

SARS-CoV-2 und HLA

Immungenetik beeinflusst Infektion und Verlauf von COVID-19

CLAUDIA LEHMANN, ILIAS DOXIADIS
INSTITUT FÜR TRANSFUSIONSMEDIZIN, LABOR FÜR TRANSPLANTATIONS-
IMMUNOLOGIE, UNIVERSITÄTSKLINIKUM LEIPZIG

In the present report, we concentrate on the influence of immunogenetics on the SARS-CoV-2 infection. A total of 527 SARS-CoV-2 PCR positive and negative individuals from Saxony was investigated. We used NGS for HLA-A, B, C, DRB1, DRB345, DQA1, DQB1, DPA1, and DPB1 typing. Then, we defined 26 genes and 5 platelet genes. Here we discuss possible predisposition of individuals expressing specific HLA alleles or combinations.

DOI: 10.1007/s12268-023-1991-y
© Die Autorinnen und Autoren 2023

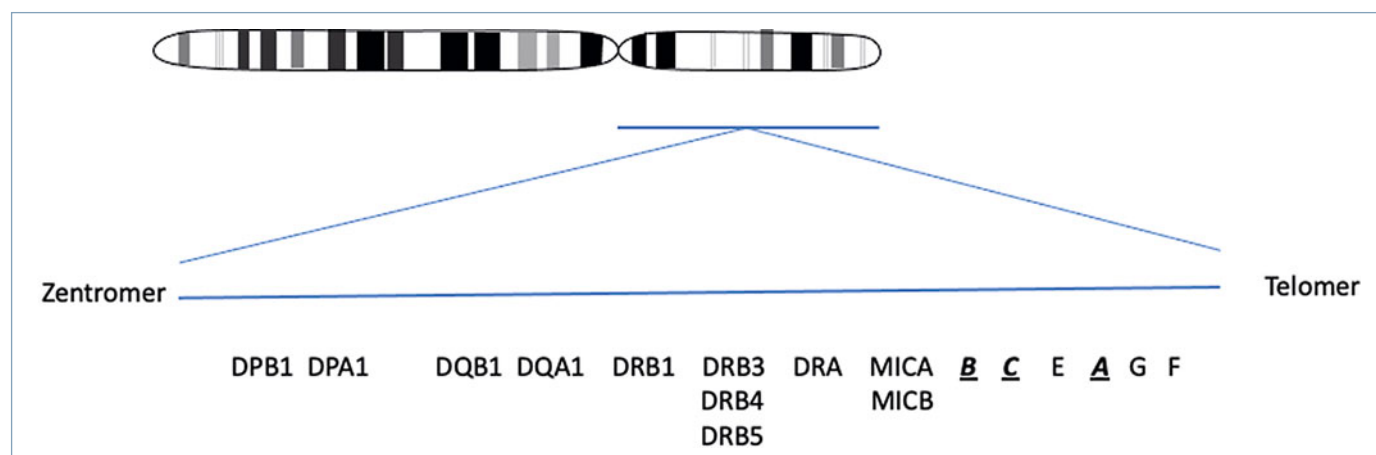
■ Der Haupthistokompatibilitätskomplex (*major histocompatibility complex*, MHC) spielt bei der Immunerkennung, Gewebeverträglichkeit und der immunologischen Individualität eine zentrale Rolle [1]. Beim Menschen heißt dieses System HLA (Humane Leukozyten-Antigen). Es ist das variabelste System mit über 37.000 Allelen (<https://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html> vom 09.08.2023). Die Selbst-/Nicht-Selbsterkennung ermöglicht die Immunabwehr des Individuums gegen Pathogene/Tumore [2]. Die Immungenetik beschäftigt sich mit dem Polymorphismus und dessen Einfluss auf Trans-

plantation, Transfusion, Schwangerschaft, Tumorabwehr und Krankheitsassoziationen. Die Krankheitsassoziationen werden unterteilt in: a) immunologisch verursacht und b) Lokalisation des HLA-Allels in der Nähe eines Krankheitsgens. Der insulinabhängige Diabetes mellitus ist mit *HLA-DRB1*03* und *HLA-DRB1*04* assoziiert, Zöliakie mit *HLA-DQB1*02* und *HLA-DQB1*03:02*, rheumatoide Arthritis mit *HLA-DRB1*04*, wodurch diese in a) fallen. Hingegen liegt *HLA-B*51* in der Nähe des Krankheitsgens von Morbus Behcet, *HLA-C*06:02* in der Nähe des Krankheitsgens Psoriasis vulgaris und *HLA-*

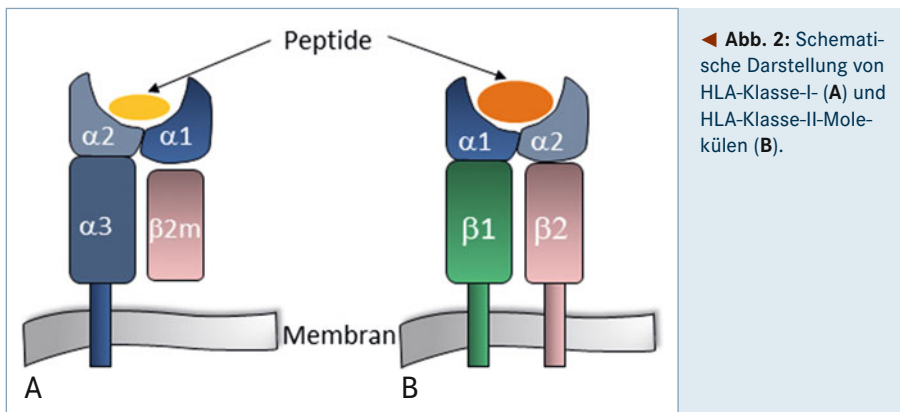
*DQB1*06:02* in der Nähe des Krankheitsgens Narkolepsie. In verschiedenen Populationen können unterschiedliche Allele bzw. Allel-Gruppen mit einer Krankheit assoziiert sein [3]. Die Rolle von immungenetischen Faktoren wurde auch für das SARS-CoV-2 diskutiert. Vor allem HLA und das ABO-Blutgruppensystem standen im Fokus. In unserer Studie wurden 11 HLA-, 26 Blutgruppen- und 5 Plättchen-Gene (HPA) untersucht [4].

Zentrale Rolle von HLA bei der Immunantwort

Abbildung 1 zeigt schematisch die HLA-Region, die ca. 4 MB lang ist und auf dem kurzen Arm vom Chromosoms 6 liegt. Sie ist vergleichbar mit der Länge des *E. coli*-Genoms bzw. dem Durchschnitt eines menschlichen Haars. Die Region beinhaltet Gene, die auf kernhaltigen Zellen exprimiert und als „klassisch“ bezeichnet werden (Klasse I: *HLA-A, B, C*). Die Gene der Klasse II (*HLA-DR, DQ, DP*) werden auf Immunzellen exprimiert. Immunzellen sind u. a. dendritische, Langerhans-, B und aktivierte T-Zellen. Die Region beinhaltet viele Pseudogene – Gene, die aufgrund von Veränderungen zu keinem Protein führen. Die Vererbung der HLA-Merkmale erfolgt nach Mendel und deren Expression ist ko-dominant. Die Produkte der HLA-Gene präsentieren Peptide,



▲ **Abb. 1:** Schematische Darstellung der HLA-Region auf Chromosom 6. Kursiv sind die klassischen Klasse-I-Genorte dargestellt.



◀ **Abb. 2:** Schematische Darstellung von HLA-Klasse-I (A) und HLA-Klasse-II-Molekülen (B).

welche von intra- und extrazellulären Proteinen stammen. Der Aufbau der HLA-Moleküle ist in **Abbildung 2** schematisch dargestellt. Die Peptide stammen von Pathogenen und von eigenen Proteinen. Proteine werden im endoplasmatischen Retikulum in Peptide gespalten und auf die Klasse-I-Genprodukte beladen. Die Peptide, die auf Klasse I beladen werden, sind in der Regel 9–11 Aminosäuren lang. Die Peptide für Klasse II sind bis zu 22 Aminosäuren lang. Für die Immunantwort ist die Beladung der Antigen-präsentierenden Zellen wichtig, wodurch die Aktivierung von T-Zellen ausgelöst wird. In der Pandemie wurde der Einfluss von HLA und von Blutgruppen auf eine COVID-Infektion kontrovers diskutiert [5]. Beim Viruseintritt in die Zelle kann das A-Antigen (Blutgruppe A) die Bindung des viralen Spike-Proteins an den ACE2-Rezeptor über cis-Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Interaktionen auslösen. Im Gegensatz dazu hemmen Anti-A-Antikörper die Interaktion zwischen viralem Spike-Protein und dem ACE2-Rezeptor der Wirtszelle durch komplementvermittelte Neutralisierung.

Typisierung von HLA mit NGS und SARS-CoV-2

Mit NGS (*next generation sequencing*) wurden 11 HLA-Loci bestimmt. Die Typisierung wurde mit *in vitro*-Diagnostik-Testkits (AllType, One Lambda, West Hills, CA, USA) und AlloSeq[®] Tx 17 (CareDx, San Francisco, CA, USA) durchgeführt. Der erste Test ist ein Multiplex-System, bei dem *HLA-A*, *B*, *C*, *DQA1*, *DPA1* als Gesamtgen und bei *HLA-DRB1*, *DRB3/4/5*, *DQB1*, *DPB1* Exon2 aufgelöst werden. Das zweite System basiert auf der Hybrid-Capture-Technologie. Die Gene von Interesse werden aus einer erstellten Gesamtgenombibliothek angereichert. Die Untersuchung weiterer immungenetischer Faktoren umfasste 22 Blutgruppensysteme,

bestehend aus 26 und 5 Plättchen-Genen [6]. Alle Sequenzierungen wurden mit MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA) durchgeführt.

SARS-CoV-2 und Immungenetik-Ergebnisse

In unserer Studie untersuchten wir 527 Probanden aus Sachsen, im Zeitraum vom 26.05.2020 bis 31.03.2022. Von den Teilnehmern waren 328 positiv und 199 negativ auf SARS-CoV-2-PCR getestet. Von allen Probanden wurde ein SARS-CoV-2-Antikörpertest durchgeführt (Rottmayer K. et al. *Biology* in Vorb.). Die Kohorte umfasst 190 Männer und 337 Frauen im Alter von 15 bis 88 Jahren.

Für Klasse I fanden wir insgesamt 33 Allele von *HLA-A*, 50 Allele von *HLA-B* und 30 Allele von *HLA-C*. Für Klasse II bestimmten wir 34 Allele von *DRB1*, 13 Allele von *DRB345*, 17 Allele von *DQA1*, 19 Allele von *DQB1*, 7 Allele von *DPA1* und 26 Allele von *DPB1*. Frühere Berichte zeigten, dass der Grad der Homozygotie den Verlauf der COVID-19-Infektion beeinflusst [7]. Wir konnten dies in unserer Kohorte bestätigen. Wir fanden einen Zusammenhang zwischen PCR-Status und der Homozygotie der Gene *DQA1* ($p_{\text{corr}} < 0,01$) und *DQB1* ($p_{\text{corr}} < 0,04$) (**Tab. 1**). Bei allen anderen Genen gab es keine signifikante Abweichung. Zur Analyse der HLA- und Blutgruppen-Allele wurde der positive PCR-Anteil der Subkohorten mit der gesamten positiven Rate (62,2 %) verglichen. Die p-Werte wurden mit dem Bonferroni-Test korrigiert. HLA- und Blutgruppen-Allele mit einem korrigierten p-Wert $< 0,05$ wurden für weitere Analysen selektiert. Abschließend wurden Kombinationen von zwei bis vier HLA-Allelen und/oder Blutgruppen in analoger Weise analysiert. *HLA-A*- oder *HLA-C*-Allele unterscheiden sich nicht signifikant von der Gesamtrate. Im Gegensatz dazu zeigen die Allele *B*57:01* $p_{\text{corr}} < 0,001$ und *B*55:01* $p_{\text{corr}} < 0,05$ verringerte Infektionsra-

ten von ca. 40 Prozent. Für Klasse II fanden wir die Allele *DRB1*09:01* und *DRB1*15:01* in der positiven Teilkohorte und *DRB1*13:01*, *DRB1*01:01* und *DRB1*13:05* in der negativen Teilkohorte assoziiert. Für *HLA-DQA1* beobachteten wir verminderte PCR-positive Raten für *DQA1*01:01*, *DQA1*02:01* und *DQA1*01:03*. Bei *HLA-DQB1* stellten wir fest, dass *HLA-DQB1*06:02* mit der positiven und *HLA-DQB1*05:01* und *HLA-DQB1*06:03* mit der negativen Teilkohorte assoziiert ist. Für die anderen HLA-Genen wurden keine signifikanten Assoziationen beobachtet.

Insgesamt wurden 48 Allele in 31 Blutgruppensystemen der sächsischen Studienkohorte gefunden. Für ABO fanden wir im Gegensatz zu anderen Studien [8, 9] keine signifikanten Häufungen in den beiden Gruppen. Hingegen zeigt *HPA-1ab* eine signifikante ($p_{\text{corr}} < 0,05$) Häufung in der positiven PCR-Gruppe. In der nicht infizierten Teilkohorte ist *HPA-1aa* ($p_{\text{corr}} < 0,05$) signifikant häufiger nachzuweisen. Kombinationsanalysen zeigen signifikante ($p_{\text{corr}} < 0,05$) Risikoallele und protektive Allele für SARS-CoV-2. *DRB1*15:01-DQB1*06:02* und *HPA-1ab* sind häufiger in der SARS-CoV-2-PCR-positiven Gruppe nachzuweisen. *DQA1*01:01-DQB1*05:01* und *HPA-1aa* wurden häufiger in der SARS-CoV-2-PCR-negativen Gruppe nachgewiesen.

Immungenetik: Welche Aussagekraft steckt in genetischer Prädisposition?

Nicht nur die hier vorgestellte Studie zeigen, dass die SARS-CoV-2-Infektion und der Krankheitsverlauf eher multifaktoriell und multigenetisch zu betrachten sind. Die teilweise unterschiedliche HLA-Assoziationen mit einer COVID-19-Infektion in verschiedenen Populationen [9] sind nicht zwangsläufig widersprüchlich. Vielmehr zeigt sich hier eine vielfältige Wirkungsweise des Virus. Bei an COVID-19 Erkrankten wurde ein Zytokin-Sturm beobachtet. Weitere Studien zu Zytokin-Genpolymorphismus können zu einem besseren Verständnis von COVID-19 und seinen Komplikationen führen (Saal M. et al. *Biology* in Vorb.). NGS-Technologien, die eine vollständige Sequenzierung ermöglichen, werden für die HLA-Bestimmung in Zukunft immer wichtiger. Das liegt einerseits an der Vielfalt von HLA-Polymorphismen und homologen Sequenzen, andererseits können Allelunterschiede in verschiedenen Populationen definiert werden. Um diesen Anforderungen künftig gerecht zu werden, könnte die Sequenzierung mittels Nanoporen (*third-*

Tabelle 1: DQA1- und DQB1-Homozygotie in SARS-CoV-2-PCR-positiven und -negativen Individuen; p-Werte wurden mit dem exakten Fisher-Test ermittelt.

		HLA-DQA1		HLA-DQB1		
		homozygot (n)	heterozygot (n)	homozygot (n)	heterozygot (n)	
SARS-CoV-2 PCR	positive	49	279	40	288	
	negative	16	183	14	185	
			p = 0,01		p = 0,04	

generation sequencing) ein entscheidender Vorteil sein. Hierbei werden größere Leselängen erreicht und die sonst obligate Amplifikation der DNA entfällt. Mit schnellen und einfachen immunogenetischen Tests können Personen „at risk“ frühzeitig identifiziert werden. Das ermöglicht ein gezieltes Monitoring, frühzeitige Therapie und mögliche Präventionsmaßnahmen.

Danksagung

Wir bedanken uns herzlich bei allen Kooperationspartnern für die fantastische Zusammenarbeit: bei Dr. Henry Löffler-Wirth für sein bioinformatisches Know-how, bei Dr. Johannes C. Fischer und Kollegen für die Blutgruppensequenzierung und bei Dr. Thomas Grünwald und Kollegen für die gemeinsame Projektkonzeption und Teilnehmerrekrutierung. ■

Literatur

- [1] Thorsby EA (2009) Short history of HLA. *Tissue Antigens* 74: 101–116
 [2] Zinkernagel RM, Doherty PC (1997) The discovery of MHC restriction. *Immunol Today* 18: 14–17
 [3] Tiwari JL, Terasaki PI (2012) HLA and disease associations. Springer Science & Business Media, Berlin

- [4] Lehmann C, Loeffler-Wirth H, Balz V et al. (2022) Immunogenetic Predisposition to SARS-CoV-2 Infection. *Biology (Basel)* 12: 37
 [5] Mathew A, Vignesh BE, Pai SRK et al. (2021) ABO phenotype and SARS-CoV-2 infection: Is there any correlation? *Infect Genet Evol* 90: 104751
 [6] Vorholt SM, Lenz V, Just B et al. (2023) High-Throughput Next-Generation Sequencing of the Kidd Blood Group: Unexpected Antigen Expression Properties of Four Alleles and Detection of Novel Variants. *Transfus Med Hemother* 50: 51–65
 [7] Shkurnikov M, Nersisyan S, Jankevicius T et al. (2021) Association of HLA Class I Genotypes With Severity of Coronavirus Disease-19. *Front Immunol* 12: 641900

- [8] Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L et al. (2020) Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *N Engl J Med* 383: 1522–1534
 [9] Aguiar VRC, Augusto DG, Castelli EC et al. (2021) An immunogenetic view of COVID-19. *Genet Mol Biol* 44: e20210036

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Claudia Lehmann
 Universitätsklinikum Leipzig
 Institut für Transfusionsmedizin, TPI-Labor
 Johannisallee 32, Haus 8
 D-04103 Leipzig
 c.lehmann@medizin.uni-leipzig.de

AUTORINNEN UND AUTOREN



Claudia Lehmann

1989–1995 Studium Biologie/Chemie Lehramt Sek. Stufe I/II an den Universitäten Greifswald, Leipzig, Düsseldorf, Münster. 1995–1997 Referendariat in Düsseldorf. 1998–2003 Promotion am Institut für Zoologie Universität Leipzig. 2004–2009 PostDoc am Institut für Anatomie Universität Leipzig. Seit 2009 EFL-Labordirektorin Transplantationsimmunologie, Transfusionsmedizin Universitätsklinikum Leipzig.



Ilias Doxiadis

1968–1978 Studium/Promotion Biologie, LMU München. 1979–1989 PostDoc, Institut für Immunologie, GSF München und Universitätsklinikum Essen. 1989–1992 Abteilungsleiter Immunogenetik Biotest AG in Dreieich. 2000 Ernennung APL-Professur Universitätsklinikum Essen. 1992–2013 Geschäftsführer Eurotransplant Referenzlabor der Abteilung Immunhämatologie und Bluttransfusion Universitätsklinikum Leiden/Niederlande. Seit 2013 Berater am Institut für Transfusionsmedizin Universitätsklinikum Leipzig.