

Dr. med. Anna-Lena Semmler, Dr. rer. nat. Corinna Opitz, Lenka Trojanova, Dr. med. Josephine Meininger,
Prof. Dr. med. Christian Seidl

HLA-Diagnostik: Histokompatibilität und Immungenetik im klinischen Kontext

ZUSAMMENFASSUNG HLA-Diagnostik ist ein essentieller Bestandteil der modernen Transplantations- und Transfusionsmedizin. Der Artikel erläutert die Bedeutung und die aktuellen Entwicklungen in der HLA-Typisierung und HLA-Antikörperdiagnostik für die Organ- und Stammzelltransplantationen. Weitere Themen sind die Rolle von HLA-Laboren bei der Versorgung von Patienten mit immunologisch bedingter Thrombozytenrefraktärität und der Diagnostik HLA-assoziiierter Erkrankungen sowie pharmakogenetischen Fragestellungen. Moderne Sequenzierverfahren, erweiterte Antikörpertests und molekulares Matching erweitern die diagnostischen Möglichkeiten und erhöhen zugleich die Anforderungen an Qualitätssicherung und fachkundige Interpretation.

SUMMARY HLA testing is an essential component of modern transplantation and transfusion medicine. This article reviews the significance and current developments in HLA typing and antibody diagnostics for organ and stem cell transplants. Other topics include the role of HLA laboratories in patient care with immunologically mediated thrombocytopenia, the diagnosis of HLA-associated diseases, and pharmacogenetic issues. Modern sequencing methods, sensitive antibody tests, and molecular matching expand diagnostic capabilities while simultaneously raising the bar for quality assurance and expert interpretation.

Einleitung – Was ist HLA?

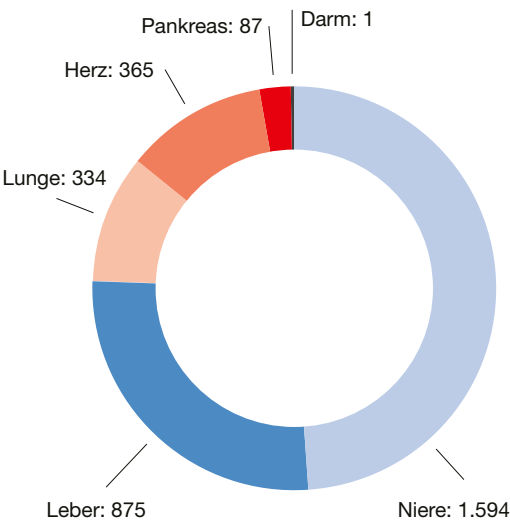
Die humanen Leukozyten-Antigene (HLA) sind hochpolymorphe Zelloberflächenproteine. Sie bilden den humanen MHC (Major Histocompatibility Complex) und sind zentral für die adaptive Immunantwort. Nahezu alle kernhaltigen Zellen präsentieren endogene Peptide auf HLA-Klasse-I-Molekülen, während professionelle antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen exogene Antigene auf HLA-Klasse-II-Molekülen präsentieren. Über diese Antigenpräsentation steuern HLA-Moleküle wesentlich die T-Zell-vermittelte Immunantwort.

Die HLA-Diagnostik stellt einen essentiellen Bestandteil der modernen Transplantationsmedizin dar, der Grad

der HLA-Übereinstimmung (Matching) zwischen Spender und Empfänger beeinflusst maßgeblich das Risiko einer Transplantatabstoßung, das Langzeitüberleben des Transplantats und somit die Auswahl geeigneter Spender. Insbesondere die Einführung und kontinuierliche Weiterentwicklung molekularbiologischer Typisierungsverfahren hat wesentlich zur Sicherheit und zum Erfolg hämatopoetischer Stammzelltransplantationen und solider Organtransplantationen beigetragen.

Die klinische Relevanz der HLA-Diagnostik zeigt sich an der Zahl der Transplantationen: in Deutschland werden jährlich jeweils über 3.000 postmortale Organtransplantationen und allogene Stammzelltransplantationen von verwandten und unverwandten Spendern durchgeführt (**Abbildung 1**). Organisatorisch sind dabei unter anderem

3.256 transplantierte Organe nach postmortaler Organspende in Deutschland 2025



Allogene Stammzelltransplantationen

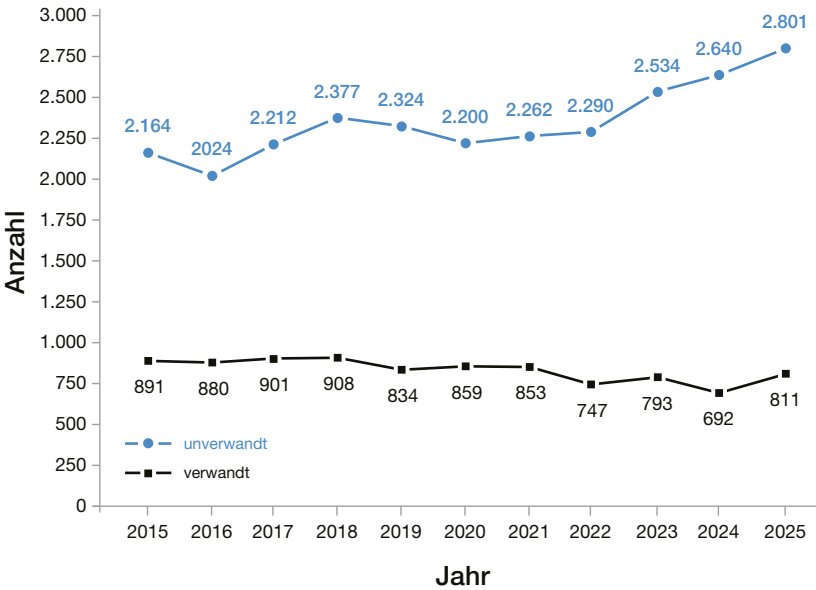
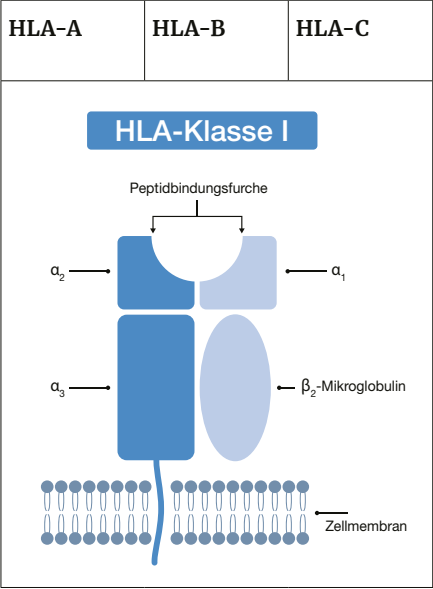


Abbildung 1: Transplantationen in Deutschland

Abbildung adaptiert nach: Jahresbericht Organspende und Transplantation in Deutschland 2025, dso.de und Jahresbericht des Deutschen Registers für hämatopoetische Stammzelltransplantation und Zelltherapie 2025.

Klasse I



Klasse II

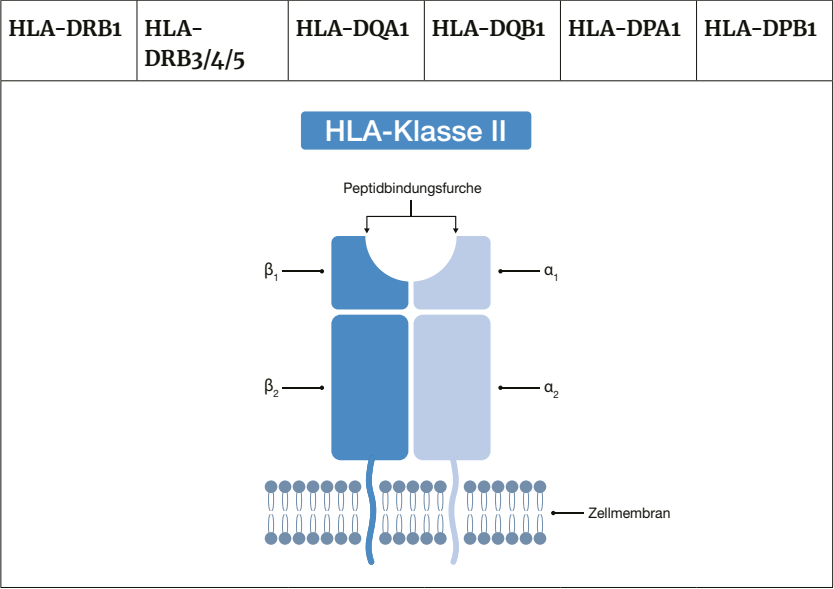
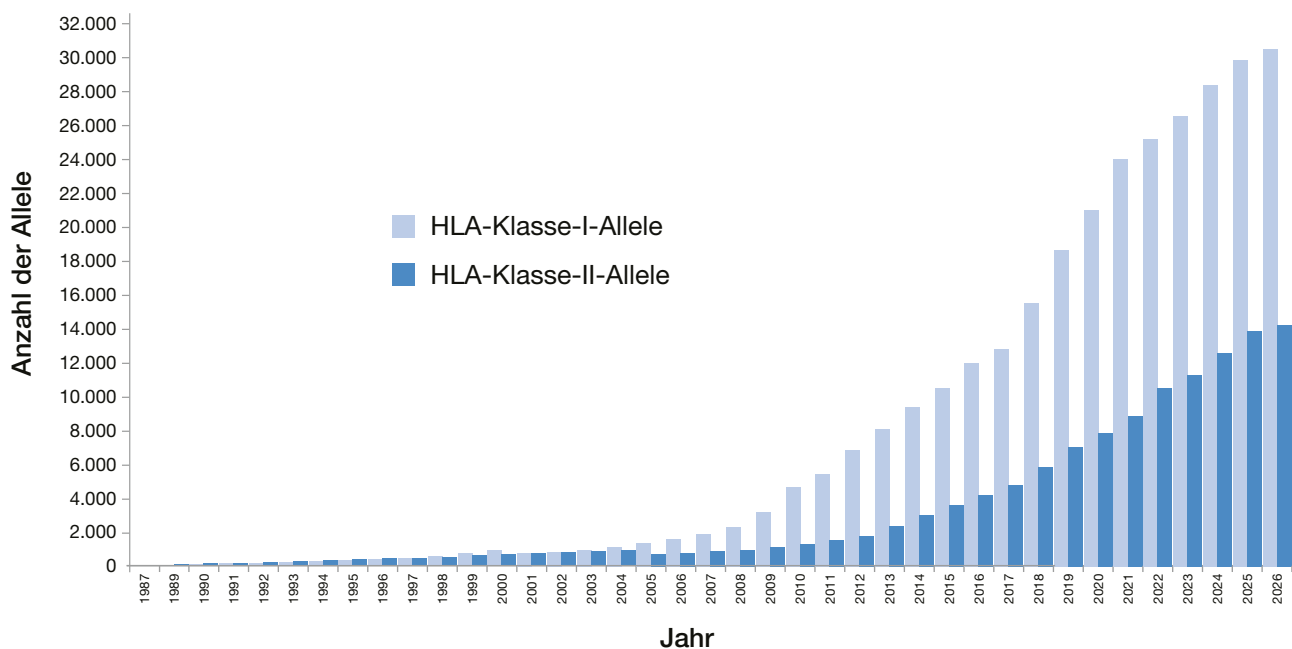


Tabelle 1: Transplantationsrelevante HLA-Loci

Übersicht der im transplantationsmedizinischen Kontext relevanten HLA-Loci. Klasse-I-Merkmale umfassen HLA-A, -B und -C. Zu den Klasse-II-Merkmalen zählen HLA-DRB1, die mit bestimmten DRB1-Allelen assoziierten Loci HLA-DRB3/4/5 sowie die alpha- und beta-Ketten der HLA-DQ- und HLA-DP-Heterodimere. Abbildung adaptiert nach STEMCELL Technologies Inc. 2022.

2A



2B

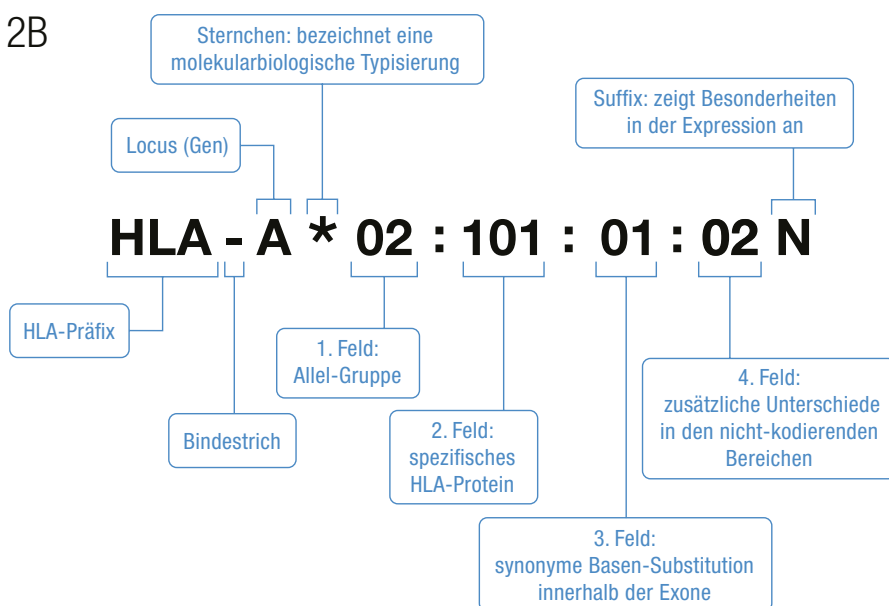


Abbildung 2: Komplexität der HLA-Allele

2A) Entwicklung der in der IPD-IMGT/HLA-Datenbank dokumentierten HLA-Allele. Der kontinuierliche Anstieg der Allelzahl veranschaulicht den hohen Polymorphismus des HLA-Systems und erklärt den Bedarf an standardisierter Nomenklatur.

2B) standardisierte HLA-Nomenklatur. Abbildungen adaptiert nach:

<https://hla.alleles.org/pages/about/> und https://hla.alleles.org/pages/nomenclature/naming_alleles/

die Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), Eurotransplant, Stammzellspenderdateien, wie die DSSD, und das ZKRD wichtige Partner. HLA-Labore stehen mit diesen Partnern in enger Verbindung. Sie bestimmen HLA-Merkmale von Empfängern und Spendern, erfassen den Immunisierungsstatus und liefern damit die Grundlage für Organallokation (Zuteilung eines verfügbaren Spenderorgans an einen geeigneten Empfänger), Stammzellspendersuche und immunologische Risikobewertung.

Im transplantationsmedizinischen Kontext werden heute bis zu elf HLA-Loci berücksichtigt (**Tabelle 1**). Die HLA-Gene zählen zu den polymorphsten Genen des menschlichen Genoms; bislang wurden mehr als 45.000 verschiedene Allele identifiziert (**Abbildung 2A**). Diese außergewöhnliche genetische Diversität stellt einen wesentlichen immunologischen Vorteil dar, da sie die Präsentation eines breiten Spektrums unterschiedlicher Peptide und damit eine effektive Immunantwort gegen vielfältige Pathogene

ermöglicht, zugleich jedoch die HLA-Diagnostik erheblich komplexer macht.

Eine standardisierte WHO-Nomenklatur (IPD-IMGT/HLA-Datenbank) ermöglicht die eindeutige und hierarchisch strukturierte Bezeichnung von HLA-Allelen und gewährleistet damit auch bei hoher genetischer Komplexität eine konsistente und international anwendbare Klassifikation; aufgrund der kontinuierlich wachsenden Zahl neu identifizierter Allele wird die Nomenklatur quartalsweise aktualisiert^{1,2}.

Die einzelnen Felder beschreiben unterschiedliche Ebenen der genetischen Variation (**Abbildung 2B**):

2-Feld-Typisierung: das erste Feld bezeichnet die Allelgruppe, das zweite Feld unterscheidet Allele anhand von Unterschieden, die zu einer veränderten Aminosäuresequenz des HLA-Proteins führen; z. B. HLA-A*02:01.

3-Feld-Typisierung: das dritte Feld unterscheidet Allele mit synonymen Nukleotidunterschieden innerhalb der kodierenden Sequenz. Diese verändern die Aminosäuresequenz des HLA-Proteins nicht; z. B. HLA-A*02:01:01 vs. A*02:01:02.

4-Feld-Typisierung: maximale Auflösung, d. h. dafür muss das gesamte Gen bekannt sein, es werden auch Unterschiede in den Introns erfasst; z. B. HLA-A*02:01:01:01 vs. A*02:01:01:03.

Nullallel (N): Das Suffix N kennzeichnet ein Allel, bei dem kein HLA-Protein auf der Zelloberfläche exprimiert wird, z. B. HLA-A*02:43N. Dieses Allel gehört zu keiner P-Gruppe, da kein Protein vorhanden ist, aber es gehört zur A*02:01:01G-Gruppe aufgrund der im Genom vorhandenen Exon 2- und 3-Sequenz.

HLA-G- und P-Gruppen ermöglichen die Zusammenfassung verschiedener HLA-Allele anhand identischer Sequenzmerkmale in der Peptidbindungsregion:

G-Gruppe: fasst HLA-Allele zusammen, die in den für die Peptidbindungsregion kodierenden Exonen (Exon 2 und 3 bei Klasse I bzw. Exon 2 bei Klasse II) dieselbe Nukleotidsequenz besitzen, z. B. HLA-A*02:01:01G vs. A*02:01:02G.

P-Gruppe: fasst HLA-Allele zusammen, die in der Peptidbindungsregion dieselbe Aminosäuresequenz aufweisen, z. B. HLA-A*02:01:01G und A*02:01:02G gehören beide zur P-Gruppe A*02:01P.

Im HLA-System werden eng benachbarte HLA-Allele auf

einem Chromosom gemeinsam als Haplotyp vererbt, da zwischen den HLA-Loci ein ausgeprägtes Kopplungsungleichgewicht besteht und Rekombinationsereignisse innerhalb der HLA-Region relativ selten sind. Geschwister haben daher eine Wahrscheinlichkeit von 25 % HLA-identisch zu sein³.

HLA-Diagnostik für solide Organtransplantationen

Organtransplantationen in Deutschland erfolgen im Eurotransplant-Netzwerk; die DSO organisiert die postmortale Organspende national. Einige HLA-Labore übernehmen als DSO-Regionallabore die 24/7-Diagnostik und typisieren Organspender innerhalb weniger Stunden, damit die Organallokation zeitgerecht erfolgen kann. Die Grundsätze zur Wartelistenführung und Allokation unterscheiden sich je nach Organ und sind in den Richtlinien der Bundesärztekammer sowie im Eurotransplant-Manual geregelt. Dieser Artikel legt seinen Schwerpunkt auf die Nierentransplantation^{4,5}.

Nierentransplantation – HLA-Diagnostik und aktuelle Strategien

Für Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz ist die Nierentransplantation die Therapie der Wahl. Die Transplantation ermöglicht gegenüber der dauerhaften Dialyse in der Regel eine höhere Lebenserwartung und eine deutlich bessere Lebensqualität⁶. Für die Aufnahme auf die Eurotransplant-Warteliste erfolgen HLA-Typisierung und HLA-Antikörperdiagnostik.

Immunisierungsereignisse wie Schwangerschaften, Transfusionen oder frühere Transplantationen können durch den Kontakt mit allogenen HLA-Merkmalen zur Bildung von HLA-Antikörpern führen. Richten sich diese Antikörper gegen HLA-Merkmale eines früheren oder potentiellen Spenders, werden sie als donor-spezifische Antikörper (DSA) bezeichnet. Klinisch relevante HLA-Antikörperspezifitäten werden als nicht akzeptable HLA-Antigene (NAHA; Unacceptable Antigens) hinterlegt und bilden die Grundlage für die Berechnung der virtuellen Panelreaktivität (vPRA) durch Eurotransplant. Ein hoher vPRA weist auf einen hohen Sensibilisierungsgrad und damit auf einen eingeschränkten Pool immunologisch geeigneter Spender hin. HLA-Antikörperstatus und NAHAs werden durch das zuständige HLA-Labor regelmäßig, in der Regel quartalsweise, reevaluiert.

Für hochimmunisierte Patienten, also Patienten mit ei-

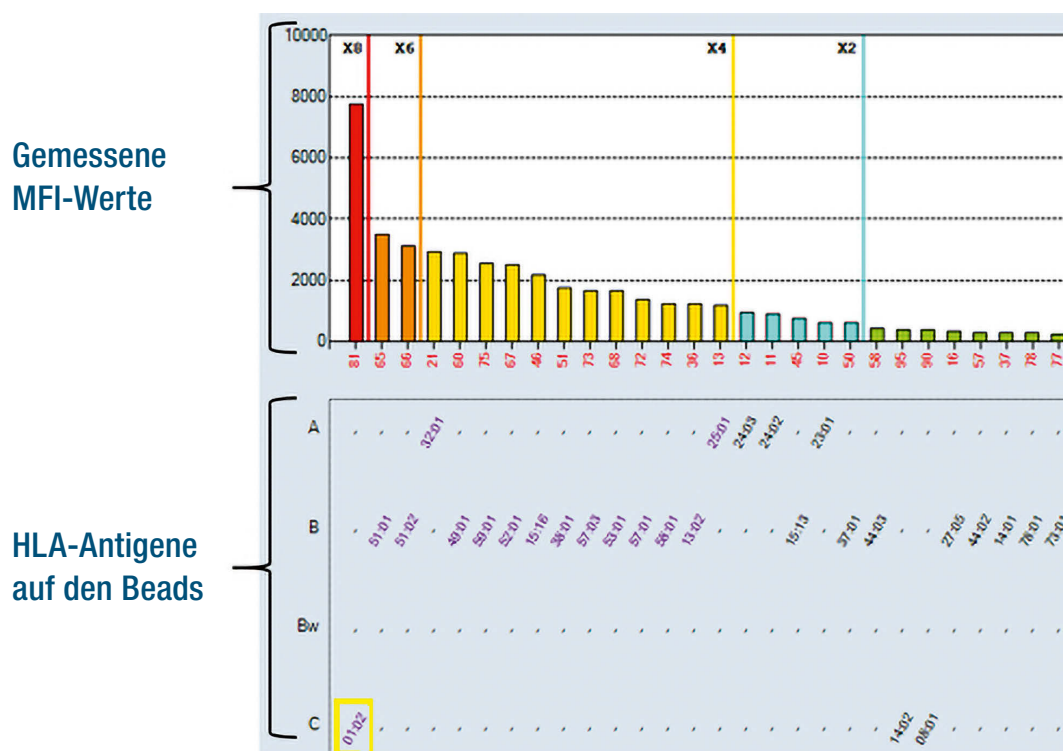


Abbildung 3: Auswertung einer HLA-Antikörperdifferenzierung

Auswertung der HLA-Antikörperdifferenzierung mittels Single-Antigen-Bead Assay für die Klasse I. Im oberen Teil sind die gemessenen MFI-Werte der einzelnen Beads dargestellt. Jeder Bead trägt ein definiertes HLA-Antigen, das im unteren Teil entsprechend den jeweiligen HLA-Loci zugeordnet ist. Eine erhöhte Fluoreszenz weist auf die Bindung spezifischer HLA-Antikörper im Patientenserum hin. Der höchste MFI-Wert ist dem HLA-C*01:02-Antigen zuzuordnen (gelb umrandet). Da dieses HLA-Merkmal auch vom Spender einer vorangegangenen Transplantation exprimiert wird, werden die entsprechenden Antikörper als DSA klassifiziert.

nem sehr hohen vPRA-Wert, wurde zusätzlich das Eurotransplant Acceptable Mismatch (AM)-Programm etabliert. Im Gegensatz zur ausschließlichen Definition von NAHAs werden hierbei akzeptable HLA-Merkmale definiert, gegen die nachweislich keine Antikörper bestehen. Diese akzeptablen HLA-Antigene werden virtuell zum eigenen HLA-Muster des Patienten hinzugefügt und erweitern den potentiellen Spenderpool erheblich. Damit verbessern sie die Transplantationschancen hochsensibilisierter Patienten, ohne das Risiko einer antikörpervermittelten Abstoßung wesentlich zu erhöhen⁷.

Methoden zur Detektion von HLA-Antikörpern

Die HLA-Antikörperdiagnostik umfasst verschiedene serologische Verfahren zum Nachweis und zur Differenzierung von HLA-Antikörpern, insbesondere Festphasenassays sowie zellbasierte Verfahren. Die Routinediagnostik

erfolgt heute standardmäßig mittels Mikrobead-basierter Festphasenmethoden (Antigen-Bead-Assays) auf der Luminex-Plattform, die sowohl für das Screening als auch zur differenzierten Bestimmung der HLA-Antikörperspezifitäten eingesetzt werden (Single-Antigen-Beads, SAB). HLA-Antikörper im Patientenserum binden an fluoreszenzkodierte Beads mit definierten HLA-Antigenen und werden anhand der semiquantitativen mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) ausgewertet (**Abbildung 3**). Eine weitere Möglichkeit sind Chip Arrays, bei denen die verschiedenen HLA-Antigene auf einer Membran immobilisiert sind. Der klassische Lymphozytotoxizitätstest (LCT; complement-dependent cytotoxicity, CDC) weist komplementaktivierende zytotoxische Antikörper durch Lyse von Testlymphozyten nach. Aufgrund des hohen methodischen und personellen Aufwands sowie der begrenzten Sensitivität und Differenzierungsmöglichkeiten hat der LCT an Bedeutung verloren. Bei Bedarf kann die Risikobewertung durch komplementbindende Luminex-

basierte Tests wie C1q- oder C3d-Assays ergänzt werden. Diese erfassen zwar nicht den funktionellen Endpunkt der komplementvermittelten Zellyse, der Verzicht auf den arbeits- und zellintensiven LCT ist jedoch aus diagnostischer und labororganisatorischer Sicht sinnvoll.

Der Nachweis und die differenzierte Bewertung von HLA-Antikörpern sind zentrale Bestandteile der immunologischen Risikostratifizierung vor und nach Nierentransplantation. MFI-Werte aus SAB-Assays sind semiquantitative Messgrößen und können durch präanalytische und analytische Faktoren beeinflusst werden. Sie sollten daher nicht isoliert oder anhand starrer Grenzwerte interpretiert werden. Die Bewertung erfolgt im immunologischen Gesamtkontext unter Berücksichtigung von Antikörperspezifität, Reaktionsmustern und -stärke sowie vorausgegangenen Immunisierungsereignissen. DSAs werden durch Abgleich mit den HLA-Merkmalen des aktuellen oder eines früheren Organspenders identifiziert.

HLA-Antikörper erkennen nicht ausschließlich einzelne HLA-Allele, sondern können gegen strukturelle Epitope gerichtet sein, die von mehreren HLA-Allelen eines oder mehrerer Loci gemeinsam getragen werden. Eine Möglichkeit zur Beschreibung solcher Bindungsmotive ist das Eplet-Konzept⁸. Eplets repräsentieren definierte Aminosäurekonfigurationen auf der Oberfläche von HLA-Proteinen, die Bestandteil eines Antikörperepitops sind. Vor diesem Hintergrund wird diskutiert, ob ein molekulares HLA-Matching, beispielsweise auf Basis der Eplet-Mismatches, die immunologische Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger differenzierter erfassen und zur Reduktion des Risikos einer de novo-DSA-Bildung beitragen kann⁹.

Postmortale Nierentransplantation

Bevor ein Organangebot einen Patienten auf der Warteliste erreicht, erfolgt im Rahmen der Allokation durch Eurotransplant seit 2023 ein virtuelles Crossmatch. Hierbei werden die HLA-Merkmale des Spenders und das aktuelle Antikörperprofil des Empfängers, i.S. der hinterlegten NAHAs, elektronisch abgeglichen. Dieses Verfahren ermöglicht insbesondere bei postmortalen Organangeboten eine schnelle und sichere immunologische Beurteilung und verkürzt die Ischämiezeit der Spenderorgane erheblich¹⁰.

Unmittelbar vor einer Nierentransplantation erfolgt zusätzlich, bis auf wenige Ausnahmen bei nicht-immunisierten Empfängern, ein serologisches Crossmatch. Dafür wird das Serum des potentiellen Empfängers gegen Spenderlymphozyten getestet. Aktuell ist hier durch die Richt-

linie der Bundesärztekammer zum Empfängerschutz das klassische komplementabhängige LCT-Crossmatch vorgeschrieben. Ergänzend wird heute manchmal ein sensitives Flowzytometrie-Crossmatch durchgeführt, das nicht nur die komplementaktivierenden HLA-Antikörper nachweist und bereits in vielen anderen Ländern üblich ist¹¹.

Lebendnierenspende

Bei der Lebendnierenspende kommen bislang Angehörige oder dem Patienten nahestehende Personen als Spender in Betracht. Liegen DSA vor, kann eine direkte Transplantation häufig nicht erfolgen. In diesen Fällen stellt die Überkreuzspende (Kidney Paired Donation) eine neue, durch einen Änderungsentwurf des Transplantationsgesetzes seit 01.06.2026 geregelte Alternative dar. Dabei werden zwei oder mehrere inkompatible Spender-Empfänger-Paare so kombiniert, dass jeweils eine immunologisch kompatible Transplantation möglich wird (**Abbildung 4**). Bis die Regelungen umgesetzt werden können, dauert es allerdings voraussichtlich noch bis Mitte 2029¹².

Eine ABO-Inkompatibilität stellt keine Kontraindikation für eine Lebendnierenspende mehr da. Durch eine Desensibilisierung via Immunadsorption und Medikamente zur Unterdrückung der Antikörperproduktion (z.B. Rituximab) wird die Blutgruppenbarriere überbrückt. Die Langzeitergebnisse sind mittlerweile mit denen kompatibler Transplantationen vergleichbar¹³.

Monitoring nach Nierentransplantation

Trotz erheblicher Fortschritte in der immunsuppressiven Therapie bleibt die antikörpervermittelte Abstoßung (antibody mediated rejection, ABMR) eine der häufigsten Ursachen für eine eingeschränkte Transplantatfunktion und den Verlust des Grafts¹⁴. Die Diagnose erfolgt entsprechend der aktuellen Banff-Klassifikation und basiert auf drei Säulen: charakteristische histopathologische Veränderungen der Nierenbiopsie, dem Nachweis einer Antikörper-vermittelten Endothelschädigung (z.B. C4d-Positivität oder molekulare Marker) sowie dem Nachweis zirkulierender DSA im HLA-Labor¹⁵.

Seit einigen Jahren ist die Messung zellfreier donor-spezifischer DNA (donor derived cell free DNA, dd-cfDNA) eine nicht-invasive Möglichkeit die Integrität des Grafts zu überwachen. Der Anstieg der dd-cfDNA Fraktion kann auf Zelltod im Transplantat hindeuten, ohne jedoch spezifisch für eine Abstoßung zu sein. Die Messungen erfolgen über Droplet digital PCR (ddPCR) oder Next-Generation-Sequencing (NGS)¹⁶.

Überkreuz-Lebendnierenspende

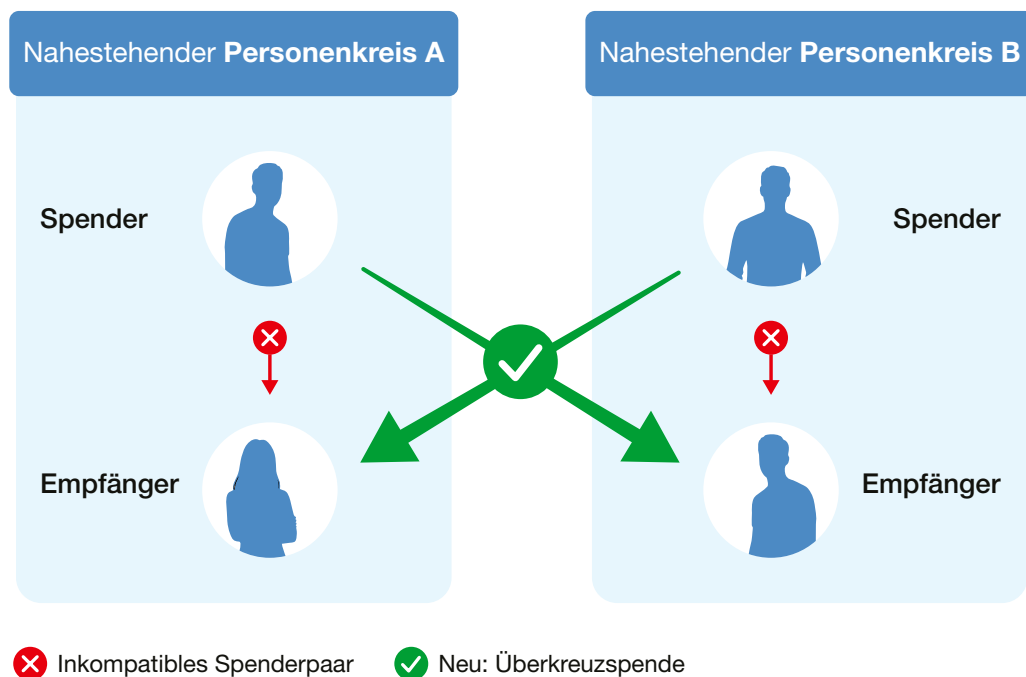


Abbildung 4: Prinzip der Überkreuz-Lebendnierenspende

Schematische Darstellung einer Überkreuz-Lebendnierenspende. Zwei oder mehrere immunologisch inkompatible Spender-Empfänger-Paare werden so kombiniert, dass jeweils eine kompatible Transplantation möglich wird. Abbildung adaptiert nach: <https://www.bundesregierung.de/breg-de/aktuelles/ueberkreuz-lebendnierenspende-2387750>.

Zusammenfassend bildet die moderne HLA-Diagnostik die Grundlage für die immunologische Risikobewertung bei der Nierentransplantation. In Verbindung mit den Strategien von Eurotransplant – einschließlich der Definition von NAHAs, der Berechnung des vPRA sowie des AM-Programms – können auch hochimmunisierte Patienten erfolgreich transplantiert werden.

HLA-Diagnostik für Stammzelltransplantationen

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation ist für viele maligne und nicht-maligne hämatologische Erkrankungen, Immundefekte und Stoffwechselerkrankungen eine potentiell kurative Therapie. Aus immunogenetischer Sicht steht dabei die Frage im Mittelpunkt, wie kompatibel Patient und Spender hinsichtlich ihrer HLA-Merkmale sind. Durch Mismatch(es) entstehende Alloreaktivität ist einerseits erwünscht, wenn sie als Graft-versus-Leukemia-Effekt (GvL) zur Kontrolle einer malignen Grunderkrankung beiträgt. Andererseits kann sie zu einer

Graft-versus-Host-Disease (GvHD) und transplantationsassoziiierter Morbidität und Mortalität führen. Die HLA-Diagnostik vor Stammzelltransplantation hat daher eine zentrale Schnittstellenfunktion zwischen Labor, Spenderdatei und klinischer Entscheidungsfindung.

Ziel der HLA-Diagnostik vor Transplantation

Idealerweise erfolgt die HLA-Typisierung eines Patienten bereits dann, wenn eine allogene Transplantation als realistische Therapieoption absehbar ist. Dadurch kann parallel zur klinischen Therapieplanung eine Spendersuche innerhalb der Familie und, falls erforderlich, eine Fremdspendersuche eingeleitet werden¹⁷.

Für Fremdspender wird in europäischen Zentren ein sogenanntes 10/10 Match für die Loci HLA-A, -B, -C, -DRB1 und -DQB1 angestrebt. Optimal ist eine erweiterte Typisierung von elf Loci, einschließlich HLA-DQA1, -DPA1, -DPB1 sowie -DRB3/4/5. Dies ist besonders relevant, wenn DSA eine Rolle spielen könnten¹⁸.

Auflösung der HLA-Typisierung mit Beispiel	Methode	Anwendungsbeispiele und Beschreibung
Serologisch B27	LCT	Krankheitsassoziationen Wenn nur das Vorhandensein eines Allels entscheidend ist.
Niedrigauflösend B*27	z. B. SSO, SSP	Patienten und Spender bei Thrombozytenrefraktärität, Krankheitsassoziationen, potentielle Familienspender Ergebnis einer DNA-basierten Methode, die keine weitere Auflösung bietet. Seltene Ambiguitäten sind nicht ausgeschlossen und sind im Labor einsehbar.
Intermediäre Auflösung HLA-A*02:01 NMDP/MAC: A*02:HBMC entspricht A*02:01/A*02:11/A*02:34/A*02:69	z. B. RT-PCR, SSO	Retypisierungen für Stammzelltransplantationen, postmortale Organspender Ergebnis einer DNA-basierten Methode. Das wahrscheinlichste zweite Feld wird angegeben. Seltene Ambiguitäten sind nicht ausgeschlossen und sind im Labor einsehbar. Umfasst die Verwendung von NMDP/MAC-Codes, die für mehrere Ambiguitäten kodieren.
Hochauflösend A*02:01:01:01 Optionen für Angabe in Befunden: A*02:01 A*02:01P A*02:01:01G	Massive Parallele Sequenzierung (NGS/TGS)	Stammzelltransplantation, Patienten vor Nierentransplantation, Lebendnierenspender Ergebnis einer DNA-Sequenzierung Auflösung bis max. 4 Felder möglich Auch seltene Allele werden ausgeschlossen oder angegeben.

Tabelle 2: Methoden der HLA-Typisierung

Darstellung unterschiedlicher Auflösungsstufen der HLA-Typisierung mit beispielhafter Schreibweise, typischen Methoden und klinischer Anwendung.

Methodik der HLA-Typisierung

Historisch wurden HLA-Merkmale serologisch mittels LCT bestimmt. Dabei werden zu typisierende Lymphozyten mit HLA-Antikörpern bekannter Spezifität inkubiert. Der Vorteil dieser Methode ist der Nachweis tatsächlich exprimierter HLA-Proteine, beispielsweise bei Verdacht auf Nullallele. Wegen begrenzter Auflösung, Kreuzreaktivitäten und des Bedarfs an vitalen Zellen spielt die Serologie in der modernen HLA-Typisierung jedoch nur noch eine ergänzende Rolle.

DNA-basierte Methoden sind standardisierbar und nicht auf vitale Lymphozyten angewiesen. Die PCR-basierten Methoden (z. B. SSP, SSO oder RT-PCR) werden weiterhin für niedrig- bis intermediärauflösende Fragestellungen, wie Bestätigungstypisierungen und Krankheitsassoziationen eingesetzt. Die SSP ist beispielsweise sehr zuverlässig, aber bei konventioneller Durchführung arbeits-

intensiv und im Durchsatz begrenzt. RT-PCR-Verfahren verkürzen die Bearbeitungszeit, weshalb sie besonders bei zeitkritischen Anforderungen verwendet werden, z. B. bei der Typisierung postmortaler Organspender¹⁹.

Für die Patiententypisierung vor Organtransplantationen und für die Spenderauswahl bei der allogenen Stammzelltransplantation ist jedoch eine hochauflösende, möglichst ambiguitätsarme Typisierung anzustreben. Dies ist wichtig, weil bereits kleine Sequenzunterschiede in den HLA-Proteinen die T-Zell-Erkennung und damit das Risiko für immunologische Komplikationen wie Graft-versus-Host-Disease oder Transplantatversagen beeinflussen können. Heute wird die hochauflösende HLA-Typisierung mittels Massiven Parallelen Sequenzieretechniken durchgeführt, v. a. mit NGS. Der Arbeitsablauf umfasst in der Regel die Amplifikation der Zielregionen oder, seit einiger Zeit auch eine Anreicherung mittels Capture-Verfahren, die Library-Präparation mit Adapter- und Index-Sequenzen, die

Sequenzierung und anschließend die bioinformatische Auswertung. Moderne Protokolle erfassen meist alle elf transplantationsrelevanten Loci (**Tabelle 1**). Seit einiger Zeit gewinnen auch Long-Read- beziehungsweise Third-Generation-Sequencing (TGS) Verfahren, zum Beispiel mit Nanopore-Technologien an Bedeutung (**Abbildung 5**). Sie können deutlich längere DNA-Sequenzen erfassen und dadurch ganze Gene oder große Genabschnitte in einem Read abbilden. Dies erleichtert das sog. Phasing, also die Zuordnung heterozygoter Varianten zu demselben Allel, und reduziert Ambiguitäten. Die Nanopore-Technologie hat dabei das Potenzial, eine schnelle und hochauflösende Typisierung von postmortalen Organspendern zu ermöglichen^{20, 21}.

Zur HLA-Typisierung gehört immer eine kritische Sequenzanalyse. Die Auswertesoftware gleicht die gewonnenen Sequenzdaten mit der jeweils aktuellen IPD-IMGT/HLA-Datenbank ab und berechnet die am besten passenden Allele. Zusätzliche Qualitätsparameter wie Lesetiefe, Mappability, Allel-Balance und Hintergrundrauschen müssen geprüft werden. Moderne HLA-Typisierung verbindet daher molekularbiologische Präzision, Hochdurchsatztechnologie und fachkundige immungenetische Interpretation. Die technische Methode muss dabei zur klinischen Fragestellung passen.

Bewertung der Stammzell-Spenderkompatibilität

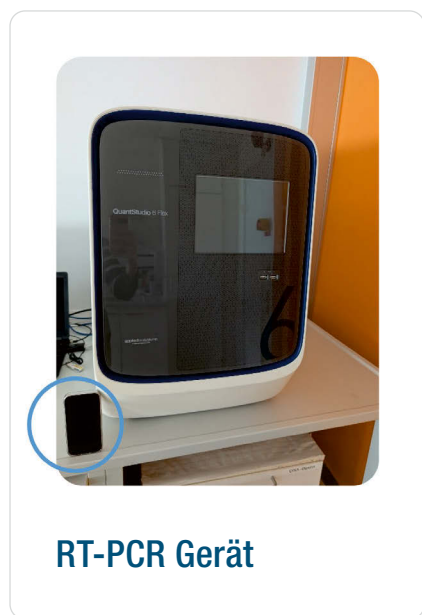
Die Aufgabe des HLA-Labors endet nicht mit der technischen Typisierung. Die Befunde müssen in eine trans-

plantationsmedizinisch verwertbare Beurteilung übersetzt werden. Dazu gehört die Einordnung, ob es sich um einen HLA-identischen Geschwisterspender oder einen haploidentischen Familienspender bzw. einen passenden Fremdspender oder einen mismatched Fremdspender handelt.

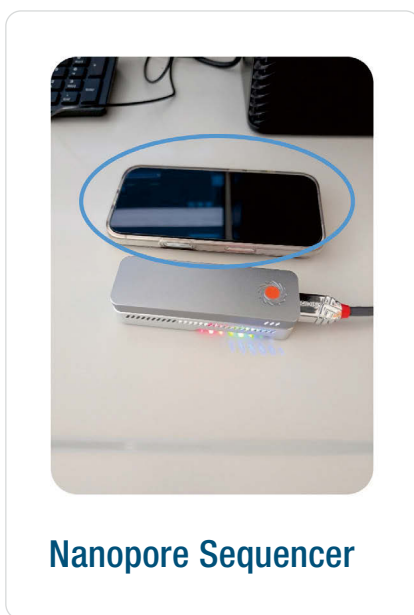
Bei nicht verwandten Spendern wird zunächst geprüft, ob ein 10/10-kompatibler Spender verfügbar ist. Bei mehreren Optionen fließen zusätzlich Spenderalter, Verfügbarkeit, CMV-Status, Blutgruppe, Geschlecht und Stammzellquelle ein. Die aktuellen Empfehlungen betonen, dass jüngere Spender häufig mit besseren Ergebnissen assoziiert sind und daher bei mehreren ansonsten geeigneten Spendern bevorzugt werden können¹⁸.

Bei HLA-Mismatches ist nicht nur die Anzahl, sondern auch die Qualität des Mismatches relevant. Ein einzelnes Mismatch an einem bestimmten Locus kann klinisch anders zu bewerten sein als mehrere Mismatches oder ein nicht-permissiver HLA-DPB1-Mismatch. Für HLA-DPB1 existiert das Konzept permissiver und nicht-permissiver Mismatches auf Basis des T-cell-epitope-Modells²².

Aktuell wird diskutiert, inwieweit die Einführung von PTCy (Post-Transplant Cyclophosphamid) als GvHD-Prophylaxe die Bewertung von HLA-Mismatches bei allogenen Stammzelltransplantationen verändert hat. Hier fehlen allerdings noch Daten, um Unterschiede in der Gewichtung von HLA-Mismatches im Vergleich zu den herkömmlichen Prophylaxe-Strategien abschließend zu bewerten²³.



RT-PCR Gerät



Nanopore Sequencer

Abbildung 5: Evolution der Sequenziergeräte

Technologische Entwicklung der HLA-Typisierung von klassischen PCR-basierten Verfahren mittels RT-PCR hin zur Nanopore-Technologie (jeweils im Größenvergleich mit einem Smartphone, blau umrandet).

HLA-Antikörperdiagnostik bei Stammzelltransplantationen

Neben der zellulären Alloreaktivität durch HLA-Mismatches spielt die humorale Immunität eine wichtige Rolle. DSA sind insbesondere bei haploidentischer Transplantation, mismatched Fremdspender und Nabelschnurbluttransplantationen klinisch relevant, da sie das Risiko für primäres Transplantatversagen deutlich erhöhen können. Deshalb sollten Spender, gegen die relevante DSA bestehen, möglichst vermieden werden. Aktuelle Empfehlungen sehen ein HLA-Antikörperscreening bei allen Patienten vor, bei denen ein Spender mit HLA-Differenzen in Betracht gezogen wird. Bei Nachweis von DSA müssen Labor und Klinik gemeinsam entscheiden, ob ein alternativer Spender ohne entsprechendes Zielantigen verfügbar ist oder ob eine Desensibilisierung erwogen werden muss¹⁸.

Monitoring nach Transplantation

Das Follow-up nach Stammzelltransplantation erfolgt mittels Chimärismusanalyse. Auch diese Analysen werden z.T. in HLA-Laboren durchgeführt. Hier wird das Wiederauftreten von Empfängerzellen im hämatopoetischen System überwacht als Hinweis auf ein mögliches Rezidiv. Methodisch kommen hier Short Tandem Repeats (STR), NGS, qPCR oder die ddPCR in Frage.

Ein weiteres, zunehmend relevantes Aufgabengebiet ist das HLA-Monitoring bei Rezidiv nach allogener Transplantation. Maligne Zellen können dem Immundruck des Spenders entgehen, indem sie HLA-Merkmale verlieren, die vom Spender als fremd erkannt würden. Dieses Phänomen wird als HLA-Loss bezeichnet und ist besonders nach haploidentischer Transplantation beschrieben, kann aber auch in anderen mismatched Konstellationen vorkommen. Bei drohendem oder manifestem Rezidiv kann der Nachweis eines HLA-Loss entscheidend sein, insbesondere, wenn eine Donor-Lymphozyten-Infusion oder eine zweite Transplantation geplant wird. Hier werden v.a. NGS-basierte Verfahren eingesetzt²⁴.

Refraktärität bei Thrombozytentransfusionen

Bleibt der erwartete Anstieg der Thrombozytenzahl nach wiederholter Thrombozytentransfusion aus, spricht man von einem refraktären Zustand gegen Thrombozytentransfusionen. Gemäß der Querschnittsleitlinie zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten besteht

der Verdacht auf eine Refraktärität, wenn ein fehlender Anstieg der Thrombozytenwerte (korrigiertes Increment, CCI) trotz wiederholter (mindestens zwei) Transfusion ABO-kompatibler, frischer (< 3 Tage) Thrombozytenkonzentrate (TK) vorliegt²⁵.

Die Ursachen einer Refraktärität lassen sich grundsätzlich in nichtimmunologische und immunologische Ursachen unterteilen.

Nichtimmunologische Ursachen treten mit einem Anteil von 70–80 % deutlich häufiger auf und umfassen z.B. Infekte, Fieber, Sepsis, Blutungen, Verbrauchskoagulopathien, Medikamente (Amphotericin B, Vancomycin oder ATG) sowie Splenomegalie/Hypersplenismus.

Immunologisch bedingte Refraktäritäten beruhen überwiegend auf Antikörpern gegen auf Thrombozyten exprimierte Antigene. Thrombozyten exprimieren auf ihrer Oberfläche ABO-Blutgruppenantigene, HLA-Klasse-I-Merkmale (HLA-A und HLA-B) sowie HPA-Merkmale (Human Platelet Antigens)²⁶.

Die ABO-Blutgruppenantigene sind auf Thrombozyten vergleichsweise schwach ausgeprägt, sodass eine ABO-inkompatible Thrombozytentransfusion nur selten zu einer klinisch relevanten Verkürzung der Überlebenszeit transfundierter Thrombozyten führt. Demgegenüber können Immunisierungsereignisse zur Bildung von Alloantikörpern gegen HLA- und/oder HPA-Antigenen führen und dadurch einen immunologisch bedingten Refraktärzustand verursachen. Isoliert auftretende HPA-Antikörper sind dabei selten und werden häufiger gemeinsam mit HLA-Antikörpern nachgewiesen²⁶. Den überwiegenden Anteil der immunologisch relevanten Alloantikörper bilden jedoch HLA-Antikörper²⁷.

Differentialdiagnostisch sollte im Rahmen einer Refraktärität auch an thrombozytäre Autoantikörper im Sinne einer Immunthrombozytopenie (ITP), sowie medikamentenabhängige Antikörper gedacht werden.

Pathophysiologisch sorgt die Bindung von HLA/HPA-Antikörpern an das korrespondierende Antigen auf transfundierten Thrombozyten für eine Opsonisierung. Diese werden dann überwiegend in der Milz durch Makrophagen phagozytiert. HLA-Antikörper können auch über den klassischen Weg Komplement aktivieren, was zur Lyse führt²⁷. Nicht jeder nachweisbare HLA/HPA-Antikörper führt jedoch zu einer klinisch relevanten Refraktärität. Entscheidend sind unter anderem Antikörperspezifität, Affinität und die durchaus variable Antigendichte auf den Spenderthrombozyten²⁸.

Diagnostik bei Refraktärität gegen Thrombozytentransfusionen

Für die Diagnostik der HLA- und HPA-Antikörper stehen mehrere Methoden zur Verfügung. Für den Nachweis und die Differenzierung der HLA-Klasse-I-Antikörper wird die bereits erwähnte Mikrobead-basierte Festphasenmethode verwendet. Die LCT-Methode ist in diesem Kontext nicht optimal, da mittels LCT nur die zytotoxischen HLA-Antikörper erfasst werden können und auch die nicht-lymphozytotoxischen HLA-Klasse-I-Antikörper einen Refraktärzustand verursachen können²⁹.

Für die Bestimmung der HPA-Antikörper können glykoproteinspezifische Tests, wie z. B. der MAIPA (Monoclonal Antibody Immobilization of Platelet Antigens Assay), der SASPA (Simultaneous Analysis of Specific Platelet Antibodies)³⁰ und luminexbasierte Tests³¹ verwendet werden. Zusätzlich zur Antikörperdiagnostik erfolgt die HLA-Typisierung des Empfängers für HLA-A und -B sowie ausgewählte HPA-Loci³².

Management der Therapie

Ziel des Managements ist die Auswahl von Thrombozytenkonzentraten, gegen die keine klinisch relevanten Antikörper gerichtet sind. Dafür werden drei Strategien eingesetzt:

HLA Matching: Es wird angestrebt, ein möglichst vollständiges 4/4 Matching (HLA-A und -B-Locus) zwischen Empfänger und Spender zu erzielen. Die große Limitation ist die Verfügbarkeit übereinstimmender Thrombozytenspender.

HLA-kompatible Versorgung: Hier werden HLA- und ggf. HPA-Alloantikörper des Empfängers bei der Auswahl der Thrombozytenspender berücksichtigt, das typisierungsbasierte Matching tritt in den Hintergrund. Dadurch erhöht sich die Anzahl der kompatiblen Thrombozytenspender.

Thrombozyten Crossmatch: Es erfolgt ein Kompatibilitätstest zwischen dem Serum des Empfängers und den Spenderthrombozyten. Hierdurch kann ein kompatibles Thrombozytenkonzentrat identifiziert werden.

Bei refraktären Patienten ist die HLA-/HPA-Kompatibilität der ABO-Kompatibilität übergeordnet. Bei lebensbedrohlicher Blutung und fehlender Verfügbarkeit ausgewählter Präparate müssen nicht ausgewählte Thrombozytenkonzentrate transfundiert werden; dabei

kann eine höhere Anzahl von Thrombozytenkonzentraten erforderlich sein.

Für eine optimale Thrombozytenversorgung immunisierter Patienten ist bei planbaren Transfusionen immer eine frühzeitige und enge Kommunikation mit dem zuständigen Blutspendedienst/HLA-Labor von entscheidender Bedeutung. Sie ermöglicht die Bereitstellung geeigneter HLA- bzw. HPA-ausgewählter Thrombozytenkonzentrate und trägt so zu einer effizienten Transfusionstherapie bei.

HLA-Merkmale bei Krankheitsassoziationen und pharmakogenetischen Fragestellungen

Die Untersuchung einzelner HLA-Merkmale bei bestimmten Krankheitsassoziationen und bei ausgewählten pharmakogenetischen Fragestellungen gehört ebenfalls zum Aufgabenspektrum vieler HLA-Labore. Im Unterschied zur Spenderauswahl vor Organ- oder Stammzelltransplantation geht es hier meist nicht um eine vollständige HLA-Typisierung über mehrere Loci, sondern um die gezielte Frage, ob ein bestimmtes HLA-Merkmal vorhanden ist oder nicht. Das Ergebnis unterstützt die klinische Einschätzung, ersetzt aber nicht die weitere Diagnostik.

Bestimmte HLA-Allele sind mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Autoimmunerkrankungen, entzündliche Erkrankungen, Infektionsverläufe oder Arzneimittelreaktionen verbunden. Ein klassisches Beispiel ist die Assoziation von HLA-B27 mit ankylosierender Spondylitis³³. Für die klinische Interpretation ist wichtig, dass eine HLA-Assoziation keine monokausale Beziehung bedeutet. Die meisten HLA-assoziierten Erkrankungen entstehen multifaktoriell, also durch ein Zusammenspiel genetischer Faktoren, Umweltfaktoren und immunologischer Trigger. Auch bei sehr starken Assoziationen erkrankt nicht jeder Merkmalsträger. Ein positives Ergebnis zeigt daher in erster Linie eine genetische Prädisposition an. Umgekehrt kann ein negatives Ergebnis bei bestimmten Erkrankungen hilfreich sein, weil es die Diagnose unwahrscheinlicher macht. Dies gilt insbesondere bei Erkrankungen mit starker HLA-Assoziation, beispielsweise bei Zöliakie. Hier können die Allele HLA-DQB1*02-DQA1*05 besonders gut Peptide des Glutens an T-Zellen präsentieren und die Aktivierung glutenspezifischer T-Zellen spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Zöliakie³⁴. Ein positiver Nachweis dieser Allele allein ist hingegen nicht wegweisend, weil diese Merkmale in der Allgemeinbevölkerung relativ häufig vorkommen. **Tabelle 3** gibt weitere Beispiele und nennt jeweils das relative Risiko, also den Faktor, um

Erkrankung	Merkmal	Relatives Risiko
Adreno-genitales Syndrom (AGS), Late-Onset-Form	B14	48,5
AGS, Salzverlustform	B47	51,0
Birdshot-Chorioretinopathie	A29/A*29:02	>100
Juveniler Diabetes Mellitus (IDDM)	DR4; DQB1*03:02; DR3; DQB1*02:01	6,4; 9,5; 3,3; 2,4
Felty-Syndrom	DR4	76,0
Hereditäre Hämochromatose Typ 1	A3	8
Neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT)	DR3, DRB3, DQ2	9,2
Ankylosierende Spondylarthritis (M. Bechterew)	B27	87,4
Morbus Behçet	B51	3,8
Urethro-okulo-artikuläres Syndrom (M. Reiter)	B27	37,0
Multiple Sklerose	DR2, DRB1*15:01, DRB5*01:01, DQB1*06:02	4,1
Narkolepsie	DQB1*06:02-DQA1*01:02, DRB1*15	>100
Postinfektiöse Arthritiden (Shigellen/Salmonellen/ Yersinia/ Gonokokken)	B27	13-40
Rheumatoide Arthritis	DR4; DRB1*04:01/ *04:04/*04:08	4,2; 6-14
Sjögren-Syndrom; zusätzlich Sicca Syndrom	DR3	10; 9,7
Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	DR3; B8	5,8; 2,8
Zöliakie (Glutenenteropathie)	DQB1*02-DQA1*05 sowie DQB1*03:02 (DQ8)-DQA1*03	52,0

Tabelle 3: Wichtige HLA-Krankheitsassoziationen

Auswahl klinisch relevanter Assoziationen zwischen HLA-Merkmalen und Erkrankungen. Das relative Risiko beschreibt, um welchen Faktor die Erkrankung bei Merkmalsträgern im Vergleich zu Nicht-Merkmalsträgern häufiger auftritt. Ein positiver Befund zeigt eine genetische Prädisposition an, ist jedoch in der Regel nicht allein diagnostisch beweisend. Tabelle adaptiert nach ³⁵.

den die Erkrankung bei Merkmalsträgern im Vergleich zu Nicht-Merkmalsträgern häufiger auftritt.

Immunologisch beruhen HLA-Krankheitsassoziationen vor allem auf Unterschieden in Peptidbindung und Antigenpräsentation: Bereits einzelne Aminosäureunterschiede können verändern, welche Selbst- oder Fremdpeptide T-Zellen präsentiert werden. Bei Autoimmunerkrankun-

gen kann dies autoreaktive T-Zell-Antworten begünstigen; weitere Mechanismen sind molekulare Mimikry, Epitope Spreading und posttranslationale Modifikationen, etwa Citrullinierung bei rheumatoider Arthritis³⁶.

Ein zweiter wichtiger Bereich ist die Pharmakogenetik. Hier geht es um das Risiko schwerer Arzneimittelreaktionen oder um die Wirksamkeit bestimmter Therapien.

Erkrankung	Merkmal
Abacavir-Hypersensitivität	B*57:01
Carbamazepin induziertes Stevens Johnson Syndrom	B*15:02
Allopurinol induziertes Stevens Johnson Syndrom	B*58:01
Tebentafusp – Sensitivität	A*02:01

Tabelle 4: HLA-Merkmale mit pharmakogenetischer oder therapeutischer Relevanz

Beispiele für HLA-Merkmale, die mit schweren Arzneimittelreaktionen oder mit der Wirksamkeit bestimmter Therapien assoziiert sind. Im Unterschied zu vielen Krankheitsassoziationen können positive Befunde hier unmittelbare therapeutische Konsequenzen haben, etwa die Vermeidung eines Arzneimittels oder die Prüfung einer Therapieeignung.

Besonders relevant ist HLA-B*57:01 vor Abacavir-Gabe; bei positivem Ergebnis sollte Abacavir nicht eingesetzt werden. Die Testung auf HLA-A*02:01 bei Aderhautmelanom dient der Prüfung, ob ein Patient für eine Behandlung mit der HLA-restringierten Immuntherapie Tebentafusp geeignet ist. Weitere Beispiele sind in **Tabelle 4** aufgeführt.

Da es sich bei HLA-Untersuchungen auf Krankheitsassoziationen und pharmakogenetische Risiken um genetische Untersuchungen handelt, sind die Vorgaben des Gendiagnostikgesetzes zu beachten. In der Regel ist hierfür eine schriftliche Einwilligung erforderlich.

Ausblick

Für die Nierentransplantation und bei immunologisch bedingter Thrombozytenrefraktärität wird das molekulare Matching an Bedeutung gewinnen, um Spenderorgane

und Thrombozytenkonzentrate auch bei hochimmunierten Patienten möglichst immunologisch passend zu vergeben.

Hochauflösende HLA-Typisierung mittels Long-Read-Verfahren und KI-gestützte Auswertung großer populationsübergreifender Datensätze werden in der allogenen Stammzelltransplantation die Spenderauswahl verändern und auch neue Krankheitsassoziationen identifizieren.

Die beschriebenen Themenfelder der HLA-Labore weisen das Feld als anspruchsvolles und sich kontinuierlich weiterentwickelndes Arbeitsumfeld aus: Hochdurchsatzsequenzierung, Long-Read-Technologien, erweiterte Antikörperdiagnostik, moderne Crossmatchverfahren, molekulares Matching und bioinformatische Auswertung erweitern die diagnostischen Möglichkeiten und präzisieren so die Patientenversorgung³⁷. ■

Die Autoren (I)



Dr. med. Anna-Lena Semmler

Fachärztin für Transfusionsmedizin und Anästhesiologie, Stv. Abteilungsleiterin Transplantationsimmunologie und Immunogenetik, Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Frankfurt am Main, DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen gemeinnützige GmbH
a.semmler@blutspende.de



Dr. rer. nat. Corinna Opitz

Wissenschaftliche Mitarbeiterin
Transplantationsimmunologisches Labor,
Institut für Transfusionsmedizin Dresden,
DRK-Blutspendedienst Nord-Ost gemeinnützige GmbH
c.opitz@blutspende.de

Die Autoren (II)



Lenka Trojanova

Fachärztin für Transfusionsmedizin
Institut für Transfusionsmedizin Dresden,
DRK-Blutspendedienst Nord-Ost gemeinnützige GmbH
l.trojanova@blutspende.de



Dr. med. Josephine Meininger

Ärztin in Weiterbildung für Transfusionsmedizin,
Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie
Frankfurt am Main, DRK-Blutspendedienst Baden-
Württemberg – Hessen gemeinnützige GmbH
j.meininger@blutspende.de



Prof. Dr. med. Christian Seidl

Stv. Ärztlicher Direktor Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Frankfurt am Main
Ärztlicher Leiter Medizinisches Versorgungszentrum (MVZ) Frankfurt und Kassel
Fachkoordinator Bereich Transplantationsimmunologie
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen gemeinnützige GmbH
Professor für experimentelle Hämatologie am Universitätsklinikum Frankfurt (UKF)
c.seidl@blutspende.de

Weitere Informationen zu den Autoren finden Sie unter

www.drk-haemotherapie.de/autoren



Hilfreiche Downloads und weitere Informationen
zu diesem Beitrag finden Sie in der hämo-App, z. B.

-  Literaturhinweise
-  Weitere Beiträge zu diesem Thema
-  Weitere Infos zu den Autoren



Direkt zum Beitrag:

[www.drk-haemotherapie.de/
beitraege/47-hla](http://www.drk-haemotherapie.de/beitraege/47-hla)