

УДК 575.174.015.3:612.017.1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА HLA-C И HLA-C1, -C2 ГРУПП ЛИГАНДОВ ДЛЯ KIR СРЕДИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА**Кузьминова Е.П., Чапова Р.С., Хамаганова Е.Г.***ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ, Москва, e-mail: kotvanka@mail.ru*

Имуноглобулинподобные рецепторы киллерных клеток (KIR) через взаимодействие со своими лигандами – антигенами главного комплекса гистосовместимости (HLA) играют ключевую роль в регуляции активности естественных киллеров (NK). В работе проведен анализ частот встречаемости аллелей локуса HLA-C, распределения HLA-C1 и -C2 групп, как основных лигандов для KIR, среди 865 потенциальных доноров костного мозга регистра ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва. Обнаружено, что наиболее частотным аллельным вариантом локуса HLA-C является HLA-C*07:02 (выявлен у 13,2% доноров). HLA-лиганды для KIR распределялись в сторону преобладания HLA-C1 группы аллелей (59,7%) и гетерозигот C1/C2 (49,3%) над C1/C1 (35%) и C2/C2 (15,7%). Данные результаты могут учитываться при исследовании роли KIR и их HLA-лигандов в предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе проблемам, связанным с балансом между иммунной системой и репродукцией человека.

Ключевые слова: иммуноглобулинподобные рецепторы киллерных клеток (KIR), HLA-C, HLA-лиганды, частота встречаемости аллелей

DISTRIBUTION OF THE HLA-C ALLELES AND HLA-C1, -C2 LIGAND GROUPS FOR KIR IN POTENTIAL BONE MARROW DONORS**Kuzminova E.P., Chapova R.S., Khamaganova E.G.***National Research Center for Hematology, Moscow, e-mail: kotvanka@mail.ru*

Killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) through interaction with their ligands – major histocompatibility complex antigens (HLA) play a key role in regulating activity of natural killer (NK). In this work, we analyzed the frequency of allelic variants of HLA-C locus, and the distribution of HLA-C1 and -C2 groups as main ligands for KIR, among the eight hundred and sixty-five potential bone marrow donors from National Research Center for Hematology, Moscow. It has been found that the most frequent allelic variant of HLA-C locus is HLA-C*07:02 (13.2% found among donors). HLA-ligands for KIR in our group distributed in the predominance of HLA-C1 allele group (59.7%) and prevalence of the C1/C2 heterozygote (49.3%) over C1/C1 (35%) and C2/C2 (15.7%) homozygotes. These results should be considered in the study of the role of KIR and HLA-ligands in predisposition to diseases, and problems related to the balance between the immune system and human reproduction.

Keywords: immunoglobulin-like killer cell receptor (KIR), HLA-C, HLA-ligands, allele frequencies

Способность врожденного иммунитета обеспечивать элиминацию инфицированных и измененных клеток, сохраняя при этом толерантность к своим собственным неповрежденным тканям, во многом определяется наличием в его арсенале естественных киллерных клеток (Natural Killer – NK). Помимо поддержания гомеостаза NK играют немаловажную роль в репродукции человека, обеспечивая контроль ремоделирования материнских кровеносных сосудов трофобластом в процессе формирования плаценты [10].

Одну из ключевых ролей в регуляции активности NK-клеток организма играют взаимодействия между иммуноглобулинподобными рецепторами этих клеток (KIR) и их HLA лигандами – некоторыми антигенами главного комплекса гистосовместимости I класса (HLA). Связывание HLA-лигандов с ингибирующими KIR-рецепторами (iKIR, имеют длинные интрацитоплазматические концы – L) приводит к подавлению функциональной активности NK-клеток. Взаимодействие с активирующими KIR-

рецепторами (aKIR, имеют короткие интрацитоплазматические концы – S) усиливает функциональную активность NK. HLA-лиганды для двухдоменных KIR-рецепторов включают в себя аллели локуса HLA-C. Два взаимоисключающих HLA-C эпитопа, различающиеся позицией 80 альфа-1 домена тяжелой цепи, взаимодействуют с разными KIR-рецепторами. Молекулы HLA-C с лизином в позиции 80 и аспарагином в позиции 77 (группа HLA-C2), распознаются KIR2DL1 и KIR2DS1. Остальные молекулы HLA-C содержат аспарагин в позиции 80 и серин в позиции 77 (группа HLA-C1) и распознаются KIR2DL2 и KIR2DL3 [1]. Существуют убедительные доказательства, что KIR и HLA системы эволюционировали совместно, и репертуар KIR оказывает давление на баланс HLA-гаплотипов [6].

За последнее десятилетие большое число исследований было посвящено ассоциации полиморфизма KIR-рецепторов с развитием заболеваний, тяжестью их течения и исходом, однако распределению HLA-

лигандов для KIR уделялось гораздо меньше внимания. Особенно это касается российских популяций, сообщений по которым насчитываются единицы [2, 3].

Цель исследования: Оценить особенности распределения аллелей гена HLA-C, а также HLA-C1 и -C2 групп лигандов для KIR среди доноров костного мозга регистра ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ ГНЦ МЗ РФ), самоопределившихся как русские.

Материалы и методы исследования

В исследование вошли 865 человек, рекрутированных в качестве доноров костного мозга регистра ФГБУ ГНЦ МЗ РФ. Все включенные в исследование идентифицировали себя как русские. в качестве материала для исследования использовали венозную кровь, взятую в пробирки с 0,5% раствором ЭДТА. Выделение ДНК проводили на приборе NorDiag Atpow с использованием соответствующих наборов Blood DNA 200 и 500 Extraction Kit (NorDiag, Норвегия). Высоко разрешающее HLA-типирование локуса HLA-C проводили методом PCR-SSO (polymerase chain reaction using sequence-specific oligonucleotides) на платформе Luminex с использованием набора Lifecodes HLA-C eRES SSO Typing Kit (Immucor, США). в случае неоднозначных результатов, полученных на Luminex, типирование дополнялось методом PCR-SSP (polymerase chain reaction using sequence-specific primers) с праймерами Olerup (Швеция) для типирования вариантов гена HLA-C с высоким разрешением. Частоты аллелей локуса HLA-C, лигандов HLA-C1 и -C2 групп определялись прямым подсчетом. Статистическую значимость различий в частоте встречаемости оценивали с помощью критерия χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение

У доноров регистра костного мозга ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, идентифицирующих себя как русские, были выявлены следующие частоты аллельных вариантов гена HLA-C. Самыми распространенными аллелями оказались C*07:02 (13% от общей выборки), C*04:01 и *07:01 (12,5% и 12,4% соответственно), *06:02 (11,9%), *12:03 (11,6%), см. табл. 1. Примерно с такой же частотой данные варианты HLA-C встречаются в основных европейских популяциях. Однако исследуемая группа имела некоторые особенности. Наиболее частотным в нашем исследовании оказался аллель C*07:02, что характерно и для доноров из Германии. Среди доноров Польши и Австрии чаще всего встречались аллели C*07:01 и C*04:01, которые у наших доноров занимали по частоте второе и третье место. в группе доноров Регистра ПСПБГМУ (Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет) имени акад. И.П. Павлова, первое место по частоте встречаемости занимал вариант C*06:02 (вместе с аллелями C*07:02 и C*04:01), который в нашем исследовании оказался лишь четвертым.

Частота аллеля HLA-C*07:02 в нашем исследовании схожа с таковой у доноров из Японии, несмотря на характерные особенности распределения у них HLA-C-аллелей, как представителей азиатской популяции. Также отличительной чертой доноров ГНЦ являлась высокая частота аллеля HLA-C*12:03 по сравнению с другими европейскими популяциями, особенно с донорами Германии ($P < 0.05$). Наиболее редкими среди доноров ГНЦ оказались следующие аллельные варианты: HLA-C*01:07, *04:03, *04:04, *15:06, *16:04. Данные варианты встретились в нашем исследовании всего по одному разу, указывая на их низкую частотность (0,06%), что так же вполне характерно для европейских популяций. в целом, не смотря на свои особенности, распределение аллелей локуса HLA-C у доноров ГНЦ соответствовало таковому у других европейских популяций, в частности у немцев, австрийцев и поляков.

Все выявленные варианты гена HLA-C были отнесены в ту или иную группу в соответствии с их строением и функциональной активностью в качестве лигандов для KIR-рецепторов: группа HLA-C1 – HLA-C*01/03/07/08/12/14/15:07/16:01, и группа HLA-C2 – C*02/03:07/04/05/07:07/07:09/06/12:04/12:05/15/16:02/17 [1].

Анализ распределения групп HLA-лигандов у доноров ГНЦ выявил следующие особенности – лиганды HLA-C1 имели более высокую частоту по сравнению с HLA-C2 (59,7% и 40,3%, соответственно). Схожие значения наблюдаются у чехов (см. табл. 2). Преобладание в той или иной степени HLA-C1 группы наблюдается во многих мировых популяциях. Результаты, полученные у московских доноров, отличались от таковых у доноров Северо-Западного региона России. у них также наблюдалось преобладание аллелей HLA-C1, однако их частота была почти в 1,5 раза выше, по сравнению с нашими данными. Для доноров ГНЦ характерно преобладание гетерозиготных генотипов C1/C2 (49,3%), и более высокая частота гомозиготных генотипов C1/C1 (35%) по сравнению с C2/C2 (15,7%). Преобладание гетерозигот над гомозиготами присуще европейским популяциям и не свойственно азиатским, отличительной чертой которых является повышенная частота гомозигот по аллелям группы HLA-C1 (тайцы, монголы) [6]. в целом частота C1/C1 и C1/C2 генотипов в нашем исследовании имела схожие значения с донорами Северо-Западного региона России. Однако обращает на себя внимание, что частота C2/C2 генотипов у московских доноров оказалась в два раза выше по сравнению с донорами Северо-Запада России (данные статистически достоверны).

Таблица 1
Частоты аллельных вариантов локуса HLA-C в некоторых популяциях [2, 4, 5, 7, 8]

Аллели	Доноры ГНЦ, Москва 2n=1730	Доноры ПСПбГМУ, Санкт- Петербург, 2n=400 [2]	Доноры Польши, 2n=41306 [8]	Доноры Германии, 2n=17808 [5]	Доноры Австрии, 2n=308 [7]	Доноры Японии, 2n=9000 [4]
01:02	3,29	2,3	4,31	3,521	3,24	17,6
01:07	0,06	-	-	-	-	-
02:02	6,41	5,7	7,6	5,385	5,844	0,026
03:02	2,02	-	0,41	0,376		0,56
03:03	4,22	3,7	4,155	6,183	3,24	13,05
03:04	3,93	4,0	5,38	8,041	9,09	12,39
04:01	12,49	12,3	12,52	11,68	11,03	4,4*
04:03	0,06	-	0,005	0,011	-	-
04:04	0,06	-	0,007	0,011	-	-
05:01	3,81	-	4,32	7,328	9,74	0,38
06:02	11,85	12,3	11,78	9,383*	11,68	0,808*
07:01	12,37	10,9	14,32*	14,94*	8,44	0,073*
07:02	13,12	12,3	11,87	15,229*	9,09	12,7
07:04	1,85	-	2,5	1,993	1,95	0,98
08:01	0,23	-	0,03	0,039	-	7,35
08:02	2,25	-	1,73	2,207	-	0,026
08:03	0,29	-	0,13	0,039	-	1,36
12:02	2,54	-	1,46	0,752	-	11,18
12:03	11,56	9,1	10,38	5,183*	9,091	0,083*
14:02	1,1	-	0,93	1,219	-	6,87
14:03	0,12	-	0,015	0,006	-	6,68
15:02	2,49	-	1,86	2,342	-	3,081
15:05	0,23	-	0,32	0,32	-	0,016
15:06	0,06	-	0,024	0,017	-	-
16:01	0,64	-	1,36	2,19	-	-
16:02	0,52	-	0,43	0,326	-	-
16:04	0,06	-	0,13	0,168	-	0,005
17:01	2,37	3,7	1,71	0,764	-	0,01

*P<0.05 в сравнении с донорами ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва.

Таблица 2
Распределение HLA-лигандов в различных популяциях [3, 6]

HLA-лиганды	Москва, n=865	СЗ РФ, n=100 [3]	Чехия, n=125 [3]	Италия, n=270 [6]	Таиланд, n=500 [6]	Монголия, n=160 [6]
C1	59,7	93	63	52,5	96,8	90,6
C2	40,3	66	37	47,5	34	47,5
C1/C1	35	34	41	-	66*	52,5*
C1/C2	49,3	59	43	-	30,8*	38,1*
C2/C2	15,7	7*	16	-	3,2*	9,4*

СЗ РФ – Северо-Западный регион РФ, г. Санкт-Петербург; *P<0.05 в сравнении с донорами ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва.

Знать особенности распределения HLA-лигандов в популяции имеет определенный смысл. Анализ литературы указывает на ассоциацию некоторых заболеваний с носительством той или иной групп HLA-лигандов, в частности, между носительством HLA-C2 и развитием острого лимфобластного лейкоза у детей [9]. Другой не менее важной причиной является тот факт, что HLA-лиганды принимают участие в репродуктивной функции человека. Известно, что такие осложнения беременности, как преэклампсия и слишком маленький вес новорожденных, ассоциированы с наличием у матери KIR-генотипа AA и HLA-C2 лиганда у плода, который он унаследовал от отца. Риск преэклампсии значительно возрастает, если у матери отсутствуют аллели HLA-C2 группы, и она гомозиготна по HLA-C1. Скорее всего это связано с тем, что C2-лиганды способны специфически связываться с сильным ингибиторным рецептором KIR2DL1, характерным для KIR A-гаплотипов, и тем самым оказывать выраженный ингибиторный эффект на NK-клетки слизистой матки, что в свою очередь ведет к недостаточной плацентации и дальнейшим осложнениям беременности. Напротив, присутствие у матери гена KIR2DS1, входящего в некоторые KIR B-гаплотипы, при носительстве ребенком HLA-C2 молекулы, унаследованной от отца, ассоциируются с рождением детей избыточного веса – другим потенциально опасным осложнением беременности [10].

Заключение

Распределение аллелей гена HLA-C у доноров костного мозга регистра ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, самоопределившихся как русские, соответствуют таковому в большинстве европейских популяций, имея при этом свои особенности. Наиболее частотным в группе московских доноров является аллель HLA-C*07:02. Частоты HLA-лигандов характеризуются преобладанием гетеро-

зигот C1/C2. Полученные данные имеют значение при оценке генетически детерминированной функциональной активности НК (посредством взаимодействия с HLA-лигандами) при исследовании их ассоциаций с заболеваниями и в вопросах, касающихся взаимодействия между иммунной системой и репродукцией.

Список литературы

1. Гены KIR-иммуноглобулинподобных рецепторов естественных киллерных клеток в двух популяциях Российской Федерации / Е.Г. Хамаганова, М.В. Сучкова, М.А. Элиджаева, А.Б. Судариков // Иммунология. – 2011. – № 6. – С. 284–291.
2. Использование метода секвенирования для HLA типирования потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток в регистре ПСПБГМУ им. И.П. Павлова / Е.В. Кузьмич, О.А. Макаренко, А.Л. Алянский, В.В. Ермолина и др. // Вестник гематологии. – 2015. – Т. XI, № 2. – С. 19.
3. Особенности распределения иммуноглобулиновых рецепторов киллерных клеток и их HLA-лигандов в русской популяции / Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, И.Е. Павлова, С.С. Бессемельцев // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 115–120.
4. Determination of HLA-A, -C, -B, -DRB1 allele and haplotype frequency in Japanese population based on family study / N. Ikeda, H. Kojima, M. Nishikawa, K. Hayashi et al. // Tissue Antigens. -2015. – 85. - P. 252–259.
5. Estimation of high-resolution HLA-A, -B, -C, -DRB1 allele and haplotype frequencies based on 8862 German stem cell donors and implications for strategic donor registry planning / A.H. Schmidt, D. Baier, U.V. Solloch, A. Stahr et al. // Human Immunology. – 2009. – № 70. – P. 895–902.
6. Genetic profiles of killer-cell immunoglobulin-like receptors and HLA ligands in Thai blood donors / P. Kitpoka, C. Tammakorn, S. Chaisri, C. Leelayuwat et al. // Human Immunology. – 2016. – Vol.77. – P. 470–475.
7. HLA-frequencies of Austrian umbilical cord blood samples / S. Nerstheimer, P. Tauscher, E. Petek, G. Schappacher-Tilp // Human Immunology. – 2015. – № 76. – P. 863–867.
8. High-resolution human leukocyte antigen allele and haplotype frequencies of the Polish population based on 20,653 stem cell donors / A.H. Schmidt A.H., U.V. Solloch, J. Pingel, D. Baier et al. // Human Immunology. – 2011. – № 72. – P. 558–565.
9. KIR ligand C2 is associated with increased susceptibility to childhood ALL and confers an elevated risk for late relapse / F. Babor, A.R. Manser, J.C. Fischer, N. Scherenschlich et al. // Blood. – 2014. – 124(14). – P. 2248–2251.
10. Moffett A., Colucci F. Co-evolution of NK receptors and HLA ligands in humans is driven by reproduction // Immunological Reviews. – 2015. – Vol. 267. – P. 283–297.