



Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



journal homepage: <http://france.elsevier.com/direct/REAURG/>



MISE AU POINT

Comment est réalisé un typage HLA ?

How is HLA typing performed?

V. Moalic^{a,b}

^a Laboratoire de génétique moléculaire et d'histocompatibilité, hôpital Morvan, CHU de Brest, 2, avenue Foch, 29200 Brest, France

^b Inserm U613, 29200 Brest, France

Disponible sur Internet le 3 avril 2008

MOTS CLÉS

Histocompatibilité ;
Typage HLA ;
Polymorphisme ;
Nomenclature HLA

KEYWORDS

Histocompatibility;
HLA typing;
Polymorphism;
HLA nomenclature

Résumé Le système *human leucocyte antigen* (HLA), également connu sous le terme complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), est situé sur le bras court du chromosome 6 chez l'homme. Il s'agit d'un système caractérisé par son polygénisme et son polymorphisme, qui sont à l'origine de nombreuses études réalisées dans le cadre des transplantations ou de l'auto-immunité. Initialement, la diversité antigénique du HLA a été analysée en utilisant la technique de sérologie. Depuis l'avènement de la technique de PCR au milieu des années 1980, la diversité génétique a pu être étudiée au niveau de l'ADN génomique par des techniques de biologie moléculaire. Cet article propose un court rappel sur le système HLA et sa nomenclature, puis décrit les techniques utilisées en routine dans les laboratoires pour réaliser un typage HLA.

© 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary The human leucocyte antigen (HLA) region, also known as the major histocompatibility complex (MHC), is located on the short arm of chromosome 6 in humans. It is the most diverse and polymorphic genetic system with major functional and medical implications and has been one of the most regarding fields of investigation in transplantation medicine and autoimmunity. Initially, genetic variations at these loci were analyzed by HLA serologic typing. The introduction of polymerase-chain reaction (PCR) in the mid 1980s made possible the analysis of the extensive allelic sequence diversity. After a short description of the HLA system and its nomenclature, the aim of this paper is to present a short review of our current knowledge of the molecular basis of HLA polymorphism and of all the HLA typing methods usually performed in routine.

© 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Le système *human leucocyte antigen* (HLA) ou complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est situé chez l'homme sur le bras court du chromosome 6, sur une distance totale

comprise entre trois et quatre mégabases. Il est divisé en trois régions (Fig. 1) :

- la région de classe I télomérique (loci HLA A, B, Cw) ;
- la région de classe II centromérique (loci HLA DR, DQ et DP),

Adresse e-mail : virginie.moalic@chu-brest.fr.

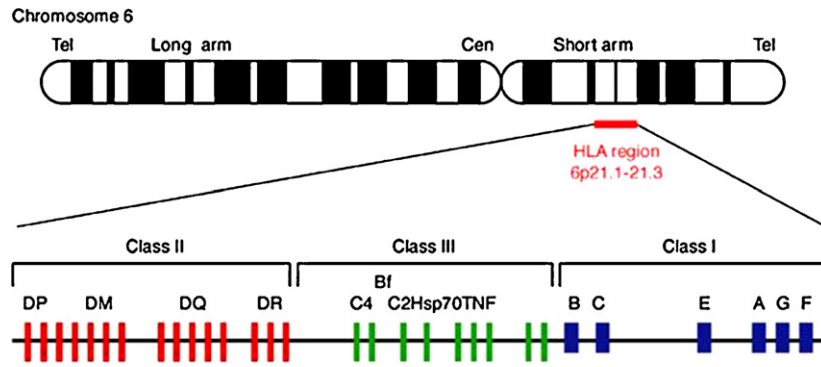


Figure 1 Cartographie des gènes HLA sur le chromosome 6 humain.

- la région de classe III (gènes de la 21-hydroxylase, des protéines du complément. .) [1].

Un locus est défini par la localisation d'un gène sur le chromosome. Les loci HLA ont pour caractéristiques principales leur polygénisme (il contient plus de 200 gènes, dont 40 environ codent pour des molécules HLA) et leur polymorphisme (existence d'un très grand nombre de variants alléliques pour chaque locus). Les molécules HLA de classe I sont distribuées sur l'ensemble des cellules nucléées et sur les plaquettes d'un individu [2]. Les molécules HLA de classe II ont une distribution tissulaire restreinte aux lymphocytes T activés, aux lymphocytes B, aux monocytes, aux macrophages et aux cellules dendritiques [1].

Les gènes *HLA* de classe I se composent de huit parties codantes (exons) séparées par des parties non codantes (introns) [2]. Les gènes de classe II contiennent également cinq ou six exons séparés par des régions introniques [1].

Le polymorphisme HLA peut être étudié par une approche sérologique (étude des antigènes à la surface des cellules) ou par une approche de biologie moléculaire (définition des allèles au niveau de l'ADN par l'étude en général des exons deux et trois pour la classe I et de l'exon deux pour la classe II). Les nomenclatures de sérologie et de biologie moléculaire sont différentes (Fig. 2). La nomenclature sérologique identifie le locus suivi d'un numéro identifiant l'antigène (exemples : HLA-A2, HLA-B27, HLA-DR4). La nomenclature génomique identifie le gène, suivi d'un asté-

risque et d'un numéro à deux chiffres (définit la spécificité de l'allèle) ou quatre à huit chiffres (précise le variant allélique d'un allèle donné). Un typage HLA avec deux chiffres correspond à une résolution générique (par exemple, *HLA-A*02*, *HLA-B*27*, *HLA-DRB1*04*) et peut être utilisé dans le cadre de l'urgence pour la greffe d'organes pour typer un donneur en état de mort encéphalique ou un receveur d'organes. Le typage générique suffit également dans le cadre d'une étude HLA maladie.

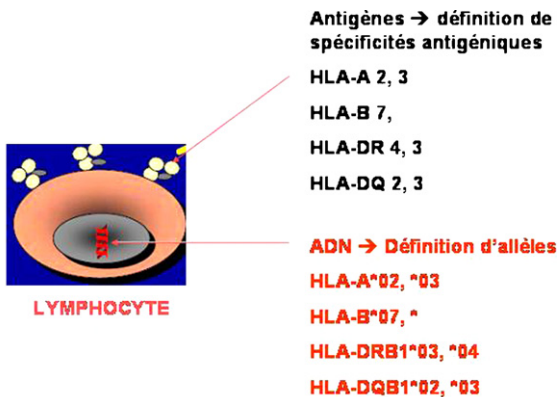
Un typage HLA avec quatre chiffres correspond à une résolution allélique ou spécifique (par exemple, *HLA-A*0201*, *HLA-B*2705*, *HLA-DRB1*0401*), sa principale indication est la recherche d'une compatibilité tissulaire entre un donneur et son receveur dans le cadre d'une allogreffe de moelle osseuse [2]. Plus rarement, il est conseillé pour la détermination de certains allèles associés aux maladies (par exemple, narcolepsie et *DRB1*1501*, *DQB1*0602*) [2].

Le typage HLA peut être réalisé par une technique sérologique de microlymphocytotoxicité, communément appelée LCT [3]. Il est alors réalisable sur cellules du sang périphérique (prélèvement d'un tube hépariné ou d'un tube ACD). Les quatre composants de la LCT sont les suivants :

- les lymphocytes du sujet à typer, qui portent les antigènes HLA à leur surface. Pour les groupages HLA de classe I (loci *HLA-A* et *HLA-B*), les cellules utilisées sont, soit les lymphocytes totaux, soit les lymphocytes T. Pour les groupages HLA de classe II (loci *HLA-DR* et *HLA-DQ*), les cellules utilisées sont les lymphocytes B.

La séparation des cellules mononucléées du sang périphérique est réalisé en utilisant un gradient de densité Ficoll-Isopaque, car chaque population cellulaire du sang périphérique a une densité différente. Une centrifugation permet de recueillir une couche de cellules mononucléées à l'interface plasma Ficoll. Cette couche contient environ 80% de lymphocytes T, 10% de lymphocytes B et 10% de monocytes. La séparation des différentes cellules mononucléées fait ensuite appel à des billes immunomagnétiques, qui retiennent les cellules d'intérêt par couplage à un anticorps monoclonal (anti-CD2 pour les lymphocytes T et anti-CD19 pour les lymphocytes B) [4] :

- une batterie d'anticorps de spécificité anti-HLA connue (anticorps monoclonaux ou alloanticorps humains), qui sont disposés dans les puits d'une plaque de typage ;



Patient homozygote pour le locus B et hétérozygote pour les autres loci

Figure 2 Comparaison des nomenclatures HLA de sérologie et de biologie moléculaire.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2613339>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2613339>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)