы предсказали наиболее релевантные МАГ для направленной клеточной иммунотерапии рецидивов лейкозов после алло-ТГСК – это LB-NDC80-1P, LB-NDC80-1A, LB-CCL4-1T и HA-1 (табл. 3, 4).

Полученные нами данные по частотам 20 представляемых в контексте HLA-A\*02:01 МАГ для российской популяции позволят предсказывать ожидаемые осложнения после HLA-совместимой алло-ТГСК как для доноров из российских регистров костного мозга, так и для доноров из европейских регистров. Кроме того, эти данные могут быть использованы для определения мишеней для иммунотерапии.

## Список литературы / References

1. Вдовин А.С., Постовская А.М., Быкова Н.А., Романюк Д.С., Алиева А.Х., Ефимова П.Р., Шитиков С.А., Джулакян У.Л., Ефимов Г.А. Сравнительный анализ методов генотипирования минорных антигенов гистосовместимости // Онкогематология, 2016. Т. 11, № 2. С. 40-50. [Vdovin A.S., Postovskaya A.M., Bykova N.A., Romaniuk D.S., Alieva A.K., Efimova P.R., Shitikov S.A., Julakyan U.L., Efimov G.A. Comparative analysis of minor histocompatibility antigens genotyping methods. *Onkogematologiya = Oncohematology*, 2016, Vol. 11, no. 2, pp. 40-50. (In Russ.)]
2. Armistead P.M., Liang S., Li H., Lu S., Bergen C.A., Alatrash G., John L., Hunsucker S.A., Sarantopoulos S., Falkenburg J., Molldrem J.J. Common minor histocompatibility antigen discovery based upon patient clinical outcomes and genomic data. *PLoS ONE*, 2011, Vol. 6, no. 8, e23217. doi: 10.1371/journal.pone.0023217
3. Bergen C., Rutten C.E., Meijden E.D., Luxemburg-Heijs S., Lurvink E., Houwing-Duistermaat J.J., Kester M., Mulder A., Willemze R., Falkenburg J.H., et al. High-throughput characterization of 10 new minor histocompatibility antigens by whole genome association scanning. *Cancer Research*, 2010, Vol. 70, pp. 9073-9083.
4. Bijen H.M., Hassan C., Kester M.G.D., Janssen G.M.C., Hombrink P., Ru A.H., Drijfhout J.W., Meiring H.D., de Jong A.P., Falkenburg J.H.F., Jimenez C.R., Heemskerk M.H.M., van Veelen P.A. Specific T cell responses against minor histocompatibility antigens cannot generally be explained by absence of their allelic counterparts on the cell surface. *Proteomics*, 2018, Vol. 18, no. 12, e1700250. doi: 10.1002/pmic.201700250.
5. Bleakley M., Riddell S.R. Exploiting T cells specific for human minor histocompatibility antigens for therapy of leukemia. *Immunol. Cell Biol.*, 2011, Vol. 89, no. 3, pp. 396-407.
6. Brickner A.G., Warren E.H., Caldwell J.A., Akatsuka Y., Golovina T.N., Zarling A.L., Shabanowitz J., Eisenlohr L.C., Hunt D.F., Engelhard V.H., Riddell S.R. The immunogenicity of a new human minor histocompatibility antigen results from differential antigen processing. *J. Exp. Med.*, 2001, Vol. 193, no. 2, pp. 195-206.
7. Bykova N.A., Malko D.B., Efimov G.A. *In silico* analysis of the minor histocompatibility antigen landscape based on the 1000 Genomes Project. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, e1819. doi: 10.3389/fimmu.2018.01819.
8. den Haan J. The minor histocompatibility antigen HA-1: A diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science*, 1998, Vol. 279, pp. 1054-1057.
9. Dzierzak-Mietla M., Markiewicz M., Siekiera U., Mizia S., Koclega A., Zielinska P., Sobczyk-Kruszelnicka M., Kyrzcz-Krzemien S. Occurrence and impact of minor histocompatibility antigens' disparities on outcomes of hematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched sibling donors. *Bone Marrow Res.*, 2012, Vol. 2012, e257086. doi: 10.1155/2012/257086.
10. Franssen L.E., Roeven M.W.H., Hobo W., Doorn R., Oostvogels R., Falkenburg J.H.F., van de Donk N.W., Kester M.G.D., Fredrix H., Westinga K., Slaper-Cortenbach I., Spierings E., Kersten M.J., Dolstra H., Mutis T., Schaap N., Lokhorst H.M. A phase I/II minor histocompatibility antigen-loaded dendritic cell vaccination trial to safely improve the efficacy of donor lymphocyte infusions in myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 2017, Vol. 52, no. 10, pp. 1378-1383.
11. Goulmy E. Minor histocompatibility antigens: from transplantation problems to therapy of cancer. *Hum. Immunol.*, 2006, Vol. 67, pp. 433-438.
12. Granados D.P., Rodenbrock A., Laverdure J.P., Côté C., Caron-Lizotte O., Carli C., Pearson H., Janelle V., Durette C., Bonneil E., Roy D.C., Delisle J.S., Lemieux S., Thibault P., Perreault C. Proteogenomic-based discovery of minor histocompatibility antigens with suitable features for immunotherapy of hematologic cancers. *Leukemia*, 2016, Vol. 30, no. 6, pp. 1344-1354.
13. Haan D.J., Sherman N.E., Blokland E., Huczko E., Koning F., Drijfhout J., Skipper J., Shabanowitz J., Hunt D.F., Engelhard V.H. Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science*, 1995, Vol. 268, no. 5216, pp. 1476-1480.

14. Hambach L., Vermeij M., Buser A., Aghai Z., van der Kwast T., Goulmy E. Targeting a single mismatched minor histocompatibility antigen with tumor-restricted expression eradicates human solid tumors. *Blood*, 2008, Vol. 112, no. 5, pp. 1844-1852.
15. Hobo W., Broen K., van der Velden W.J., Greupink-Draaisma A., Adisty N., Wouters Y., Kester M., Fredrix H., Jansen J.H., van der Reijden B., Falkenburg J.H., de Witte T., Preijers F., Schattenberg T., Feuth T., Blijlevens N.M., Schaap N., Dolstra H. Association of disparities in known minor histocompatibility antigens with relapse-free survival and graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2013, Vol. 19, no. 2, pp. 274-282.
16. Hombrink P., Hassan C., Kester M., Jahn L., Pont M.J., de Ru A.H., van Bergen C., Griffioen M., Falkenburg J.H., van Veelen P.A., Heemskerk M.H. Identification of biological relevant minor histocompatibility antigens within the B-lymphocyte-derived HLA-ligandome using a reverse immunology approach. *Clin. Cancer Res.*, 2015, Vol. 21, no. 9, pp. 2177-2186.
17. Hombrink P., Hassan C., Kester M.G., de Ru A.H., van Bergen C.A., Nijveen H., Drijfhout J.W., Falkenburg J., Heemskerk M.H., van Veelen P.A. Discovery of T cell epitopes implementing HLA-peptidomics into a reverse immunology approach. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 8, pp. 3869-3877.
18. Lio H-Y., Tang J-L., Wu J., Wu S-J., Lin C-Y., Yang Y-C. Minor histocompatibility antigen HA-1 and HA-2 polymorphisms in Taiwan: frequency and application in hematopoietic stem cell transplantation. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2010, Vol. 48, no. 9, pp. 1287-1293.
19. Malarkannan S., Regunathan J., Timler A.M. Minor histocompatibility antigens: Molecular targets for immunomodulation in tissue transplantation and tumor therapy. *Clin. Appl. Immunol. Rev.*, 2005, Vol. 5, pp. 95-109.
20. Marijt W.A., Heemskerk M.H., Kloosterboer F.M., Goulmy E., Kester M.G., van der Hoorn M.A., van Luxemburg-Heys S.A., Hoogeboom M., Mutis T., Drijfhout J.W., van Rood J.J., Willemze R., Falkenburg J.H. Hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigens HA-1- or HA-2-specific T cells can induce complete remissions of relapsed leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, Vol. 100, no. 5, pp. 2742-2747.
21. Martin P.J., Levine D.M., Storer B.E., Warren E.H., Zheng X., Nelson S.C., Smith A.G., Mortensen B.K., Hansen J.A. Genome-wide minor histocompatibility matching as related to the risk of graft-versus-host disease. *Blood*, 2017, Vol. 129, no. 6, pp. 791-798.
22. Murata M., Warren E.H., Riddell S.R. A human minor histocompatibility antigen resulting from differential expression due to a gene deletion. *J. Exp. Med.*, 2003, Vol. 197, no. 10, pp. 1279-1289.
23. Oostvogels R., Lokhorst H.M., Minnema M.C., van Elk M., van den Oudenalder K., Spierings E., Mutis T., Spaapen R.M. Identification of minor histocompatibility antigens based on the 1000 Genomes Project. *Haematologica*, 2014, Vol. 99, no. 12, e109801. doi: 10.3324/haematol.2014.109801.
24. Oostvogels R., Minnema M.C., van Elk M., Spaapen R.M., te Raa G.D., Giovannone B., Buijs A., van Baarle D., Kater A., Griffioen M., Spierings E., Lokhorst H.M., Mutis T. Towards effective and safe immunotherapy after allogeneic stem cell transplantation: identification of hematopoietic-specific minor histocompatibility antigen UTA2-1. *Leukemia*, 2013, Vol. 27, no. 3, pp. 642-649.
25. Pierce R.A., Field E.D., Mutis T., Golovina T.N., von Kap-Herr C., Wilke. M., Pool J., Shabanowitz J., Pettenati M.J., Eisenlohr L.C., Hunt D.F., Goulmy E., Engelhard V.H. The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 6, pp. 3223-3230.
26. Romaniuk D.S., Postovskaya A.M., Khmelevskaya A.A., Malko D.B., Efimov G.A. Rapid multiplex genotyping of 20 HLA-A\*02:01 restricted minor histocompatibility antigens. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1226. doi: 10.3389/fimmu.2019.01226.
27. Sellami M.H., Ben Ahmed B.A., Kaabi H., Jridi A., Dridi A., Hmida S. HA-1 and HA-2 minor histocompatibility antigens in Tunisians. *Tissue Antigens*, 2010, Vol. 75, no. 6, pp. 720-723.
28. Spellman S., Warden M.B., Haagensohn M., Pietz B.C., Goulmy E., Warren E.H., Wang T., Ellis T.M. Effects of mismatching for minor histocompatibility antigens on clinical outcomes in HLA-matched, unrelated hematopoietic stem cell transplants. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2009, Vol. 15, no. 7, pp. 856-863.
29. Spierings E. Minor histocompatibility antigens: past, present, and future. *Tissue Antigens*, 2014, Vol. 84, no. 4, pp. 374-360.
30. Sudmant P.H., Rausch T., Gardner E.J., Handsaker R.E., Abyzov A., Huddleston J., Zhang Y., Ye K., Jun G., Fritz M.H., Konkel M.K., Malhotra A., Stütz A.M., Shi X., Casale F.P., Chen J., Hormozdiari F., Dayama G., Chen K., Malig M., Chaisson M.J.P., Walter K., Meiers S., Kashin S., Garrison E., Auton A., Lam H.Y.K., Mu X.J., Alkan C., Antaki D., Bae T., Cerveira E., Chines P., Chong Z., Clarke L., Dal E., Ding L., Emery S., Fan X., Gujral M., Kahveci F., Kidd J.M., Kong Y., Lameijer E.W., McCarthy S., Flicek P., Gibbs R.A., Marth G., Mason C.E., Menelaou A., Muzny D.M., Nelson B.J., Noor A., Parrish N.F., Pendleton M., Quitadamo A., Raeder B., Schadt E.E., Romanovitch M., Schlattl A., Sebra R., Shabalin A.A., Untergasser A., Walker J.A., Wang M., Yu F., Zhang C., Zhang J., Zheng-Bradley X., Zhou W., Zichner T., Sebat J., Batzer M.A., McCarroll S.A., 1000 Genomes Project Consortium, Mills R.E., Gerstein M.B., Bashir A., Stegle O., Devine S.E., Lee C., Eichler E.E., Korbel J.O. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature*, 2015, Vol. 526, no. 7571, pp. 75-81.

31. Tykodi S.S., Fujii N., Vigneron N., Lu S.M., Mito J.K., Miranda M.X., Chou J., Voong L.N., Thompson J.A., Sandmaier B.M., Cresswell P., van den Eynde B., Riddell S.R., Warren E.H. C19orf48 encodes a minor histocompatibility antigen recognized by CD8<sup>+</sup> cytotoxic T cells from renal cell carcinoma patients. *Clin. Cancer Res.*, 2008, Vol. 14, no. 16, pp. 5260-5269.
32. van Bergen C.A., Kester M.G., Jedema I., Heemskerk M.H., van Luxemburg-Heijs S.A., Kloosterboer F.M., Marijt E.W., de Ru A.H., Schaafsma M.R., Willemze R., van Veelen P.A., Falkenburg J.H. Multiple myeloma-reactive T cells recognize an activation-induced minor histocompatibility antigen encoded by the ATP-dependent interferon-responsive (ADIR) gene. *Blood*, 2007, Vol. 109, no. 9, pp. 4089-4096.
33. van Bergen C.A., van Luxemburg-Heijs S.A., de Wreede L.C., Eefting M., von dem Borne P.A., van Balen P., Heemskerk M.H., Mulder A., Claas F.H., Navarrete M.A., Honders W.M., Rutten C.E., Veelken H., Jedema I., Halkes C.J., Griffioen M., Falkenburg J.H. Selective graft-versus-leukemia depends on magnitude and diversity of the alloreactive T cell response. *J. Clin. Invest.*, 2017, Vol. 127, no. 2, pp. 517-529.
34. van Loenen M.M., de Boer R., Hagedoorn R.S., van Egmond E.H., Falkenburg J.H., Heemskerk M.H. Optimization of the HA-1-specific T-cell receptor for gene therapy of hematologic malignancies. *Haematologica*, 2011, Vol. 96, no. 3, pp. 477-481.
35. Warren E.H., Fujii N., Akatsuka Y., Chaney C.N., Mito J.K., Loeb K.R., Gooley T.A., Brown M.L., Koo K.K., Rosinski K.V., Ogawa S., Matsubara A., Appelbaum F.R., Riddell S.R. Therapy of relapsed leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with T cells specific for minor histocompatibility antigens. *Blood*, 2010, Vol. 115, no. 9, pp. 3869-3878.
36. Wenandy L., Kollgaard T., Letsch A., Andersen R.S., Stather D., Seremet T., Svane I.M., Vindeløv L., Andersen M.H., Thor Straten P. The 1170 A-P single-nucleotide polymorphism (SNP) in the Her-2/neu protein (HER2) as a minor histocompatibility antigen (mHag). *Leukemia*, 2009, Vol. 23, no. 10, e2009112. doi: 10.1038/leu.2009.112.
37. Wölfel C., Lennerz V., Lindemann E., Hess G., Derigs H.G., Huber C., Herr W., Wölfel T. Dissection and molecular analysis of alloreactive CD8<sup>+</sup> T cell responses in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2008, Vol. 57, no. 6, pp. 849-857.

---

**Авторы:**

**Романиук Д.С.** — магистр биологии, научный сотрудник лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Хмелевская А.А.** — бакалавр биологии, стажер-исследователь лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Постовская А.М.** — магистр биологии, стажер лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Малько Д.Б.** — к.техн.н., научный сотрудник лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

---

**Authors:**

**Romaniuk D.S.**, MSc (Biology), Research Associate, Laboratory of Transplantation Immunology, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Khmelevskaya A.A.**, BSc (Biology), Research Intern, Laboratory of Transplantation Immunology, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Postovskaya A.M.**, MSc (Biology), Research Intern, Laboratory of Transplantation Immunology, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Malko D.B.**, PhD (Technics), Research Associate, Laboratory of Transplantation Immunology, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Кузьмина Е.П.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Хамаганова Е.Г.** — д.б.н., заведующий лабораторией тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Ефимов Г.А.** — к.б.н., заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Kuzminova E.P.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Khamaganova E.G.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

**Efimov G.A.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Transplantation Immunology, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 15.12.2018  
Отправлена на доработку 26.12.2018  
Принята к печати 26.01.2019

---

Received 15.12.2018  
Revision received 26.12.2018  
Accepted 26.01.2019