

DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-115-124



# Минорные антигены гистосовместимости, представляемые в HLA-A\*02:01, и стратегии их поиска

Д.С. Романюк<sup>1</sup>, А.М. Пилунов<sup>1</sup>, Г.А. Ефимов<sup>2</sup>, А.В. Боголюбова<sup>1</sup>, Е.Н. Паровичникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4;

<sup>2</sup>Милтени Биотек ГмбХ; Германия, 51429 Бергисх-Гладбах, ул. Фридрих-Элберт, 68

**Контакты:** Аполлинария Васильевна Боголюбова [apollinariya.bogolyubova@gmail.com](mailto:apollinariya.bogolyubova@gmail.com)

Минорные антигены гистосовместимости (МАГ) – полиморфные пептиды на поверхности клеток, представляющие собой фрагменты собственных белков организма, которые способны вызывать иммунный ответ при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Их презентация на поверхности клетки обусловлена присутствием определенных аллелей главного комплекса гистосовместимости (HLA – human leucocyte antigen). Одним из самых распространенных аллелей HLA является HLA-A\*02:01. Соответственно, для значительного количества пар доноров и реципиентов возможно использование МАГ, представляемых в HLA-A\*02:01, в качестве мишени при направленной терапии рецидивов лейкозов. В обзоре обсуждаются основные из известных МАГ, презентируемых в контексте HLA-A\*02:01, их характеристики и подходы, использованные для идентификации. Описанные подходы могут применяться для поиска новых МАГ в контексте мишеней для иммунотерапии.

**Ключевые слова:** иммунотерапия, минорный антиген гистосовместимости, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

**Для цитирования:** Романюк Д.С., Пилунов А.М., Ефимов Г.А. и др. Минорные антигены гистосовместимости, представляемые в HLA-A\*02:01, и стратегии их поиска. Онкогематология 2023;18(3):115–24. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-115-124

## Minor histocompatibility antigens represented in HLA-A\*02:01 and their search strategies

D.S. Romanyuk<sup>1</sup>, A.M. Pilunov<sup>1</sup>, G.A. Efimov<sup>2</sup>, A.V. Bogolyubova<sup>1</sup>, E.N. Parovichnikova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia;

<sup>2</sup>Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG; Germany, 51429 Bergisch Gladbach, Friedrich-Ebert-Straße 68

**Contacts:** Apollinariya Vasil'evna Bogolyubova [apollinariya.bogolyubova@gmail.com](mailto:apollinariya.bogolyubova@gmail.com)

Minor histocompatibility antigens (MiHAs) are polymorphic peptides on the cell surface derived from self-proteins that are capable to induce an immune response during allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. Their presentation occurs in the context of the certain major histocompatibility complex (HLA – human leucocyte antigen) alleles. One of the most common HLA alleles is HLA-A\*02:01. Accordingly, for a significant number of donors and recipients pairs, it is possible to use the MiHAs presented in the HLA-A\*02:01 as a target for relapsed leukemia therapy. This review discusses the main known MiHAs presented in the context of HLA-A\*02:01, their characteristics and approaches used for identification. The described approaches may be used to search for new MiHAs for immunotherapy.

**Keywords:** immunotherapy, minor histocompatibility antigen, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

**For citation:** Romanyuk D.S., Pilunov A.M., Efimov G.A. et al. Minor histocompatibility antigens represented in HLA-A\*02:01 and their search strategies. Onkogematologiya = Oncohematology 2023;18(3):115–24. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-115-124

### Введение

Клетки адаптивной иммунной системы, Т-лимфоциты, осуществляют контроль соматических клеток организма на наличие вирусных инфекций и возможную злокачественную трансформацию посредством

детекции Т-клеточным рецептором фрагментов внутриклеточных белков, представленных на поверхности клеток в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) [1]. Разнообразие Т-клеточных рецепторов

позволяет Т-клеткам реагировать на огромный набор пептидов. Удаление аутореактивных Т-клеток обеспечивается за счет негативной селекции в процессе созревания Т-лимфоцитов. Набор пептидов на поверхности клетки (иммунопептидом) обеспечивает как эффективный иммунный ответ, так и созревание Т-клеток, и определяется индивидуальным набором аллелей МНС.

У человека этот комплекс называется HLA (human leucocyte antigen). Если аллели HLA донора и пациента отличаются, то иммунопептидомы также отличаются, что приводит к нежелательной иммунной реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), являющейся одной из основных причин летальности после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [2]. РТПХ может возникнуть даже у полностью HLA-совместимых пар донор–реципиент. Это связано с тем, что генетические различия между донором и реципиентом могут привести к различиям в белках и, соответственно, в происходящих из них пептидах, представляемых в HLA. Такого различия достаточно для распознавания Т-клетками, поэтому после трансплантации пептиды, полученные из таких белков и представленные на поверхности соматических клеток реципиента, могут быть восприняты как чужеродные [3, 4].

Следует отметить, что запущенный таким образом иммунный ответ может быть не только опасным для реципиента, но и полезным, если он направлен против его кроветворных клеток. Такое возможно, если белок, из которого происходит минорный антиген гистосовместимости (МАГ), полиморфный пептид из собственного белка организма, экспрессируется только в кроветворной ткани. При лейкозах оставшиеся после проведения предтрансплантационного кондиционирования и трансплантации клетки кроветворной ткани пациента могут служить источником рецидива. Если на их поверхности присутствует МАГ, отсутствующий у реципиента, направленный на него иммунный ответ обеспечивает уничтожение опухолевых клеток.

### **Т-клеточный иммунный ответ на минорный антиген гистосовместимости в контексте онкогематологических заболеваний**

Иммунный ответ на МАГ является сложным многофакторным процессом, а его изучение требует разработки специфических методик. МАГ, не оцениваемые при обычном подборе донора для алло-ТГСК, могут участвовать в иммунных реакциях в ходе приживления трансплантата. Изучение МАГ позволит предсказывать возможные осложнения алло-ТГСК, связанные с иммунным ответом на МАГ, а также подобрать МАГ-мишень для направленной Т-клеточной терапии рецидивов лейкозов.

Открытие МАГ связано с исследованиями трансплантаций аллогенных органов и тканей [5, 6]. Снача-

ла МАГ считали поверхностными молекулами с экспрессией, зависимой от МНС [7]. Позже, после открытия основной функции МНС [4, 8, 9], стало ясно, что МАГ – это собственные пептиды клетки. МАГ вызывают иммунный ответ в определенных условиях (см. рисунок). Если донор и реципиент отличаются по аллелям, кодирующим МАГ, то может развиваться как реакция «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ), так и РТПХ. Как МАГ, так и вирусные пептиды представляются в комплексе с МНС [3, 4]. В случае МАГ, представляемых в МНС I класса, это чаще всего 9-членные пептиды; если МАГ представляется в МНС II класса, длина пептида достигает 14–15 аминокислот. Аллельные варианты молекул HLA различаются наборами пептидов, которые они способны связать и представить на поверхности клетки. Каждый аллельный вариант молекул комплекса HLA связывает пептиды с определенным набором аминокислот в якорных участках [10], поэтому за небольшим исключением МАГ представляется только одним аллельным вариантом белков HLA (рестрикция по HLA).

Одним из самых частых аллелей МНС I класса у европейцев является HLA-A\*02:01, и до 50 % людей в некоторых европейских популяциях имеют этот аллель [11]. Таким образом, существенная часть пациентов в Северной Америке и Европе, которым необходима алло-ТГСК, несут аллель HLA-A\*02:01. Неудивительно, что много открытых МАГ рестрицированы по этому аллелю [12]. Белки разрушаются в протеасоме, получившиеся пептиды представляются на поверхности в составе HLA. В процессе тимусной селекции аутореактивные Т-клетки уничтожаются. Однако если после трансплантации Т-клетки донора встречают другой вариант пептида на клетках реципиента, содержащий аминокислотную замену, такой пептид может быть распознан как чужеродный (см. рисунок). На сегодняшний день МАГ испытывают как часть вакцины при множественной миеломе и как мишень для Т-клеток в иммунотерапии рецидивирующих лейкозов [13, 14].

Теперь известно, что МАГ формируются благодаря генетической изменчивости в популяции. Наиболее часто это несинонимические однонуклеотидные полиморфизмы (нсОНП), которые изменяют аминокислотную последовательность собственных белков. МАГ может появиться и благодаря другим полиморфизмам. Сдвиг рамки считывания и нонсенс-мутации приводят к экспрессии укороченных форм белка, таким образом, только один аллельный вариант гена кодирует пептид, представляемый в HLA [15]. Даже одиночная аминокислотная замена, вызванная нсОНП, влияет на деградацию белка в протеасоме [16] или возможность экспонирования в МНС на поверхности, что приводит к представленности на клетке только одного из двух аллельных вариантов [17]. Вариант нсОНП, кодирующий представляемый на поверхности клетки пептид, называется иммуногенным (или доминантным)

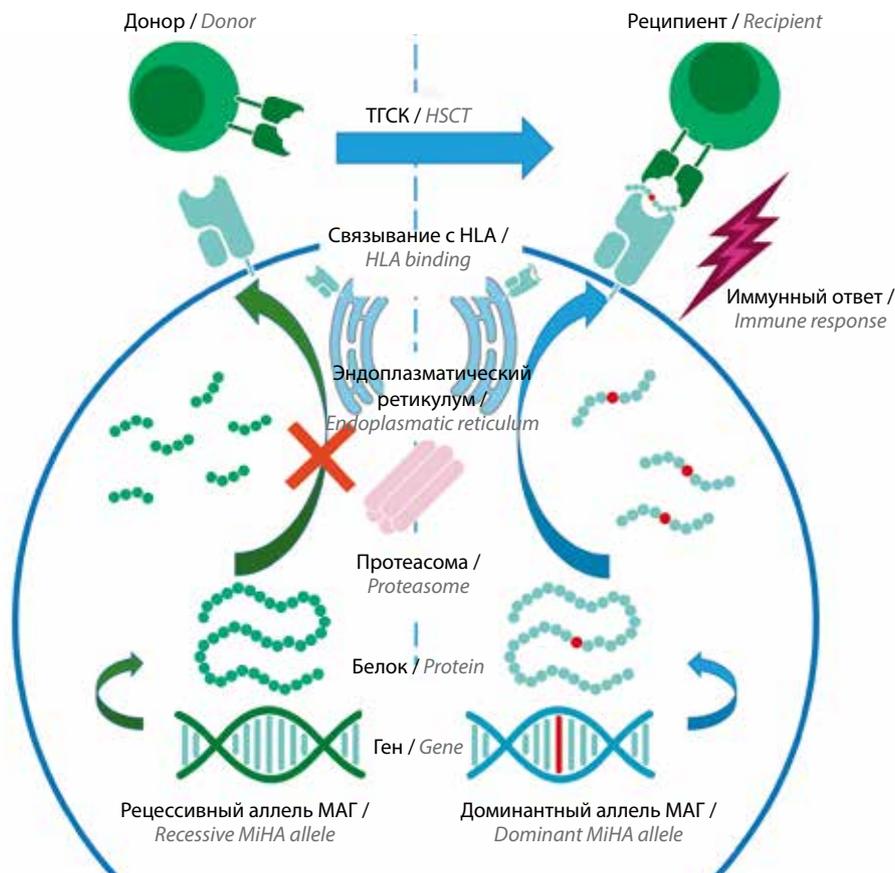
аллелем. Вариант нсОНП, который не приводит к появлению пептида, видимого для иммунной системы, называется неиммуногенным (или рецессивным).

### Подходы к характеристике минорных антигенов гистосовместимости

Большинство описываемых МАГ открыто с использованием методов так называемой прямой иммунологии, заключающихся в поиске мишеней эффекторных клеток, поэтому их способность вызывать иммунный ответ *in vivo* не требует подтверждения. В таблице показан перечень МАГ, представляемых в контексте HLA-A\*02:01. Для МАГ HER2\_P, NIVEP1-1S, NISCH-1A, UGT2B17/A2 и WDR27-1L иммуногенность показана *in vitro*. Все МАГ, кроме UGT2B17/A2, образованы нсОНП. МАГ UGT2B17/A2 появляется в результате делеции локуса, содержащего ген *UGT2B17*. Если у донора отсутствует, а у пациента присутствует локус с МАГ UGT2B17/A2, то возникает иммуногенная комбинация. Для МАГ HA-1, HA-2 и HA-8 показано, что их альтернативный пептид не может представляться в HLA-A\*02:01 из-за слабого связывания

с молекулой HLA или нарушенного транспорта пептида в эндоплазматическом ретикулуме [17–19]. Для МАГ LB-CLYBL-1Y, LB-SSR1-1S, NDC80-1P и LB-NISCH-1A с помощью масс-спектрометрии показано присутствие обеих аллельных форм пептида в составе HLA-A\*02:01 на поверхности клетки [20, 21].

Минорные антигены HA-1, HA-2 стали первыми соматическими МАГ, открытыми через изучение мишеней иммунных реакций после алло-ТГСК группой, возглавляемой E. Goulmy. Такой метод назвали «прямой иммунологический подход». Ранее для изучения МНС и ассоциированных антигенов использовали различные гибриды мышей [5], что неприменимо для людей. Для того чтобы обойти это ограничение, E. Goulmy и соавт. использовали Т-клетки, полученные от родственных здоровых членов нескольких семей. В 1976 г. через серию реакций цитотоксичности Т-клеток они описали некие антигены, связанные с локусом HLA [22]. Чуть позже, применив разработанный метод, названный «обусловленный клетками лизис» (ОКЛ), удалось установить, что отторжение трансплантата, полученного от HLA-совместимого сиблинга мужского



Один из механизмов возникновения иммунного ответа на собственные белки при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) (адаптировано из [23] с разрешения авторов). Аллели А и В одного гена кодируют 2 формы белка, после протеолиза только пептид из 1 белка представляется на поверхности и в контексте аллогенной ТГСК вызывает иммунный ответ. МАГ – минорный антиген гистосовместимости One of the immune response variants to self-proteins during allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (HSCT) (adapted from [23] with permission of the authors). Alleles A and B of the same gene encode two forms of the protein. After proteolysis, only a peptide from one protein was presented on the surface and causes an immune response in the context of allogeneic HSCT. MiHA – minor histocompatibility antigen

Минорные антигены гистосовместимости, представляемые в контексте HLA-A\*02:01 [24]

Minor histocompatibility antigens presented in the context of HLA-A\*02:01 [24]

МАГ MiHA	Ген Gene	Хромосома, содержащая представленный ген Chromosome containing the presented gene	Нуклеотидный полиморфизм Nucleotide polymorphism	Аминокис- лотная замена Amino acid substitution	ВИН PIM	Номер Number	Источ- ник Reference
HER-2_P	<i>ERBB2</i>	17	C/G	P/A	0,247	rs1058808	[25]
HA-1/A2	<i>ARHGAP45</i>	19	G/A	R/H	0,246	rs1801284	[18]
HA-2	<i>MYO1G</i>	7	C/T	V/M	0,050	rs61739531	[26]
UTA2-1	<i>RESF1</i>	12	T/C	L/P	0,234	rs2166807	[27]
LB-ADIR-1F	<i>TOR3A</i>	1	T/C	F/S	0,250	rs2296377	[28]
LB-CLYBL-1Y	<i>CLYBL</i>	13	G/T	D/Y	0,056	rs17577293	[29]
C19ORF48	<i>C19ORF48</i>	19	T/A	T/S	0,082	rs3745526	[30]
TRIM22	<i>TRIM22</i>	11	C/T	R/C	0,019	rs187416296	[31]
LB-PRCP-1D	<i>PRCP</i>	11	T/G	E/D	0,226	rs2229437	[31]
LB-SSR1-1S	<i>SSR1</i>	6	A/G	L/S	0,246	rs10004	[31]
LB-WNK1-1I	<i>WNK1</i>	12	G/T	M/I	0,237	rs12828016	[32]
T4A1	<i>TRIM42</i>	3	C/A	A/E	0,202	rs9876490	[33]
HA-8	<i>PUM3</i>	9	C/G	R/P	0,206	rs2173904	[17]
LB-HIVEP1-1S	<i>HIVEP1</i>	6	A/G	N/S	0,175	rs2228220	[34]
LB-NISCH-1A(V)	<i>NISCH</i>	3	C/T	A/V	0,220	rs887515	[34]
UGT2B17/A2	<i>UGT2B17</i>	4			0,123	esv3600873	[35]
LB-CCL4-1T	<i>CCL4</i>	17	T/A	S/T	0,246	rs1719152	[36]
LB-NCAPD3-1Q	<i>NCAPD3</i>	11	C/T	R/Q	0,130	rs12292394	[36]
LB-NDC80-1P(A)	<i>NDC80</i>	18	G/C	A/P	0,241	rs9051	[36]
WDR27-1L	<i>WDR27</i>	6	A/G	L/P	0,205	rs4236176	[21]

**Примечание.** МАГ – минорный антиген гистосовместимости; ВИН – вероятность иммуногенного несоответствия по МАГ для неродственного донора; «номер» – идентификационный номер полиморфизма согласно базам данных dbSNP [37] и Ensembl [38]. Иммуногенный аллель и соответствующие нуклеотид и аминокислота выделены жирным шрифтом, первым идет референсный аллель согласно базе данных Ensembl (версия генома – GRCh38).

**Note.** MiHA – minor histocompatibility antigen; PIM – the probability of immunogenic mismatch by MiHA for an unrelated donor; “number” – the polymorphism identification number according to the dbSNP [37] and Ensembl [38] databases. The immunogenic allele and the corresponding nucleotide and amino acid are in bold; the first is the reference allele according to the Ensembl database (genome version – GRCh38).

пола, у пациента женского пола связано с HLA-A\*02 зависимым антигеном. Таким образом был описан первый человеческий МАГ – H-Y, который сцеплен с Y-хромосомой [39, 40]. Примерно в то же время в другой статье были описаны «малые трансплантационные антигены» (minor transplantation antigen), выявленные с помощью метода ОКЛ с клетками, родственного донора и пациента с острым миелоидным лейкозом, у которого развилась тяжелая РТПХ после алло-ТГСК [41]. Так было положено начало систематической работе по поиску МАГ человека. В то время в работах

E. Goulmy и соавт. МАГ фигурировали как «варианты HLA-A\*02», потому что полного понимания молекулярной природы HLA еще не было [42].

Получить Т-клетки, способные отличать аутосомные МАГ, стало возможно при изучении пациента с острым миелоидным лейкозом, у которого после алло-ТГСК от HLA-совместимого сиблинга развилась тяжелая РТПХ [43]. Их можно использовать в методе ОКЛ для выявления на клетках-мишенях антигенов, приводящих к РТПХ. В ходе такого эксперимента была показана реактивность Т-клеток пациента после

алло-ТГСК против его лимфоцитов до трансплантации. Из-за того, что не были известны локусы, кодирующие аутосомные МАГ, и не была ясна роль HLA в реакции на МАГ (HLA-рестрикция), было сложно установить, происходит распознавание одного или нескольких МАГ. Накопление коллекции МАГ-специфичных цитотоксических Т-клеток от разных больных и скрупулезное выявление с помощью этих клеток МАГ в семьях пациентов позволили найти ряд соматических МАГ, связанных с HLA-A\*02 и наследуемых по менделевским законам [42]. Они получили общее название «НА» (от англ. histocompatibility antigen – антиген гистосовместимости). Создание клеточных диагностикумов требовало времени, аккуратности и в известной степени везения, ведь найти МАГ-специфичные Т-клетки можно было только после алло-ТГСК, при которой выполнялся ряд условий, на тот момент до конца не понятный. К 1988 г. удалось собрать 5 Т-клеточных клонов от 5 пациентов, выявляющих 5 МАГ от НА-1 до НА-5 [7, 44]. Для них показана связь с РТПХ после алло-ТГСК от HLA-совместимого донора [45].

С появлением необходимых технологий белкового секвенирования и геной инженерии удалось описать пептиды НА-1 и НА-2. Это произошло в 1995–1998 гг., спустя 2 десятилетия с первых наблюдений МАГ у человека [18, 26]. Специфичная для гемопоэтической ткани экспрессия этих 2 МАГ делает их интересными кандидатами для адоптивной иммунотерапии различных пролиферативных заболеваний крови [46, 47]. Другие МАГ из этой серии, как и новые НА-6 и НА-7, были описаны авторами как потенциально приводящие к РТПХ из-за экспрессии кодирующих их генов в различных тканях организма [46].

Следующий МАГ – НА-8 – был описан уже в другой лаборатории. Его название стало данью большой работе, проведенной E. Goulmy и соавт. К тому же к началу XXI века он действительно был лишь 8-м открытым МАГ человека. Как и ранее, его нашли при изучении клеточных реакций у пациента после алло-ТГСК от HLA-совместимого сиблинга [17]. Авторы пошли по тому же трудоемкому пути описания МАГ, как и для НА-1. После выделения цитотоксического Т-клеточного клона, специфичного к новому МАГ, с его помощью в тестах ОКЛ выбрали культуру клеток, несущую этот МАГ. В качестве таких клеток выступали иммортализованные с помощью вируса Эпштейна–Барр В-клетки (EBV-LCL), несущие HLA-A\*02:01. Для получения необходимого для последующего анализа количества пептида культуру растили до 1 млрд клеток или более. Далее с помощью мягкого лизиса и иммуноаффинной хроматографии выделили комплексы HLA-A\*02:01 с представляемыми пептидами. Пептиды отделяли и подвергали многостадийной очистке хроматографическими методами [48]. Фракцию, содержащую МАГ, уточняли с использованием пептидов из разных фракций в реакции ОКЛ. Полу-

ченные пептиды определяли в ходе масс-спектрометрии. Дополнительно для валидации полученного МАГ использовали синтетические пептиды. Сравнив пептид-кандидат с базой белков, установили белок и ген, из которых происходит МАГ. Затем связь гена с иммунным ответом на МАГ доказывали молекулярно-генетическими методами, а также проверяли, что полученный пептид действительно может связываться с молекулой HLA [49].

При изучении МАГ НА-8 был открыт новый механизм возникновения МАГ. Ранее считалось, что различие в аффинностях связывания с HLA между пептидами – это единственная причина, по которой МАГ, но не альтернативный пептид, представляется на поверхности клетки. В случае МАГ НА-8 показано, что презентация только одного из пептидов определяется его связыванием с TAP1 и TAP2 (transporter associated with antigen processing) – белками, ответственными за перенос пептидов из цитозоля в эндоплазматический ретикулум, где пептид помещается в HLA [50]. Альтернативный вариант МАГ НА-8 с пролином вместо аргинина связывается с комплексом TAP в несколько раз хуже, за счет чего он не представляется на поверхности клетки в комплексе с HLA-A\*02:01 [17].

Как уже было сказано, иммуногенность МАГ, кодируемого аутосомным геном *UGT2B17*, проявляется не из-за нсОНП, а из-за различия в экспрессии белка [51]. Гомозиготная делеция этого гена у донора приводит к отсутствию МАГ. Ген *UGT2B17* принадлежит к семейству гомологичных генов УДФ-гликозилтрансферазы 2. Гены семейства экспрессируются в печени, прямой кишке и антигенпрезентирующих клетках. Поиск этого МАГ начинался по упомянутому сценарию: был получен цитотоксический Т-клеточный клон от пациента, у которого после алло-ТГСК от HLA-совместимого донора развилась острая РТПХ кожи, печени и желудочно-кишечного тракта. После анализа лизиса различных клеточных линий стало понятно, что он реагирует на МАГ, представляемый в HLA-A\*29:02. Далее использовался прямолинейный, но трудоемкий метод поиска кодирующего МАГ гена. Из клеток, которые доказанно экспрессировали МАГ, была сделана библиотека комплементарных ДНК (кДНК). Затем проводили трансфекцию клеток обезьяны этими плазмидами, а также плазмидой, кодирующей HLA-A\*29:02. Сначала клетки трансфицировали наборами плазмид из примерно 50 кДНК. После культивации с МАГ-специфичными Т-клетками по уровню интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) в среде выделили наборы плазмид, кодирующих МАГ. Во 2-м раунде использовали отдельные плазмиды, что позволило обнаружить ген *UGT2B17*. В 3-м раунде с использованием плазмид с фрагментами этого гена был установлен участок гена и производный пептид, формирующий МАГ. Стоит отметить, что на длинном плече хромосомы 4 расположено 7 генов и 5 псевдогенов семейства *UGT2B*, но найденный МАГ уникален для гена *UGT2B17*. Гомологичные пептиды, полученные

с других генов семейства, не вызывали секреции ИФН- $\gamma$  специфичными Т-клетками.

Анализ с помощью полимеразной цепной реакции на ген *UGT2B17* и его нетранслируемые регионы показал, что МАГ появился не из-за однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), изменяющего белок или уровень экспрессии, а из-за гомозиготной делеции гена. Показанная авторами экспрессия *UGT2B17* на дендритных клетках, а также покоящихся и активированных В-клетках делает этот МАГ хорошей мишенью для иммунотерапии.

Позже с помощью базы данных проекта НарМар [52], собирающего и систематизирующего информацию о полиморфизмах и маркерах человеческого генома, другая группа ученых еще раз описала МАГ, происходящий из *UGT2B17* [35]. Это уже другой пептид, происходящий из этого гена. Несмотря на то что первоначально для второго МАГ *UGT2B17/A2* было показано, что он представляется в составе HLA-A\*02:06 [35], можно допустить, что он может представляться и в HLA-A\*02:01, так как у этих аллельных вариантов HLA похожи пептидные мотивы связывания [53]. Это предположение также подтверждается результатами предсказания связывания МАГ *UGT2B17/A2* с HLA с помощью алгоритма NetMHC 4.0 – МАГ имеет одинаковую предсказанную аффинность для обоих аллельных вариантов HLA [54]. Иммуногенность МАГ *UGT2B17/A2* также зависит от гомозиготной делеции локуса, содержащего *UGT2B17*. Уже позже, с накоплением данных секвенирования в проекте «1000 геномов», заменившим проект НарМар, было показано, что делеция локуса имеет размер 161 тыс. оснований и затрагивает гены *UGT2B17* и *UGT2B15* [55].

Еще одним МАГ, открытым с помощью прямого иммунологического подхода через поиск специфичных Т-клеток, стал LB-ADIR-1F. В работе использовали Т-клеточный клон, полученный от пациента с рецидивом множественной миеломы. После поиска EBV-LCL, несущих антиген, его определяли с помощью масс-спектрометрии, как описано ранее. Несмотря на то что этот МАГ экспрессировался во многих тканях организма, острая РТПХ у пациента протекала нетяжело. Экспрессия гена *ADIR*, кодирующего МАГ, зависит от активации клеток, и при определенных условиях этот МАГ, по мнению авторов, может использоваться для иммунотерапии [28].

Минорный антиген гистосовместимости, кодируемый геном *C19orf48* на длинном плече хромосомы 19, первоначально ассоциировали с метастатической почечно-клеточной карциномой [30]. После алло-ТГСК у 2 пациентов с этим заболеванием были обнаружены специфичные Т-клеточные клоны. Как и в случае с МАГ *UGT2B17*, клоны Т-клеток использовали для скрининга библиотеки кДНК, полученной из экспрессирующих МАГ клеток. МАГ *C19ORF48* представляется в HLA-A\*02:01 и образован нсОНП. Помимо карциномы пептид экспрессируется в других типах рака,

а его презентация на поверхности клетки может происходить по зависимому и независимому от ТАР путям.

При открытии МАГ TRIM22 использовали модель алло-ТГСК от HLA-совместимого донора для получения МАГ-специфичных Т-клеток из общей популяции CD8<sup>+</sup>-Т-клеток [31]. Т-клетки использовали для скрининга библиотек кДНК. Из-за нсОНП в белке, происходящем из одноименного гена *TRIM22 (STAF50)*, аргинин в позиции 442 меняется на цистеин, что приводит к образованию иммуногенного Т-клеточного эпитопа, представляемого в HLA-A\*02:01. Ген преимущественно экспрессируется в гемопоэтической ткани. Показано длительное присутствие МАГ-специфичных Т-клеток у пациентов. К сожалению, ожидаемая частота нсОНП, кодирующего МАГ, составляет 1,3 %.

Белок HER2 – классический опухоль-ассоциированный антиген; экспрессия кодирующего его гена *ERBB2* значительно возрастает во многих опухолях человека по сравнению с нормальной тканью [56]. Точечные мутации в этой рецепторной киназе, контролирующей деление, пролиферацию и дифференциацию клеток многих тканей, приводят к онкогенезу [57]. Этот белок является мишенью различных иммунотерапевтических подходов: противоопухолевой вакцинации, терапии с помощью CAR-Т-клеток (CAR – chimeric antigen receptor, химерный антигенный рецептор) или использования моноклональных антител [58–61]. Экспрессия HER2 – основной маркер при агрессивной форме рака молочной железы (до 30 % случаев этого рака) [57]. Повышенная экспрессия HER2 характерна также для рака желудка и пищевода [62]. Мутации же в гене *ERBB2* приводят к независимому от цитокинов росту клеток. Клетки, экспрессирующие этот рецептор, могут быть мишенью для ингибиторов HER2 и трастузумаба [63].

При лимфопролиферативных заболеваниях, включая острый лимфобластный лейкоз, экспрессия HER2 также часто повышена [25]. Группа авторов изучила вероятность формирования МАГ из гена *ERBB2* [25]. Сначала авторы подтвердили экспрессию этого гена при остром миелоидном лейкозе. Далее с помощью базы данных SNEP [64] они нашли пептид, в котором из-за полиморфизма с.1170A>G (rs1058808 согласно базе данных dbSNP [37]) происходит аминокислотная замена и который способен представляться в контексте HLA-A\*02:01. В работе удалось доказать специфичную, HLA-зависимую Т-клеточную цитотоксичность против МАГ HER2\_P, формируемого из HER2 и представляемого в HLA-A\*02:01 [25].

Открытие следующей группы МАГ опиралось на статистический анализ. Для начала работы исследователям понадобились полученные от больных с лейкозами МАГ-специфичные Т-клетки, с помощью которых был осуществлен выбор клеточных линий EBV-LCL, вызывающих их активацию. Для этих клеточных линий получена информация об 1 млн ОНП. В ходе полногеномного поиска ассоциаций (whole

genome association scanning, WGA) между аллелями ОНП и активацией Т-клеток нашли сразу 10 МАГ. Метод WGA – это статистический анализ корреляции состояния ОНП и активации Т-клеток. Среди значимо более часто встречаемых при активации Т-клеток ОНП отобрали несинонимические. Среди них выбрали те ОНП, которые кодируют пептид, связывающийся с HLA-A\*02:01. Из найденных МАГ 3 представляются в HLA-A\*02:01: LB-PRCP-1D, LB-SSR1-1S и LB-WNK1-1I. Для них показана способность вызывать направленный Т-клеточный иммунный ответ [32].

В качестве хорошего примера обратного иммунологического подхода, т.е. теоретического поиска МАГ с последующим изучением их иммуногенности можно привести открытие МАГ T4A1. Методами секвенирования следующего поколения авторы генотипировали 13917 нсОНП для 57 пар доноров и пациентов с миелоидным лейкозом. Затем они провели поиск корреляций полученных генотипов с клиническим исходом алло-ТГСК. Среди нсОНП со статистически значимой корреляцией выбирали те, которые способны кодировать пептид, представляемый в HLA соответствующего пациента. Поиск представляемых в HLA пептидов также сделан с помощью компьютерного анализа. Авторы выбрали МАГ T4A1 для дальнейшего исследования, потому что с иммуногенным несоответствием по данному МАГ связаны более высокие показатели общей и безрецидивной выживаемости и более низкая вероятность развития рецидива. К тому же для T4A1 показана высокая теоретическая вероятность иммуногенного несоответствия, а его экспрессия ограничена гемопоэтической тканью [33].

Развитие методов секвенирования и специальных методов компьютерного анализа позволило открыть еще один МАГ, представляемый в HLA-A\*02:01 – UTA2-1. Авторы разработали метод анализа корреляции зиготности с генотипом и сначала применили его для выявления первого МАГ, представляемого в МНС II класса и образованного из белка CD19 [65]. Метод стал развитием идей, заложенных E. Goulmy, при изучении наследования кодирующих МАГ локусов в семьях пациентов, перенесших алло-ТГСК, а также методологии, использованной при определении МАГ HA-8. Для поиска локуса, кодирующего МАГ, использовали коллекцию EBV-LCL от членов нескольких семей. Для всех клеток получены данные по множеству генетических маркеров: tandemных повторов и ОНП. Для фенотипирования коллекции клеток в этом методе использовался ранее полученный Т-клеточный клон от пациента с множественной миеломой [66]. Если искомым МАГ представлялся на клетке, то Т-клеточный клон при совместной культивации экспрессировал ИФН- $\gamma$ , что выявляли с помощью иммуноферментного анализа. Поиск корреляции фенотипа по МАГ с генетическими маркерами базы данных НарМар позволил обнаружить локус, содержащий ген, кодирующий МАГ: сначала с помощью tandemных повторов выяви-

ли крупный локус и хромосому [67]. Практичность поиска МАГ таким образом показана с помощью описанного ранее МАГ HA-8 [67].

Тем не менее разрешение картирования, полученное с помощью анализа связи tandemных повторов с фенотипом по МАГ, не всегда достаточно для определения гена, кодирующего МАГ. Для уточнения локуса до отдельных генов использовали данные по ОНП. Искомый ОНП, формирующий МАГ, влияет на аминокислотный состав или изменяет транскрипцию/трансляцию и находится в неравновесном сцеплении с ОНП, использованными для поиска гена. После описания с помощью того же метода МАГ CD19<sup>L</sup>, представляемого в HLA-DQA1\*05/B1\*02 [65], группа авторов описала МАГ UTA2-1, представляемый в HLA-A\*02:01 [27].

Несмотря на трудозатраты, возможность отбора МАГ с помощью МАГ-специфичных Т-клеточных клонов имеет свои преимущества. Из-за разной частоты полиморфизмов, кодирующих МАГ, ожидается различная встречаемость МАГ в культурах клеток-мишеней. Если МАГ-специфичный Т-клеточный клон выявляет фенотип МАГ в большом количестве образцов клеток-мишеней, значит, такой МАГ часто возникает в трансплантационных парах. Более того, часто клетки-мишени – это EBV-LCL, т.е. клетки кроветворной ткани. Если Т-клеточный клон реагирует на такие В-клетки и не реагирует на образцы других тканей организма, можно ожидать, что найденный МАГ будет специфичен для кроветворной системы и может участвовать в РТПЛ; также его можно использовать для направленной адоптивной терапии. Такой отбор избавляет от необходимости проверять отдельно множество возможных МАГ. Другими словами, практически всегда найденный через прямой иммунологический подход МАГ будет значим для исхода лечения у пациента. Т-клетки против таких МАГ связаны с исходом лечения пациента [15, 68].

Так стало и с описанным МАГ UTA2-1. Ген, кодирующий этот МАГ, экспрессируется на высоком уровне в гемопоэтических клетках и практически не экспрессируется в подверженных РТПХ тканях: печени, кишечнике и коже. Т-клетки, специфичные к МАГ UTA2-1, персистировали долгое время у пациента, от которого были первоначально получены. Экспансия этих Т-клеток совпала по времени с полной ремиссией после 2-й инфузии донорских лимфоцитов [27]. Позже С.А. van Bergen и соавт. показали, что кроме тканеспецифичности в балансе между РТПХ и РТПЛ также важны величина и разнообразие иммунного ответа на МАГ [36].

Открытие МАГ LB-NIVEP1-1S и LB-NISCH-1A(V) стало возможно благодаря сочетанию обратного иммунологического подхода и анализа пептидомов HLA, полученных от EBV-LCL. Найденные с помощью масс-спектрометрии пептиды проверялись с помощью специальной базы данных для поиска полиморфных

пептидов, которые могут выступать в роли МАГ. Авторам удалось найти 40 возможных МАГ, из которых были выбраны МАГ LB-NIVEP1-1S и LB-NISCH-1A(V) как самые перспективные. Для специфичных к этим МАГ Т-клеток показали МАГ-зависимую активацию [34].

Той же группой авторов по аналогии был найден МАГ LB-CLYBL-1Y: сначала из полученного пептидома выбрали потенциальные МАГ, затем с помощью высокопроизводительного биоинформатического скрининга по специальной базе полиморфных пептидов выбрали самые многообещающие МАГ [29]. Другая группа авторов нашла через обратный иммунологический подход более 6 тыс. потенциальных МАГ. К сожалению, из-за низкой частоты кодирующих МАГ полиморфизмов большую часть этих МАГ пришлось отсеять. В ходе работы «переоткрыли» несколько известных МАГ, а для проверки метода авторы использовали найденный новый МАГ WDR27-1L, представляемый в HLA-A\*02:01. Для него показаны направленный клеточный лизис и активация Т-клеток [21].

Последняя группа МАГ тоже была открыта с использованием прямого иммунологического подхода

с добавлением современных методов массового параллельного секвенирования Т-клеточных рецепторов и биоинформатического анализа. МАГ LB-CCCL4-1T, LB-NCAPD3-1Q и LB-NDC80-1P(A) были найдены при изучении мишеней иммунного ответа, обусловленного аллогенными CD8<sup>+</sup>-Т-клетками, у 11 пациентов, у которых была достигнута ремиссия заболевания на фоне трансфузии лимфоцитов донора [36].

### Заключение

Минорные антигены гистосовместимости, обусловленные генетическими различиями, которые не учитываются при подборе донора, играют заметную роль при алло-ТГСК. МАГ выступают как мишени для РТПХ, но также они могут играть роль антигенов, ассоциированных с опухолью. Уничтожение злокачественного клона за счет распознавания несоответствий по МАГ Т-лимфоцитами донора является важным фактором, снижающим вероятность рецидива. Исследование молекулярно-генетических причин появления МАГ имеет большое значение для понимания молекулярных основ патогенеза онкогематологических заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Dausset J. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematol* 1958;20(1-4): 156-66. DOI: 10.1159/000205478
- Ефимов Г.А., Вдовин А.С., Григорьев А.А. и др. Иммунология острой реакции «трансплантат против хозяина». *Медицинская иммунология* 2015;17(6):499-516. DOI: 10.15789/1563-0625-2015-6-499-516  
Efimov G.A., Vdovin A.S., Grigoryev A.A. et al. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology* 2016;17(6):499-516. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-2015-6-499-516
- Röttschke O., Falk K., Wallny H. et al. Characterization of naturally occurring minor histocompatibility peptides including H-4 and H-Y. *Science* 1990;249(4966):283-7. DOI: 10.1126/science.1695760
- Townsend A.R.M., Rothbard J., Gotch F.M. et al. The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes can be defined with short synthetic peptides. *Cell* 1986;44(6): 959-68. DOI: 10.1016/0092-8674(86)90019-x
- Snell G. Methods for the study of histocompatibility genes. *J Genet* 1948;49(2):87-108. DOI: 10.1007/BF02986826
- Counce S., Smith P., Barth R., Snell G.D. Strong and weak histocompatibility gene differences in mice and their role in the rejection of homografts of tumors and skin. *Ann Surg* 1956;144(2):198-204. DOI: 10.1097/0000658-195608000-00009
- Goulmy E. Minor histocompatibility antigens in man and their role in transplantation. *Transplant Rev* 1988;2:29-53. DOI: 10.1016/s0955-470x(88)80005-3
- Bjorkman P., Saper M., Samraoui B. et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987;329(6139):506-12. DOI: 10.1038/329506a0
- Bjorkman P., Saper M., Samraoui B. et al. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* 1987;329(6139):512-8. DOI: 10.1038/329512a0
- Bassani-Sternberg M., Chong C., Guillaume P. et al. Deciphering HLA-I motifs across HLA peptidomes improves neo-antigen predictions and identifies allosteric regulating HLA specificity. *PLoS Comput Biol* 2017;13(8):e1005725. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005725
- González-Galarza F.F., Takeshita L., Santos E. et al. Allele frequency net 2015 update: new features for HLA epitopes, KIR and disease and HLA adverse drug reaction associations. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D784-8. DOI: 10.1093/nar/gku1166
- Griffioen M., van Bergen C.A.M., Falkenburg J.H.F. Autosomal minor histocompatibility antigens: how genetic variants create diversity in immune targets. *Front Immunol* 2016;7:100. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00100
- Oostvogels R., Kneppers E., Minnema M. et al. Efficacy of host-dendritic cell vaccinations with or without minor histocompatibility antigen loading, combined with donor lymphocyte infusion in multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplant* 2016;52(2):228-37. DOI: 10.1038/bmt.2016.250
- Meij P., Jedema I., van der Hoorn M. et al. Generation and administration of HA-1-specific T-cell lines for the treatment of patients with relapsed leukemia after allogeneic stem cell transplantation: a pilot study. *Haematologica* 2012;97(8):1205-8. DOI: 10.3324/haematol.2011.053371
- De Rijke B., van Horssen-Zoetbrood A., Beekman J.M. et al. A frameshift polymorphism in P2X5 elicits an allogeneic cytotoxic T lymphocyte response associated with remission of chronic myeloid leukemia. *J Clin Invest* 2005;115(12):3506-16. DOI: 10.1172/jci24832
- Spierings E., Brickner A.G., Caldwell J.A. et al. The minor histocompatibility antigen HA-3 arises from differential proteasome-mediated cleavage of the lymphoid blast crisis (Lbc) oncoprotein. *Blood* 2003;102(2):621-9. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0260
- Brickner A.G., Warren E.H., Caldwell J.A. et al. The immunogenicity of a new human minor histocompatibility antigen results from differential antigen processing. *J Exp Medicine* 2001;193(2):195-206. DOI: 10.1084/jem.193.2.195
- Den Haan J.M.M., Meadows L.M., Wang W. et al. The minor histocompatibility antigen HA-1: a diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science* 1998;279(5353):1054-7. DOI: 10.1126/science.279.5353.1054

19. Pierce R.A., Field E.D., Mutis T. et al. The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein. *J Immunol* 2001;167(6): 3223–30. DOI: 10.4049/jimmunol.167.6.3223
20. Bijen H.M., Hassan C., Kester M.G.D. et al. Specific T cell responses against minor histocompatibility antigens cannot generally be explained by absence of their allelic counterparts on the cell surface. *Proteomics* 2017;18(12):1700250. DOI: 10.1002/pmic.201700250
21. Granados D., Rodenbrock A., Laverdure J.P. et al. Proteogenomic-based discovery of minor histocompatibility antigens with suitable features for immunotherapy of hematologic cancers. *Leukemia* 2016;30(6):1344–54. DOI: 10.1038/leu.2016.22
22. Goulmy E., Termijtelen A., Bradley B.A. et al. HLA restriction of non-HLA-A, -B, -C and -D cell mediated lympholysis (CML). *Tissue Antigens* 1976;8(5):317–26. DOI: 10.1111/j.1399-0039.1976.tb00583.x
23. Пилунов А.М., Романюк Д.С., Ефимов Г.А., Савченко В.Г. Минорные антигены гистосовместимости как мишени Т-клеточной иммунотерапии. *Гематология и трансфузиология* 2021;66(3):322–45. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-3-322-345
24. Романюк Д.С., Хмелевская А.А., Постовская А.М. и др. Клинически значимые минорные антигены гистосовместимости для российских пациентов, получающих трансплантацию стволовых клеток крови. *Медицинская иммунология* 2019;21(5):847–60. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-847-860
25. Romanuk D.S., Khmelevskaya A.A., Postovskaya A.M. et al. Clinically relevant minor histocompatibility antigens for russian patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology* 2019;21(5):847–60. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-847-860
26. Wenandy L., Kollgaard T., Letsch A. et al. The 1170 A–P single-nucleotide polymorphism (SNP) in the Her-2/neu protein (HER2) as a minor histocompatibility antigen (mHag). *Leukemia* 2009;23(10):1926–9. DOI: 10.1038/leu.2009.112
27. Den Haan J.M., Sherman N.E., Blokland E. et al. Identification of a graft *versus* host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science* 1995;268(5216):1476–80. DOI: 10.1126/science.7539551
28. Oostvogels R., Minnema M.C., van Elk M. et al. Towards effective and safe immunotherapy after allogeneic stem cell transplantation: identification of hematopoietic-specific minor histocompatibility antigen UTA2-1. *Leukemia* 2013;27(3):642–9. DOI: 10.1038/leu.2012.277
29. Van Bergen C.A.M., Kester M.G.D., Jedema I. et al. Multiple myeloma-reactive T cells recognize an activation-induced minor histocompatibility antigen encoded by the ATP-dependent interferon-responsive (*ADIR*) gene. *Blood* 2007;109(9):4089–96. DOI: 10.1182/blood-2006-08-043935
30. Hombrink P., Hassan C., Kester M.G. et al. Identification of biological relevant minor histocompatibility antigens within the B-lymphocyte-derived HLA-ligandome using a reverse immunology approach. *Clin Cancer Res* 2015;21(9):2177–86. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2188
31. Tykodi S.S., Fujii N., Vigneron N. et al. C19orf48 encodes a minor histocompatibility antigen recognized by CD8+ cytotoxic T cells from renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2008;14(16):5260–9. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-08-0028
32. Wölfel C., Lennerz V., Lindemann E. et al. Dissection and molecular analysis of alloreactive CD8+ T cell responses in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Immunol Immunother* 2007;57(6):849–57. DOI: 10.1007/s00262-007-0421-1
33. Van Bergen C.A.M., Rutten C.E., van der Meijden E.D. et al. High-throughput characterization of 10 new minor histocompatibility antigens by whole genome association scanning. *Cancer Res* 2010;70(22):9073–83. DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-1832
34. Armistead P.M., Liang S., Li H. et al. Common minor histocompatibility antigen discovery based upon patient clinical outcomes and genomic data. *PLoS One* 2010;6(8):e23217. DOI: 10.1371/journal.pone.0023217
35. Hombrink P., Hassan C., Kester M.G.D. et al. Discovery of T cell epitopes implementing HLA-peptidomics into a reverse immunology approach. *J Immunol* 2013;190(8):3869–77. DOI: 10.4049/jimmunol.1202351
36. Kamei M., Nannya Y., Torikai H. et al. HapMap scanning of novel human minor histocompatibility antigens. *Blood* 2009;113(21):5041–8. DOI: 10.1182/blood-2008-07-171678
37. Van Bergen C.A., van Luxemburg-Heijs S.A., de Wreede L.C. et al. Selective graft-*versus*-leukemia depends on magnitude and diversity of the alloreactive T cell response. *J Clin Invest* 2017;127(2):517–29. DOI: 10.1172/JCI86175
38. Sherry S.T., Ward M.H., Kholodov M. et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001;29(1):308–11. DOI: 10.1093/nar/29.1.308
39. Cunningham F., Allen J.E., Allen J. et al. Ensembl 2022. *Nucleic Acids Res* 2021;50(D1):D988–95. DOI: 10.1093/nar/gkab1049
40. Goulmy E., van Leeuwen A., Blokland E. et al. Major histocompatibility complex-restricted H–Y-specific antibodies and cytotoxic T lymphocytes may recognize different self determinants. *J Exp Medicine* 1982;155(5):1567–72. DOI: 10.1084/jem.155.5.1567
41. Goulmy E., Termijtelen A., Bradley B.A., van Rood J.J. Y-antigen killing by T cells of women is restricted by HLA. *Nature* 1977;266(5602):544–5. DOI: 10.1038/266544a0
42. Goulmy E., Gratama J.W., Blokland E. et al. A minor transplantation antigen detected by MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes during graft-*versus*-host disease. *Nature* 1983;302(5904):159–61. DOI: 10.1038/302159a0
43. Goulmy E., van der Poel J., Giphart M., van Rood J.J. Analysis of the functional epitopes on different HLA-A2 molecules. *Immunogenetics* 1984;20(1):13–21. DOI: 10.1007/bf00373443
44. Goulmy E., Gratama J.W., Blokland E. et al. Recognition of an – as yet unknown – minor transplantation antigen by post-transplantation lymphocytes from an AML patient. *Exp Hematol* 1982.
45. Van Els C.A., D’Amaro J., Pool J. et al. Immunogenetics of human minor histocompatibility antigens: their polymorphism and immunodominance. *Immunogenetics* 1992;35(3):161–5. DOI: 10.1007/bf00185109
46. Goulmy E., Schipper R., Pool J. et al. Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-*versus*-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1996;334(5):281–5. DOI: 10.1056/nejm199602013340501
47. De Bueger M., Bakker A., Rood J.J.V. et al. Tissue distribution of human minor histocompatibility antigens. Ubiquitous *versus* restricted tissue distribution indicates heterogeneity among human cytotoxic T lymphocyte-defined non-MHC antigens. *J Immunol* 1992;149(5):1788–94.
48. Mutis T., Goulmy E. Hematopoietic system-specific antigens as targets for cellular immunotherapy of hematological malignancies. *Semin Hematol* 2002;39(1):23–31. DOI: 10.1053/shem.2002.29248
49. Meadows L., Wang W., den Haan J.M. et al. The HLA-A\*02:01-restricted H–Y antigen contains a posttranslationally modified cysteine that significantly affects T cell recognition. *Immunity* 1997;6(3):273–81. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80330-1
50. Chen Y., Sidney J., Southwood S. et al. Naturally processed peptides longer than nine amino acid residues bind to the class I MHC molecule HLA-A2.1 with high affinity and in different conformations. *J Immunol* 1994;152(6):2874–81.
51. Suh W.K., Cohen-Doyle M.F., Fruh K. et al. Interaction of MHC class I molecules with the transporter associated with antigen processing. *Science* 1994;264(5163):1322–6. DOI: 10.1126/science.8191286
52. 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;197(10):1279–89. DOI: 10.1084/jem.20030044

52. Consortium I.H., Frazer K.A., Ballinger D.G. et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007;449(7164):851–61. DOI: 10.1038/nature06258
53. Sudo T., Kamikawaji N., Kimura A. et al. Differences in MHC class I self peptide repertoires among HLA-A2 subtypes. *J Immunol* 1995;155(10):4749–56.
54. Andreatta M., Nielsen M. Gapped sequence alignment using artificial neural networks: application to the MHC class I system. *Bioinformatics* 2016;32(4):511–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv639
55. Sudmant P.H., Rausch T., Gardner E.J. et al. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature* 2015;526(7571):75–81. DOI: 10.1038/nature15394
56. Rongcun Y., Salazar-Onfray F., Charo J. et al. Identification of new HER2/neu-derived peptide epitopes that can elicit specific CTL against autologous and allogeneic carcinomas and melanomas. *J Immunol* 1999;163(2):1037–44.
57. Olayioye M.A., Neve R.M., Lane H.A., Hynes N.E. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000;19(13):3159–67. DOI: 10.1093/emboj/19.13.3159
58. Ayoub N.M., Al-Shami K.M., Yaghan R.J. Immunotherapy for HER2-positive breast cancer: recent advances and combination therapeutic approaches. *Breast Cancer* (Dove Medical Press) 2019;11:53–69. DOI: 10.2147/bctt.s175360
59. Tobias J., Garner-Spitzer E., Drinić M. et al. Vaccination against Her-2/neu, with focus on peptide-based vaccines. *Esmo Open* 2022;7(1):100361. DOI: 10.1016/j.esmoop.2021.100361
60. Szöör Á., Tóth G., Zsebik B. et al. Trastuzumab derived HER2-specific CARs for the treatment of trastuzumab-resistant breast cancer: CAR T cells penetrate and eradicate tumors that are not accessible to antibodies. *Cancer Lett* 2020;484:1–8. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.04.008
61. Xu J., Meng Q., Sun H. et al. HER2-specific chimeric antigen receptor-T cells for targeted therapy of metastatic colorectal cancer. *Cell Death Dis* 2021;12(12):1109. DOI: 10.1038/s41419-021-04100-0
62. Abrahao-Machado L.F., Scapulatempo-Neto C. HER2 testing in gastric cancer: An update. *World J Gastroenterol* 2016;22(19):4619–25. DOI: 10.3748/wjg.v22.i19.4619
63. Joshi S.K., Keck J.M., Eide C.A. et al. ERBB2/HER2 mutations are transforming and therapeutically targetable in leukemia. *Leukemia* 2020;34(10):2798–804. DOI: 10.1038/s41375-020-0844-7
64. Schuler M.M., Dönnies P., Nastke M.D. et al. SNEP: SNP-derived Epitope Prediction program for minor H antigens. *Immunogenetics* 2005;57(11):816–20. DOI: 10.1007/s00251-005-0054-5
65. Spaapen R.M., Lokhorst H.M., van den Oudenalder K. et al. Toward targeting B cell cancers with CD4+ CTLs: identification of a CD19-encoded minor histocompatibility antigen using a novel genome-wide analysis. *J Exp Med* 2008;205(12):2863–72. DOI: 10.1084/jem.20080713
66. Holloway P.A., Kaldenhoven N., Kok-Schoemaker H.M. et al. A class II-restricted cytotoxic T-cell clone recognizes a human minor histocompatibility antigen with a restricted tissue distribution. *Br J Haematol* 2004;128(1):73–81. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05283.x
67. Warren E.H., Otterud B.E., Linterman R.W. et al. Feasibility of using genetic linkage analysis to identify the genes encoding T cell-defined minor histocompatibility antigens. *Tissue Antigens* 2002;59(4):293–303. DOI: 10.1034/j.1399-0039.2002.590407.x
68. Marijt W.A.E., Heemskerck M.H.M., Kloosterboer F.M. et al. 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;100:2742–7. DOI: 10.1073/pnas.0530192100

**Вклад авторов**

Д.С. Романюк, А.М. Пилунов: написание текста статьи, обзор публикаций по теме статьи;  
 Г.А. Ефимов, Е.Н. Паровичникова: написание текста статьи;  
 А.В. Боголюбова: написание текста статьи, финальное редактирование статьи.

**Authors' contributions**

D.S. Romanyuk, A.M. Pilunov: article writing, review of publications on the article topic;  
 G.A. Efimov, E.N. Parovichnikova: article writing;  
 A.V. Bogolyubova: article writing, article final editing.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

Д.С. Романюк / D.S. Romanyuk: <https://orcid.org/0000-0002-9423-1269>  
 А.М. Пилунов / A.M. Pilunov: <https://orcid.org/0000-0001-5917-7554>  
 Г.А. Ефимов / G.A. Efimov: <https://orcid.org/0000-0001-7129-6062>  
 А.В. Боголюбова / A.V. Bogolyubova: <https://orcid.org/0000-0002-8664-6341>  
 Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Государственного задания Минздрава России.

**Funding.** The work was supported by the State Foundation of the Ministry of Health of Russia.

**Статья поступила:** 19.05.2023. **Принята к публикации:** 21.06.2023.

**Article submitted:** 19.05.2023. **Accepted for publication:** 21.06.2023.