



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원 저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리와 책임은 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



의학박사 학위논문

뇌사공여자의 HLA-DQ 예측과
임상적 유용성에 관한 연구

A study on prediction of HLA-DQ in cadaver donors
and it's clinical significance

울산대학교대학원
의학과
김수경

뇌사공여자의 HLA-DQ 예측과
임상적 유용성에 관한 연구

지도교수 오 흥 범

이 논문을 의학박사 학위 논문으로 제출함

2019년 7월

울산대학교대학원
의학과
김수경

김수경의 의학박사학위 논문을 인준함

심사위원	황상현 (인)
심사위원	오흥범 (인)
심사위원	성홍섭 (인)
심사위원	신 성 (인)
심사위원	고선영 (인)

울산대학교대학원

2019년 7월

국문요약

배경: 인간주조적 합성항원(human leukocyte antigen, HLA)에 대한 공여자 특이 항체(donor-specific HLA antibody, DSA)는 장기 이식의 결림돌로 항체매개성 거부반응(antibody-mediated rejection, ABMR)을 유발하여 이식편 손상에 관여한다. 신장이식에서 HLA-A, -B, -DR의 중요성은 과거부터 많은 연구가 이루어져 왔으며, 현재 한국 질병관리본부 규정 상 뇌사자 신장이식 시 기증자와 수혜자의 HLA-A, -B, -DR 검사를 필수적으로 시행하도록 하고 있다. 이에 비해 HLA-DQ는 분자유전학적인 방법으로 HLA 형별검사가 이루어지고 HLA 단일항원동정검사(single antigen bead panel reactive antibody, SAB PRA)가 발달하게 되면서 정확한 검출이 가능해져 다른 HLA 형별에 비해 그 중요성이 뒤늦게 알려지게 되었다. 최근 DQ DSA가 이식 후 검출되는 가장 흔한 DSA이며 DQ DSA가 있는 경우 ABMR과 이식편 소실이 유의하게 증가함이 밝혀지면서 미국과 유럽의 장기이식시스템에서는 뇌사자 기증 신장이식 시 기증자의 HLA-DQ 형별 검사를 필수적으로 시행하고 있다. 한국에서는 뇌사 기증자의 HLA-DQ 검사가 필수적으로 이루어지지 않아 이식 후 수혜자에게 DQ 항체가 발생하더라도 그것이 DSA인지 판별하기 어려운 실정이다. HLA 유전자는 강한 연관불균형(linkage disequilibrium, LD)을 지니기 때문에 민족마다 특징적인 일배체형을 보인다. 이 연구에서는 이러한 HLA 유전자의 특징을 이용하여 HLA-A, -B, -DR 정보를 이용하여 HLA-DQ를 예측하고, 이를 PRA에 적용하여 DSA를 분석하였다. 그리고, 이 때 예측된 DQ(predicted DQ, pDQ) DSA가 임상적으로 어떤 의미가 있는지 살펴보았다.

방법: LD 알고리즘과 인공신경망을 이용하여 HLA-DQ 예측 프로그램을 개발하였다. 저해상도 HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ 형별을 알고 있는 5,603명의 한국인을 대상으로 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도 분석이 이루어졌으며, 이를 토대로 LD 알고리즘을 구축하였다. 또한 해당 자료를 이용하여 DQ 예측 인공신경망 트레이닝이 이루어졌다. HLA-DQ 예측 프로그램의 정확도는 2018년 10월 29일부터 2019년 4월 29일까지 HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ 검사를 시행한 403명의 한국인을 대상으로 평가했다. 환자의 실제 DQ와 LD 알고리즘 및 인공신경망을 이용하여 예측한 pDQ의 일치율을 분석하였다. PRA 검사 상 동정된 DQ DSA의 정확도를 평가하기 위해 환자와 기증자의 HLA-A, -B, -DR, -DQ를 알고 있는 신장이식 환자 885명의 PRA 검사 1,970개를 대상으로

DSA를 분석하였다. 환자와 기증자의 실제 DQ 형별을 이용하였을 때의 DQ DSA 검출 여부와 환자와 기증자의 DQ를 예측하여 재분석 하였을 때의 pDQ DSA의 검출 여부를 비교하였다. DQ DSA의 임상적 유용성을 평가하기 위해 뇌사자 기증 신장이식을 받은 319명의 환자를 대상으로 PRA 검사 결과와 임상상을 리뷰하였다. 환자들의 신장 조직검사, PRA 검사, 크레아티닌, 단백뇨 등의 검사 결과와 치료력을 종합하여 조직검사 상 ABMR이 확진된 군과 조직검사 상 ABMR이 배제된 군, 조직검사 상 ABMR 진단기준을 만족하지는 않지만 임상적으로 의심이 되어 ABMR에 대한 치료를 받은 군, 조직검사를 시행하지 않았지만 ABMR이 의심되어 이에 대한 치료를 받은 군, 임상적으로 ABMR이 의심되지 않으며 이에 대한 치료도 시행하지 않은 군으로 나누어 분석하였다. ABMR 치료는 혈장교환술, 정맥주사용 면역글로불린(intravenous immunoglobulin, IVIG), 리툭시맙(rituximab), 보르테조맙(bortezomib) 치료를 받은 경우로 한정하였다.

결과: HLA-DQ 예측 프로그램은 전체 유전자형을 대상으로 하였을 때 LD 알고리즘이 75.4%, 인공신경망이 75.7%의 정확도를 보였다. 대립유전자를 대상으로 하였을 때에는 LD 알고리즘이 87.1%, 인공신경망이 87.3%의 정확도를 보였다. 예측된 DQ를 이용하여 PRA 분석하고 DQ DSA의 정확도를 분석하였을 때, 일치율은 LD 알고리즘이 97.5%, 인공신경망이 96.6% 이었다. PRA 검사 상 DQ DSA나 pDQ DSA가 있는 환자군이 그렇지 않은 환자 군에 비해 ABMR 의심 하에 치료를 받을 확률이 유의하게 높았다 (OR 16.2, $P < 0.001$). 기증자의 HLA-DQ 검사를 시행하여 DQ DSA를 확인할 수 있었던 군과 HLA-DQ 검사를 시행하지 않아 pDQ DSA를 예측할 수 밖에 없었던 군 사이의 ABMR 치료 여부는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P = 0.152$). HLA-DQ를 모르는 뇌사자로부터 이식을 받은 뒤 PRA 검사 상 다른 DSA 동반 없이, DQ 항체가 단독으로 검출되는 사례는 5.4%에 달했다. pDQ DSA가 동정된 사례를 살펴보았을 때, DQ 항체가 높은 MFI로 검출되어도 DSA 분석이 되지 않아 ABMR 치료를 받지 못한 사례가 있었으며, DSA가 아닐 가능성성이 높은 DQ 항체에 대해 ABMR 치료를 시행한 사례 또한 있었다.

결론: 본 연구를 통해 개발한 DQ 예측 프로그램을 이용하면 기증자의 DQ 결과를 알지 못하는 이식 환자에서 DSA 여부를 파악하는데 유용하게 활용될 것이다. 특히 우리나라

라에서는 아직까지 뇌사자 기증자의 HLA-DQ를 검사하지 않고 있다. 따라서 de novo DQ DSA로 인한 ABMR이 의심되는 환자에서 본 연구의 예측 프로그램은 빠른 진단과 치료를 결정하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 본 연구에서 개발된 예측 프로그램의 일부 부정확성을 고려하면 국내에서도 뇌사 기증자의 HLA-DQ 형별 검사를 조속히 도입해야 할 것으로 사료된다.

중심 단어:

HLA, HLA-DQ, 기증자특이 항체, 연관불균형, 인공신경망

목차

국문요약.....	i
목차	iv
표 목차.....	vi
그림 목차.....	ix
서론	1
연구 대상 및 방법	4
1. 대상 환자	4
2. HLA 형별 검사.....	11
3. Single antigen bead PRA 검사.....	11
4. 연관불균형을 이용한 HLA-DQ 예측 프로그램 개발	12
5. 인공신경망을 이용한 HLA-DQ 예측 프로그램 개발	12
6. 예측된 HLA-DQ 를 이용한 PRA DSA 분석	18
7. DQ DSA 의 임상적인 의미 분석	18
8. 통계 분석	21
9. 임상연구 심의위원회	21
결과	22
1. 한국인의 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도	22
2. HLA-DQ 예측 프로그램의 정확도 분석	22
3. 이식 환자에서의 DQ DSA 정확도 분석	32
4. 뇌사자 기증 신장이식 환자의 이식 후 경과.....	43
5. 뇌사자 기증 신장이식 환자와 생체 기증 신장이식 환자의 비교	50
6. 뇌사자 기증 신장이식 환자에서 pDQ DSA 동정 사례 분석	52
고찰	56

결론	81
참고문헌	82
부록	87
Abstract	133

표 목차

본문	
Table 1. Comparison of baseline characteristics between each group	10
Table 2. Hyperparameter settings of artificial neural network learning.....	17
Table 3. Banff 2017 classification of ABMR [†]	20
Table 4. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Koreans	23
Table 5. Accuracy of HLA-DQ allele predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Koreans	25
Table 6. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency in Korean (interval).....	27
Table 7. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency in Korean (cumulative).....	28
Table 8. Results of predicted HLA-DQ by artificial neural network and linkage disequilibrium in 403 Koreans.....	31
Table 9. DQ DSA frequency after kidney transplantation, according to HLA-DR/DQ antigen mismatch number.....	33
Table 10. Contingency table of DQ DSA between PRA result using patient and donor's tested HLA-DQ and predicted HLA-DQ by linkage disequilibrium	35
Table 11. Contingency table of DQ DSA between PRA result using patient and donor's tested HLA-DQ and predicted HLA-DQ by artificial neural network	36
Table 12. False negative DQ DSA predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network	38
Table 13. Cases with false negative DQ DSA predicted by linkage disequilibrium.....	40
Table 14. Cases with false negative DQ DSA predicted by artificial neural network	41
Table 15. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients according to presence of DQ or predicted DQ DSA	44
Table 16. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients	

according to real DQ DSA or predicted DQ DSA	45
Table 17. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients with unknown donor HLA-DQ, according to predicted DQ donor specific antibody presence.....	47
Table 18. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients according to de novo DQ DSA	49
Table 19. Clinical presentation of patients who had kidney transplantation with DQ DSA.....	51
Table 20. Characteristics of patients who developed pDQ DSA without any other antibodies after kidney transplantation and confirmed as antibody-mediated rejection by kidney biopsy.....	53
Table 21. PRA and biopsy results of patients with predicted DQ DSA and non-DQ DSA less than MFI 3,000.....	54
Table 22. Kidney transplant recipients with HLA-DQ unknown donor, who developed post KT non-DSA DQ antibody with MFI over 5,000 without any other antibodies	55
Table 23. The three most common HLA-DR4 alleles in different racial groups ³⁶⁾	59
Table 24. Common HLA-DR4 alleles and it's DR-DQ linkage in different racial groups ³⁶⁾	60
Table 25. LD coefficient of patients with HLA-B-DR-DQ8 and HLA-B-DR-predicted DQ using same HLA-B-DR.....	63
Table 26. Cases with accurately predicted DQ by linkage disequilibrium and falsely predicted by artificial neural network	67
Table 27. Cases with accurately predicted DQ by artificial neural network and falsely predicted by linkage	69
Table 28. PRA test results of a patient with false negative PRA DQ DSA, using donor HLA-DQ prediction by linkage disequilibrium and artificial neural network.....	72
Table 29. HLA-DQ predicted by HLA-B-DR-DQ linkage disequilibrium in a donor with HLA-A30, A33, B13, B61, DR7, DR14, DQ2, DQ7.....	73

부록

Table I. Two-digit allele frequency of HLA-A, -B, -DR in Korean (2n=5,603)	87
Table II. Haplotype frequencies for A-B-DR and B-DR-DQ in Korean (2n=5,603) ..	88
Table III. HLA-A-B-DR-DQ haplotype frequency in Koran	100
Table IV. HLA-DQ incorrectly predicted by LD and correctly predicted by artificial neural network	113
Table V. HLA-DQ correctly predicted by LD and incorrectly predicted by artificial neural network	116
Table VI. HLA-DQ incorrectly predicted by LD and artificial neural network	119
Table VII. HLA-DQ predicted by linkage disequilibrium algorithm with incorrect first choice predicted DQ but correct second choice predicted DQ	125

그림 목차

Figure 1. Gene map of human leukocyte antigen (HLA) region. The HLA region spans from chromosome 6p21.1 to p21.3, and consist with class II, class III and class I. ⁹⁾ 3	3
Figure 2. Patient selection flowchart for developing, training and evaluation of HLA-DQ prediction program.	5
Figure 3. Patient selection flowchart for evaluation of DQ DSA accuracy.	7
Figure 4. Patient selection flowchart for evaluation of DQ DSA's clinical significance. .	9
Figure 5. Basic structure of neural network with one hidden layer.	13
Figure 6. Artificial neural network composed with two hidden layers.	15
Figure 7. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Korean population, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency.	29

서론

인간주조직적합성항원(human leukocyte antigen, HLA)은 매우 다형하고 면역성이 높다. 따라서 임신, 수혈, 장기이식 등과 같이 자신의 것과 다른 타인의 HLA 동종항원(alloantigen)에 노출되었을 때, 동종면역(alloimmunization)에 의해 HLA 항체가 생성될 가능성이 높다. 동종면역에 의해 생성된 항체를 동종항체(alloantibody)라고 한다. 환자의 HLA alloantibody 중 이식 공여자의 HLA에 특이적으로 반응하는 항체를 공여자 특이 HLA 항체(donor-specific HLA antibody, DSA)라고 하며, DSA는 공여자 장기에 대한 항체매개성 거부반응(antibody-mediated rejection, ABMR)의 유발 원인이 된다. 따라서, 이식 전 DSA 존재여부는 이식 가능 여부를 결정하는데 주요 기준이 되며, 이식 후 DSA는 ABMR의 조기 표지자로 활용된다.

이식을 결정하는데 있어 고려되는 조직적합성(compatibility)은 DSA의 존재 여부(acceptability)와 항원 일치 여부에 의해 결정된다. DSA가 고역가로 존재하면 이식을 바로 시행할 수 없으며 탈감작을 시행한 후에야 이식이 가능하다. 항원이 불일치하는 경우는 이식을 바로 시행하는데 장애가 되지 않지만 불일치 항원 개수가 많을수록 de novo DSA가 발생할 확률이 높아져 결국 이식편 소설의 위험을 높인다. 따라서 뇌사자 신장 배분 시 HLA 불일치를 고려하는데, 우리나라의 경우는 HLA-A, -B, -DR의 일치(match) 정도에 따라 총 4 점까지 점수를 달리하고 있다. HLA-DR이 일치하는 경우 더 높은 점수를 배점하는데, 이는 HLA-DR 일치 여부가 HLA-A, -B 일치보다 이식편 생존에 더 큰 영향을 미치기 때문이다.¹⁾

과거 혈청학적 검사법으로 HLA 형별검사를 시행할 당시에는, HLA-DR과 HLA-DQ가 강한 연관불균형(linkage disequilibrium, LD) 관계를 이루기 때문에 HLA-DR 형별이 적합하면 HLA-DQ는 적합성에 큰 문제가 없을 것으로 생각했었다.^{2,3)} 하지만, 최근 분자생물학적인 방법으로 HLA 형별검사가 이루어지면서 환자와 기증자의 HLA-DR이 일치하더라도 15~26%에서는 HLA-DQ가 불일치한다는 것이 밝혀졌다.^{4,5)} 이와 더불어 최근 10년 동안 단일항원동정 HLA 항체 검사(single antigen bead panel reactive antibody, SAB PRA)의 비약적인 발전으로 정확하고 민감하게 HLA 항체를 검출해낼 수 있게 되면서 이식 환자에서 DQ 항체의 임상적 의미에 대해 많은 연구가 이루어졌다. 이식 후 발생한(de novo) DQ DSA의 경우 거부반응과 상관성이 높다는 연구가 지속적으로 발표되고 있다.⁶⁻⁸⁾

이처럼 HLA-DQ 가 이식에 미치는 중요성이 알려지면서 유럽의 Eurotransplant 와 미국의 Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN)에서는 신장이식 전 뇌사 기증자의 HLA-DQ 형별 검사를 필수적으로 요구하고 있다. 이는 이식 후 de novo DQ DSA 를 빨리 검출하기 위한 조치이며, 뇌사자의 경우 이식이 끝난 뒤 추가적으로 검사를 진행하기 어렵기 때문에 검체를 확보할 수 있을 때 미리 여러 형별에 대해 검사를 시행하는 것이다. OPTN 은 뇌사 기증자의 HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQA1/DQB1, -DPB1 까지 검사를 시행하도록 규정하고 있다.

한국 질병관리본부 장기이식관리센터는 2019년 6월 현재 뇌사자 기증 신장이식 시 기증자와 수혜자의 HLA 형별 검사로 HLA-A, -B, -DR 형별만을 필수 검사로 규정하고 있다. 그런데, 한국의 장기이식관리 체계에서는 뇌사자의 추가 HLA 형별 검사를 위한 검체 보관에 관한 규정이 없어 이식 후 뇌사 기증자에 대한 HLA 형별 검사를 시행하기가 불가능하다. 이와 같은 상황에서는 이식 후 PRA 검사에서 DQ 항체가 검출되더라도 이것이 DSA 인지 알 수 없다. DSA 는 ABMR 진단기준에 포함되며, 조직검사를 시행할 수 없는 상황에서 치료 방향을 결정하는 데 중요한 역할을 한다.

인간 유전체는 연관불균형(linkage disequilibrium, LD)이 어느 정도 유지되는 구간인 LD 블록이 존재한다. HLA 유전자는 6 번 염색체의 단완에 3.6 Mb 가량에 걸쳐 분포하며 세가지 구역으로 나눌 수 있다. 첫번째와 두번째 구역은 항원 제시 기능을 하는 HLA class I 과 HLA class II 로 이루어져 있고, 세번째 구역은 첫번째와 두번째 구역의 사이에 존재하며 열충격단백질(heat shock protein), 종양괴사인자(tumor necrosis factor), 보체 등 면역 시스템에 관여하는 단백질을 코딩한다.⁹⁾ HLA 유전자들은 매우 가까이 분포하기 때문에 강하게 연관되어 유전되는 경향이 있다 (Figure 1). 따라서 한국인의 일배체형 빈도와 LD, HLA-A, -B, -DR 형별 정보를 이용하여 비교적 정확히 HLA-DQ 를 예측할 수 있다.

본 연구에서는 HLA-A, -B, -DR 정보를 이용하여 HLA-DQ 를 예측하는 프로그램을 개발하고, 이 프로그램으로 예측한 HLA-DQ 를 PRA 판독에 적용하여 DQ DSA 여부를 분석하였다. 그리고 예측한 DQ DSA 의 임상적 유용성을 알아보고자 하였다.

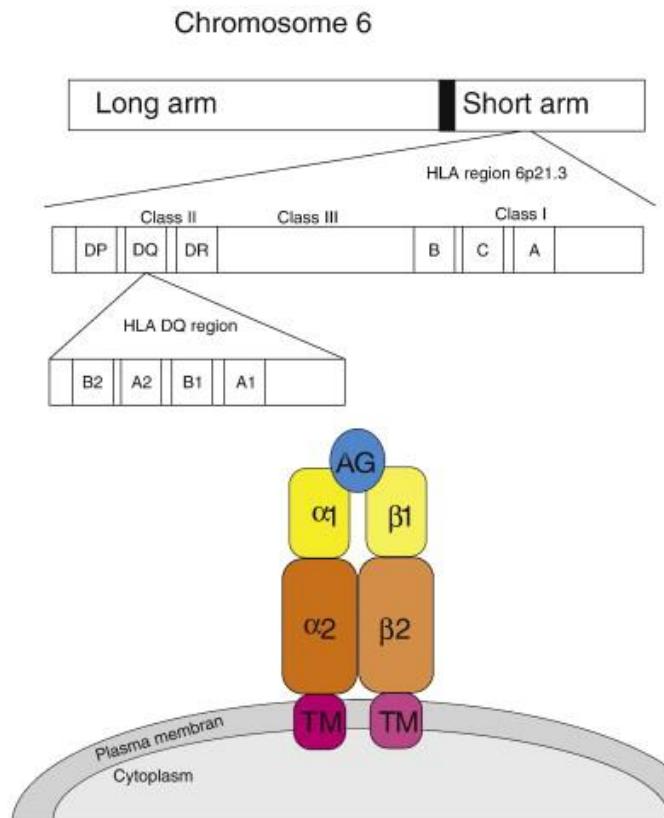


Figure 1. Gene map of human leukocyte antigen (HLA) region. The HLA region spans from chromosome 6p21.1 to p21.3, and consist with class II, class III and class I.⁹⁾

연구 대상 및 방법

1. 대상 환자

1) HLA-DQ 유전자형 예측 프로그램 개발 및 평가

서울아산병원 진단검사의학과에 2019년 4월 29일까지 HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ 저해상도 형별이 모두 등록된 한국인 환자는 총 6,006 명 이었다. 이 중 2018년 10월 29일까지 저해상도 형별이 모두 등록된 5,603 명의 한국인을 대상으로 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도 분석이 이루어졌으며, 이를 토대로 LD 알고리즘을 구축하였다 (Figure 2). 또한 해당 자료를 이용하여 DQ 예측 인공신경망을 트레이닝 시켰다. 2018년 10월 29일 이후 등록된 403 명의 한국인을 대상으로 HLA-DQ 예측 프로그램의 정확도를 평가하였다.

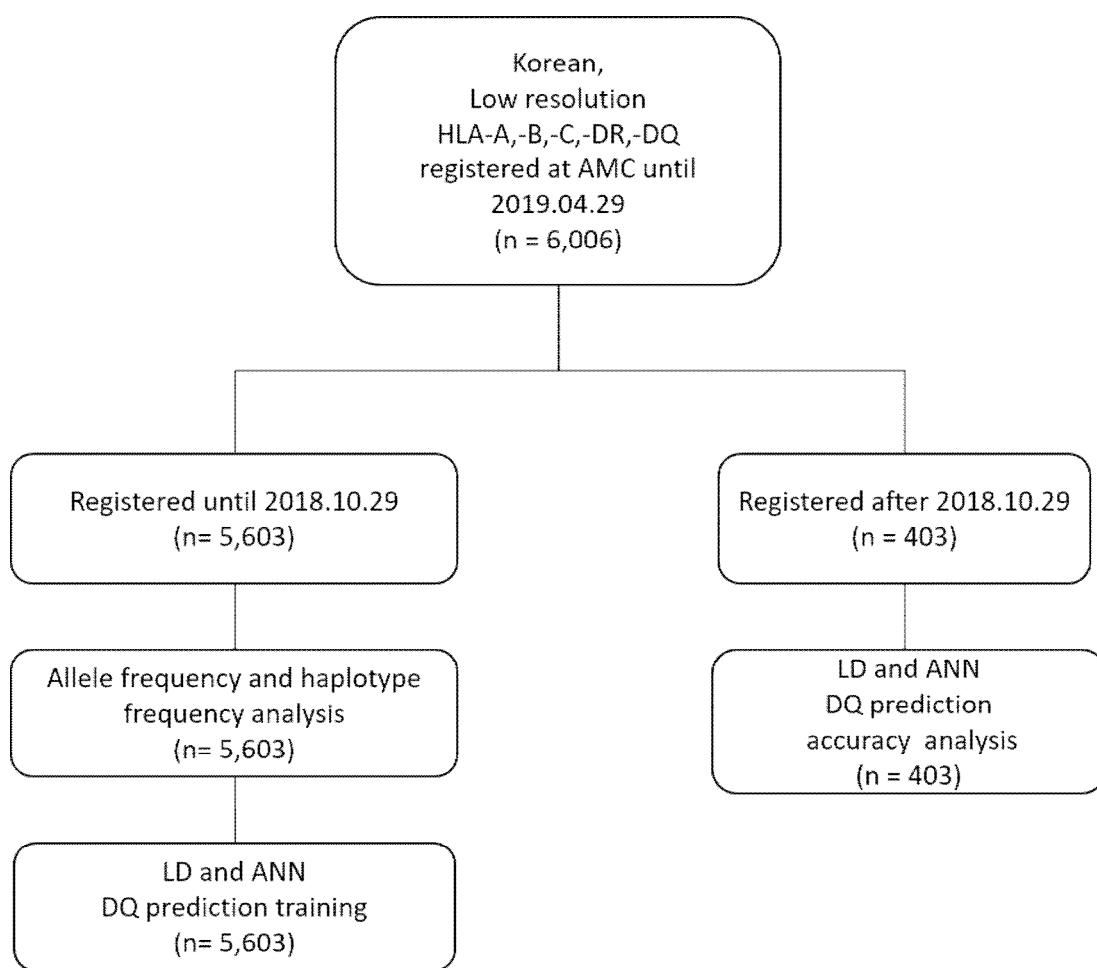


Figure 2. Patient selection flowchart for developing, training and evaluation of HLA-DQ prediction program.

2) HLA-DQ DSA 정확도 평가

예측된 HLA-DQ 를 이용하여 PRA 를 분석했을 때 검출된 pDQ DSA 와 실제 PRA 검사상 검출된 DQ DSA 의 일치율을 비교하였다. 2008년 1월 1일부터 2017년 12월 31일까지 신장이식을 시행하고, 서울아산병원에서 SAB PRA class I 과 SAB PRA class II 검사를 모두 시행하였으며, 환자와 기증자의 HLA-A, -B, -DR 결과가 모두 있는 한국인 환자를 연구 대상으로 삼았다. 이 기간 내에 신장이식을 포함하여 이식을 2회 이상 시행한 환자 또는 신장 이외의 다른 장기 이식력이 있는 환자는 제외하였다. 총 1,567명의 환자 중 기증자와 환자의 HLA-DQ 를 알고 있는 885명의 환자를 대상으로 DQ DSA 의 정확도를 평가하였다 (Figure 3).

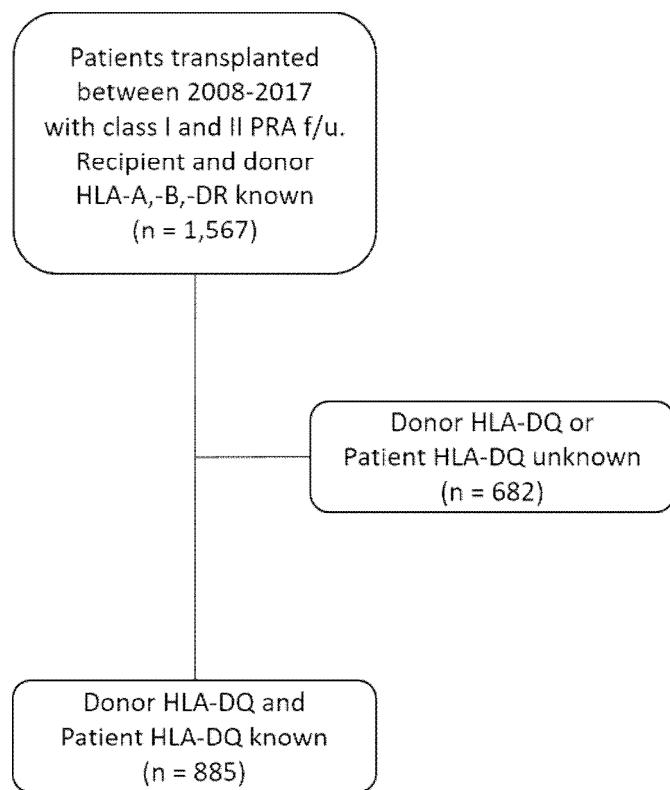


Figure 3. Patient selection flowchart for evaluation of DQ DSA accuracy.

3) Predicted DQ DSA 의 임상적 유용성 평가

예측된 HLA-DQ 의 임상적 유용성을 평가하기 위해 2008년 1월 1일부터 2017년 12월 31일까지 10년 기간 내에 신장이식을 시행하고, 서울아산병원에서 SAB PRA class I 과 SAB PRA class II 검사를 모두 시행하였으며, 환자와 기증자의 HLA-A, -B, -DR 결과가 모두 있는 한국인 환자를 연구 대상으로 삼았다. 이 기간 내에 신장이식을 포함하여 이식을 2회 이상 시행한 환자 또는 신장 이외의 다른 장기 이식력이 있는 환자는 제외하고 총 1,567명의 환자가 선정 되었다. 이 중 뇌사자 기증 신장이식을 시행한 319명의 환자가 연구대상에 포함되었다. 뇌사자 기증 신장이식 환자는 기증자의 HLA-DQ 형별 검사를 시행한 군($n = 152$ 명)과 HLA-DQ 형별 검사를 시행하지 않은 군($n = 167$ 명)으로 분류하여 분석을 시행하였다 (Figure 4).

대조군으로 생체 기증 신장이식 환자군을 선정하였다. 2013년 1월 1일부터 2013년 12월 31일까지 서울아산병원에서 생체 기증 신장이식을 시행하고, SAB PRA class I 과 SAB PRA class II 검사를 모두 시행하였으며, 환자의 HLA-A, -B, -DR 결과, 기증자의 HLA-A, -B, -DR, -DQ 결과가 모두 있는 한국인 환자를 대조군으로 삼았다. 혈액형 부적합 이식을 시행한 환자를 제외하고 총 92명의 환자가 포함되었다. 각 환자군의 특징은 다음 표와 같다 (Table 1).

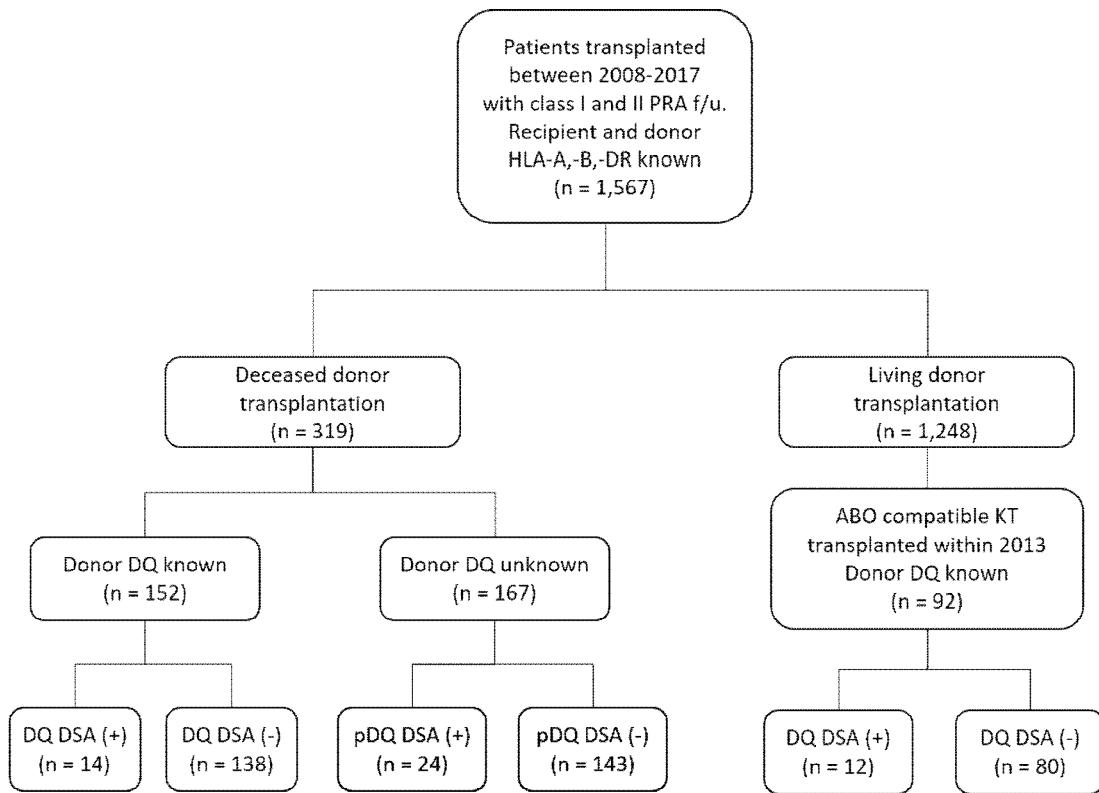


Figure 1. Patient selection flowchart for evaluation of DQ DSA's clinical significance.

Abbreviation: DSA, donor specific antibody; pDQ, predicted DQ; PRA, panel reactive antibody.

Table 1. Comparison of baseline characteristics between each group

	Deceased donor KT, donor HLA-DQ known (n = 152)	Deceased donor KT, donor HLA-DQ unknown (n = 167)	Living donor KT (n = 92)	P value
Mean age, y (SD)	49.7 (11.1)	46.4 (11.4)	42.8 (12.2)	< 0.001 ^{a,b}
Female recipient, n (%)	73 (47.4)	73 (43.7)	35 (38.0)	0.312
Transplant year	2015-2017	2010-2014	2013	
Post-KT follow up (days), mean (SD)	213 (353)	908 (1120)	1114 (690)	< 0.001 ^{a,b,c}
Number of HLA-DR mismatch, mean (SD)	0.9 (0.8)	0.9 (0.7)	1.0 (0.7)	0.439
Number of HLA-DQ mismatch, mean (SD)	0.8 (0.8)	-	0.8 (0.6)	0.917
Total PRA performed, n	384	302	176	
Average PRA performed per patients, n	2.5	1.8	1.9	
Date of PRA performed	2012.08- 2019.02	2012.08- 2019.02	2012.08- 2019.02	
Number of patients with pre-KT and post-KT PRA, n (%)	70 (46.1)	42 (25.1)	29 (31.5)	< 0.001 ^{a,c}
Patients HLA-DQ known, n (%)	25 (16.4)	11 (6.6)	54 (58.7)	< 0.001 ^{a,b,c}
Donor HLA-DQ known, n (%)	152 (100.0)	0 (0.0)	92 (100.0)	
Patient and donor HLA-DQ known, n (%)	25 (16.4)	0 (0.0)	54 (58.7)	

Abbreviation: KT, kidney transplantation; SD, standard deviation; PRA, panel reactive antibody.

^a $P < 0.05$ for deceased donor KT with donor HLA-DQ known and living donor KT.

^b $P < 0.05$ for deceased donor KT with donor HLA-DQ unknown and living donor KT.

^c $P < 0.05$ for deceased donor KT with donor HLA-DQ known and deceased donor KT with donor HLA-DQ unknown.

2. HLA 형별 검사

HLA 형별검사를 위해 수혜자와 생체 기증자를 대상으로 sequence-based typing (SBT)을 시행하였다. AVITA Cross™ HLA-A SBT (Biowithus, Seoul, South Korea), AVITA Cross™ HLA-B SBT (Biowithus), AVITA Cross™ HLA-C SBT (Biowithus), AVITA™ HLA-DRB1 SBT (Biowithus), AVITA™ HLA-DQB1 SBT (Biowithus)를 사용하여 고해상도 수준으로 검사 결과를 얻었다.

뇌사 기증자의 경우 sequence-specific primer (SSP) 방법의 HLA 형별검사를 시행하였다. 검사키트로는 HLA-A, -B, -C, -DR 을 BioSewoom™ HLA-A, -B, -C, -DR PCR/SSP Kit (BioSewoom Inc., Seoul, Korea)을 사용했으며 저해상도 수준에서 검사를 시행하였다. 2015년 11월부터 뇌사 기증자의 검체가 충분히 존재하는 경우 AVITA™ HLA-DQB1 SBT (Biowithus)를 이용하여 HLA-DQ에 대해 SBT 검사를 추가로 진행하였다.

타원에서 HLA 형별검사를 시행하고, 서울아산병원에서 다시 HLA 형별검사를 시행하지 않은 환자들에 대해서는 타원에서 시행한 기존 형별검사 결과를 그대로 사용하였다.

3. Single antigen bead PRA 검사

SAB PRA 검사는 One lambda 사의 LABScreen Single Antigen Luminex PRA 키트 (LABScreen® Single Antigen, One lambda, Canoga Park, CA, USA)를 사용하였다. LABScreen Single Antigen Luminex system에 사용되는 마이크로비드(microbead)는 약 5.6 μm 직경의 폴리스티렌(polystyrene)으로서 내부에 충진되어 있는 두 형광 물질의 농도에 따라서 100 가지 식별 코드를 부여할 수 있다. 본 연구에 사용된 동정용 PRA 비드에는 개별 HLA 항원이 부착되어 있다. Luminex 시스템은 두 개의 레이저를 사용하여 형광 강도를 검출하는데, 그 중 하나는 분류채널(classification channel)로서 마이크로비드의 고유 번호를 확인하고 또 다른 레이저는 보고채널(report channel)로서 마이크로비드에 부착되어 있는 탐색자(probe)에 결합한 핵산이나 단백질과 같은 생물학적 분석체를 확인한다.

PRA 결과 판독은 제조사에서 제시하는 방법에 따라 기준치에 의해 정규화된 (baseline normalized) 평균 형광강도(mean fluorescence intensity, MFI) 값을 구하고, 그 값이 1,000 이상이면서 꼬리분석(tail analysis)을 통해 통계적으로 유의한 결과를 보이는

항체를 판별하였다.

4. 연관불균형을 이용한 HLA-DQ 예측 프로그램 개발

HLA-DQ 예측의 기본 알고리즘은 인공신경망을 이용한 기계학습 알고리즘과 한국인에서 관찰된 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도를 토대로 한 LD 알고리즘을 이용하였다.

LD 알고리즘은 LD 값이 가장 높은 대립유전자를 선택하는 것이다. Locus M에 대립유전자 M1, M2가 있으며 해당 대립유전자의 빈도를 각각 p_1, p_2 라 하고, locus N에 대립유전자 N3, N4가 있으며 해당 대립유전자의 빈도를 각각 p_3, p_4 라 하는 경우 M1과 N3 간의 LD 값 (D'_{13})는 다음과 같이 정의했다.

$$D'_{13} = \frac{p_{13} - p_1 p_3}{\min(p_1 p_4, p_2 p_3)} = \frac{p_{13} - p_1 p_3}{\min(p_1(1-p_3), p_3(1-p_1))}$$

상기 수식에서 P_{13} 은 특정 대립유전자 M1과 N3 간의 일배체형 빈도를 나타낸다. 그리고 HLA처럼 대립유전자 종류가 많은 경우 상기 수식의 P_2 와 P_4 는 각각 M1과 N3가 아닌 대립유전자들의 총합을 의미한다.

본 연구에서는 HLA-B, -DR, -DQ의 LD를 이용하여 HLA-DQ를 예측하였다. 따라서 환자의 HLA-B, -DR 일배체형을 한 locus의 대립유전자로 간주하여 상기 수식을 적용하였다. 뇌사 기증자의 HLA-A, -B, -DR 유전자형으로부터 모든 가능한 HLA-B, -DR 일배체형을 구하고, 각 일배체형을 모든 HLA-DQ 와의 LD를 구한 후 가장 높은 값을 보이는 HLA-DQ를 예측값으로 선택하였다.

5. 인공신경망을 이용한 HLA-DQ 예측 프로그램 개발

LD를 이용한 DQ 예측 방법과 별도로 인공신경망을 이용하여 HLA-A, -B, -DR 형별에 따라 DQ를 예측하였다. 인공신경망은 입력층과 출력층, 은닉층으로 구성된 다층 신경망을 이용하였다. 적절한 은닉층의 개수는 연구를 통하여 결정하였다 (Figure 5). 본 연구에서는 DQ 대립유전자 쌍 예측을 위한 멀티레이어 퍼셉트론(MLP) 기반의 인공신경망을 사용하였다.¹⁰⁾

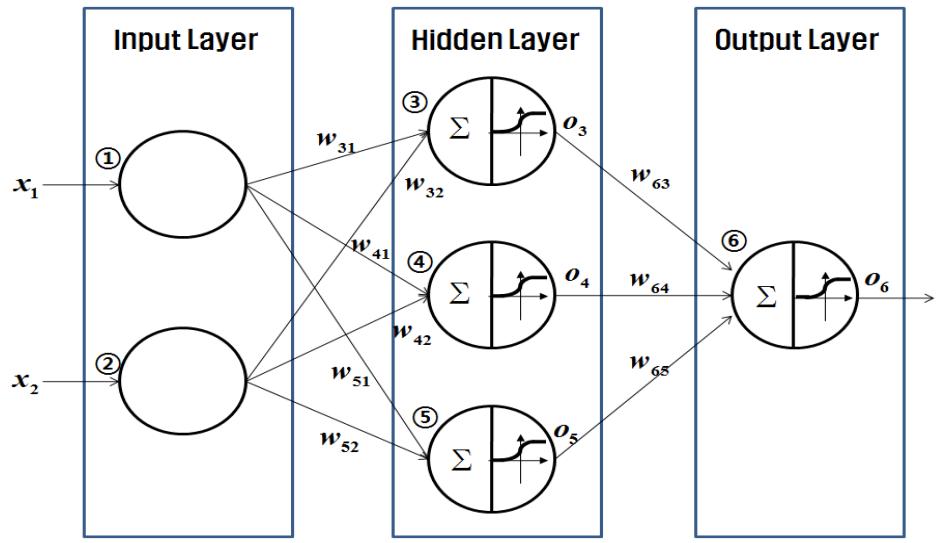


Figure 5. Basic structure of neural network with one hidden layer.

인공신경망을 이용하여 DQ 대립유전자 쌍을 예측하는 과정에서 입력으로 사용되는 HLA-A, -B, -DR 대립유전자 각각을 59bit로 인코딩하였다. 각 대립유전자는 one-hot 인코딩 기법을 이용하여 해당되는 비트(bit)만 1이고 나머지는 0으로 표현하였다. 예를 들어, HLA-A의 1 번 대립유전자는 '1000000 ... 000000'의 벡터로 인코딩하였다. HLA-A, -B, -DR 은 각각 대립유전자 쌍으로 이루어지므로 인공신경망은 6 (3×2) 개의 대립유전자를 입력받기위해 총 354 (6×59) 개의 입력 노드를 가지게 하였다.

One-hot 인코딩 벡터는 각 차원이 독립적인 이산형 변수이므로 임베딩 레이어를 거쳐 연속 벡터로 변환한다. 예를 들어, 20 차원으로 임베딩 할 경우 6 개의 대립유전자는 각각 59 차원의 이산 벡터가 20 차원의 연속 벡터값으로 치환되며 인공신경망은 총 120 (6×20) 개의 임베딩 노드를 가진다.

이후 임베딩 계층은 은닉 계층과 연결된다. 은닉 계층은 단순한 피드포워드(feed-forward) 네트워크이며, 선형 변환, LeakyReLU, 배치 정규화(Batch normalization), Dropout 을 연속적으로 수행한다.¹¹⁻¹³⁾ $WX + b$ 의 선형 변환 이후 역전파 학습을 위한 활성 함수 중 수렴속도가 빠른 ReLU 중 0 이하인 값이 0 이 되지 않도록 작은 가중치를 배정하는 LeakyReLU를 수행한다. 배치 정규화는 배치 학습을 수행할 때 파라미터 학습이 빠르고 안정적으로 수렴하는 것을 목표로 하며 역전파 과정에서 배치의 평균과 분산을 이용하여 정규화를 수행한다. Dropout 은 인공신경망의 노드 중 일부를 무작위로 제거하고 학습하는 과정을 반복하여 과적합(overfitting)을 완화하기 위해 사용된다. 모든 은닉 계층은 동일한 개수의 은닉 노드를 가진다.

마지막으로 HLA-DQ 대립유전자 쌍 예측을 위해 은닉층은 2 개의 출력 계층과 연결되도록 하였다. 각각의 출력 계층은 DQ2, DQ4, DQ5, DQ6, DQ7, DQ8, DQ9 형별 중 하나를 택하는 multi-class classifier로 동작하도록 하였다. 이를 위해 각각의 출력 층은 7 개의 출력 노드로 구성되며 softmax 함수를 이용하여 각 DQ 가 발생할 확률값으로 변환하였다. 출력 계층의 softmax 결과 값과 실제 발생 값의 크로스 엔트로피 손실 값을 구하여 경사 하강 기법을 이용해 역전파하여 인공신경망 파라미터의 학습을 수행하였다.

Network Architecture

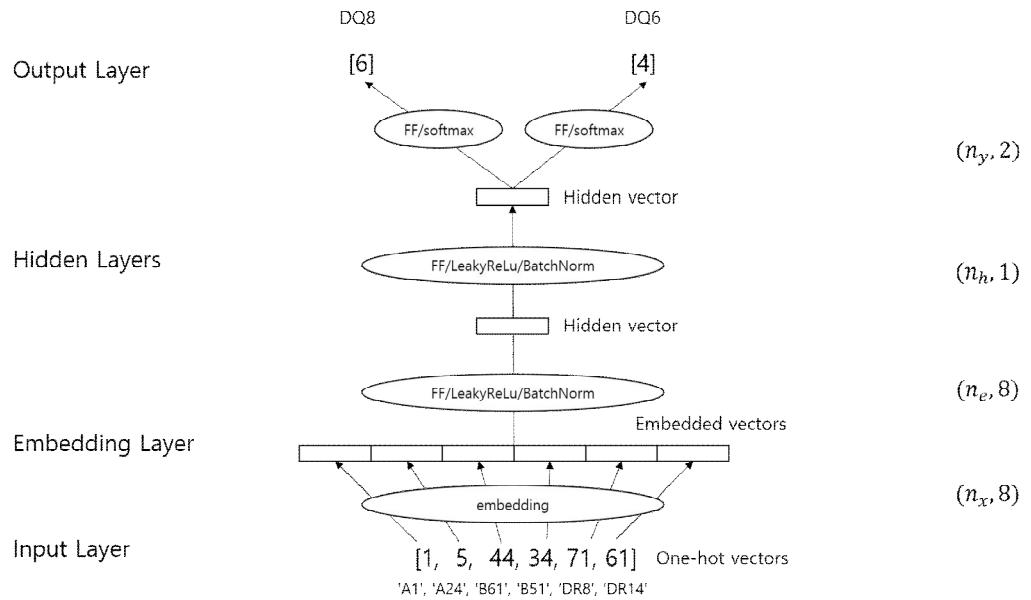


Figure 6. Artificial neural network composed with two hidden layers.

인공신경망의 파라미터의 값은 손실값을 토대로 이를 최소화 하도록 조정된다. 수많은 파라미터의 연관관계를 고려하여 정확한 미분을 하는 것은 현실적으로 어려우므로, 단편적인 편미분 값을 체인룰을 이용하여 구하고 이를 0과 1 사이의 작은 가중치를 곱하여 파라미터 값을 점진적으로 조정한다. 그렇기 때문에 인공신경망의 학습은 트레이닝 데이터 집합을 반복적으로 학습한다. 또한 학습과정에서 과적합(overfitting)이 쉽게 발생하므로 트레이닝 집합의 좋은 성능이 실제로 좋은 성능으로 나타나지 않을 수 있다.

위와 같은 이유로 인공신경망 기반 모델의 학습을 위해 데이터 집합을 트레이닝(training) 데이터 집합, 검증(validation) 데이터 집합, 테스트(test) 데이터 집합의 3 가지로 나누었다. 트레이닝 데이터 집합은 모델의 학습을 위해 사용되는 데이터 집합이다. 검증 데이터 집합은 트레이닝 데이터 집합과 겹치지 않는 집합으로, 학습된 모형 중 최종 모형을 선정하기 위해 사용된다. 테스트 집합은 최종 모형의 성능을 평가하기 위해 사용된다. 인공신경망 학습을 결정하는 하이퍼 파라미터는 다음 표와 같이 설정하였다 (Table 2).

Table 2. Hyperparameter settings of artificial neural network learning

Parameter	Settings
Learning rate	0.05
Optimizer	Adam ¹⁴⁾
Max epoch	100
Embedding size	100
Hidden size	60
Hidden layer number	8
Dropout	0

6. 예측된 HLA-DQ 를 이용한 PRA DSA 분석

HLA-DQ 정보가 없는 뇌사기증자에서 DQ 형별을 예측하였을 때, 예측된 DQ는 pDQ (predicted DQ)로 명명하였다. 뇌사자 기증 신장이식 환자를 대상으로 기증자의 pDQ를 적용하여 SAB PRA 결과를 분석하였다. 예측된 DQ에 대해 동정된 DSA는 pDQ DSA로 명명하였다. 임상상 분석 대상인 뇌사자 기증 이식 환자 319 명의 2012년 8 월 2 일부터 2019년 2 월 28 일까지 시행된 모든 PRA 결과를 재분석하였다. pDQ는 항원수준으로 예측되며, 따라서 항원수준으로 PRA 분석을 시행하였다.

7. DQ DSA 의 임상적인 의미 분석

대상 환자의 혈중 크레아티닌, 단백뇨, 전산화단층촬영, 도플러 초음파 검사, 신장스캔, 신장 조직검사 등의 결과를 종합적으로 리뷰하여 환자의 이식 후 상태를 평가하였다. ABMR은 조직검사 결과와 항체 검사를 통해 진단할 수 있다. 하지만, 이식 후 1개월이 지나지 않은 이식 초기 환자나 항혈전제, 항혈소판제를 복용하는 환자는 출혈 위험성 때문에 조직검사 시행이 어려운 경우가 있다. 이러한 경우에는 크레아티닌이 기존에 비해 20% 이상 증가하거나, 단백뇨가 새로 발생하는 등 다른 검사 결과를 종합적으로 판단하여 임상적으로 거부반응으로 진단하였다.

대상 환자의 임상상을 리뷰하여 다음과 같이 다섯 군으로 환자를 분류하였다.
① 조직검사 상 ABMR로 진단받은 군(biopsy_ABMR confirmed), ② 조직검사 결과 ABMR의 진단기준을 불만족하지만 임상적으로 ABMR이 의심되어 ABMR에 따른 치료를 받은 군(biopsy_suspicious), ③ 조직검사를 시행하지 않았지만 임상적으로 ABMR이 의심되고, ABMR 치료를 받은 군(clinically_suspicious), ④ 조직검사 상 ABMR이 아닌 것으로 진단받은 군(biopsy_ABMR confirmed not), ⑤ 임상적으로 ABMR이 의심되지 않는 군(clinically_suspicious not)으로 분류하였다. ABMR 치료는 혈장교환술, 정맥주사용 면역글로불린(intravenous immunoglobulin, IVIG), 리툭시맙(rituximab), 보르테조닙(bortezomib) 치료를 받은 경우로 한정하였다.

조직검사 결과는 Banff 2017 Kidney Meeting Report의 진단 기준에 따라 판정하였다.¹⁵⁾ Banff 2017 Kidney Meeting Report에서는 ABMR을 활동성 항체매개성 거부반응(active ABMR), 만성 활동성 항체매개성 거부반응(chronic active ABMR), 거부반응의 소견 없이 C4d 양성인 경우로 나누고 있다. Active ABMR은 ① 급성 조직 손상의 증거, ② 현재 또는 최근에 항체와 혈관 내피 사이의 상호작용이 있었다는

증거, ③ DSA의 혈청학적 증거의 세가지 기준을 모두 만족해야 진단이 가능하다. 만성 활동성 항체매개성 거부반응은 ① 만성 조직 손상의 증거, ② 현재 또는 최근에 항체와 혈관 내피 사이의 상호작용이 있었다는 증거, ③ DSA의 혈청학적 증거의 세가지 기준을 모두 만족해야 한다. 급성 또는 만성 조직 손상과 항체와 혈관 내피의 상호작용은 조직검사를 통해 알 수 있다. 마지막 진단 기준인 DSA의 증거는 HLA 또는 HLA 이외의 항원에 대한 항체를 모두 포함하며 DSA가 위음성이거나 DSA 검사가 불가한 경우 조직검사 소견상 세뇨관 주위 모세혈관의 C4d가 선형으로 양성을 보이는 경우도 인정한다. 이 외에도 조직검사 상 ABMR과 연관되어 있는 전사물(transcript)^[1] 강하게 발현되는 경우도 DSA 기준을 대체할 수 있다. 본 연구에서는 LD 알고리즘을 적용한 pDQ DSA도 DSA로 간주하여 진단하였다.

Table 3. Banff 2017 classification of ABMR[†]

Antibody-mediated changes
Active ABMR; all 3 criteria must be met
1. Histologic evidence of acute tissue injury, including 1 or more of the following: Microvascular inflammation ($g > 0$ and/or $ptc > 0$), in the absence of recurrent or de novo glomerulonephritis, although in the presence of acute TCMR, borderline infiltrate, or infection, $ptc \geq 1$ alone is not sufficient and g must be ≥ 1 Intimal or transmural arteritis ($v > 0$) Acute thrombotic microangiopathy, in the absence of any other cause Acute tubular injury, in the absence of any other apparent cause
2. Evidence of current/recent antibody interaction with vascular endothelium, including 1 or more of the following: Linear C4d staining in peritubular capillaries (C4d2 or C4d3 by IF on frozen sections, or C4d > 0 by IHC on paraffin sections) At least moderate microvascular inflammation ($[g + ptc] \geq 2$) in the absence of recurrent or de novo glomerulonephritis, although in the presence of acute TCMR, borderline infiltrate, or infection, $ptc \geq 2$ alone is not sufficient and g must be ≥ 1 Increased expression of gene transcripts/classifiers in the biopsy tissue strongly associated with ABMR, if thoroughly validated
3. Serologic evidence of donor-specific antibodies (DSA to HLA or other antigens). C4d staining or expression of validated transcripts/classifiers as noted above in criterion 2 may substitute for DSA; however thorough DSA testing, including testing for non-HLA antibodies if HLA antibody testing is negative, is strongly advised whenever criteria 1 and 2 are met
Chronic active ABMR; all 3 criteria must be met for diagnosis
1. Morphologic evidence of chronic tissue injury, including 1 or more of the following: Transplant glomerulopathy ($cg > 0$) if no evidence of chronic TMA or chronic recurrent/de novo glomerulonephritis; includes changes evident by electron microscopy (EM) alone ($cgl1a$) Severe peritubular capillary basement membrane multilayering (requires EM) Arterial intimal fibrosis of new onset, excluding other causes; leukocytes within the sclerotic intima favor chronic ABMR if there is no prior history of TCMR, but are not required
2. Identical to criterion 2 for active ABMR
3. Identical to criterion 3 for active ABMR

Abbreviations: ABMR, antibody-mediated rejection; cg, Banff chronic glomerulopathy score; DSA, donor-specific antibody; g, Banff glomerulitis score; IHC, immunohistochemistry; ptc, Banff peritubular capillaritis score; TCMR, T-cell-mediated rejection.

[†]Modified from ¹⁵⁾

8. 통계 분석

대립유전자 빈도(allele frequency)는 SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) 프로그램의 ALLELE procedure 를 통해 추정하였다. 일배체형 빈도(haplotype frequency)는 HAPLOTYPE procedure 를 통해 추정하였다.

환자를 다양한 군으로 나누어 임상상에 차이가 있는지 카이제곱검정 또는 Fisher's exact test 을 이용하여 통계 분석하였다. 모든 통계분석은 유의수준(statistical significance level) 0.05 이하에서, 유의확률(p-value)은 양측검정(two-sided)으로 수행하였다. 마이크로소프트 엑셀 2016 프로그램, SPSS statistics (version 19.0, IBM SPSS, Chicago, IL), MedCalc (version 19.0.3, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium)를 통계 프로그램으로 사용하였다.

9. 임상연구 심의위원회

본 연구는 서울아산병원 임상연구 심의위원회 승인(접수번호: S2019-0353-0001)을 받고 수행하였다.

결과

1. 한국인의 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도

한국인 5,603 명으로부터 구한 HLA 대립유전자 및 일배체형 빈도는 부록의 Table I, Table II, Table III 과 같다.

2. HLA-DQ 예측 프로그램의 정확도 분석

1) Genotype level accuracy

LD 알고리즘과 인공신경망을 이용한 DQ 예측프로그램의 정확도를 구하기 위해 HLA-DQ 를 알고 있는 403 명의 한국인을 대상으로 유전자형과 대립유전자별 일치율을 분석하였다. LD 알고리즘을 이용했을 때, HLA-DQ 의 정확도는 유전자형 (genotype) 수준에서 75.4%이었으며 유전자형의 형별에 따른 정확도는 35.7%~100%의 분포를 보였다(Table 4).

인공신경망을 이용한 DQ 예측 프로그램의 유전자형 수준에서 예측된 HLA-DQ 의 정확도는 75.7% 이었으며, 유전자형에 따라서는 43.8%~100%의 정확도를 보였다 (Table 4).

Table 4. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Koreans

HLA-DQ genotype	No. of patients	LD		ANN	
		Accurately predicted No.	Accuracy (%)	Accurately predicted No.	Accuracy (%)
02,02	1	1	100.0	1	100.0
02,04	9	9	100.0	6	66.7
02,05	4	2	50.0	2	50.0
02,06	20	19	95.0	20	100.0
02,07	8	7	87.5	7	87.5
02,08	12	6	50.0	10	83.3
02,09	7	6	85.7	6	85.7
04,04	9	7	77.8	8	88.9
04,05	14	11	78.6	11	78.6
04,06	29	20	69.0	18	62.1
04,07	14	5	35.7	7	50.0
04,08	13	7	53.9	10	76.9
04,09	16	11	68.8	11	68.8
05,05	10	10	100.0	10	100.0
05,06	29	24	82.8	26	89.7
05,07	17	12	70.6	11	64.7
05,08	16	6	37.5	7	43.8
05,09	10	10	100.0	10	100.0
06,06	27	27	100.0	27	100.0
06,07	33	23	69.7	21	63.6
06,08	33	25	75.8	20	60.6
06,09	26	23	88.5	22	84.6
07,07	8	7	87.5	7	87.5
07,08	11	6	54.6	6	54.6
07,09	8	7	87.5	5	62.5
08,08	3	2	66.7	3	100.0
08,09	9	4	44.4	6	66.7
09,09	7	7	100.0	7	100.0
Total	403	304	75.4	305	75.7

Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium.

2) Allele level accuracy

403 명의 한국인을 대상으로 한 LD 알고리즘의 정확도는 대립유전자 종류에 따라 62.0에서 100%의 분포를 보였으며 대립유전자 수준에서 전체적으로 87.1%의 정확도를 보였다 (Table 5). DQ8이 62.0%로 가장 낮은 정확도를 보였으며, DQ2, DQ5, DQ6, DQ9는 90% 이상의 정확도를 보였다.

인공신경망의 정확도는 대립유전자 종류에 따라 74.0에서 100%의 분포를 보였고, 전체적으로 87.3%의 정확도를 보여 LD 알고리즘에 의한 예측과 유사하였다. DQ8의 정확도가 74.0%로 가장 낮았다. DQ2, DQ5, DQ6, DQ9는 90% 이상의 정확도를 보였다 (Table 5). LD 알고리즘과 인공신경망 모두 DQ8에서 가장 낮은 정확도를 보였다.

Table 5. Accuracy of HLA-DQ allele predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Koreans

HLA-DQ allele	HLA-DQ allele count	LD		ANN	
		Accurately predicted count	Accuracy (%)	Accurately predicted count	Accuracy (%)
02	62	62	100.0	62	100.0
04	113	85	75.2	88	77.9
05	110	105	95.5	100	90.9
06	224	219	97.8	219	97.8
07	107	85	79.4	80	74.8
08	100	62	62.0	74	74.0
09	90	84	93.3	81	90.0
Total	806	702	87.1	704	87.3

Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium.

3) HLA-A, -B, -DR 유전자형 빈도에 따른 정확도 분포

403 명의 한국인을 대상으로 HLA-A, -B, -DR 유전자형 빈도에 따라 LD 알고리즘과 인공신경망의 정확도를 구한 결과는 Table 6, Table 7 과 같다. Table 6 은 빈도 구간을 임의로 설정하여 구하였으며, Table 7 는 누적 빈도를 설정하여 구한 결과이다. 유전자형의 빈도가 0.1 이상인 경우 LD 알고리즘과 인공신경망 모두 100%의 정확도를 보였다.

Table 6. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency in Korean (interval)

HLA-A, -B, -DR genotype frequency (interval)	Patient (n)	LD		ANN	
		Correct DQ genotype (n)	Genotype accuracy (%)	Correct DQ genotype (n)	Genotype accuracy (%)
0.1 ≤ < 1	9	9	100.0	9	100.0
0.01 ≤ < 0.1	111	90	81.1	85	76.6
0.001 ≤ < 0.01	165	124	75.2	126	76.4
0.0001 ≤ < 0.001	79	54	68.4	55	69.6
0 ≤ < 0.0001	39	27	69.2	30	76.9

Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium.

Table 7. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency in Korean (cumulative)

HLA-A, -B, -DR genotype frequency (cumulative)	Patient (n)	LD		ANN	
		Correct DQ genotype (n)	Genotype accuracy (%)	Correct DQ genotype (n)	Genotype accuracy (%)
≥ 0.250000	1	1	100.0	1	100.0
≥ 0.200000	4	4	100.0	4	100.0
≥ 0.150000	5	5	100.0	5	100.0
≥ 0.100000	9	9	100.0	9	100.0
≥ 0.075000	18	17	94.4	17	94.4
≥ 0.050000	36	34	94.4	34	94.4
≥ 0.025000	65	58	89.2	56	86.2
≥ 0.010000	120	99	82.5	94	78.3
≥ 0.007500	141	111	78.7	112	79.4
≥ 0.005000	168	128	76.2	128	76.2
≥ 0.002500	216	164	75.9	162	75.0
≥ 0.001000	285	223	78.3	220	77.2
≥ 0.000750	303	234	77.2	231	76.2
≥ 0.000500	315	243	77.1	242	76.8
≥ 0.000250	340	265	77.9	260	76.5
≥ 0.000100	364	277	76.1	275	75.6
≥ 0.000075	371	283	76.3	282	76.0
≥ 0.000050	373	284	76.1	284	76.1
≥ 0.000025	384	291	75.8	291	75.8
≥ 0.000010	389	295	75.8	294	75.6
≥ 0.000005	391	296	75.7	296	75.7
≥ 0.000001	393	297	75.6	297	75.6
≥ 0.0000001	393	297	75.6	297	75.6
≥ 0.0000000	403	304	75.4	305	75.7

Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium.

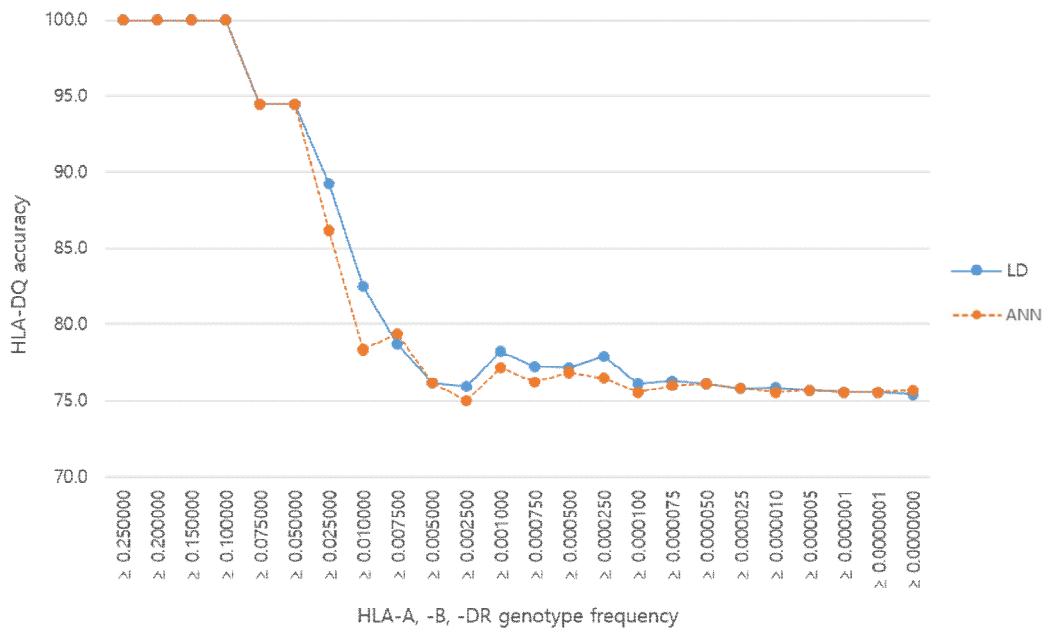


Figure 7. Accuracy of HLA-DQ genotype predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network in 403 Korean population, according to HLA-A, -B, -DR genotype frequency. Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium.

4) LD 와 인공신경망 알고리즘 예측정확도에 대한 분할표

한국인 403 명에 대한 LD 알고리즘의 정확도는 genotype 수준에서 75.4%, allele 수준에서 87.1% 이었다. 그리고 인공신경망의 정확도는 genotype 수준에서 75.7%, allele 수준에서 87.3% 이었다. LD 알고리즘 및 인공신경망의 진양성(true positive, TP)과 위음성(false negative, FN)의 분포는 Table 8 과 같다. 따라서 두 알고리즘 중에 어느 하나라도 진양성을 예측할 확률은 genotype 수준에서 82.6% (333/403)로 추정되었다.

Table 8. Results of predicted HLA-DQ by artificial neural network and linkage disequilibrium in 403 Koreans

Predicted DQ result	Patient number
LD TP, ANN TP	276
LD TP, ANN FN	28
LD FN, ANN TP	29
LD FN, ANN FN	70
Total	403

Abbreviations: ANN, artificial neural network; FN false negative; LD, linkage disequilibrium; TP, true positive.

3. 이식 환자에서의 DQ DSA 정확도 분석

1) 대상 환자군에서의 DQ DSA의 분포

환자와 기증자의 HLA-DQ 결과를 알고 있는 신장이식 환자에서 시행한 PRA를 분석하여 환자와 기증자의 HLA-DR, -DQ 불일치에 따른 DR DSA, DQ DSA 발생 여부를 비교하였다. 885 명의 환자에서 시행한 1,970 개의 PRA 결과가 분석 대상이 되었다. 이식 후 관찰 기간은 최소 1 일에서 최대 3,340 일이었다 (median=575, 평균=683.2, SD=657.6).

HLA-DQ 불일치(mismatch, MM) 분포는 0 MM ⌈ 221 명(25.0%), 1 MM ⌈ 507 명(57.3%), 2 MM ⌈ 157 명(17.7%)의 분포를 보였다. 그리고 DR과 DQ MM을 모두 고려한 경우에 0 MM은 130 명, 1 MM은 128 명, 2 MM은 375 명, 3MM은 132 명, 4MM은 120 명의 분포를 보였으며, DR 0 MM인 170 명 중 40 명(23.5%)에서 DQ MM가 있었다 (Table 9).

HLA-DQ 불일치에 따른 post-op DQ DSA 발생 빈도는 0 MM의 경우 0% (0/221), 1 MM의 경우 12.0%(61/507), 2 MM의 경우 18.5%(29/157)의 분포를 보여 MM가 증가할수록 DSA 발생율이 통계적으로 유의하게 높았다 ($P < 0.001$).

HLA-DR 불일치에 따른 post-op DR DSA 발생 빈도는 0 MM의 경우 0% (0/170), 1 MM의 경우 11.3%(56/497), 2 MM의 경우 17.9%(39/218)로 총 10.3%에서 DSA가 관찰되었다.

HLA-DR과 HLA-DQ 불일치 여부를 모두 고려하였을 때, DQ 1 MM인 경우 DR MM가 0, 1, 2로 증가함에 따라 DQ DSA 발생률이 각각 0.0% (0/39), 11.8% (44/372), 17.7% (17/96)로 증가하였다 ($P = 0.006$). 반면 DQ 2 MM인 경우 DR MM가 0, 1, 2로 증가함에 따라 DQ DSA 발생률이 100%(1/1), 16.7%(6/36), 18.3%(22/120)으로 증가하는 경향이 관찰되지 않았다 ($P = 0.650$).

Table 9. DQ DSA frequency after kidney transplantation, according to HLA-DR/DQ antigen mismatch number

DQ Ag MM	DR Ag MM	Ag MM patient, n	Patient with DQ DSA, n (%)	Patient with DR DSA, n (%)
0	0	130	0 (0%)	0 (0%)
0	1	89	0 (0%)	6 (6.7%)
0	2	2	0 (0%)	0 (0%)
Subtotal		221	0 (0%)	6 (2.7%)
1	0	39	0 (0%)	0 (0%)
1	1	372	44 (11.8%)	44 (11.8%)
1	2	96	17 (17.7%)	17 (17.7%)
Subtotal		507	61(12.0%)	61 (12.0%)
2	0	1	1 (100%)	0 (0%)
2	1	36	6 (16.7%)	6 (16.7%)
2	2	120	22 (18.3%)	22 (18.3%)
Subtotal		157	29 (18.5%)	28 (17.8%)
Grand total		885	90 (10.2%)	95 (10.7%)

Abbreviations: Ag, antigen; DSA, donor specific antibody; MM, mismatch.

2) 실제 PRA DSA 와 LD 알고리즘 및 인공신경망으로 예측한 DSA 의 비교

885 명의 환자와 이들의 기증자를 대상으로 HLA-DQ 형별 검사를 시행하였다. 이와 별개로 LD 알고리즘과 인공신경망을 이용하여 HLA-DQ를 예측하였다. 환자와 기증자의 pDQ를 이용하여 해당 환자에서 시행된 1,970 개의 PRA 검사 결과를 재분석하였다. 환자와 기증자의 실제 DQ 형별을 이용하였을 때의 DQ DSA 검출 여부와 DQ를 예측하여 재분석 하였을 때의 pDQ DSA의 검출 여부를 비교하였다.

LD로 예측한 DQ DSA의 경우 실제 검사결과를 기준으로 하였을 때 민감도 97.3% (1,714/1,761), 특이도 98.6% (206/209)로 전체 일치율은 97.5% (1,920/1,970)이었다 (Table 10). 인공신경망으로 예측한 DQ DSA는 실제 검사결과를 기준으로 하였을 때 민감도 96.3% (1,697/1,761), 특이도 98.6% (206/209), 전체 일치율은 96.6% (1,903/1,970)이었다 (Table 11).

Table 10. Contingency table of DQ DSA between PRA result using patient and donor's tested HLA-DQ and predicted HLA-DQ by linkage disequilibrium

		PRA DQ DSA		Total
		(+)	(-)	
LD pDQ DSA	(+)	1,714	3	1,717
	(-)	47	206	253
Total		1,761	209	1,970

Abbreviations: DSA, donor specific antibody; LD, linkage disequilibrium; pDQ, predicted DQ; PRA, panel reactive antibody.

Table 11. Contingency table of DQ DSA between PRA result using patient and donor's tested HLA-DQ and predicted HLA-DQ by artificial neural network

	PRA DQ DSA		Total
	(+)	(-)	
ANN pDQ DSA	(+)	1,697	3 1,700
	(-)	64	206 270
Total		1,761	209 1,970

Abbreviations: ANN, artificial neural network; DSA, donor specific antibody; pDQ, predicted DQ; PRA, panel reactive antibody.

실제 형별검사를 토대로 하였을 때 PRA 검사 상 DQ DSA가 동정되었지만, DQ 예측 프로그램을 이용하여 환자와 기증자의 DQ를 예측하고, PRA를 분석하였을 때에는 DQ DSA를 동정하지 못한 위음성 사례들을 분석하였다. 이 사례들의 DQ DSA는 DQ4, DQ5, DQ6, DQ7, DQ8, DQ9로 다양하게 나타났다. LD pDQ DSA가 위음성인 47 예는 총 21 명의 환자 결과에서 비롯되었다. 인공신경망으로 예측한 pDQ DSA가 음성인 64 예는 총 23 명의 환자 결과에서 비롯되었다. LD 알고리즘은 DQ7 DSA의 위음성률이 1.1%, 인공신경망은 DQ8 DSA의 위음성률이 0.8%로 가장 높은 위음성률을 보였다 (Table 12).

LD 알고리즘과 인공신경망의 DQ DSA가 위음성인 환자들은 상당부분 겹치는 환자들이었다. 인공신경망으로 예측 시 DQ7 위음성인 6 명의 환자 모두 LD 알고리즘 상 위음성을 보인 환자에 모두 포함되었으며, LD 알고리즘 상 DQ8 위음성인 4 명 환자는 인공신경망 위음성인 7 명에 포함되었다.

PRA 개수를 기준으로 정확도를 계산하였을 때, 인공신경망의 정확도가 낮은 것처럼 보이지만 이는 한 환자 당 시행한 PRA 검사 개수의 차이로 인한 것으로 실제 위음성률을 보인 환자수는 885 명 중 LD 알고리즘이 21 명 (2.4%, 21/885), 인공신경망이 23 명 (2.6%, 23/885)으로 두 예측프로그램이 유사한 위음성률을 보였다.

Table 12. False negative DQ DSA predicted by linkage disequilibrium and artificial neural network

	False negative LD pDQ DSA Patient number (n = 885)	False negative ANN pDQ DSA Patient number (n = 885)	LD DQ allele prediction accuracy (%)	ANN DQ allele prediction accuracy (%)	Korean frequency (%)
DQ2	0 (0.0)	0 (0.0)	100.0	100.0	8.8
DQ4	2 (0.2)	2 (0.2)	75.2	77.9	12.7
DQ5	2 (0.2)	1 (0.1)	95.5	90.9	15.6
DQ6	2 (0.2)	5 (0.6)	97.8	97.8	28.1
DQ7	10 (1.1)	6 (0.7)	79.4	74.8	14.0
DQ8	4 (0.5)	7 (0.8)	62.0	74.0	9.6
DQ9	1 (0.1)	2 (0.2)	93.3	90.0	11.2
Total	21 (2.4)	23 (2.6)	87.1	87.3	100.0

Abbreviations: ANN, artificial neural network; DSA, donor specific antibody; LD, linkage disequilibrium; pDQ, predicted DQ.

DQ 예측 프로그램을 사용하였을 때, DQ DSA 를 동정하지 못한 사례를 분석해본 결과, 기증자의 DQ 를 잘못 예측한 경우와 환자의 DQ 를 잘못 예측하여 동정된 DQ DSA 를 자가항체로 간주하여 분석에서 제외한 경우가 있었다. LD 알고리즘을 사용하였을 때 DQ DSA 가 위음성이었던 21 명 47 개의 PRA 검사 중 DQ DSA MFI 가 5,000 을 넘는 것은 20 개 (20/47, 42.6%) 이었다. LD pDQ DSA 가 위음성이었던 몇 가지 사례를 Table 13 에 정리 하였다.

인공신경망을 이용하였을 때, DQ DSA 가 위음성이었던 23 명 64 개의 PRA 검사 중 MFI 가 5,000 을 넘는 것은 22 개 (22/64, 34.4%) 이었다. 이중 일부 사례를 Table 14 에 정리하였다.

Table 13. Cases with false negative DQ DSA predicted by linkage disequilibrium

Patient HLA	Patient LD pDQ	Donor HLA	Donor LD pDQ	PRA DSA (MFI)	Comments
A2,A11 B62,B48 Cw4,Cw8 DR4,DR15 DQ7,DQ8	06,08	A2,A24 B46,B48 Cw8,Cw12 DR8,DR15 DQ7,DQ6	06,06	DQ6 (4,073)	DQ6 DSA considered as autoantibody
A2,A33 B62,B48 Cw10,Cw8 DR14,DR15 DQ5,DQ6	05,06	A24,A24 B7,B51 Cw7,Cw14 DR1,DR14 DQ7,DQ5	05,05	DQ7 (11,901)	Donor DQ7 was incorrectly predicted

Abbreviations: DSA, donor specific antibody; LD, linkage disequilibrium; pDQ, predicted DQ.

Table 14. Cases with false negative DQ DSA predicted by artificial neural network

Patient HLA	Patient ANN pDQ	Donor HLA	Donor ANN pDQ	PRA DSA (MFI)	Comments
A2,A31 B61,B48 Cw10,Cw4 DR8,DR9 DQ8,DQ9	06,09	A11,A30 B47,B48 Cw6,Cw8 DR9,DR13 DQ9,DQ6	06,09	DQ6 (9,477)	DQ6 DSA considered as autoantibody
A2,A24 B7,B46 Cw1,Cw7 DR1,DR8 DQ5,DQ6	05,06	A2,A24 B7,B61 Cw10,Cw7 DR8,DR15 DQ8,DQ6	06,06	DQ8 (7,310)	Donor DQ8 was incorrectly predicted

Abbreviations: ANN, artificial neural network; DSA, donor specific antibody; LD, linkage disequilibrium; pDQ, predicted DQ.

실제 환자와 기증자의 HLA 형별을 이용하여 분석한 PRA 검사에서는 DQ DSA가 음성인데 LD 알고리즘 또는 인공신경망에서 DQ DSA가 있는 것으로 잘못 분석한 예가 있었다. LD 알고리즘 3 예-DQ8 (2,529), DQ8 (1,490), DQ9 (3,868)-와 인공신경망 3 예- DQ8 (2,529), DQ8 (1,490), DQ8 (3,669)-로 이 중 2명은 LD 와 인공신경망에서 공통적으로 잘못 분석한 경우였다.

4. 뇌사자 기증 신장이식 환자의 이식 후 경과

총 411 명의 신장이식 환자를 대상으로 임상상 검토 및 PRA 분석을 시행하였다. 뇌사자 기증 신장이식 환자는 총 319 명을 대상으로, 생체 기증 신장이식 환자는 2013년 1월 1일부터 2013년 12월 31일까지 이식을 시행한 환자 92 명을 대상으로 하였다.

뇌사자 기증 이식 환자 중 이식 전후 PRA 검사를 모두 시행하여 de novo DSA 를 판단할 수 있는 환자는 114 명이었고, 이 중 19.3% (22/114)에서 de novo DSA 가 발생하였다. Class I de novo DSA 만 발생한 환자는 4.4% (5/114), class II de novo DSA 만 발생한 환자는 7.0% (8/114), 이 중 class I 과 class II DSA 가 동시에 발생한 환자는 7.9% (9/114) 이었다. 항원별 de novo DSA 발생률은 DQ DSA 또는 pDQ DSA 가 11.4% (13/114)로 가장 높았다.

생체 기증자 중 이식 전후 PRA 검사를 모두 시행하여 de novo DSA 를 판단할 수 있는 환자는 29 명이었고, 이 중 31.0% (9/29)에서 de novo DSA 가 발생하였다. Class I DSA 만 발생한 환자는 0% (0/29), class II DSA 만 발생한 환자는 20.7% (6/29), class I 과 class II DSA 가 동시에 발생한 환자는 10.3% (3/29) 이었으며, 항원별 발생률은 DQ DSA 가 24.1% (7/29)로 가장 높았다.

뇌사자 기증 신장이식을 시행한 군의 이식 후 경과는 다음 표와 같았다 (Table 15). 임상적으로 ABMR 이 의심되지 않거나, 조직검사 결과 ABMR 이 아닌 것으로 진단받은 군이 86.2%로 대다수를 차지하였다.

이식 전후 DQ 또는 pDQ DSA 가 있는 군과 없는 군 사이의 ABMR 치료 여부에 차이가 존재하는지 분석하였다. DQ 또는 pDQ DSA 가 있는 군이 없는 군보다 ABMR 치료를 받을 가능성성이 유의하게 높았다. (오즈비(odds ratio, OR) 16.2, $P < 0.001$) (Table 15). DQ 또는 pDQ DSA 양성군을 다시 세분화하여 DQ DSA 양성군과 pDQ DSA 양성군으로 나누었을 때, 두 군 사이의 ABMR 진단 및 치료 여부는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P=0.152$) (Table 16).

Table 15. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients according to presence of DQ or predicted DQ DSA

	Patients with DQ or pDQ DSA (n=38)	Patients without DQ or pDQ DSA (n=281)	Total (n=319)
ABMR treated [†]	22 (57.9)	22 (7.8)	44 (13.8)
Biopsy_ABMR confirmed	18 (47.4)	12 (4.3)	30 (9.4)
Biopsy_suspicious	3 (7.9)	9 (3.2)	12 (3.8)
Clinically_suspicious	1 (2.6)	1 (0.4)	2 (0.6)
ABMR not treated	16 (42.1)	259 (92.2)	275 (86.2)
Clinically_suspicious not	12 (31.6)	180 (64.1)	192 (60.2)
Biopsy_ABMR confirmed not	4 (10.5)	79 (28.1)	83 (26.0)

[†]ABMR treatment rate was significantly higher in patients with DQ or pDQ DSA group (OR 14.4, $P < 0.001$)

Abbreviation: ABMR, antibody-mediated rejection; DSA, donor specific antibody, pDQ; predicted DQ.

Data presented as n (%)

Table 16. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients according to real DQ DSA or predicted DQ DSA

	DQ DSA (+) (n=14)	pDQ DSA (+) (n=24)
ABMR suspected and treated [†]	6 (42.9)	16 (66.7)
Biopsy_ABMR confirmed	4 (28.6)	14 (58.3)
Biopsy_suspicious	2 (14.3)	1 (4.2)
Clinically_suspicious	0 (0.0)	1 (4.2)
ABMR not treated	8 (57.1)	8 (33.3)
Clinically_suspicious not	8 (57.1)	4 (16.7)
Biopsy_ABMR confirmed not	0 (0.0)	4 (16.7)

[†]There was no significant difference in ABMR treatment rate between DQ DSA group and pDQ DSA group ($P=0.152$).

Abbreviation: ABMR, antibody-mediated rejection; DSA, donor specific antibody, pDQ; predicted DQ.

Data presented as n (%)

뇌사 기증자의 HLA-DQ 를 모르는 군을 pDQ DSA 여부에 따라 나누었을 때,
pDQ DSA 가 발생한 군에서 ABMR 로 치료를 받을 확률이 pDQ DSA 가 발생하지 않은
군에 비해 유의하게 높았다 ($P < 0.001$) (Table 17).

Table 17. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients with unknown donor HLA-DQ, according to predicted DQ donor specific antibody presence

	pDQ DSA (+) (n = 24)	pDQ DSA (-) (n = 143)
ABMR suspected and treated [†]	16 (66.7)	13 (9.1)
Biopsy_ABMR confirmed	14 (58.3)	8 (5.6)
Biopsy_suspicious	1 (4.2)	5 (3.5)
Clinically_suspicious	1 (4.2)	0 (0.0)
ABMR not treated	8 (33.3)	130 (90.9)
Clinically_suspicious not	4 (16.7)	92 (64.3)
Biopsy_ABMR confirmed not	4 (16.7)	38 (26.6)

[†]ABMR treatment rate was significantly higher in patients with pDQ DSA than patients without pDQ DSA ($P < 0.001$).

Abbreviation: ABMR, antibody mediated rejection; DSA, donor specific antibody; pDQ, predicted DQ.

Data presented as n (%)

이식 후에 de novo DQ 또는 pDQ DSA 가 발생한 군과 de novo DQ 또는 pDQ DSA 가 발생하지 않은 군으로 나누었을 때 de novo DQ DSA 또는 de novo pDQ DSA 가 발생한 군에서 ABMR 로 치료를 받을 확률이 유의하게 높았다 ($P = 0.001$) (Table 18).

Table 18. Clinical presentation of deceased donor kidney transplantation recipients according to de novo DQ DSA

	De novo DQ or pDQ DSA (+) (n=13)	De novo DQ or pDQ DSA (-) (n=101)
ABMR suspected and treated [†]	7 (53.8)	15 (14.9)
Biopsy_ABMR confirmed	5 (38.5)	7 (6.9)
Biopsy_suspicious	2 (15.4)	6 (5.9)
Clinically_suspicious	0 (0.0)	2 (2.0)
ABMR not treated	6 (46.2)	86 (85.1)
Clinically_suspicious not	4 (30.8)	36 (35.6)
Biopsy_ABMR confirmed not	2 (15.4)	50 (49.5)

[†]ABMR treatment rate was significantly higher in patients with de novo DQ or pDQ DSA than patients without de novo DQ or pDQ DSA ($P = 0.001$).

Abbreviation: ABMR, antibody mediated rejection; DSA, donor specific antibody; pDQ, predicted DQ.

Data presented as n (%)

5. 뇌사자 기증 신장이식 환자와 생체 기증 신장이식 환자의 비교

뇌사자 기증 신장이식 환자와 생체 기증 신장이식 환자를 대상으로 DQ DSA 발생과 임상 경과를 비교하였다 (Table 19). 뇌사자 기증 신장이식을 받고 기증자의 DQ를 모르는 환자에 대해서는 pDQ DSA를 분석에 사용하였다. 생체이식의 경우 2013년도에 이식을 시행한 환자들만 분석에 포함하였는데, 당시 PRA 검사가 보편화되기 전이라 이식 전 시점에 PRA 검사를 시행하지 않은 케이스들이 많았다.

뇌사자 기증 신장이식 환자와 생체 기증 신장이식 환자 중 이식 전후 DQ DSA 양성인 군에서 ABMR 치료를 받는 경우는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P = 0.109$).

Table 19. Clinical presentation of patients who had kidney transplantation with DQ DSA

	Deceased donor KT with DQ or pDQ DSA (+) (n=38)	Living donor KT with DQ DSA (+) (n=12)
ABMR suspected and treated [†]	22 (57.9)	10 (83.3)
Biopsy_ABMR confirmed	18 (47.4)	7 (58.3)
Biopsy_suspicious	3 (7.9)	3 (25.0)
Clinically_suspicious	1 (2.6)	0 (0.0)
ABMR not treated	16 (42.1)	2 (16.7)
Clinically_suspicious not	12 (31.6)	1 (8.3)
Biopsy_ABMR confirmed not	4 (10.5)	1 (8.3)

[†]ABMR treatment rate was not significantly different in patients who had deceased donor kidney transplantation and living donor kidney transplantation with DQ or pDQ DSA ($P = 0.109$).

Abbreviation: ABMR, antibody mediated rejection; DSA, donor specific antibody; KT, kidney transplantation; pDQ, predicted DQ.

Data presented as n (%)

6. 뇌사자 기증 신장이식 환자에서 pDQ DSA 동정 사례 분석

뇌사자 기증 신장이식 환자 중 기증자의 HLA-DQ를 모르는 167명 중 24명에서 이식 전 또는 후 pDQ DSA가 동정되었다. 이 중 이식 후 pDQ DSA가 단독으로 동정된 환자가 5.4% (9/167), 이식 후 pDQ DSA가 MFI 3,000 미만의 다른 DSA와 함께 동정되는 환자가 2.4% (4/167), pDQ DSA가 MFI 3,000 이상의 다른 DSA와 함께 동정되는 환자가 6.0% (10/167) 이었다.

이식 후 pDQ DSA가 단독으로 동정된 환자 9명 중 2명은 *clinically_suspicious not*, 2명은 *biopsy_confirmed not*, 5명은 *biopsy_ABMR confirmed*로 분류 되었다. 조직검사와 PRA 검사 결과 ABMR로 확진된 5명 중 4명은 혈장교환술, rituximab, IVIG 등 의 ABMR 치료를 받았으나, 한 명은 스테로이드와 타크로리무스(tacrolimus) 치료를 받았다. 상기 다섯 중례 중 한 환자에서만 신장 조직검사에서 c4d가 양성 소견을 보였으며, 다른 케이스들은 신장 조직검사에서 C4d 음성으로 ABMR 감별이 필요하다(rule out antibody-mediated rejection without evident complement deposition)는 소견을 보였다 (Table 20). 해당 환자들에서 pDQ DSA가 처음 검출된 시기는 평균적으로 이식 후 4년 째이었고, 처음 검출될 때의 pDQ DSA는 평균 MFI는 5,747이었다.

pDQ DSA와 MFI 3,000 미만의 다른 DSA가 함께 동정된 케이스는 4명이었다. 이 중 class I DSA가 동반된 경우가 3건, class II DSA가 동반된 경우가 1건이었다. 상기 케이스 중 조직검사와 PRA 검사를 통해 ABMR로 확진받은 환자가 3명이었다. 3명 중 2명은 DQ 이외의 다른 항체가 동반되었다가 이후 소실되는 양상을 보였다. 나머지 1명은 이식 후 PRA 검사를 한 번만 시행하여 항체 변화 추이를 알 수 없었다 (Table 21).

뇌사 기증자의 DQ를 모르는 환자에서 이식 후 PRA 검사 상 다른 HLA 항체 없이 DQ 항체만 MFI 5,000 이상으로 검출되었으나, 예측 프로그램 상 해당 DQ 항체가 DSA는 아니었던 환자가 4명 있었다. 이들 중 한 명은 ABMR 치료를 받았는데 해당 환자와 기증자의 HLA-A, -B, -DR은 일치하였다 (Table 22).

Table 20. Characteristics of patients who developed pDQ DSA without any other antibodies after kidney transplantation and confirmed as antibody-mediated rejection by kidney biopsy

Case	KT date	PRA test date	pDQ DSA (MFI)	Kidney biopsy result	ABMR Tx [†]
1	2010.08	2018.09	None	NT	
		2017.01	None	NT	
		2014.09	DQ5(5,129)	v0, g1, cg0, ptc1 (diffuse), c4d0 (0 %)	Yes
		2013.06	None	NT	
2	2008.11	2015.11	DQ6(4,596)	v0, g2, cg0, ptc2 (focal), c4d0 (0 %)	Yes
3	2008.04	2018.08	DQ9(15,205)	v0, g2, cg3, ptc3 (diffuse), c4d1 (5 %)	Yes
		2017.04	DQ9(12,505)	NT	
		2016.10	DQ9(13,102)	NT	
		2015.11	DQ9(9,315)	v0, g1, cg0, ptc2 (diffuse), c4d1 (< 5 %)	Yes
4	2017.06	2017.12	DQ7(4,437)	v1, g2, cg1, ptc3 (focal), c4d0 (0 %)	Yes
5	2011.06	2014.08	DQ7(5,260)	v0, g1, cg1, ptc1 (diffuse), c4d0 (0 %)	No

[†]ABMR treatment includes therapeutic plasma exchange, rituximab and intravenous immunoglobulin.

Abbreviations: ABMR, antibody-mediated rejection; cg, Banff chronic glomerulopathy score; DSA, donor-specific antibody; g, Banff glomerulitis score; KT, kidney transplantation; NT, not tested; pDQ, predicted DQ; ptc, Banff peritubular capillaritis score; Tx, treatment; v, Banff intimal arteritis score.

Table 21. PRA and biopsy results of patients with predicted DQ DSA and non-DQ DSA less than MFI 3,000

Case	KT date	Test date	non-DQ DSA (MFI)	pDQ DSA (MFI)	Kidney biopsy result	ABMR Tx [†]
6	2012.02	2017.04	None	DQ2(12,985), DQ6(2,834)	NT	
		2016.09	NT	NT	v0, g1, cg1, ptc2 (focal), c4d1 (5 %)	Yes
		2016.07	None	DQ2(8,848), DQ6(3,772)	v0, g1, cg2, ptc3 (diffuse), c4d3 (70 %)	
		2016.06	None	DQ2(11,386), DQ6(5,504)	NT	
		2016.04	None	DQ2(9,413), DQ6(5,139)	v0, g3, cg1, ptc3 (diffuse), c4d3 (70 %)	Yes
		2016.02	A33(1494)	DQ2(11,189), DQ6(7,504)	v0, g1, cg1, ptc3 (diffuse), c4d3 (60%)	Yes
7	2010.09	2019.02	None	DQ9(3,961)	v1, g1, cg0, ptc2 (focal), c4d0	Yes
		2018.11	None	DQ9(3,683)	NT	
		2018.09	None	DQ9(2,848)	NT	
		2018.07	None	DQ9(3,648)	NT	
		2018.06	None	DQ9(5,322)	v0, g2, cg0, ptc3 (diffuse), c4d1 (7 %)	Yes
		2014.05	NT	NT	v0, g3, cg0, ptc3 (diffuse), c4d0 (0%)	Yes
		2014.04	DR13(1772)	DQ9(14,351)	v0, g1, cg0, ptc0, c4d0 (0 %)	
8	2015.09	2017.06	B51(1654)	DQ6(2,798)	v0, g2, cg1, ptc3 (diffuse), c4d1 (5 %)	Yes
9	2010.08	2018.06	None	DQ7(14,907)	NT	mPD
		2017.01	A2(1,019)	DQ7(10,249)	NT	

[†]ABMR treatment includes therapeutic plasma exchange, rituximab and intravenous immunoglobulin.

Abbreviations: ABMR, antibody-mediated rejection; cg, Banff chronic glomerulopathy score; DSA, donor-specific antibody; g, Banff glomerulitis score; KT, kidney transplantation; mPD, methylprednisolone; NT, not tested; pDQ, predicted DQ; ptc, Banff peritubular capillaritis score; Tx, treatment; v, Banff intimal arteritis score.

Table 22. Kidney transplant recipients with HLA-DQ unknown donor, who developed post KT non-DSA DQ antibody with MFI over 5,000 without any other antibodies

Case	KT date	Test date	pDQ nDSA	Kidney biopsy result	ABMR Tx [†]
10	2012.01	2019.01	DQ7(11,739)	v0, g1, cg0, ptc3, c4d0 (0 %)	No
		2018.07	none		
11	2009.02	2012.09	DQ9(9,215)	v1, g0, cg0, ptc0, c4d1(<5%)	No
12*	2009.01	2014.03	DQ7(6,962)	v0, g2, cg0, ptc2 (focal), c4d0 (0%)	Yes
13	2013.09	2018.08	DQ7(7,111)	NT	No
		2014.06	none		

[†]ABMR treatment includes therapeutic plasma exchange, rituximab and intravenous immunoglobulin.

*Donor and patient HLA-A, -B, -DR identical.

Abbreviations: ABMR, antibody-mediated rejection; cg, Banff chronic glomerulopathy score; DSA, donor-specific antibody; g, Banff glomerulitis score; KT, kidney transplantation; nDSA, non-DSA; NT, not tested; pDQ, predicted DQ; ptc, Banff peritubular capillaritis score; Tx, treatment; v, Banff intimal arteritis score.

고찰

말기신부전 환자가 받을 수 있는 치료는 투석과 신장이식이 있다. 투석을 지속하는 것보다 신장이식을 받는 것이 환자의 삶의 질과 생존율을 향상시키는 것으로 알려져 있으나, 신장이식 후 생존율은 일반 인구 집단에 비해 낮은 편이다.¹⁶⁾ 그 원인은 다양한데 당뇨병이 있는 환자에서는 심혈관 질환에 의한 사망이 많은 부분을 차지하고, 당뇨 환자가 아닌 경우는 면역억제와 관련된 감염이나 암 발생이 사망률에 크게 기여한다고 알려져 있다.¹⁷⁾ 면역억제를 줄일 수 있는 방법 중 하나는 거부반응의 위험을 줄이는 것이며, 거부반응을 줄일 수 있는 방법 중 하나는 HLA 불일치를 줄이는 것이다.

이식 후 거부반응은 불일치하는 HLA 항원에 대한 숙주의 면역학적 공격에 의해 발생한다. 신장이식에서 HLA-A, -B, -DR 불일치는 장기생존율(long-term survival)에 나쁜 영향을 미친다는 것이 잘 알려져 있다. 2018년 미국의 Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR) 자료에 따르면 생체 신장이식의 이식편 1년 생존율은 95%, 5년 생존율은 80%, 10년 생존율은 60% 가량인 것으로 알려져 있으나 수혜자와 공여자의 HLA 불일치 정도에 따라 차이가 있다. HLA-A, -B, -DR 이 완전히 일치하는 형제, 자매로부터 기증을 받은 경우의 이식편 5년 생존율은 대략 85%인 반면, 하나의 일배체형이 일치하는 가족으로부터 기증을 받은 경우의 이식편 5년 생존율은 75%이다.¹⁸⁾ 뇌사자 기증 신장이식의 이식편 생존율은 1년에 90%, 5년에 65%, 10년에 40% 가량인데, 이 또한 HLA-A, -B, -DR 항원 불일치 여부에 따라 차이를 보이는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾

한국은 이식 대기자에 비해 뇌사자 기증 고형 장기의 공급이 매우 부족하다. 한국장기조직기증원의 자료에 따르면 2018년 기준, 신장이식 대기자는 22,620명인 반면 뇌사 기증자로부터 신장이식을 받은 환자는 2018년 한 해 동안 807명에 불과하다.²⁰⁾ 따라서 HLA-A, -B, -DR 항원 불일치를 줄여 이식편의 장기생존율을 높이는 것은 뇌사자 기증 장기를 효과적으로 분배하는 방식이라 할 수 있다.²¹⁾

HLA-DQ 항원은 1980년대 초에 혈청학적 방법에 의해 발견되었다. 초기에는 HLA-MB 또는 HLA-DC라는 이름으로 불리웠다.^{22, 23)} 당시 HLA-DQ 항원 다형성을 밝히기 위해 시행되던 연구는 방사선 동위원소와 전기영동, 고성능 액체크로마토그래피를 이용한 매우 노동, 시간 집약적인 방법이어서 연구에 제약이 있었다.^{24, 25)} 또한, DQ 항체가 이식 초기의 임상 경과에는 거의 영향을 미치지 않는다는 초기 연구 결과들이

발표되면서 HLA-DQ 는 크게 주목 받지 못하였다.^{3,26)}

이식 후 DQ 항체가 높은 빈도로 검출되는 것은 2003년 Iniotaki-Theodarakis 등에 의해 처음 보고 되었다.²⁷⁾ 이들은 신장이식 후 첫 6개월 동안 110명 중 11명의 환자에서 DSA가 검출되었으며, 이 11명의 환자 중 10명 (90.9%)에서 DQ DSA가 동정되었다고 보고하였다. 그러나 해당 연구는 이식 초기에 검출된 DQ DSA 와 거부반응 또는 이식편 소실과의 연관성을 찾지 못했다.

이후 시행된 다른 연구들에 의해 HLA-DQ DSA 발생이 이식편 예후에 중요한 영향을 미치는 것이 밝혀졌다. 신장이식 후 3년 동안에 15~30%의 환자에서 DSA가 발생하고, 이들 중 33~77%는 DQ DSA가 발생한다는 연구들이 발표되었다. 또한 이식편을 소실하는 환자의 50~66%에서 DQ DSA가 검출된다는 연구 보고들이 발표되었다.^{6, 7, 28-31)} 이를 통해 HLA-DQ의 임상적 중요성이 부각됨에 따라 Eurotransplant는 2011년부터, UNOS는 2015년부터 뇌사 기증자를 대상으로 HLA-DQ 형별 검사를 의무화하게 되었다. 이는 최근 SAB PRA 검사를 통한 DQ 항체의 특이적인 검출이 여러 검사실에서 용이해진 것과도 관련이 깊다. 즉, HLA-DQ 불일치가 뇌사 장기의 배분 원칙에 영향을 주지는 않지만 HLA-DQ DSA 여부를 조기에 정확히 판정하여 ABMR의 진단과 치료를 조기에 할 수 있도록 하기 위함이다.

이처럼 검사 기법의 발전 및 HLA-DQ DSA의 임상적 의의에 대한 연구 결과 누적에도 불구하고 우리나라는 2019년 현재까지 뇌사 기증자의 HLA-DQ 형별 검사를 필수 검사 항목에 포함하고 있지 않다. 따라서 뇌사 기증자 신장이식을 받은 환자의 PRA 검사 상 DQ 항체가 검출되었을 때 DSA 여부를 판별할 수 없다. 이에 본 연구에서는 HLA 유전자의 LD를 이용하여 HLA-A, -B, -DR 형별을 통해 DQ를 예측하고 이를 임상적으로 적용하였을 때의 유용성에 대해 분석하였다.

인간 유전체에는 LD 가 어느 정도 유지되는 구간인 LD block 이 존재한다. HLA 유전자는 6번 염색체 단원에 존재하며, HLA-C/B에서부터 HLA-DRB1/DQB1 까지에 걸쳐 있는 extended haplotype 은 민족마다 특징적인 common haplotype 을 보인다.^{32, 33)} 따라서 한국인에 고유한 LD 패턴을 안다면 HLA-A, -B, -DR 결과를 이용하여 HLA-DQ 결과를 예측할 수 있다.

Lewontin 과 Kojima 는 두 개 혹은 그 이상의 대립유전자가 무작위적으로 유전되지 않고, 가까운 거리에 있는 특정 유전자가 함께 유전되는 현상을 일컬어 linkage disequilibrium 이라는 용어를 처음 사용하였다.³⁴⁾ LD는 통계적인 방법을 이용하여 수

치로 표현할 수 있다는 장점이 있다. 예를 들어 한국인에서 A33 이 16.6%이고 B44 가 10.6%이고, A33-B44 일배체형이 무작위 조합에 의해 만들어진다면 해당 일배체형에서 집단에서 동정될 확률은 둘의 단순 곱인 1.8%가 되어야 한다. 그러나 한국인에서는 A33-B44 일배체형이 8.2%나 관찰된다. 즉, 예상되는 관찰 빈도와 실제 관찰 빈도의 차이가 6.4%가 된다. 이러한 계산은 대립유전자 빈도에 의해 상당히 영향을 받을 수 밖에 없다. 따라서 본 연구에 사용된 것과 같은 방식으로 정규화 과정을 한 번 더 거치게 된다. 이는 $P_1 = 0.166$ (A33 빈도), $P_2 = 1 - P_1 = 0.834$, $P_3 = 0.106$ (B44 빈도), $P_4 = 1 - P_3 = 0.894$ 라고 할 때, $P_1P_4 = 0.166 \times 0.894 = 0.148$, $P_2P_3 = 0.834 \times 0.106 = 0.088$ 중에서 작은 값인 0.088로 예상되는 관찰 빈도와 실제 관찰 빈도의 차를 나누어 주는 것이다 ($0.064/0.088 = 0.727$). 이렇게 구한 LD 값은 -1에서 1 사이의 값을 가지게 되는데, 1에 가까울수록 높은 LD를 보이는 것으로 판단할 수 있다. 실제 일배체형 빈도에서 각 대립유전자가 무작위로 유전되었을 확률(각 대립유전자의 빈도의 곱)의 차를 LD coefficient라고 한다. 상기 예제의 경우 A33-B44 haplotype의 LD coefficient는 0.064이다. 그리고 LD coefficient를 상기한 방법으로 정규화한 것을 Lewontin's LD (D')라고 한다.

LD가 발생하는 이유로는 크게 두 가지가 있다.³⁵⁾ 첫째는 멀지 않은 과거에서 다른 동형접합체를 가지고 있는 인구집단이 섞이고, 후대로 유전이 되면서 유전자 교차(crossing over)가 서서히 일어나는 과정 중에 있기 때문에 linkage equilibrium 상태에 도달하지 않은 경우이다. 둘째는 haplotype으로 존재하는 특정 대립유전자 조합이 선택적으로 생존에 도움이 되기 때문에 오랜 세월이 흘렀음에도 자연선택에 의해 해당 haplotype이 해당 지역에서 높은 빈도로 살아남았을 가능성이다. 이러한 두 가지 기전이 섞여서 각 민족마다 독특한 haplotype 빈도 분포를 나타내는 것으로 여겨지고 있다. 아래 표는 민족마다 가장 높은 빈도로 발견되는 HLA-DR4 대립유전자의 종류가 다르다는 것과 (Table 23) 민족마다 HLA-DR4에 연관되어 있는 HLA-DQ의 종류가 다르다는 것을 잘 보여주고 있다 (Table 24).³⁶⁾

Table 23. The three most common HLA-DR4 alleles in different racial groups³⁶⁾

	White	African-American	Asian-Pacific Islander	Hispanic
1	DRB1*04:01	DRB1*04:01	DRB1*04:05	DRB1*04:07
2	DRB1*04:04	DRB1*04:05	DRB1*04:03	DRB1*04:04
3	DRB1*04:07	DRB1*04:04	DRB1*04:06	DRB1*04:02

Table 24. Common HLA-DR4 alleles and it's DR-DQ linkage in different racial groups³⁶⁾

	White	African-American	Asian-Pacific Islander	Hispanic
DRB1*04:01	DQB1*03:01/03:02	DQB1*03:01/03:02	DQB1*03:01/03:02	DQB1*03:01/03:02
DRB1*04:03	DQB1*03:02/03:05	DQB1*03:02/03:01	DQB1*03:02/03:05	DQB1*03:02/03:05
DRB1*04:04	DQB1*03:02/04:02	DQB1*03:02/04:02	DQB1*03:02/04:02	DQB1*03:02/04:02
DRB1*04:05	DQB1*03:02/02:01	DQB1*03:02/05:03	DQB1*04:01/04:02	DQB1*03:02/02:01
DRB1*04:06	DQB1*04:02	DQB1*04:02/02:01	DQB1*03:02	DQB1*04:02
DRB1*04:07	DQB1*03:01/02:01	DQB1*03:02/03:01	DQB1*03:02	DQB1*03:02/03:01

HLA-DQ 를 예측하는데 있어 LD 를 이용하는 알고리즘은 DR-DQ LD, B-DR-DQ LD 및 A-B-DR-DQ LD 중 어느 하나를 일관되게 사용해야 한다. 본 연구에서는 B-DR-DQ LD 를 이용하였다. 이는 HLA-B 에서부터 HLA-DRB1/DQB1 까지 LD block 이 형성되어 있다는 것이 잘 알려져 있기 때문이며, B-DR haplotype 의 종류가 많아 다양한 HLA 형별에 적용이 가능하기 때문이었다. 반면 DR-DQ LD 의 경우는 DR 항원의 종류가 적어 다양한 HLA 형별에 적용이 어렵고, A-B-DR-DQ LD 의 경우는 extended haplotype 의 범위를 벗어난다는 문제점이 있다.

또 다른 방법으로 인공신경망 기법을 이용하여 DQ 를 예측하였다. 인공신경망은 입력층과 은닉층, 출력층으로 구성되어 있다. 입력층에서 인풋 데이터를 받고, 여러 개의 은닉층을 거치면서 여러가지 함수에 따라 변환되는데, 다층 신경망에서 각 노드는 접해있는 다른 층의 노드들과 가중치를 가지고 연결되어 있다. 각 노드는 인접 노드로부터 받은 입력 값과 가중치를 사용하여 하나의 출력 값을 생성하는데, 이 출력 값은 다시 다른 노드들의 입력 값으로 이용된다. 학습을 통해 다층 신경망에서 노드를 따라 출력값이 변해가게 된다. 은닉층을 지나 마지막으로 출력층을 통해 DQ 결과가 나오게 된다. 본 연구에서는 HLA-A, -B, -DR, -DQ 형별을 모두 알고 있는 사람의 데이터를 이용하여 인공신경망을 트레이닝을 시켜 특정 HLA-A, -B, -DR 형별을 가질 때 가장 적합한 HLA-DQ 를 출력하도록 하였다.

한국인을 대상으로 DQ 예측 프로그램의 정확도를 분석하였을 때, LD 알고리즘(유전자형 정확도 75.4%, 대립유전자 정확도 87.1%)과 인공신경망을 통한 예측(유전자형 정확도 75.7%, 대립유전자 정확도 87.3%)은 유사한 정확도를 보였다. 두 가지 프로그램을 모두 적용하였을 때 한가지 예측 프로그램이라도 정확한 DQ 형별을 예측 할 확률은 genotype 수준에서 82.6% 이었다.

LD 와 인공신경망을 통한 예측 모두 DQ8 대립유전자의 정확도가 가장 낮았다. DQ8 의 예측 정확도는 LD 알고리즘으로 추정 시 62.0%, 인공신경망으로 추정 시 74.0% 이었다. 이는 DQ8 이 연관되어 있는 B-DR-DQ haplotype 의 LD 분포와도 관련이 있는 것으로 여겨진다. Table 25 는 HLA-B-DR-DQ8 haplotype 에서 HLA-B-DR 과 DQ8 의 LD 와 해당 haplotype 의 HLA-B, -DR 정보를 이용하여 DQ 를 예측하였을 때 HLA-B-DR 과 pDQ 의 LD 를 비교한 것이다. DQ8 이 포함된 74 종류의 HLA-B-DR-DQ8 haplotype 중 61 (61/74, 82.4%) 종류의 haplotype 에서 HLA-B-DR 이 DQ8 이 외의 다른 DQ 형별과 LD 가 더 높았다. 즉, 한국인에서 DQ8 과 연관이 있는 HLA-B-DR haplotype

은 DQ8에 특이적으로 높은 LD를 보이지 않고, 다른 종류의 DQ 형별과 유사하거나 더 높은 연관을 보였다. 따라서 해당 HLA-B-DR haplotype에 대해서는 본 연구에서 개발한 프로그램을 이용하여 정확한 예측이 어렵다. 해당 HLA-B-DR haplotype에서 예측된 DQ의 분포는 DQ2 2.7% (2/74), DQ4 23.0% (17/74), DQ5 1.4% (1/74), DQ6 20.3% (15/74), DQ7 24.3% (18/74), DQ8 17.6% (13/74), DQ9 10.8% (8/74) 이었다. 특정 HLA-B-DR haplotype을 지니는 경우, 실제 DQ 형별이 DQ8임에도 불구하고 잘못 예측하는 경우가 존재할 수 있으며 특히 DQ4, DQ6, DQ7로 잘못 예측할 확률이 높은 것으로 보인다.

Table 25. LD coefficient of patients with HLA-B-DR-DQ8 and HLA-B-DR-predicted DQ using same HLA-B-DR

HLA B-DR-DQ8 frequency (%)	HLA-B-DR-DQ8 (D')	HLA-B-DR-predicted DQ (D')
4.812	62-04-08 (0.885)	62-04-08 (0.885)
0.889	35-04-08 (0.474)	35-04-08 (0.474)
0.765	51-04-08 (0.313)	51-04-04 (0.540)
0.489	61-04-08 (0.337)	61-04-04 (0.410)
0.373	48-04-08 (0.558)	48-04-08 (0.558)
0.271	61-08-08 (0.220)	61-08-06 (0.366)
0.265	60-04-08 (0.157)	60-04-04 (0.586)
0.256	64-08-08 (0.701)	64-08-08 (0.701)
0.255	27-04-08 (0.458)	27-04-08 (0.458)
0.244	61-12-08 (0.170)	61-12-07 (0.681)
0.244	51-12-08 (0.101)	51-12-07 (0.436)
0.238	71-04-08 (0.253)	71-04-07 (0.414)
0.226	35-08-08 (0.344)	35-08-06 (0.455)
0.225	46-04-08 (0.564)	46-04-08 (0.564)
0.216	39-04-08 (0.965)	39-04-08 (0.965)
0.133	62-11-08 (0.032)	62-11-07 (0.787)
0.128	55-04-08 (0.103)	55-04-04 (0.747)
0.123	44-04-08 (0.078)	44-04-04 (0.775)
0.12	13-04-08 (0.249)	13-04-04 (0.568)
0.109	54-04-08 (-0.096)	54-04-04 (0.968)
0.087	51-08-08 (-0.051)	51-08-04 (0.395)
0.055	59-04-08 (-0.094)	59-04-04 (0.948)
0.053	75-04-08 (0.000)	75-04-04 (0.000)
0.052	38-04-08 (0.747)	38-04-08 (0.747)
0.047	56-04-08 (0.453)	56-04-08 (0.453)
0.046	52-04-08 (0.330)	52-04-04 (0.337)
0.046	64-04-08 (-0.060)	64-04-04 (1.033)
0.045	44-12-08 (0.185)	44-12-07 (0.647)
0.044	58-04-08 (0.038)	58-04-04 (0.690)
0.042	61-09-08 (-0.114)	61-09-09 (0.999)

0.035	60-08-08 (-0.039)	60-08-06 (0.988)
0.034	67-04-08 (0.292)	67-04-04 (0.494)
0.028	62-08-08 (-0.003)	62-08-06 (0.444)
0.028	37-04-08 (1.087)	37-04-08 (1.087)
0.027	54-08-08 (-0.092)	54-08-06 (0.940)
0.027	39-08-08 (-0.078)	39-08-06 (0.872)
0.027	46-08-08 (-0.118)	46-08-06 (0.979)
0.026	48-08-08 (0.067)	48-08-06 (0.272)
0.025	55-08-08 (0.019)	55-08-06 (0.575)
0.019	71-08-08 (-0.002)	71-08-06 (0.438)
0.018	62-09-08 (-0.094)	62-09-09 (0.910)
0.018	71-11-08 (0.332)	71-11-07 (0.499)
0.018	58-12-08 (0.623)	58-12-08 (0.623)
0.017	57-04-08 (0.403)	57-04-08 (0.403)
0.016	07-08-08 (-0.094)	07-08-07 (0.830)
0.016	54-11-08 (-0.014)	54-11-07 (0.955)
0.016	62-14-08 (-0.112)	62-14-07 (0.501)
0.015	60-09-08 (-0.099)	60-09-09 (1.029)
0.014	07-04-08 (0.051)	07-04-04 (0.616)
0.013	44-08-08 (-0.026)	44-08-06 (0.354)
0.012	46-09-08 (-0.117)	46-09-09 (0.939)
0.012	71-12-08 (0.125)	71-12-07 (0.628)
0.011	61-11-08 (-0.109)	61-11-07 (0.900)
0.01	35-12-08 (-0.115)	35-12-09 (0.429)
0.009	48-13-08 (0.596)	48-13-06 (0.713)
0.009	59-08-08 (0.596)	59-08-04 (1.329)
0.009	44-07-08 (-0.126)	44-07-02 (0.993)
0.009	44-13-08 (-0.129)	44-13-06 (0.999)
0.009	54-14-08 (-0.111)	54-14-05 (0.993)
0.009	58-08-08 (-0.020)	58-08-04 (0.374)
0.009	13-08-08 (-0.072)	13-08-06 (0.839)
0.009	62-07-08 (0.065)	62-07-02 (0.498)
0.009	63-04-08 (0.887)	63-04-08 (0.887)
0.009	52-08-08 (2.414)	52-08-06 (4.684)

0.009	58-11-08 (-0.023)	58-11-07 (0.731)
0.009	48-12-08 (-0.106)	48-12-07 (0.924)
0.009	51-09-08 (-0.124)	51-09-09 (1.019)
0.009	51-12-08 (0.101)	55-12-07 (0.921)
0.009	13-09-08 (-0.078)	13-09-09 (1.046)
0.009	54-12-08 (-0.091)	54-12-07 (0.860)
0.008	56-11-08 (-0.083)	56-11-07 (0.872)
0.002	35-09-08 (-0.125)	35-09-09 (1.046)
0.001	51-11-08 (-0.128)	51-11-07 (0.931)
0.001	48-11-08 (-0.128)	48-11-07 (0.955)

한국인의 HLA-A, -B, -DR 유전자형 빈도에 따른 HLA-DQ 예측 정확도는 LD 알고리즘과 인공신경망 모두 0.1% 이상의 빈도를 보이는 군에서 100%의 정확도를 보였으며, 0.025% 이상의 빈도를 보이는 군에서 90% 이상의 정확도를 보였다. 따라서 향후 본 연구결과를 임상에 적용하는데 있어 예측된 HLA-DQ 와 더불어 HLA-A, -B, -DR 유전자형 빈도에 따른 예측 정확도를 같이 제시함으로써 임상 활용도를 더 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Table 26 은 LD 알고리즘을 이용한 예측은 정확한 반면, 인공신경망을 이용한 예측이 부정확했던 일부 사례이다. Table 26 <증례 I>의 실제 HLA-DQ 는 DQ4, DQ6 인데 LD 알고리즘으로 DQ4, DQ6 를 예측하고, 인공신경망으로는 DQ6, DQ6 을 예측하였다. LD 알고리즘으로 예측한 HLA-B-DR-DQ (D')은 46-08-06 (0.979), 51-08-04 (0.395)로 높은 LD 를 보였으며, 가능한 두 번째 HLA-B-DR-DQ (D')은 46-08-06 (0.979), 51-08-06 (0.210)으로 LD 알고리즘에서 첫 번째로 예측한 DQ 의 신뢰도가 높았다. <증례 II>의 경우도 LD 알고리즘을 이용하여 예측하였을 때, B-DR-DQ haplotype 의 첫 번째 추정 값에 대한 HLA-B-DR-DQ (D')은 44-13-06 (0.999), 61-04-04 (0.410)인 반면 두 번째 추정 값은 44-13-06 (0.999), 61-04-08 (0.337)으로 첫번째 예측한 형별의 신뢰도가 더 높았다.

Table 26. Cases with accurately predicted DQ by linkage disequilibrium and falsely predicted by artificial neural network

Case	HLA -A, -B, -DR, -DQ	Genotype frequency DR,DQ / B,DR,DQ / A,B,DR / A,B,DR,DQ	DQ pred. by LD	DQ pred. by ANN	Genotype Frequency by ANN pDQ DR, pDQ / B, DR, pDQ	B-DR-pDQ 2*h1*h2 frequency(%) haplotype (D') by LD pDQ	Interpretation
I	02, 24 46, 51 08, 08 04, 06	0.148162 0.029974 0.010069 0.002755	04, 06	06, 06	0.4462 0.0256	1 st choice pDQ freq:0.02967 46-08-06(D:0.979) 51-08-04(D:0.395) 2 nd choice pDQ freq:0.02561 46-08-06(D:0.979) 51-08-06(D:0.210)	Strong LD with high D'
II	02, 33 61, 44 04, 13 04, 06	2.391717 0.067258 0.036411 0.020635	04, 06	06, 08	1.9180 0.0561	1 st choice pDQ freq:0.06622 44-13-06(D:0.999) 61-04-04(D:0.410) 2 nd choice pDQ freq:0.05612 44-13-06(D:0.999) 61-04-08(D:0.337)	DQ4 and DQ8 could not be discriminated

Abbreviations: ANN, artificial neural network; LD, linkage disequilibrium; pDQ, predicted DQ.

LD 알고리즘을 이용했을 때, 부정확하게 DQ를 예측한 사례를 분석해 보았다. Table 27 <증례 III> 환자의 HLA-B, -DR, -DQ genotype frequency는 0.000403% 인데, HLA-DR, -DQ genotype frequency는 0.871473%로 HLA-B 포함 여부에 따른 빈도 차이가 2,000 배 이상이다. 이 환자의 B-DR LD는 약하고 DR-DQ LD는 강한 것으로 생각된다. 이러한 경우에는 HLA-DR 정보만을 이용하여 HLA-DQ를 예측하는 것이 더 정확할 수 있다. LD 알고리즘은 B-DR-DQ 정보를 모두 고려하기 때문에 B-DR LD가 약한 유전자형에서 LD 알고리즘을 사용하는 경우 DQ 예측 정확도가 떨어진 것으로 여겨진다.

Table 27 <증례 IV>는 인공신경망으로 DQ4를 정확하게 예측하였지만, LD 알고리즘으로는 DQ4를 DQ8로 잘못 예측했다. 가능한 HLA-B-DR-DQ haplotype 조합 중 35-04-08 (D' 0.474)과 35-04-04 (D' 0.329) 모두 D' 이 0.3 이상의 값을 보이며 큰 차이를 보이지 않았다. LD 알고리즘은 HLA-B-DR haplotype을 생성하여 이 중 가장 높은 D' 을 갖는 DQ로 예측한다. 이처럼 가능한 여러 haplotype들이 유사한 LD를 보이는 경우에 LD 알고리즘이 오류를 범할 수 있다.

Table 27. Cases with accurately predicted DQ by artificial neural network and falsely predicted by linkage disequilibrium

Case	HLA -A, -B, -DR, -DQ	Genotype frequency DR,DQ / B,DR,DQ / A,B,DR / A,B,DR,D Q	DQ pred. by ANN	DQ pred. by LD	Genotype Frequency by LD pDQ DR, pDQ / B, DR, pDQ	B-DR-pDQ 2*h1*h2 frequency(%) haplotype (D') by LD pDQ	Interpretation
III	02, 02 27, 59 01, 08 05, 06	0.871473 0.000403 0.000000 0.000000	05, 06	05, 04	0.1447 0.0008	1 st choice pDQ freq:0.00078 27-01-05(D:1.001) 59-08-04(D:1.329) 2 nd choice pDQ freq:0.00043 27-01-05(D:1.001) 59-08-06(D:0.617)	Rare B-DR-DQ but frequent DR-DQ haplotype,. Newly introduced due to recombination between HLA class I and II
IV	02, 26 35, 35 04, 14 04, 05	1.427393 0.008746 0.003008 0.001057	04, 05	08, 05	1.1447 0.0112	1 st choice pDQ freq:0.01122 35-04-08(D:0.474) 35-14-05(D:0.675) 2 nd choice pDQ freq:0.00875 35-04-04(D:0.329) 35-14-05(D:0.675)	DQ4 and DQ8 could not be discriminated

Abbreviations: ANN; artificial neural network, LD; linkage disequilibrium, pDQ; predicted DQ.

LD 알고리즘은 HLA-B, -DR 정보를 이용하여 다양한 haplotype을 구성하고, 이 haplotype의 빈도($2 \times$ haplotype 1 \times haplotype 2)와 LD를 이용하여 DQ를 예측한다. 즉, 가장 높은 빈도를 보이는 haplotype 조합에서 가장 높은 D' 을 보이는 DQ를 선택한다. LD 알고리즘이 부정확하게 DQ를 예측한 사례를 검토해 본 결과 1순위 DQ 형별과 근소한 차이로 2순위로 예측된 DQ 형별이 실제 DQ 형별과 상당 부분 일치하는 것을 발견하였다. 이에 정확도 평가 대상 403 명 중 LD 알고리즘을 이용하였을 때 genotype 수준에서 불일치했던 99 명의 결과를 2순위 DQ를 적용하여 분석하였고, 그 결과 69 명(69/99, 69.7%)의 genotype이 정확하게 예측되었다(부록 Table VII). LD 알고리즘의 1순위 또는 2순위 DQ를 모두 고려했을 때의 genotype 수준 정확도는 92.6% (373/403)에 달했다. 그러나 본 연구에서는 LD 분포를 어떤 기준으로 취사선택 할 지에 대한 연구가 이루어지지 않아 향후 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

항체 수준에서의 정확도를 분석하였을 때, LD pDQ DSA의 임상적 정확도는 97.5% 이었으며, 민감도는 97.3%, 특이도는 98.6%를 보였다. 인공신경망의 pDQ DSA의 임상적 정확도는 96.6%이었으며, 민감도는 96.3%, 특이도는 98.6%이었다. DQ 예측 프로그램을 이용하였을 때의 DSA 일치율은 DQ 항원을 대상으로 분석한 일치율(LD 유전자형 75.9%, LD 대립유전자 87.1%, 인공신경망 유전자형 75.7%, 인공신경망 대립유전자 87.3%) 보다 높은 수준이었다. 이는 DSA 분석에 환자와 기증자의 DQ 형별이 모두 고려되며, 한국인에 흔한 항원 빈도와 항원에 따른 면역원성의 차이 등 다양한 요인이 DQ DSA 발생에 영향을 미치기 때문으로 생각된다. DQ 형별에 따른 pDQ DSA 위음성률을 분석하였을 때 LD 알고리즘으로 예측한 DQ7 DSA의 위음성률이 1.1%로 가장 높았다(Table 12). 871 명의 신장이식 환자를 2년 동안 추적관찰한 연구에서, DQ7 항원이 불일치 하는 경우 DQ7 DSA의 발생률은 20.8%로 DQ2 (10.8%, $P = 0.03$), DQ4 (2.7%, $P = 0.03$), DQ5 (7.5%, $P = 0.002$), DQ6 (9.5%, $P = 0.0065$), DQ8 (9.8%, $P = 0.06$), DQ9 (0.0%, $P = 0.03$) 항원이 불일치하는 경우보다 DSA가 더 많이 검출된다는 보고가 있다.³⁷⁾ 하지만, DQ7 DSA와 다른 DQ 항원에 대한 DSA 사이에 거부반응 ($P = 0.78$)이나, 이식편 소실 ($P = 0.34$)에 유의한 차이를 보이지는 않는 것으로 알려져 있다.

DSA가 아닌 DQ 항체를 예측프로그램에서 위양성으로 잘못 검출한 사례는 모두 MFI가 5,000 미만인 항체들이었다. DQ DSA가 단독으로 발생한 경우 이식편 소실 까지 11 개월이 걸리며 ABMR을 일으킨 DQ DSA의 평균 MFI는 4,000-16,000 이었다는 보고가 있다.^{8,38)} 이로 볼 때, DQ 예측프로그램에서 위양성으로 검출되는 MFI 5,000

미만의 항체들은 임상적인 의미가 적은 항체로 생각된다.

반면에 PRA 검사상 검출된 DQ DSA를 예측 프로그램을 사용했을 때 검출하지 못한 위음성 사례들은 추적 관찰하는 동안 지속적으로 5,000 이상의 높은 MFI를 보이는 경우가 상당수를 차지하였다. 이러한 결과는 전체 위음성 PRA 건수 대비 LD 알고리즘이 42.6%, 인공신경망 34.4%에 달했다. 이에 DQ 예측 프로그램을 이용한 PRA 분석에서 DSA로 검출이 되지 않더라도 이식 후 PRA 검사 상 동일한 DQ 항체가 반복적으로 동정이 된다면 LD 알고리즘 상 가능한 차순위의 DQ 형별의 가능성에 대해서도 살펴보아야 할 것이다.

Table 28의 증례는 2009년 신장이식을 시행한 환자로, 환자의 HLA는 A2, A30, B13, B27, Cw1, Cw6, DR1, DR7, DQ2, DQ5이고, 기증자의 HLA는 A30, A33, B13, B61, DR7, DR14, DQ2, DQ7으로 PRA 상 DQ7 DSA가 지속적으로 검출되는 환자였다. 하지만, 기증자의 DQ를 LD 알고리즘과 인공신경망 예측 프로그램을 이용하였을 때에는 DQ2, DQ5로 예측하여, DSA가 없는 것으로 분석하였다. 이 환자의 경우 LD 알고리즘에서 HLA-B-DR-DQ haplotype 13-07-02 ($D' 0.993$), 61-14-05($D' 0.951$)이 가장 D' 로 높고 해당 DQ를 적용하였을 때의 HLA-B, -DR, -DQ genotype 빈도가 0.079%로 높아 DQ2, DQ5가 가장 가능성이 높은 형별로 선택되었다. 기증자의 실제 DQ인 DQ2, DQ7은 HLA-B-DR-DQ haplotype 13-04-07 ($D' 0.141$), 61-07-02 ($D' 0.640$)으로 DQ2, DQ5보다 HLA-B-DR-DQ D' 가 낮지만, LD 알고리즘 상 가능한 DQ 결과 중 하나였다 (Table 29).

Table 28. PRA test results of a patient with false negative PRA DQ DSA, using donor HLA-DQ prediction by linkage disequilibrium and artificial neural network

PRA test date	DQ antibody (MFI)
2017-10-16	DQ8(3776), DQ9(4159), DQ7(10557)
2015-12-10	DQ4(6435), DQ7(8857), DQ8(9787), DQ9(11440)
2015-09-18	DQ7(6433), DQ4(7062), DQ9(9654), DQ8(9672)
2015-05-20	DQ4(7172), DQ7(9151), DQ8(10818), DQ9(11399)
2014-12-29	DQ4(11246), DQ8(15924), DQ7(17732), DQ9(17962)
2014-10-29	DQ7(5944), DQ6(7233), DQ9(9061), DQ8(10278), DQ4(10617)

Table 29. HLA-DQ predicted by HLA-B-DR-DQ linkage disequilibrium in a donor with HLA-A30, A33, B13, B61, DR7, DR14, DQ2, DQ7

HLA-B, -DR, -DQ genotype	B-DR haplotype	B-DR-pDQ 2*h1*h2 frequency (%) haplotype (D')
B13, B61	13-07	freq: 0.0790
DR7, DR14	61-14	13-07-02 (D:0.993)
DQ2,DQ7		61-14-05 (D:0.951)
	13-14	freq: 0.0001
	61-07	13-14-05 (D:0.333) 61-07-02 (D:0.640)
		freq: 0.00004 13-14-07 (D:0.141) 61-07-02 (D:0.640)

대립유전자에 따른 이식편 예후와 관련하여 기증자가 DQ8를 가지는 경우 급성 거부반응과 유의한 상관성이 있고, DQ5를 가지는 경우 이식편 소실과 유의한 상관성이 있다는 보고가 있다 ($P < 0.001$).⁴⁾ 본 연구에서 두 가지 예측 프로그램 모두 DQ5 항원의 정확도는 90% 이상이었다. 하지만, DQ8 항원의 경우 LD 알고리즘의 정확도가 62%, 인공신경망의 정확도가 74%로 낮았다. DQ DSA 정확도를 예측한 경우 전체 환자 의 1.1%에서 DQ8 DSA 가 위음성을 보였다. PRA 검사 상 DQ8 항체가 동정되는 경우 DQ 예측프로그램을 이용하여 분석하였을 때 DSA 가 아니더라도 MFI 변동 추이를 유심히 살펴봐야할 것으로 생각된다.

본 연구의 자료를 이용하여 DR, DQ 항원 불일치에 따른 DQ DSA 생성율에 대해서 분석한 결과, DQ DSA 발생률은 DR 항원과 DQ 항원이 모두 불일치(2MM)하는 경우 18.3% (22/120)로 가장 높았다. DQ 1 MM인 경우에는 DR 항원 불일치가 증가함에 따라 DQ DSA 발생률이 유의하게 증가했다 ($P = 0.006$). DQ 2 MM인 경우에는 DR 항원 불일치가 증가함에 따라 DQ DSA 가 유의하게 증가하지 않았다 ($P = 0.650$). DQ DSA 발생에 DR 항원 불일치 여부가 중요한 역할을 한다는 것은 여러 연구에서 보고된 바 있다.

Willicombe 등은 505 명 환자의 5 년 이식편 예후를 관찰 했을 때, DR match/DQ match, DR match/DQ MM, DR MM/DQ match, DR MM/DQ MM 군 사이의 이식편 생존 기간 ($P = 0.74$), rejection free survival ($P = 0.23$), 급성세포성거부반응 ($P = 0.73$)은 유의 한 차이가 없었으나, ABMR free survival 은 DR MM/DQ MM 군이 88.5%인 반면, DR match/DQ match, DR match/DQ MM, DR MM/DQ match 군은 98.0%, 97.4%, 98.6%로 DR MM/DQ MM 군에서 ABMR free survival 이 유의하게 낮음을 보고하였다 ($P = 0.001$). 또한 DR, DQ 불일치에 따른 DSA 발생률이 DR MM/DQ MM 군에서 그 외 군에 비해 유의하게 높아 ($P = 0.001$) DR 과 DQ 가 모두 불일치하는 경우 면역원성이 증가하는 것으로 보았다.⁶⁾

2004년부터 2012년 사이에 호주와 뉴질랜드에서 첫번째 신장이식을 시행하고, 분자유전 검사로 HLA-DQ 형별검사를 시행한 모든 환자($n = 788$)를 대상으로 한 연구에 따르면 HLA-DR은 HLA-DQ 불일치와 ABMR 발생 위험의 effect modifier 이었다 (P value for interaction $P = 0.02$).⁴⁾ HLA-DR 일치 여부에 따라 분석한 경우, HLA-DR 불일치가 한 개 이상인 경우에만 HLA-DQ 불일치와 ABMR의 상관성이 관찰되었고 adjusted HR은 2.50 이었다 ($P = 0.04$). HLA-DR 일치군에서는 HLA-DQ

불일치와 ABMR의 상관성이 관찰되지 않았다. DQ 일치군과 DQ 불일치군의 ABMR 누적발생률은 각각 이식 3개월 후에 3%, 5%, 이식 12개월 후에 3%, 7%, 이식 2년 뒤에 3%, 7%, 이식 3년 후에 4%, 8%로 유의한 차이를 보였다 ($P = 0.01$). 해당 연구에서 HLA-DQ 불일치와 이식편 소실은 유의한 상관관계를 보이지 않았다 ($P = 0.51$). 이는 해당 연구의 추적관찰기간이 5년으로 짧고, 이식편 소실에는 다양한 요인이 관여하기 때문으로 생각된다.

2018년 Leeaphorn 등은 UNOS에 등록된 신장이식 환자 중 HLA-DQ 불일치가 있는 9만명 이상의 환자를 대상으로 시행한 연구에서 HLA-DQ 불일치가 이식편 생존에 영향을 미친다는 내용을 보고하였다.⁵⁾ HLA-DQ 불일치 신장이식은 HLA-DQ 일치군에 비해 이식 후 1년 이내 급성거부반응의 발생 (11% versus 7%, $P < 0.001$)이 유의하게 높았다. 또한 냉허혈시간(cold ischemic time)이 17시간 이내인 뇌사자 기증 이식에서 HLA-DQ 불일치는 이식편 소설의 독립적인 위험인자였으며, 이식편 소설의 hazard ratio는 1.12 ($P = 0.02$)이었다. 하지만, 냉허혈시간이 17시간을 넘는 경우에는 DQ 불일치가 이식편 생존에 영향이 없는 것으로 보고하였다. 저자들은 DQ 불일치가 있는 경우 면역억제 치료를 강화하고, DSA 모니터링을 자주할 것을 권고하고 있다.

DQ 불일치가 있는 경우 DQ DSA의 발생과 급성 거부반응이 유의하게 증가하는 것은 많은 연구에서 일관되게 보고되고 있다. 또한, DQ DSA의 발생에는 DR 항원의 일치여부가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. HLA 불일치에 따른 de novo DSA 발생은 HLA-A, -B, -DR 보다 HLA-DQ에서 가장 높다.³⁹⁾

De novo DSA의 발생률은 4%에서부터 30%까지 연구마다 매우 큰 차이를 보인다.⁴⁰⁾ De novo DSA 중 DQ DSA가 차지하는 비율은 연구에 따라 33%에서 90%까지 이른다.^{27, 28, 41)} 이처럼 연구에 따라 de novo DSA의 빈도와 그 구성에 차이가 나는 이유는 기관마다 면역억제 프로토콜이 다르고, 검체 채취 시기나 검사 방법, MFI 컷오프가 상이한 것에 기인할 것이라고 생각된다.

DeVos 등은 preformed DSA가 없는 347명의 환자들을 대상으로 3년 동안 추적 관찰하였을 때, 62명 (62/347, 18%)의 환자에서 de novo DSA가 발견되었고, 이 중 48명 (48/72, 77%)의 환자는 DQ DSA가 있었다고 했다.⁷⁾ 이 중 HLA-A, -B, -DR 항체 없이 DQ DSA만 단독으로 발생한 환자는 33명 (33/48, 68%)이었다.

Willicombe 등은 신장이식을 시행한 505명의 환자를 대상으로 약 3년 동안 추적 관찰하였을 때, 92명 (92/505, 18%)에서 DSA가 발생하였으며 이 중 50명 (50/92, 54%)

에서 DQ DSA를 지니고 있었다고 발표했다. DQ DSA가 단독으로 발생한 환자는 24명 (24/50, 48%)이라고 보고하였다.

이처럼 이식 후 DQ DSA가 높은 빈도로 검출되는 것은 DQ 분자의 다형성이 그 원인일 수 있다. HLA-DR과 HLA-DQ 분자는 서로 다른 유전자에서 코딩되는 α 와 β 라는 두 가지 사슬로 구성된다. DR α 사슬은 다형하지 않지만, DQ α 사슬은 다형하며, 이로 인해 DQ는 DR에 비해 더 증가된 면역반응을 일으킬 수 있다.³⁶⁾

본 연구의 뇌사자 기증 신장이식을 받은 환자 319명 중 이식 전 또는 후에 DQ DSA 또는 pDQ DSA가 있는 환자 38명 중 ABMR 치료를 받은 환자는 22명 (22/38, 57.9%)이었으며, 이식 전 또는 후에 DQ 또는 pDQ DSA가 없는 환자 281명 중 ABMR 치료를 받은 환자는 22명 (22/281, 7.8%)로 이식 전후 pDQ 또는 DQ DSA가 있는 군에서 그렇지 않은 군에 비해 ABMR로 확진 또는 의심되어 치료를 받을 확률이 유의하게 높았으며 오즈비는 16.2이었다 ($P < 0.001$).

뇌사자 기증 신장이식을 받고, 이식 전후 PRA 검사를 모두 시행한 114명의 환자에서 이식 후 de novo DQ DSA 또는 de novo pDQ DSA가 검출된 환자 13명 중 7명 (7/13, 53.8%)이 ABMR 치료를 받았다. De novo DQ 또는 de novo pDQ DSA가 검출되지 않은 환자들은 101명 중 15명 (15/101, 14.9%)이 조직검사 상 ABMR로 확진받거나, 임상적으로 ABMR 치료를 받아, de novo DQ 또는 de novo pDQ DSA가 있는 군에서 ABMR이 확진되거나 임상적으로 의심되는 경우가 유의하게 많았다 ($P = 0.001$). De novo DQ 또는 pDQ DSA가 발생한 환자 13명 중 다른 HLA 항체가 동반되지 않고, DQ DSA만 발생한 환자는 2명이어서 de novo DQ DSA 단독 발생군과 de novo DQ와 다른 항체가 동반된 경우의 비교는 불가하였다. De novo DQ DSA가 단독으로 발생한 두 환자는 모두 조직검사를 시행하였으며, 그 결과 ABMR이 아닌 것으로 판단되었고, 각각 DQ7 (1,896), DQ5 (3,835)로 비교적 낮은 MFI를 보였다.

본 연구에서 이식 전후 DQ DSA 또는 pDQ DSA가 검출된 환자에서의 ABMR 발생 빈도는 57.9%로 다른 연구와 유사한 수준으로 생각된다.

DeVos 등이 신장이식 환자를 이식 후 3년 동안 추적 관찰한 연구에 따르면, DSA가 없는 군, DQ DSA가 단독으로 발생한 군, DQ DSA와 그 외 다른 HLA DSA가 함께 있는 군에서의 ABMR 발생률은 각각 11% (31/285), 21% (7/33), 67% (10/15)이었다. DQ DSA가 단독으로 발생한 군은 DSA가 없는 군에 비해 ABMR 발생이 두 배에 달했지만, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다 ($P = 0.11$). 연구 대상 중 가장 ABMR의 빈

도가 높았던 그룹은 DQ 와 DQ 이외의 다른 DSA 가 발생한 군이었다. 해당 연구에서는 DQ DSA 가 단독으로 존재하는 경우 MFI 4,000 미만에서는 ABMR 과 이식편 소실이 관찰되지 않았다고 보고했다.⁷⁾

Willecombe 등은 약 3 년 간의 추적 관찰에서 DQ DSA 가 이식편 소실, ABMR, transplant glomerulopathy 와 모두 유의한 상관관계가 있음을 보고했다 ($P < 0.0001$). 또한 다변량분석으로 HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ 항체와 이식편 소실, ABMR, transplant glomerulopathy 의 상관관계를 분석하였을 때 오직 DQ DSA 만이 이식편 소실 ($P = 0.0026$), ABMR ($P < 0.0001$), transplant glomerulopathy ($P < 0.0001$) 모두와 유의한 상관 관계가 있었다. 이식편을 소실한 환자군에서는 DQ DSA 의 평균 MFI 가 6,500 이었고, 이식편 기능이 유지된 군에서는 DQ DSA 의 MFI 가 3,000 으로 유의한 차이를 보였다 고 한다 ($P = 0.02$).⁶⁾ DQ DSA 검출 이후 이식편 소실까지는 평균 11 개월이 걸려, DQ 이외 DSA 1.47 개월보다 더 오랜 기간이 소요됐다. 해당 연구에서 DQ DSA 가 단독으로 발생했을 경우 MFI 4,000 이상일 때에만 ABMR ($P = 0.06$)과 이식편 소실 ($P = 0.06$)이 관찰된다고 보고 하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

Freitas 등은 284 명의 환자를 대상으로 신장이식 후 de novo DQ DSA 가 예후에 미치는 영향에 대해 보고하였다. 연구 기간은 이식 후 평균 6 년이었다. De novo DQ DSA 가 단독으로 발생한 환자의 41%에서 ABMR 이 발생하였으며, de novo DSA 가 검출되지 않은 환자의 19%에서 ABMR 이 발생하였고, 이는 통계적으로 유의한 차이였다고 밝혔다 ($P= 0.005$). DQ DSA 와 다른 DSA 가 동반된 경우 ABMR 발생률이 55%로 가장 높았다. DQ DSA 가 단독으로 존재할 때 ABMR 발생군의 평균 DQ DSA MFI 는 16,085 이었고, ABMR 을 일으키지 않은 군의 평균 MFI 는 10,045 로 유의한 차이를 보였다 ($P = 0.01$).⁸⁾

이번 연구에서 뇌사 기증자의 HLA-DQ 검사를 시행하지 않은 환자 중 이식 후 다른 DSA 없이 pDQ DSA 가 단독으로 발생한 환자가 9 명 (9/167, 5.4%) 있었다. 이 중 5 명의 환자가 조직검사와 PRA 검사 결과 ABMR 이 의심되었으나 5 명 중 4 명만 ABMR 치료를 받았다. pDQ9 DSA 가 있는 Table 20 의 증례 3 환자는 추적 관찰 기간 중 MFI 가 9,300 에서 15,000 까지 상승하였으며, 조직 검사 소견 상 ABMR 이 더 심해진 것으로 나타났다. DQ9 항원의 정확도는 LD 알고리즘이 90% 이상이며, DQ9 DSA 의 위음성률은 LD 알고리즘이 0.1%, 인공신경망이 0.2%로 낮다. 이 환자의 임상 경과와 DQ 예측 프로그램의 정확도를 종합적으로 볼 때, pDQ9 은 이 환자의 실제 DSA

의 가능성이 높은 것으로 판단된다. 이 환자는 여러 번의 ABMR 에피소드를 겪었고 2016년과 2017년에 각각 pDQ9 DSA 가 MFI 10,000 이상 나옴에도 불구하고, 당시 ABMR 치료를 진행하지 못했다. DQ 예측 프로그램을 이용한다면 DSA 분석이 불가하여 이처럼 치료를 시행하지 못하는 환자들에게 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

Table 20의 증례 5 환자는 이식 후 3년 째에 크레아티닌이 정상 범위이나 서서히 증가하는 PRA 추세를 보여 PRA 검사와 조직검사를 시행하였다. 당시 조직검사에서 C4d 음성이며 PRA 검사 상 DSA 분석이 되지 않았으며 환자의 크레아티닌도 정상범위 내에 있어서 스테로이드 치료만 받고, 혈장교환술이나 riutximab 등 ABMR 을 위한 추가적인 치료는 받지 않았다. DQ7은 항원수준에서의 정확도가 LD 알고리즘이 79.4%, 인공신경망이 74.8%이다. DSA 위음성은 LD 알고리즘이 1.1%, 인공신경망이 0.7%이다. 이 환자는 pDQ7 DSA 가 검출되고 약 5년이 지난 현재까지 크레아티닌이 정상범위로 유지되고 있다. 이러한 환자의 경우 PRA 추적검사를 통해 MFI 변동추이를 파악하는 것이 도움이 될 것으로 생각한다.

HLA-DQ를 모르는 뇌사 기증자에서 이식 후 pDQ DSA 와 MFI 3,000 이하의 다른 DSA 가 동반된 환자는 4명이 있었다. Table 21의 증례 6, 증례 7, 증례 8은 조직검사 결과 ABMR 로 확진된 환자로 모두 ABMR 치료를 받았다. 증례 9는 pDQ7 DSA 가 MFI 10,000 이상으로 지속되었다. 이 환자는 크레아티닌이 상승하여 스테로이드 치료를 받았고, 크레아티닌은 1.8 ~ 2.2 mg/dL 로 유지하고 있다. 해당 환자는 조직검사를 시행하지 않아 pDQ DSA 가 실제 DSA 인지 임상적으로 판단하기 어려우나, MFI 가 10,000 이상으로 높고, 추적 관찰에서 MFI 가 더 증가하는 소견을 보이므로 추가적인 검사를 통해 ABMR 을 진단하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

HLA-DQ를 모르는 뇌사 기증자에서 PRA 검사 상 DQ 항체가 여러 개 동정되었으나, 연구 분석 결과 pDQ DSA가 아닌것으로 판정된 환자가 있었다. 이를 중 DQ 항체의 MFI가 5,000 이상인 환자는 4명이었다. Table 22의 증례12의 경우 조직검사 결과 v0, g2, cg0, ptc2 (focal), c4d0 (0%)이며 당시 PRA 검사 상 DQ7 (6,962) 항체가 동정되어 DSA 여부를 알 수 없었지만 ABMR 치료를 시행했었다. 그런데 해당 환자의 경우 뇌사 기증자와 환자의 HLA-A, -B, -DR이 일치하며, 예측 프로그램 상으로는 DQ DSA는 없는 것으로 판단되었다. 이 환자는 조직검사 상 세포매개성 거부반응 소견과 C4d 음성으로 항체 매개성 거부반응의 가능성을 배제해야한다는 소견을 보였다. 해당 환자는 현재까지 크레아티닌이 1.5 mg/dL 의 수준을 유지하고 있다. 이 환자의 경우

환자와 기증자의 HLA-A, -B, -DR이 일치함으로 미루어볼 때 DQ7 항체가 DSA가 아니었을 가능성이 높다. 혀장 단독 이식 또는 혀장-신장이식 환자에서 급성 거부반응이 없는 경우 각각 \$32,000, \$52,000의 병원비용을 줄일 수 있으며, 기회감염의 위험을 낮출 수 있었다는 미국 연구진의 보고가 있다⁴²⁾. 이처럼 DQ 예측프로그램을 이용한다면 불필요한 ABMR 치료를 줄이고, 비용과 기회감염의 위험을 줄이는 데 도움이 될 것이다.

ABMR의 진단은 조직검사와 항체 여부로 결정할 수 있는데, DSA 분석이 어려운 상황에서는 신장 조직검사 상 C4d 양성 또는 ABMR과 관련있는 유전자의 발현 증가가 DSA를 대체할 수 있다. 하지만, ABMR 환자에서의 조직검사 상 C4d 양성은 그 민감도가 낮다. 신장기능 악화로 조직검사를 시행한 환자에서 미세혈관손상(microvascular injury)⁴³⁾ 있는 경우 가장 예민한 간접 면역형광법으로 C4d를 평가하여도 약 20% 정도는 음성으로 양성률이 낮기 때문에 2013년 Banff 미팅에서는 C4d-negative ABMR이라는 진단기준을 포함시켰다.⁴³⁾ 2017년 개정된 Banff 진단기준에서는 DSA 평가를 강력히 권장하는 대신 C4d-negative ABMR이라는 진단기준이 배제되었다.

Class II DSA는 class I DSA에 비해 de novo DSA 생성 후 거부반응이 발생하기까지 더 오랜 시간이 걸린다.⁴⁴⁾ 일반적으로 de novo DSA의 발생율은 이식 후 1년이 지나면 감소한다. 이식 1년 이후 발생하는 DSA는 대개 class II 항체이며 HLA class II는 이식편에 항상 발현되는 것이 아니기 때문에 이식편 기능 저하(graft dysfunction)까지의 시간도 오래 걸린다. 이식 장기에는 HLA class I (HLA-A, -B, -C)이 기본적으로 발현되어 있는데 이식 초기에 class I 항원이 면역반응을 유발하지 않거나 면역반응을 유발하더라도 적절한 치료를 통해 조절이 된다면 해당 항원에 대해서는 일종의 면역 무반응 상태에 있게 된다. 그러나 어느 정도의 시간이 흐른 후 감염 등 여러 가지 이유로 이식 장기에 염증이 유발되고 이로 인해 HLA class II (HLA-DR, -DQ)가 이식 장기에 발현되면 해당 항원에 대해서는 숙주가 면역반응을 유발할 수 있다. 따라서 이식 후 1년 이후에 검출되는 DQ de novo DSA는 이식편 손상의 직접적 마커라기보다 예후를 판단하는 간접적인 마커로서의 가치가 크다고 할 수 있다.^{30, 45)} DSA 분석을 통해 조기에 적극적으로 치료 개입을 시도하면 더 좋은 예후를 보일 수 있기 때문이다.

종합하자면 기증자의 DQ를 모르는 환자에서 PRA 검사 상 DQ 항체가 발생한 경우, DQ 예측 프로그램을 사용하면 ABMR의 진단 및 치료에 도움을 받을 수 있다. 해당

환자에서 DQ 예측 프로그램을 이용하여 PRA 분석을 시행하여 DQ DSA가 검출된다면 PRA 검사를 주기적으로 시행하면서 MFI 변동 추이를 살펴보며 신장 스캔이나 조직검사 등의 추가적인 검사를 시행해 보는 것을 권장한다. 해당 항체의 MFI가 5,000 이상이거나 이 외에 다른 DSA가 동반되었을 경우 더욱 적극적인 치료를 고려해야 할 것이다. 또한 DQ 예측 프로그램을 이용한 PRA 분석에서 DQ DSA가 검출되지 않더라도 PRA 검사 상 동일한 DQ 항체가 반복적으로 동정된다면 DQ 예측 프로그램이 부정확했을 가능성도 고려하여야 한다. 이 때, LD 알고리즘 상 가능한 다른 DQ 형별을 이용하여 PRA 분석을 시행해 볼 수 있으며 특히 DQ8 DSA는 ABMR과 유의한 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있으나, 본 예측 프로그램의 정확도는 낮은 편으로 DQ8과 연관 관계가 있는 HLA-B-DR haplotype을 보이는 경우 위음성의 가능성을 염두해야 한다. 하지만, 예측 프로그램의 위음성 가능성은 LD 알고리즘의 차순위 DQ를 적용한다면 상당 부분 해소할 수 있을 것으로 여겨진다.

본 연구에서는 DQ DSA의 임상적인 의미를 파악하고자 다양한 환자군을 대상으로 DQ DSA 또는 pDQ DSA 여부에 따른 ABMR 치료율을 비교하였다. 이 환자들을 장기적으로 관찰하여 ABMR free survival이나 이식편 생존율을 보는 것이 임상 경과를 더 잘 반영할 것으로 생각한다.

인공지능의 발전에 힘입어 의학의 여러 분야에 그 적용이 확대되고 있다. 환자의 검사 결과와 진료기록을 바탕으로 진단 및 치료에 도움을 줄 수 있는 임상적 의사결정 시스템(clinical decision support system)이 개발되어 여러 병원에서 이를 이용하고 있으며 IBM 사의 왓슨이 대표적이다. 또한 X-ray, 전산화단층촬영, 자기공명영상 등 영상의학 결과나 병리조직 등 기준에 사람이 육안으로 판독을 하였던 분야에 인공지능을 적용하여 판독에 도움을 받을 수 있도록 많은 연구가 진행되고 있다.

진단검사의학 분야에서 인공지능이 접목된 부분으로는 항핵항체검사나 말초혈액도말 혈구분석과 같은 이미지 결과를 판독하는데 일부 적용되고 있으며, 여러 가지 검사 결과를 종합적으로 판단하여 결과 보고에 도움을 주는 알고리즘을 개발하는 연구가 진행되고 있으나 널리 사용되고 있지는 않은 실정이다.⁴⁶⁻⁴⁸⁾ 본 연구에서는 진단검사의학 분야에 활용할 수 있는 HLA-DQ 예측 프로그램을 개발하였으며, 이처럼 새로운 분야의 인공지능 적용은 비용이나 인력 문제로 검사 수행에 어려움이 있는 분야에 도움을 줄 수 있으리라고 생각된다.

결론

본 연구에서는 LD 알고리즘과 인공신경망을 이용하여 한국인에서의 HLA-DQ를 예측하는 프로그램을 개발하였다. LD 알고리즘은 일관되게 HLA-B, -DR 정보를 이용하여 HLA-DQ를 예측하였고, 인공신경망은 HLA-A, -B, -DR 형별 정보를 선택적으로 이용하여 HLA-DQ를 예측하였다. 이 프로그램을 이용하여 뇌사기증자의 HLA-DQ를 예측하고, 이를 이용해 PRA 결과를 분석하여 예측된 DQ에 대해 DSA가 존재하는 경우 임상적으로 어떤 의미를 갖는지 분석해 보았다.

HLA-DQ 예측 프로그램은 전체 유전자형을 대상으로 하였을 때 LD 알고리즘이 75.4%, 인공신경망이 75.7%의 정확도를 보였다. 대립유전자를 대상으로 하였을 때에는 LD 알고리즘이 87.1%, 인공신경망이 87.3%의 정확도를 보였다. 예측된 DQ를 이용하여 PRA 분석하고 DQ DSA의 임상적 정확도를 분석하였을 때, 일치율은 LD 알고리즘이 97.5%, 인공신경망이 96.6%이었다.

예측된 DQ를 이용하여 PRA 분석을 하였을 때, DQ 또는 pDQ DSA가 있는 환자군이 DQ 또는 pDQ DSA가 없는 환자군에 비해 ABMR의 심하에 치료를 받을 확률이 유의하게 높았다 (OR 16.2, $P < 0.001$).

많은 전문가들이 뇌사 기증자의 HLA-DQ 형별 검사 도입의 필요성에 공감하고 있지만, 정책 변경이 필요하고 비용 문제도 간과할 수 없기에 이를 빠른 시일 내에 국내에 도입하기에는 어려울 것으로 생각된다. 추후 뇌사자 HLA-DQ 검사가 도입된다고 하더라도 그 전에 뇌사자 기증 신장이식을 받은 환자의 경우 기증자에 대한 추가 검사가 어려워 PRA 검사 상 DQ 항체가 나오더라도 그것이 DSA인지 아닌지 판단하기 어렵다.

본 연구를 통해 개발한 DQ 예측 프로그램은 기증자의 DQ 결과를 알지 못하는 이식 환자에서 DSA 여부를 파악하는데 유용하게 활용될 수 있다. 특히 우리나라는 아직까지 뇌사자 기증자의 HLA-DQ를 검사하지 않고 있다. 따라서 de novo DQ DSA로 인한 ABMR이 의심되는 환자에서 본 연구의 예측 프로그램은 빠른 진단과 치료를 결정하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 본 연구에서 개발된 예측 프로그램의 일부 부정확성을 고려하면 국내에서도 뇌사자 HLA-DQ 형별검사를 조속히 도입해야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Shi X, Lv J, Han W, Zhong X, Xie X, Su B, et al. What is the impact of human leukocyte antigen mismatching on graft survival and mortality in renal transplantation? A meta-analysis of 23 cohort studies involving 486,608 recipients. *BMC Nephrol* 2018;19(1):116.
2. Navarrete C, Jaraquemada D, Fainboim L, Karr R, Hui K, Awad J, et al. Genetic and functional relationship of the HLA-DR and HLA-DQ antigens. *Immunogenetics* 1985;21(1):97-101.
3. Bushell A, Higgins RM, Wood KJ, Morris PJ. HLA-DQ mismatches between donor and recipient in the presence of HLA-DR compatibility do not influence the function or outcome of renal transplants. *Hum Immunol* 1989;26(3):179-89.
4. Lim WH, Chapman JR, Coates PT, Lewis JR, Russ GR, Watson N, et al. HLA-DQ Mismatches and Rejection in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016;11(5):875-83.
5. Leeaphorn N, Pena JRA, Thamcharoen N, Khankin EV, Pavlakis M, Cardarelli F. HLA-DQ Mismatching and Kidney Transplant Outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018;13(5):763-71.
6. Willicombe M, Brookes P, Sergeant R, Santos-Nunez E, Steggar C, Galliford J, et al. De novo DQ donor-specific antibodies are associated with a significant risk of antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Transplantation* 2012;94(2):172-7.
7. DeVos JM, Gaber AO, Knight RJ, Land GA, Suki WN, Gaber LW, et al. Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. *Kidney Int* 2012;82(5):598-604.
8. Freitas MC, Rebellato LM, Ozawa M, Nguyen A, Sasaki N, Everly M, et al. The role of immunoglobulin-G subclasses and C1q in de novo HLA-DQ donor-specific antibody kidney transplantation outcomes. *Transplantation* 2013;95(9):1113-9.
9. Carta P, Di Maria L, Caroti L, Buti E, Antognoli G, Minetti EE. Anti-human leukocyte antigen DQ antibodies in renal transplantation: Are we underestimating

- the most frequent donor specific alloantibodies? Transplant Rev (Orlando) 2015;29(3):135-8.
10. Rumelhart DE, Hinton GE, Williams RJ. Learning internal representations by error propagation: California Univ San Diego La Jolla Inst for Cognitive Science; 1985.
 11. Xu B, Wang N, Chen T, Li MJapa. Empirical evaluation of rectified activations in convolutional network. 2015.
 12. Ioffe S, Szegedy CJapa. Batch normalization: Accelerating deep network training by reducing internal covariate shift. 2015.
 13. Srivastava N, Hinton G, Krizhevsky A, Sutskever I, Salakhutdinov R JTJoMLR. Dropout: a simple way to prevent neural networks from overfitting. 2014;15(1):1929-58.
 14. Kingma DP, Ba JJapa. Adam: A method for stochastic optimization. 2014.
 15. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. Am J Transplant 2018;18(2):293-307.
 16. Schnuelle P, Lorenz D, Trede M, Van Der Woude FJ. Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up. J Am Soc Nephrol 1998;9(11):2135-41.
 17. Briggs JD. Causes of death after renal transplantation. Nephrol Dial Transplant 2001;16(8):1545-9.
 18. Opelz G. Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies. Lancet 2005;365(9470):1570-6.
 19. Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Wilk AR, Robinson A, et al. OPTN/SRTR 2016 Annual Data Report: Kidney. Am J Transplant 2018;18 Suppl 1:18-113.
 20. 한국장기조직기증원. 뇌사기증자 장기이식현황 [online database] 2018 [cited 2019 June 20]. Available from : URL : <http://www.koda1458.kr/info/transplant.do#>.
 21. Israni AK, Salkowski N, Gustafson S, Snyder JJ, Friedewald JJ, Formica RN, et al.

- New national allocation policy for deceased donor kidneys in the United States and possible effect on patient outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2014;25(8):1842-8.
- 22. Goyert SM, Shively JE, Silver J. Biochemical characterization of a second family of human Ia molecules, HLA-DS, equivalent to murine I-A subregion molecules. *J Exp Med* 1982;156(2):550-66.
 - 23. Bono MR, Strominger JL. Direct evidence of homology between human DC-1 antigen and murine I-A molecules. *Nature* 1982;299(5886):836-40.
 - 24. Karr RW, Alber C, Goyert SM, Silver J, Duquesnoy RJ. The complexity of HLA-DS molecules. A homozygous cell line expresses multiple HLA-DS alpha chains. *J Exp Med* 1984;159(5):1512-31.
 - 25. Karr RW, Kannapell CC, Zangara RJ, Goyert SM, Silver J, Schwartz BD. An HLA-DR5 homozygous cell line expresses two DS (I-A-like) molecules. *J Exp Med* 1983;158(4):1374-9.
 - 26. Taylor CJ, Chapman JR, Fuggle SV, Ting A, Morris PJ. A positive B cell crossmatch due to IgG anti-HLA-DQ antibody present at the time of transplantation in a successful renal allograft. *Tissue Antigens* 1987;30(3):104-12.
 - 27. Iniotaki-Theodoraki AG, Boletis JN, Trigas G, Kalogeropoulou HG, Kostakis AG, Stavropoulos-Giokas CG. Humoral immune reactivity against human leukocyte antigen (HLA)-DQ graft molecules in the early posttransplantation period. *Transplantation* 2003;75(9):1601-3.
 - 28. Ozawa M, Rebellato LM, Terasaki PI, Tong A, Briley KP, Catrou P, et al. Longitudinal testing of 266 renal allograft patients for HLA and MICA antibodies: Greenville experience. *Clin Transpl* 2006:265-90.
 - 29. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation* 2013;95(3):410-7.
 - 30. Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RW. Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation* 2003;75(7):1034-40.
 - 31. Kobayashi T, Maruya E, Niwa M, Saji H, Kohara S, Katayama A, et al. Significant

- association between chronic antibody-mediated rejection and donor-specific antibodies against HLA-DRB rather than DQB in renal transplantation. *Hum Immunol* 2011;72(1):11-7.
32. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002;296(5576):2225-9.
 33. Otegbeye F. Understanding population-wide haplotype frequencies of human leukocyte antigen (HLA) alleles in linkage disequilibrium is important for hematopoietic stem cell transplantation. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia* 2017;39(3):187-8.
 34. Lewontin R, Kojima KiJE. The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. 1960;14(4):458-72.
 35. Vogel F, Motulsky AG. *Vogel and Motulsky's Human Genetics: Problems and Approaches*. (3rd ed): Springer Science & Business Media; (2013).
 36. Tambur AR. HLA-DQ antibodies: are they real? Are they relevant? Why so many? *Curr Opin Organ Transplant* 2016;21(4):441-6.
 37. Willicombe M, Brookes P, Blow M, Eva S, McLean A, Taube DJT. Immunogenicity of DQ7 HLA antigens in renal transplantation.: abstract# 2196. *Transplantation* 2014;98:12.
 38. Cole RT, Gandhi J, Bray RA, Gebel HM, Morris A, McCue A, et al. De novo DQ donor-specific antibodies are associated with worse outcomes compared to non-DQ de novo donor-specific antibodies following heart transplantation. *Clin Transplant* 2017;31(4).
 39. Cross AR, Lion J, Loiseau P, Charron D, Taupin JL, Glotz D, et al. Donor Specific Antibodies are not only directed against HLA-DR: Minding your Ps and Qs. *Hum Immunol* 2016;77(11):1092-100.
 40. Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation* 2011;91(10):1103-9.
 41. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meurette A, et al. Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-

- donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(9):2804-12.
42. Rudolph EN, Dunn TB, Mauer D, Noreen H, Sutherland DE, Kandaswamy R, et al. HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ Matching in Pancreas Transplantation: Effect on Graft Rejection and Survival. *Am J Transplant* 2016;16(8):2401-12.
43. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014;14(2):272-83.
44. Worthington JE, McEwen A, McWilliam LJ, Picton ML, Martin S. Association between C4d staining in renal transplant biopsies, production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome. *Transplantation* 2007;83(4):398-403.
45. Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee PH, Hung CJ, Chen YL, et al. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 2002;74(8):1192-4.
46. Rodellar J, Alferez S, Acevedo A, Molina A, Merino A. Image processing and machine learning in the morphological analysis of blood cells. *Int J Lab Hematol* 2018;40 Suppl 1:46-53.
47. Demirci F, Akan P, Kume T, Sisman AR, Erbayraktar Z, Sevinc S. Artificial Neural Network Approach in Laboratory Test Reporting: Learning Algorithms. *Am J Clin Pathol* 2016;146(2):227-37.
48. Cabitza F, Banfi G. Machine learning in laboratory medicine: waiting for the flood? *Clin Chem Lab Med* 2018;56(4):516-24.

부록

Table I. Two-digit allele frequency of HLA-A, -B, -DR in Korean (2n=5,603)

HLA-A	Allele Frequency (%)	HLA-B	Allele Frequency (%)	HLA-DR	Allele Frequency (%)	HLA-DQ	Allele Frequency (%)
02	28.75	62	10.24	04	22.17	06	25.89
24	23.07	44	10.01	13	10.23	05	15.92
33	15.85	51	9.75	15	10.08	07	14.08
11	10.68	61	9.28	09	9.77	04	13.01
26	6.54	54	6.85	08	9.5	08	11.53
31	5.78	35	6.02	14	8.29	09	11.53
30	4.43	58	5.84	12	7.58	02	8.04
03	1.76	13	5.18	01	6.55		
01	1.67	46	4.51	07	6.22		
32	0.66	07	4.18	11	4.84		
29	0.61	60	3.88	17	2.32		
68	0.17	48	3.52	10	1.64		
23	0.02	27	3.15	16	0.8		
34	0.01	52	2.59				
		75	2.06				
		55	2.05				
		59	2.04				
		37	1.5				
		71	1.35				
		64	1.23				
		39	1.23				
		38	1.01				
		67	0.8				
		56	0.6				
		08	0.47				
		57	0.33				
		47	0.14				
		50	0.12				
,		63	0.04				
		49	0.02				

Table II. Haplotype frequencies for A-B-DR and B-DR-DQ in Korean (2n=5,603)

No.	A-B-DR	Haplotype Frequency (%)	No.	B-DR-DQ	Haplotype Frequency (%)
1	33-44-13	4.68	1	44-13-06	5.738
2	33-58-13	2.81	2	62-04-08	4.812
3	24-07-01	2.531	3	54-04-04	3.472
4	33-44-07	2.28	4	07-01-05	3.168
5	11-62-04	2.135	5	58-13-06	3.099
6	30-13-07	2.122	6	61-09-09	2.889
7	24-52-15	1.891	7	44-07-02	2.619
8	24-54-04	1.716	8	46-08-06	2.536
9	02-46-08	1.664	9	13-07-02	2.526
10	02-27-01	1.556	10	27-01-05	2.167
11	24-62-04	1.296	11	52-15-06	2.166
12	33-58-17	1.293	12	51-09-09	1.739
13	02-62-04	1.275	13	59-04-04	1.633
14	24-59-04	1.061	14	58-17-02	1.62
15	24-61-09	1.027	15	61-14-05	1.563
16	02-54-04	0.952	16	13-12-07	1.4
17	01-37-10	0.878	17	37-10-05	1.317
18	30-64-04	0.788	18	51-04-04	1.17
19	02-61-09	0.76	19	62-15-06	1.022
20	26-61-09	0.754	20	46-09-09	0.979
21	02-46-09	0.725	21	51-15-06	0.924
22	24-51-09	0.723	22	35-04-08	0.889
23	02-54-15	0.716	23	54-15-06	0.888
24	02-13-12	0.699	24	51-14-05	0.82
25	02-61-14	0.66	25	35-15-06	0.786
26	24-51-04	0.638	26	54-08-06	0.769
27	02-51-14	0.628	27	51-04-08	0.765
28	02-51-04	0.588	28	64-04-04	0.76
29	02-51-12	0.586	29	61-15-06	0.758
30	11-54-04	0.568	30	62-11-07	0.752
31	02-48-14	0.558	31	35-04-04	0.693
32	02-51-09	0.546	32	51-14-07	0.671
33	03-44-13	0.519	33	60-04-04	0.667
34	02-35-14	0.51	34	61-12-07	0.665
35	02-35-04	0.509	35	48-14-05	0.651
36	26-62-14	0.496	36	62-12-07	0.642

37	24-51-14	0.473	37	35-14-05	0.631
38	24-35-04	0.468	38	51-12-07	0.612
39	31-51-08	0.454	39	51-08-04	0.585
40	02-38-15	0.451	40	35-11-07	0.578
41	02-61-12	0.45	41	61-04-04	0.577
42	29-07-08	0.437	42	48-09-09	0.567
43	02-75-15	0.428	43	62-14-07	0.561
44	02-59-04	0.424	44	60-09-09	0.556
45	11-13-12	0.413	45	38-15-05	0.544
46	24-61-14	0.398	46	62-04-04	0.541
47	11-51-04	0.387	47	61-11-07	0.54
48	24-46-08	0.383	48	44-04-04	0.537
49	02-61-04	0.382	49	54-14-05	0.528
50	24-54-08	0.381	50	75-15-06	0.528
51	02-62-12	0.369	51	39-08-06	0.528
52	24-51-15	0.369	52	62-09-09	0.518
53	32-44-04	0.367	53	51-08-06	0.505
54	02-35-12	0.361	54	48-11-07	0.497
55	02-62-11	0.355	55	61-04-08	0.489
56	26-62-04	0.352	56	55-04-04	0.484
57	24-60-04	0.345	57	61-08-06	0.46
58	24-61-12	0.338	58	60-11-07	0.457
59	02-48-11	0.331	59	35-09-09	0.438
60	31-61-14	0.322	60	60-08-06	0.431
61	11-55-04	0.321	61	60-15-06	0.428
62	02-35-11	0.321	62	62-14-05	0.428
63	02-54-08	0.32	63	07-08-07	0.426
64	33-58-04	0.316	64	08-17-02	0.416
65	24-60-09	0.302	65	75-12-07	0.412
66	02-62-15	0.297	66	60-14-05	0.404
67	26-62-15	0.296	67	51-11-07	0.398
68	11-67-16	0.295	68	48-12-07	0.383
69	02-51-15	0.294	69	51-13-06	0.382
70	02-71-04	0.291	70	67-16-05	0.381
71	02-48-04	0.288	71	48-04-08	0.373
72	33-51-13	0.281	72	35-12-09	0.363
73	02-60-04	0.276	73	71-04-07	0.347
74	02-61-08	0.268	74	54-09-09	0.334
75	30-64-08	0.266	75	75-09-09	0.325

76	26-27-01	0.264	76	35-12-07	0.323
77	02-48-12	0.261	77	55-11-07	0.321
78	02-37-10	0.259	78	35-08-06	0.319
79	24-51-08	0.254	79	60-12-07	0.297
80	31-51-04	0.252	80	51-12-09	0.297
81	02-35-15	0.252	81	75-01-05	0.284
82	33-44-04	0.251	82	61-08-08	0.271
83	02-46-04	0.25	83	55-09-09	0.271
84	31-51-15	0.25	84	60-04-08	0.265
85	24-51-12	0.247	85	64-08-08	0.256
86	02-75-01	0.247	86	27-04-08	0.255
87	03-08-17	0.246	87	35-14-07	0.248
88	24-35-15	0.246	88	61-12-08	0.244
89	11-39-08	0.244	89	51-12-08	0.244
90	24-61-15	0.244	90	71-04-08	0.238
91	24-61-04	0.241	91	57-07-09	0.231
92	26-35-04	0.241	92	54-12-07	0.226
93	02-48-09	0.238	93	35-08-08	0.226
94	24-61-08	0.237	94	46-04-08	0.225
95	24-48-09	0.235	95	48-15-06	0.224
96	24-62-15	0.23	96	13-04-04	0.223
97	24-46-09	0.226	97	58-15-06	0.217
98	11-75-12	0.224	98	39-04-08	0.216
99	33-58-15	0.223	99	48-04-04	0.215
100	02-75-09	0.222	100	58-04-04	0.215
101	02-35-08	0.22	101	13-09-09	0.203
102	02-61-15	0.217	102	51-16-05	0.199
103	31-62-11	0.214	103	13-13-06	0.197
104	11-35-04	0.212	104	07-15-06	0.186
105	02-51-08	0.211	105	48-14-09	0.185
106	02-44-13	0.211	106	55-14-05	0.179
107	02-62-14	0.209	107	56-11-07	0.17
108	31-51-09	0.205	108	46-12-07	0.164
109	24-54-14	0.203	109	44-09-09	0.158
110	02-51-11	0.202	110	35-07-09	0.158
111	02-48-15	0.195	111	13-08-06	0.154
112	24-35-14	0.193	112	55-12-07	0.151
113	11-60-04	0.193	113	54-11-07	0.15
114	31-07-01	0.191	114	71-09-09	0.15

115	31-71-04	0.186	115	46-04-04	0.146
116	02-61-11	0.185	116	62-08-06	0.145
117	11-60-11	0.183	117	27-15-06	0.139
118	02-75-12	0.182	118	67-12-07	0.134
119	26-61-04	0.181	119	47-13-06	0.134
120	02-07-01	0.181	120	44-01-05	0.134
121	24-35-11	0.18	121	75-08-06	0.133
122	01-57-07	0.178	122	62-11-08	0.133
123	33-62-04	0.178	123	55-08-06	0.129
124	11-46-08	0.175	124	44-11-07	0.129
125	02-55-04	0.174	125	55-04-08	0.128
126	24-60-08	0.171	126	62-13-06	0.123
127	02-62-09	0.171	127	44-04-08	0.123
128	26-54-04	0.169	128	13-04-08	0.12
129	33-46-08	0.168	129	48-15-07	0.119
130	31-51-14	0.167	130	55-15-06	0.118
131	11-51-09	0.166	131	38-08-07	0.115
132	02-52-15	0.163	132	51-01-05	0.112
133	24-48-04	0.162	133	44-12-07	0.112
134	31-61-04	0.161	134	39-15-06	0.112
135	11-51-08	0.161	135	54-04-08	0.109
136	02-60-15	0.159	136	27-04-07	0.107
137	31-62-15	0.155	137	27-12-07	0.106
138	24-13-12	0.155	138	58-07-02	0.104
139	24-60-12	0.155	139	56-14-05	0.098
140	02-60-08	0.155	140	50-07-02	0.098
141	31-61-11	0.153	141	61-13-06	0.097
142	03-35-07	0.151	142	71-08-06	0.097
143	11-60-14	0.151	143	56-09-09	0.095
144	33-44-09	0.149	144	71-04-04	0.094
145	31-61-09	0.148	145	46-14-05	0.091
146	30-13-13	0.147	146	35-13-06	0.09
147	26-39-08	0.147	147	44-15-06	0.087
148	11-62-11	0.145	148	51-08-08	0.087
149	24-13-07	0.142	149	59-14-05	0.084
150	26-54-14	0.142	150	61-08-04	0.083
151	02-35-09	0.141	151	61-07-02	0.083
152	31-61-15	0.141	152	61-14-07	0.081
153	02-60-14	0.14	153	38-15-06	0.08

154	02-55-09	0.139	154	27-04-04	0.077
155	02-55-11	0.136	155	58-01-05	0.076
156	02-46-12	0.136	156	71-08-04	0.076
157	02-60-09	0.135	157	67-09-09	0.076
158	24-54-09	0.135	158	58-09-09	0.075
159	31-46-08	0.135	159	62-15-05	0.074
160	11-62-14	0.135	160	58-11-07	0.073
161	11-60-15	0.135	161	44-08-06	0.073
162	26-35-15	0.134	162	71-15-06	0.072
163	30-13-04	0.133	163	39-11-07	0.071
164	24-60-11	0.133	164	54-10-05	0.071
165	31-51-12	0.133	165	75-14-05	0.071
166	11-62-09	0.132	166	54-01-05	0.069
167	24-62-09	0.13	167	44-14-05	0.068
168	02-13-07	0.128	168	48-08-06	0.068
169	02-39-04	0.128	169	71-14-05	0.068
170	24-48-14	0.128	170	75-04-04	0.067
171	26-51-14	0.127	171	61-01-05	0.065
172	26-61-15	0.127	172	52-14-05	0.064
173	30-47-13	0.125	173	62-01-05	0.064
174	24-60-14	0.125	174	13-15-06	0.063
175	24-62-12	0.124	175	64-01-05	0.063
176	02-13-09	0.123	176	13-01-05	0.059
177	24-60-15	0.123	177	07-04-04	0.058
178	33-61-14	0.123	178	27-11-07	0.058
179	03-27-01	0.121	179	62-08-04	0.058
180	02-67-12	0.12	180	59-11-07	0.057
181	02-58-13	0.119	181	46-11-07	0.056
182	02-58-17	0.119	182	58-14-05	0.056
183	02-60-11	0.119	183	52-09-09	0.056
184	02-54-09	0.118	184	59-04-08	0.055
185	31-61-08	0.118	185	59-09-09	0.055
186	11-07-01	0.116	186	55-14-07	0.055
187	24-27-01	0.116	187	62-04-07	0.054
188	11-60-08	0.115	188	27-08-06	0.054
189	24-35-09	0.115	189	46-15-06	0.053
190	02-62-08	0.115	190	75-04-08	0.053
191	24-44-13	0.112	191	38-14-05	0.053
192	26-56-11	0.111	192	38-04-08	0.052

193	11-44-13	0.111	193	60-14-07	0.052
194	24-44-07	0.111	194	58-04-07	0.052
195	24-71-04	0.11	195	55-13-06	0.051
196	02-13-04	0.11	196	51-04-07	0.051
197	26-61-14	0.109	197	67-04-04	0.051
198	11-61-09	0.108	198	07-11-07	0.05
199	33-61-09	0.108	199	39-12-07	0.05
200	01-08-17	0.107	200	38-08-06	0.049
201	68-44-07	0.107	201	51-07-02	0.048
202	24-35-12	0.107	202	52-04-04	0.048
203	11-35-15	0.107	203	39-14-05	0.048
204	33-54-04	0.106	204	61-04-07	0.048
205	02-55-14	0.104	205	56-04-08	0.047
206	24-62-14	0.104	206	52-04-08	0.046
207	02-71-08	0.104	207	61-15-05	0.046
208	11-48-14	0.103	208	13-14-05	0.046
209	32-44-12	0.101	209	64-04-08	0.046
210	26-27-04	0.099	210	35-07-02	0.045
211	02-54-12	0.096	211	07-10-05	0.045
212	24-35-08	0.094	212	35-04-07	0.045
213	11-27-04	0.094	213	52-12-09	0.045
214	26-35-08	0.094	214	44-12-08	0.045
215	33-58-07	0.094	215	51-15-07	0.045
216	26-61-08	0.094	216	58-04-08	0.044
217	02-39-08	0.093	217	37-09-09	0.044
218	31-59-04	0.093	218	54-13-06	0.044
219	02-46-14	0.093	219	61-09-08	0.042
220	24-52-04	0.092	220	58-08-04	0.042
221	30-13-09	0.092	221	60-15-07	0.042
222	11-62-15	0.092	222	61-11-09	0.04
223	31-51-16	0.091	223	75-11-07	0.04
224	24-59-14	0.09	224	60-13-06	0.039
225	31-62-04	0.09	225	48-16-05	0.039
226	11-60-12	0.09	226	67-15-06	0.038
227	02-54-14	0.089	227	07-08-06	0.038
228	02-44-07	0.089	228	61-10-05	0.038
229	24-58-17	0.089	229	56-08-06	0.037
230	11-54-11	0.085	230	64-08-06	0.037
231	11-51-11	0.085	231	44-17-02	0.037

232	02-27-04	0.085	232	59-15-06	0.037
233	24-62-13	0.085	233	37-12-07	0.036
234	26-38-15	0.084	234	13-17-02	0.036
235	24-54-12	0.084	235	71-12-07	0.036
236	24-61-11	0.084	236	54-08-04	0.036
237	31-35-08	0.084	237	27-08-04	0.036
238	26-62-09	0.082	238	27-14-05	0.035
239	02-75-04	0.081	239	60-08-08	0.035
240	02-75-14	0.081	240	35-01-05	0.035
241	24-54-15	0.081	241	60-01-05	0.035
242	11-61-11	0.08	242	75-14-07	0.035
243	11-48-11	0.08	243	39-12-09	0.034
244	31-35-04	0.08	244	60-16-05	0.034
245	11-54-14	0.079	245	60-04-07	0.034
246	33-51-04	0.079	246	67-04-08	0.034
247	24-55-11	0.078	247	38-12-07	0.034
248	02-27-15	0.078	248	75-12-09	0.033
249	24-55-08	0.078	249	61-12-09	0.033
250	33-58-14	0.077	250	58-08-06	0.032
251	33-61-04	0.077	251	58-14-07	0.032
252	11-62-12	0.077	252	62-10-05	0.031
253	26-51-12	0.077	253	60-07-02	0.031
254	33-35-04	0.077	254	46-13-06	0.03
255	26-44-13	0.077	255	46-08-04	0.03
256	26-35-12	0.076	256	46-01-05	0.03
257	24-62-11	0.076	257	64-12-07	0.03
258	33-58-01	0.076			
259	11-55-12	0.076			
260	26-61-12	0.076			
261	26-55-09	0.075			
262	02-71-14	0.075			
263	33-58-09	0.075			
264	24-27-04	0.075			
265	33-58-11	0.073			
266	26-35-09	0.073			
267	02-51-16	0.072			
268	26-59-04	0.071			
269	11-48-04	0.07			
270	24-48-15	0.07			

271	33-44-01	0.07
272	24-48-12	0.069
273	26-13-12	0.069
274	11-60-09	0.069
275	33-27-04	0.068
276	33-44-15	0.067
277	11-27-01	0.067
278	33-07-01	0.067
279	02-61-13	0.066
280	11-27-12	0.065
281	26-46-08	0.065
282	11-35-08	0.065
283	02-75-08	0.064
284	11-35-12	0.064
285	26-48-14	0.064
286	30-64-01	0.063
287	26-62-11	0.063
288	30-51-08	0.063
289	33-44-08	0.061
290	24-07-15	0.061
291	24-38-08	0.061
292	33-48-12	0.06
293	03-27-15	0.06
294	11-55-14	0.06
295	31-58-17	0.06
296	31-62-12	0.06
297	26-62-12	0.06
298	33-51-12	0.059
299	26-46-04	0.059
300	24-07-11	0.059
301	02-38-08	0.059
302	11-39-04	0.058
303	24-51-13	0.058
304	02-60-12	0.057
305	11-67-09	0.057
306	11-44-07	0.057
307	33-51-09	0.056
308	26-48-09	0.056
309	33-60-04	0.055

310	11-61-15	0.055
311	11-54-08	0.055
312	11-62-08	0.055
313	11-61-04	0.055
314	31-35-12	0.054
315	26-35-14	0.054
316	24-39-08	0.054
317	11-35-13	0.054
318	24-51-11	0.053
319	02-56-14	0.053
320	02-50-07	0.053
321	31-39-04	0.053
322	02-39-12	0.053
323	31-13-07	0.053
324	11-61-08	0.052
325	33-07-15	0.052
326	11-55-11	0.052
327	02-13-01	0.052
328	26-61-11	0.052
329	26-37-10	0.052
330	24-46-04	0.052
331	02-39-15	0.051
332	31-35-15	0.051
333	31-55-14	0.051
334	26-51-04	0.051
335	02-13-08	0.05
336	24-13-13	0.05
337	11-54-10	0.05
338	02-67-16	0.05
339	33-54-09	0.05
340	11-61-14	0.05
341	02-48-08	0.049
342	24-13-04	0.049
343	33-35-12	0.049
344	24-13-08	0.049
345	11-51-12	0.049
346	26-52-15	0.049
347	02-46-15	0.049
348	31-54-04	0.048

349	33-51-14	0.048
350	24-54-11	0.048
351	11-71-09	0.048
352	26-58-13	0.048
353	02-59-11	0.048
354	33-58-08	0.047
355	33-44-14	0.047
356	30-13-08	0.047
357	02-67-04	0.046
358	24-37-10	0.046
359	33-44-12	0.046
360	24-58-13	0.046
361	24-55-04	0.046
362	11-61-07	0.046
363	33-44-11	0.046
364	26-55-04	0.046
365	24-59-09	0.046
366	26-55-15	0.045
367	33-61-08	0.045
368	30-62-04	0.045
369	02-71-12	0.045
370	24-48-11	0.044
371	01-37-09	0.044
372	26-60-04	0.043
373	11-52-15	0.043
374	31-48-04	0.043
375	03-35-14	0.043
376	30-13-15	0.043
377	11-51-14	0.043
378	11-37-10	0.043
379	24-52-12	0.043
380	24-75-09	0.042
381	11-54-01	0.042
382	02-44-01	0.041
383	11-39-15	0.041
384	11-71-04	0.041
385	24-39-11	0.041
386	11-35-09	0.041
387	31-71-08	0.041

388	11-54-15	0.041
389	31-13-12	0.04
390	11-61-12	0.04
391	11-75-15	0.04
392	24-60-07	0.04
393	26-55-11	0.039
394	30-07-01	0.039
395	31-35-09	0.039
396	31-51-11	0.039
397	24-27-12	0.039
398	26-56-04	0.039
399	31-48-11	0.038
400	11-48-09	0.038
401	24-75-12	0.038
402	02-55-12	0.038
403	24-07-08	0.038
404	24-61-07	0.037
405	31-51-13	0.037
406	24-59-15	0.037
407	31-44-13	0.037
408	02-27-11	0.037
409	11-56-04	0.037
410	31-60-09	0.037
411	31-60-04	0.037
412	03-62-04	0.036
413	03-07-15	0.036
414	03-50-07	0.036
415	29-07-10	0.036
416	26-54-08	0.036
417	11-52-14	0.036
418	26-38-04	0.035
419	33-13-07	0.035
420	26-35-11	0.035
421	31-62-14	0.035
422	01-37-15	0.035
423	11-38-15	0.035
424	24-52-09	0.035
425	33-62-15	0.035
426	02-39-14	0.035

427	11-58-13	0.035
428	31-38-14	0.035
429	02-27-08	0.034
430	33-48-15	0.034
431	31-27-01	0.034
432	33-46-12	0.034
433	24-38-15	0.034
434	31-61-01	0.034
435	11-38-12	0.034
436	02-56-09	0.034
437	11-55-08	0.033
438	03-44-11	0.033
439	24-55-15	0.033
440	24-55-13	0.033
441	33-71-04	0.033
442	24-54-13	0.032
443	02-44-08	0.032
444	24-56-11	0.032
445	11-13-04	0.032
446	26-55-08	0.032
447	30-13-14	0.032
448	02-07-15	0.031
449	24-75-15	0.031
450	31-56-09	0.031
451	02-44-11	0.031
452	33-61-15	0.031
453	24-71-09	0.03
454	31-46-09	0.03
455	02-46-13	0.03
456	26-56-14	0.03
457	11-38-08	0.03
458	02-46-01	0.03

Table III. HLA-A-B-DR-DQ haplotype frequency in Korean

No.	A-B-DR-DQ	Haplotype Frequency (%)
1	33-44-13-06	4.671
2	33-58-13-06	2.81
3	24-07-01-05	2.531
4	33-44-07-02	2.253
5	30-13-07-02	2.122
6	11-62-04-08	1.96
7	24-52-15-06	1.891
8	24-54-04-04	1.637
9	02-46-08-06	1.622
10	02-27-01-05	1.556
11	33-58-17-02	1.293
12	24-62-04-08	1.117
13	02-62-04-08	1.073
14	24-61-09-09	1.027
15	24-59-04-04	1.016
16	02-54-04-04	0.94
17	01-37-10-05	0.878
18	02-61-09-09	0.75
19	30-64-04-04	0.742
20	24-51-09-09	0.723
21	26-61-09-09	0.722
22	02-54-15-06	0.716
23	02-46-09-09	0.707
24	02-13-12-07	0.699
25	02-61-14-05	0.599
26	11-54-04-04	0.568
27	02-51-09-09	0.546
28	03-44-13-06	0.51
29	26-62-14-07	0.476
30	02-38-15-05	0.449
31	02-75-15-06	0.428
32	02-59-04-04	0.414
33	29-07-08-07	0.408
34	11-13-12-07	0.407
35	02-48-14-05	0.402
36	24-51-04-04	0.401
37	24-46-08-06	0.383

38	02-35-04-08	0.38
39	02-51-14-05	0.373
40	32-44-04-04	0.367
41	24-61-14-05	0.365
42	31-51-08-04	0.356
43	24-51-15-06	0.344
44	24-54-08-06	0.342
45	02-51-04-04	0.331
46	02-35-14-05	0.33
47	02-62-12-07	0.33
48	02-35-11-07	0.321
49	02-48-11-07	0.317
50	24-61-12-07	0.316
51	31-61-14-05	0.315
52	02-62-11-07	0.313
53	02-51-12-07	0.311
54	02-54-08-06	0.305
55	24-60-09-09	0.302
56	26-62-04-08	0.301
57	11-55-04-04	0.3
58	24-51-14-07	0.298
59	26-62-15-06	0.296
60	11-67-16-05	0.295
61	02-62-15-06	0.288
62	33-51-13-06	0.281
63	02-51-15-06	0.274
64	24-35-04-04	0.264
65	26-27-01-05	0.264
66	02-37-10-05	0.259
67	02-35-15-06	0.252
68	31-51-15-06	0.25
69	02-48-12-07	0.249
70	02-51-04-08	0.247
71	02-75-01-05	0.247
72	24-60-04-04	0.247
73	03-08-17-02	0.246
74	02-51-14-07	0.244
75	11-39-08-06	0.244
76	02-48-04-08	0.243

77	02-48-09-09	0.238
78	02-60-04-04	0.237
79	24-35-15-06	0.237
80	02-61-12-07	0.235
81	24-48-09-09	0.235
82	24-61-15-06	0.233
83	30-64-08-08	0.229
84	24-62-15-06	0.228
85	24-51-04-08	0.227
86	24-46-09-09	0.226
87	02-35-12-09	0.225
88	11-51-04-04	0.22
89	02-61-04-04	0.217
90	02-61-12-08	0.215
91	11-75-12-07	0.215
92	33-58-04-04	0.215
93	02-75-09-09	0.213
94	31-62-11-07	0.212
95	02-44-13-06	0.211
96	02-51-12-08	0.207
97	24-35-04-08	0.204
98	24-54-14-05	0.203
99	02-51-11-07	0.202
100	33-58-15-06	0.201
101	02-61-15-06	0.198
102	31-51-09-09	0.196
103	02-62-04-04	0.193
104	31-07-01-05	0.191
105	02-61-11-07	0.185
106	11-60-11-07	0.183
107	02-07-01-05	0.181
108	02-35-14-07	0.18
109	24-35-11-07	0.18
110	01-57-07-09	0.178
111	24-51-08-06	0.178
112	33-62-04-08	0.178
113	24-51-14-05	0.175
114	02-62-09-09	0.171
115	02-71-04-07	0.17

116	26-54-04-04	0.169
117	33-46-08-06	0.167
118	11-51-09-09	0.166
119	02-61-04-08	0.165
120	02-52-15-06	0.163
121	02-62-14-05	0.16
122	24-51-12-07	0.158
123	11-62-04-04	0.157
124	02-48-14-09	0.156
125	02-35-08-06	0.155
126	02-60-08-06	0.155
127	24-13-12-07	0.155
128	02-46-04-08	0.154
129	31-61-11-07	0.153
130	11-46-08-06	0.152
131	24-61-08-06	0.152
132	31-51-04-08	0.152
133	31-61-04-08	0.151
134	24-60-12-07	0.15
135	02-75-12-07	0.149
136	33-44-09-09	0.149
137	31-61-09-09	0.148
138	02-60-15-06	0.147
139	26-39-08-06	0.147
140	30-13-13-06	0.147
141	24-60-08-06	0.145
142	03-35-07-09	0.142
143	24-13-07-02	0.142
144	26-54-14-05	0.142
145	02-35-09-09	0.141
146	02-60-14-05	0.14
147	02-55-09-09	0.139
148	02-61-08-06	0.139
149	26-35-04-04	0.139
150	11-60-04-04	0.137
151	02-35-12-07	0.136
152	02-55-11-07	0.135
153	02-60-09-09	0.135
154	11-60-15-06	0.135

155	24-54-09-09	0.135
156	31-46-08-06	0.135
157	11-51-04-08	0.134
158	24-35-14-05	0.134
159	11-60-14-05	0.133
160	11-62-09-09	0.132
161	24-62-09-09	0.13
162	02-35-04-04	0.129
163	02-13-07-02	0.128
164	02-39-04-08	0.128
165	33-44-04-04	0.128
166	26-61-15-06	0.127
167	24-62-04-04	0.125
168	30-47-13-06	0.125
169	02-51-08-06	0.124
170	31-61-15-06	0.124
171	02-13-09-09	0.123
172	24-60-11-07	0.123
173	26-61-04-04	0.123
174	33-44-04-08	0.123
175	33-61-14-05	0.123
176	11-35-04-08	0.122
177	03-27-01-05	0.121
178	02-67-12-07	0.12
179	02-58-13-06	0.119
180	02-58-17-02	0.119
181	02-60-11-07	0.119
182	02-46-12-07	0.117
183	02-48-15-06	0.117
184	11-07-01-05	0.116
185	24-27-01-05	0.116
186	26-35-15-06	0.116
187	02-54-09-09	0.115
188	11-60-08-06	0.115
189	24-35-09-09	0.115
190	24-62-12-07	0.115
191	24-61-04-04	0.114
192	24-44-13-06	0.112
193	02-55-04-04	0.111

194	11-44-13-06	0.111
195	24-44-07-02	0.111
196	26-61-14-05	0.109
197	31-51-12-07	0.109
198	11-61-09-09	0.108
199	33-61-09-09	0.108
200	01-08-17-02	0.107
201	11-35-15-06	0.107
202	68-44-07-02	0.107
203	11-62-14-05	0.104
204	26-56-11-07	0.103
205	02-61-08-08	0.102
206	02-71-04-08	0.102
207	31-51-14-05	0.102
208	31-62-15-06	0.102
209	24-60-15-06	0.1
210	24-60-04-08	0.098
211	31-51-08-06	0.098
212	33-54-04-04	0.097
213	02-46-04-04	0.096
214	02-54-12-07	0.096
215	24-71-04-07	0.095
216	33-58-07-02	0.094
217	24-60-14-05	0.093
218	31-59-04-04	0.093
219	24-62-14-05	0.092
220	24-48-14-05	0.091
221	31-51-16-05	0.091
222	11-60-12-07	0.09
223	24-58-17-02	0.089
224	30-13-04-04	0.089
225	02-55-14-05	0.086
226	11-27-04-08	0.085
227	11-48-14-05	0.085
228	11-51-11-07	0.085
229	24-61-08-08	0.085
230	24-62-13-06	0.085
231	26-35-04-08	0.085
232	31-51-04-04	0.085

233	24-54-12-07	0.084
234	24-48-04-04	0.083
235	26-51-14-05	0.083
236	31-62-04-08	0.082
237	02-44-07-02	0.08
238	02-54-14-05	0.08
239	11-48-11-07	0.08
240	11-61-11-07	0.08
241	11-62-11-07	0.08
242	24-61-04-08	0.08
243	11-54-11-07	0.079
244	11-54-14-05	0.079
245	24-48-04-08	0.079
246	02-27-15-06	0.078
247	02-48-15-07	0.078
248	24-55-11-07	0.078
249	11-62-12-07	0.077
250	26-44-13-06	0.077
251	30-13-09-09	0.077
252	02-62-08-06	0.076
253	11-55-12-07	0.076
254	24-51-12-09	0.076
255	26-51-12-09	0.076
256	26-61-12-07	0.076
257	33-58-01-05	0.076
258	02-71-08-06	0.075
259	26-55-09-09	0.075
260	33-58-09-09	0.075
261	26-62-09-09	0.073
262	33-51-04-04	0.073
263	02-51-16-05	0.072
264	11-35-04-04	0.072
265	11-62-15-06	0.071
266	24-54-15-06	0.071
267	26-35-09-09	0.071
268	26-59-04-04	0.071
269	31-71-04-07	0.071
270	24-54-04-08	0.07
271	24-59-14-05	0.07

272	24-51-08-04	0.069
273	26-13-12-07	0.069
274	11-48-04-04	0.068
275	11-51-08-04	0.068
276	11-27-01-05	0.067
277	33-07-01-05	0.067
278	33-44-15-06	0.067
279	02-39-08-06	0.066
280	02-61-13-06	0.066
281	02-35-08-08	0.065
282	02-46-14-05	0.065
283	11-27-12-07	0.065
284	11-62-11-08	0.065
285	26-46-08-06	0.065
286	31-51-14-07	0.065
287	02-75-08-06	0.064
288	24-27-04-07	0.064
289	33-58-11-07	0.064
290	02-55-04-08	0.063
291	26-27-04-08	0.063
292	30-64-01-05	0.063
293	31-61-08-06	0.063
294	31-71-04-08	0.063
295	26-38-15-06	0.062
296	02-61-14-07	0.061
297	24-35-08-08	0.061
298	26-61-08-06	0.061
299	33-44-01-05	0.061
300	02-75-14-05	0.06
301	03-27-15-06	0.06
302	11-55-14-05	0.06
303	24-55-08-06	0.06
304	24-62-11-07	0.06
305	26-62-12-07	0.06
306	31-58-17-02	0.06
307	31-62-12-07	0.06
308	33-48-12-07	0.06
309	02-51-12-09	0.059
310	24-35-14-07	0.059

311	26-35-08-08	0.059
312	02-13-04-04	0.058
313	11-51-08-06	0.058
314	24-38-08-07	0.058
315	24-51-13-06	0.058
316	02-60-12-07	0.057
317	02-71-14-05	0.057
318	11-44-07-02	0.057
319	11-67-09-09	0.057
320	24-07-15-06	0.057
321	24-48-15-06	0.057
322	26-61-04-08	0.057
323	11-60-04-08	0.056
324	26-48-09-09	0.056
325	31-35-08-06	0.056
326	32-44-12-07	0.056
327	33-51-09-09	0.056
328	02-27-04-08	0.055
329	11-54-08-06	0.055
330	11-61-04-04	0.055
331	24-35-12-07	0.055
332	26-48-14-05	0.055
333	02-51-08-04	0.054
334	11-35-13-06	0.054
335	11-60-09-09	0.054
336	24-48-12-07	0.054
337	26-35-14-05	0.054
338	02-50-07-02	0.053
339	02-56-14-05	0.053
340	31-13-07-02	0.053
341	31-39-04-08	0.053
342	31-62-15-05	0.053
343	02-13-01-05	0.052
344	02-13-04-08	0.052
345	11-55-11-07	0.052
346	26-37-10-05	0.052
347	31-71-04-04	0.052
348	33-07-15-06	0.052
349	33-27-04-08	0.052

350	26-51-04-04	0.051
351	26-62-04-04	0.051
352	31-35-15-06	0.051
353	02-67-16-05	0.05
354	11-54-10-05	0.05
355	24-07-11-07	0.05
356	24-13-13-06	0.05
357	26-35-12-09	0.05
358	33-54-09-09	0.05
359	02-46-15-06	0.049
360	26-52-15-06	0.049
361	02-59-11-07	0.048
362	11-71-09-09	0.048
363	24-54-11-07	0.048
364	26-58-13-06	0.048
365	33-58-04-07	0.048
366	11-35-12-07	0.047
367	26-46-04-08	0.047
368	30-13-08-06	0.047
369	30-51-08-06	0.047
370	33-44-14-05	0.047
371	24-37-10-05	0.046
372	24-52-04-04	0.046
373	24-52-04-08	0.046
374	24-58-13-06	0.046
375	24-59-09-09	0.046
376	26-55-04-04	0.046
377	30-64-04-08	0.046
378	33-35-04-04	0.046
379	33-44-11-07	0.046
380	33-44-12-07	0.046
381	33-61-04-04	0.046
382	02-48-04-04	0.045
383	11-35-08-06	0.045
384	24-39-08-06	0.045
385	24-59-04-08	0.045
386	26-55-15-06	0.045
387	26-62-11-07	0.045
388	30-62-04-08	0.045

389	32-44-12-08	0.045
390	33-58-14-05	0.045
391	01-37-09-09	0.044
392	24-48-11-07	0.044
393	24-51-11-07	0.044
394	24-61-11-07	0.044
395	24-62-04-07	0.044
396	26-51-14-07	0.044
397	30-13-04-08	0.044
398	33-44-08-06	0.044
399	33-51-12-09	0.044
400	33-58-04-08	0.044
401	02-13-08-06	0.043
402	02-38-08-07	0.043
403	02-75-04-04	0.043
404	03-35-14-05	0.043
405	11-37-10-05	0.043
406	11-51-14-05	0.043
407	11-52-15-06	0.043
408	11-61-14-05	0.043
409	02-62-14-07	0.042
410	11-54-01-05	0.042
411	24-75-09-09	0.042
412	02-44-01-05	0.041
413	11-35-09-09	0.041
414	11-39-15-06	0.041
415	11-54-15-06	0.041
416	24-39-11-07	0.041
417	26-61-11-07	0.041
418	31-35-04-04	0.041
419	11-75-15-06	0.04
420	24-61-11-09	0.04
421	31-13-12-07	0.04
422	26-55-11-07	0.039
423	30-07-01-05	0.039
424	31-35-04-08	0.039
425	31-35-09-09	0.039
426	02-55-12-07	0.038
427	02-75-04-08	0.038

428	11-48-09-09	0.038
429	24-07-08-06	0.038
430	24-61-04-07	0.038
431	24-75-12-07	0.038
432	31-48-11-07	0.038
433	02-27-11-07	0.037
434	24-59-15-06	0.037
435	24-61-07-02	0.037
436	30-64-08-06	0.037
437	31-44-13-06	0.037
438	31-48-04-08	0.037
439	31-60-04-08	0.037
440	31-60-09-09	0.037
441	31-61-08-08	0.037
442	33-35-12-07	0.037
443	02-71-12-07	0.036
444	03-07-15-06	0.036
445	03-50-07-02	0.036
446	11-52-14-05	0.036
447	11-61-08-06	0.036
448	29-07-10-05	0.036
449	02-67-04-04	0.035
450	11-38-15-05	0.035
451	11-39-04-08	0.035
452	11-51-08-08	0.035
453	11-58-13-06	0.035
454	24-52-09-09	0.035
455	26-35-08-06	0.035
456	26-35-11-07	0.035
457	26-38-04-08	0.035
458	33-13-07-02	0.035
459	33-62-15-06	0.035
460	02-27-08-06	0.034
461	02-56-09-09	0.034
462	11-38-12-07	0.034
463	30-13-15-06	0.034
464	31-27-01-05	0.034
465	31-35-12-09	0.034
466	31-61-01-05	0.034

467	31-62-14-05	0.034
468	33-46-12-07	0.034
469	33-48-15-06	0.034
470	33-60-04-04	0.034
471	02-39-15-06	0.033
472	02-51-08-08	0.033
473	02-75-12-09	0.033
474	03-44-11-07	0.033
475	24-55-13-06	0.033
476	24-55-15-06	0.033
477	31-55-14-05	0.033
478	33-58-08-04	0.033
479	24-54-13-06	0.032
480	24-56-11-07	0.032
481	24-60-14-07	0.032
482	26-61-09-08	0.032
483	33-58-14-07	0.032
484	02-39-12-07	0.031
485	02-44-11-07	0.031
486	24-55-04-08	0.031
487	24-60-07-02	0.031
488	24-75-15-06	0.031
489	31-56-09-09	0.031
490	31-71-08-04	0.031
491	33-61-04-08	0.031
492	33-61-15-06	0.031
493	02-27-04-04	0.03
494	02-46-01-05	0.03
495	02-46-13-06	0.03
496	02-60-04-08	0.03
497	02-62-11-08	0.03
498	11-38-08-06	0.03
499	11-71-04-08	0.03
500	24-27-12-07	0.03
501	24-71-09-09	0.03
502	31-46-09-09	0.03

Table IV. HLA-DQ incorrectly predicted by linkage disequilibrium and correctly predicted by artificial neural network

HLA	Genotype frequency	DQ pred. by LD	DQ pred. by ANN	Genotype Frequency by LD pDQ	Genotype Frequency by LD pDQ	B-DR-pDQ haplotype (D') by LD pDQ
-A, -B, -DR, -DQ	DR,DQ / B,DR,DQ / A,B,DR / A,B,DR,DQ			DR, pDQ	B, DR, pDQ	
02, 02	0.871473	05, 04	05, 06	0.1447	0.0008	27-01-05(D:1.001)
27, 59	0.000443					59-08-04(D:1.329)
01, 08	0.000000					
05, 06	0.000000					
02, 31	1.078139	04, 02	02, 08	1.3444	0.0010	61-04-04(D:0.410)
61, 61	0.000812					61-07-02(D:0.640)
04, 07	0.000006					
02, 08	0.000000					
11, 31	0.720254	09, 05	05, 07	0.1131	0.0046	35-12-09(D:0.429)
35, 35	0.004076					35-14-05(D:0.675)
12, 14	0.000050					
07, 05	0.000032					
02, 26	1.427393	08, 05	04, 05	1.1447	0.0112	35-04-08(D:0.474)
35, 35	0.008746					35-14-05(D:0.675)
04, 14	0.003008					
04, 05	0.001057					
02, 02	0.892836	04, 04	04, 08	1.3884	0.0812	51-04-04(D:0.540)
51, 54	0.001668					54-04-04(D:0.968)
04, 04	0.011196					
08, 08	0.000059					
02, 24	0.871473	07, 05	05, 06	0.0761	0.0185	07-08-07(D:0.830)
07, 27	0.005068					27-01-05(D:1.001)
01, 08	0.002925					
05, 06	0.002904					
24, 24	2.226751	08, 08	04, 08	0.8928	0.0856	35-04-08(D:0.474)
62, 35	0.076313					62-04-08(D:0.885)
04, 04	0.012131					
08, 04	0.006408					
02, 33	0.848775	07, 04	07, 08	1.0548	0.0008	39-11-07(D:1.455)
39, 44	0.000732					44-04-04(D:0.775)
04, 11	0.000238					
07, 08	0.000177					
02, 03	0.305543	02, 04	02, 06	0.0507	0.0002	50-17-02(D:1.000)
50, 51	0.000182					51-08-04(D:0.395)
17, 08	0.000076					
02, 06	0.000045					
26, 33	1.078139	02, 04	02, 08	1.3444	0.0311	44-07-02(D:0.993)
61, 44	0.025818					61-04-04(D:0.410)
04, 07	0.008254					
02, 08	0.002568					

02, 11	1.818019	04, 09	08, 09	2.2668	0.0396	54-04-04(D:0.968)
62, 54	0.033280					62-09-09(D:0.910)
04, 09	0.009494					
08, 09	0.004540					
24, 31	0.198378	06, 06	04, 06	1.1949	0.0232	51-15-06(D:0.996)
51, 54	0.011055					54-08-06(D:0.940)
08, 15	0.002856					
04, 06	0.000582					
02, 24	2.107743	08, 06	04, 06	1.6902	0.0098	46-04-08(D:0.564)
46, 52	0.006376					52-15-06(D:1.007)
04, 15	0.009715					
04, 06	0.003767					
31, 33	1.078139	02, 04	02, 08	1.3444	0.0618	44-07-02(D:0.993)
44, 51	0.040189					51-04-04(D:0.540)
04, 07	0.011509					
02, 08	0.006850					
11, 11	0.261347	08, 06	04, 06	1.2629	0.0008	27-04-08(D:0.458)
27, 55	0.000370					55-08-06(D:0.575)
04, 08	0.000133					
04, 04	0.000003					
24, 26	2.107743	08, 06	04, 06	1.6902	0.0392	35-04-08(D:0.474)
35, 52	0.030775					52-15-06(D:1.007)
04, 15	0.009820					
04, 06	0.005622					
02, 24	2.226751	08, 08	04, 08	0.8928	0.0856	35-04-08(D:0.474)
62, 35	0.076313					62-04-08(D:0.885)
04, 04	0.025127					
08, 04	0.010285					
24, 24	0.448697	05, 04	04, 07	1.4274	0.0204	51-14-05(D:0.445)
60, 51	0.010168					60-04-04(D:0.586)
04, 14	0.004859					
07, 04	0.001729					
01, 02	1.083925	06, 07	05, 06	0.3408	0.0003	37-15-06(D:0.784)
62, 37	0.000407					62-14-07(D:0.501)
14, 15	0.000146					
05, 06	0.000083					
02, 26	1.818019	09, 04	08, 09	2.2668	0.0100	48-09-09(D:1.018)
60, 48	0.007153					60-04-04(D:0.586)
04, 09	0.000715					
08, 09	0.000239					
02, 31	1.232717	05, 04	05, 08	1.5372	0.0509	27-01-05(D:1.001)
27, 51	0.033726					51-04-04(D:0.540)
01, 04	0.008294					
08, 05	0.004929					
03, 24	0.871473	07, 05	05, 06	0.0761	0.0185	07-08-07(D:0.830)
07, 27	0.005068					27-01-05(D:1.001)
01, 08	0.000548					
05, 06	0.000548					
11, 24	1.232717	05, 04	05, 08	1.5372	0.0046	07-01-05(D:0.997)
07, 75	0.003438					75-04-04(D:0.000)
01, 04	0.000815					

08, 05	0.000759					
02, 26	2.226751	04, 07	04, 08	0.1866	0.0241	54-04-04(D:0.968)
71, 54	0.016732					71-04-07(D:0.414)
04, 04	0.000984					
08, 04	0.000345					
24, 33	0.050543	06, 02	02, 08	0.3055	0.0103	35-08-06(D:0.455)
35, 58	0.007325					58-17-02(D:0.999)
17, 08	0.002463					
02, 08	0.001577					
02, 24	1.399373	08, 07	04, 07	1.1309	0.0152	35-04-08(D:0.474)
35, 61	0.012961					61-12-07(D:0.681)
04, 12	0.010210					
07, 04	0.002605					
02, 31	1.232717	05, 04	05, 08	1.5372	0.0509	27-01-05(D:1.001)
27, 51	0.033726					51-04-04(D:0.540)
01, 04	0.008294					
08, 05	0.004929					
02, 31	2.226751	04, 04	04, 08	1.3884	0.0001	07-04-04(D:0.616)
07, 67	0.000054					67-04-04(D:0.494)
04, 04	0.000026					
08, 04	0.000007					
31, 33	0.213349	06, 09	04, 09	1.2851	0.0041	44-08-06(D:0.354)
44, 51	0.002614					51-09-09(D:1.019)
08, 09	0.001603					
09, 04	0.001088					

Table V. HLA-DQ correctly predicted linkage disequilibrium and incorrectly predicted by artificial neural network

HLA	Genotype frequency	DQ pred. by LD	DQ pred. by ANN	Genotype Frequency by ANN pDQ	Genotype Frequency by ANN pDQ	B-DR-pDQ haplotype (D') by LD pDQ
-A, -B, -DR, -DQ	DR,DQ / B,DR,DQ / A,B,DR / A,B,DR,DQ			DR, pDQ	B, DR, pDQ	
11, 30	1.344444	02, 04	02, 08	1.0781	0.0388	13-07-02(D:0.993)
13, 51	0.059322					51-04-04(D:0.540)
04, 07	0.016466					
02, 04	0.009366					
02, 24	0.148162	06, 04	06, 06	0.4462	0.0256	46-08-06(D:0.979)
46, 51	0.029974					51-08-04(D:0.395)
01, 08	0.010069					
04, 06	0.002755					
11, 24	1.232717	05, 08	05, 05	0.0000	0.0000	07-01-05(D:0.997)
07, 27	0.016764					27-04-08(D:0.458)
01, 04	0.004967					
08, 05	0.004320					
02, 33	2.391717	06, 04	06, 08	1.9180	0.0564	44-13-06(D:0.999)
61, 44	0.067258					61-04-04(D:0.410)
04, 13	0.036411					
04, 06	0.020635					
02, 11	0.542323	07, 05	05, 09	0.0146	0.0000	48-11-07(D:0.955)
48, 52	0.000753					52-14-05(D:0.547)
11, 14	0.000352					
07, 05	0.000241					
02, 24	0.149672	08, 07	04, 08	2.2268	0.0116	62-04-08(D:0.885)
71, 62	0.033652					71-04-07(D:0.414)
04, 04	0.010348					
07, 08	0.005926					
24, 26	0.198378	04, 06	06, 06	1.1949	0.0130	51-08-04(D:0.395)
62, 51	0.013029					62-15-06(D:0.827)
08, 15	0.001686					
04, 06	0.000408					
02, 02	0.152365	09, 07	04, 09	2.2668	0.0030	60-09-09(D:1.029)
71, 60	0.003961					71-04-07(D:0.414)
04, 09	0.000929					
07, 09	0.000464					
24, 33	1.344444	02, 04	02, 08	1.0781	0.0024	44-07-02(D:0.993)
44, 52	0.002686					52-04-04(D:0.337)
04, 07	0.004276					
02, 04	0.002114					
24, 30	0.542323	07, 05	05, 09	0.0146	0.0006	48-11-07(D:0.955)
48, 51	0.013333					51-14-05(D:0.445)
11, 14	0.000010					
07, 05	0.000007					
33, 33	1.204494	07, 06	06, 09	0.1892	0.0002	48-12-07(D:0.924)
48, 51	0.003061					51-13-06(D:0.813)
12, 13	0.000337					

07, 06	0.000337						
02, 33	1.262895	06, 08	04, 08	0.4700	0.0005	46-08-06(D:0.979)	
46, 48	0.019228					48-04-08(D:0.558)	
04, 08	0.001035						
08, 06	0.000877						
02, 11	0.110610	07, 09	07, 07	0.3521	0.0090	13-12-07(D:0.991)	
13, 35	0.010203					35-12-09(D:0.429)	
12, 12	0.003877						
07, 09	0.002085						
24, 33	0.226307	06, 04	06, 06	1.3559	0.0585	44-13-06(D:0.999)	
44, 51	0.067303					51-08-04(D:0.395)	
08, 13	0.023874						
04, 06	0.006483						
02, 31	0.144680	05, 04	05, 06	0.8715	0.0220	27-01-05(D:1.001)	
27, 51	0.025435					51-08-04(D:0.395)	
01, 08	0.014291						
04, 05	0.011115						
02, 02	0.809215	06, 05	06, 06	0.0036	0.0000	39-08-06(D:0.872)	
39, 54	0.006314					54-14-05(D:0.993)	
08, 14	0.000390						
05, 06	0.000258						
33, 33	0.189177	09, 06	06, 07	1.2045	0.0373	35-12-09(D:0.429)	
35, 44	0.041690					44-13-06(D:0.999)	
12, 13	0.004586						
09, 06	0.001121						
31, 33	0.226307	06, 04	06, 06	1.3559	0.0585	44-13-06(D:0.999)	
44, 51	0.067303					51-08-04(D:0.395)	
08, 13	0.042549						
04, 06	0.033271						
02, 24	1.232717	05, 08	04, 08	0.0002	0.0000	07-01-05(D:0.997)	
07, 35	0.056337					35-04-08(D:0.474)	
01, 04	0.027469						
08, 05	0.019979						
24, 30	1.344444	02, 04	02, 08	1.0781	0.0249	13-07-02(D:0.993)	
13, 61	0.029520					61-04-04(D:0.410)	
04, 07	0.010326						
02, 04	0.004904						
30, 31	0.024509	04, 08	06, 08	0.1476	0.0026	51-08-04(D:0.395)	
64, 51	0.002995					64-08-08(D:0.701)	
08, 08	0.002415						
08, 04	0.001630						
33, 33	1.204494	07, 06	06, 09	0.1892	0.0002	48-12-07(D:0.924)	
48, 51	0.003061					51-13-06(D:0.813)	
12, 13	0.000337						
07, 06	0.000337						
24, 26	1.262895	08, 06	04, 06	1.5747	0.0049	27-04-08(D:0.458)	
27, 54	0.004044					54-08-06(D:0.940)	
04, 08	0.000808						
08, 06	0.000436						
02, 02	1.262895	08, 06	04, 08	0.4700	0.0017	35-04-08(D:0.474)	
35, 46	0.046557					46-08-06(D:0.979)	

04, 08	0.018040					
08, 06	0.012805					
24, 33	1.262895	08, 06	04, 08	0.4700	0.0078	62-04-08(D:0.885)
62, 71	0.010029					71-08-06(D:0.438)
04, 08	0.000049					
08, 06	0.000003					
24, 26	1.690237	08, 06	04, 06	2.1077	0.0035	27-04-08(D:0.458)
27, 52	0.011174					52-15-06(D:1.007)
04, 15	0.003818					
08, 06	0.002383					
02, 31	0.020695	09, 04	06, 08	0.0805	0.0017	35-12-09(D:0.429)
35, 51	0.004372					51-08-04(D:0.395)
08, 12	0.005075					
09, 04	0.001656					
02, 11	0.809215	06, 05	06, 07	0.2547	0.0009	39-08-06(D:0.872)
39, 61	0.016947					61-14-05(D:0.951)
08, 14	0.003361					
05, 06	0.003003					

Table VI. HLA-DQ incorrectly predicted both linkage disequilibrium and artificial neural network

HLA	Genotype frequency	DQ pred. by LD	B-DR-pDQ haplotype by LD pDQ (D')	B-DR-pDQ _{LD} frequency	DQ pred. by ANN	DR-pDQ _{ANN} frequency	B-DR-pDQ _{ANN} frequency
-A, -B, -DR, -DQ	DR,DQ / B,DR,DQ / A,B,DR / A,B,DR,DQ						
02, 24	0.025079	05,	61-14-05(D:0.951)	0.0281	05,	0.5423	0.0281
62, 61	0.004252	07	62-11-07(D:0.787)		07		
11, 14	0.004565						
08, 05	0.000219						
02, 02	0.261347	08,	27-04-08(D:0.458)	0.0029	06,	1.2629	0.0029
27, 39	0.000024	06	39-08-06(D:0.872)		08		
04, 08	0.000245						
04, 04	0.000000						
24, 33	0.006618	06,	44-13-06(D:0.999)	0.0146	02,	1.1580	0.0146
61, 44	0.000958	02	61-07-02(D:0.640)		06		
07, 13	0.004347						
02, 07	0.000818						
02, 31	1.690237	04,	51-04-04(D:0.540)	0.0284	04,	2.1077	0.0284
61, 51	0.020634	06	61-15-06(D:0.859)		06		
04, 15	0.005609						
08, 06	0.002867						
02, 33	0.098851	06,	51-15-06(D:0.996)	0.0141	06,	1.0615	0.0141
75, 51	0.000008	07	75-12-07(D:0.000)		07		
12, 15	0.000851						
07, 05	0.000000						
02, 24	0.254689	05,	59-14-05(D:0.933)	0.0003	05,	0.8092	0.0003
62, 59	0.000112	06	62-08-06(D:0.444)		06		
08, 14	0.000215						
07, 06	0.000002						
11, 24	1.818019	04,	51-04-04(D:0.540)	0.0877	04,	2.2668	0.0877
61, 51	0.061226	09	61-09-09(D:0.999)		09		
04, 09	0.010922						
08, 09	0.003508						
02, 24	0.213349	06,	60-08-06(D:0.988)	0.0300	06,	1.2851	0.0300
60, 61	0.000923	09	61-09-09(D:0.999)		09		
08, 09	0.008042						
09, 04	0.000163						
02, 33	0.386505	05,	35-14-05(D:0.675)	0.0392	05,	1.2294	0.0392
35, 58	0.015429	06	58-13-06(D:0.991)		06		
13, 14	0.028743						
07, 06	0.010143						
11, 24	0.212621	06,	60-08-06(D:0.988)	0.0061	06,	1.2851	0.0061
62, 60	0.000674	09	62-09-09(D:0.910)		09		
08, 09	0.001109						
08, 09	0.000165						
03, 24	0.432197	02,	50-17-02(D:1.000)	0.0004	02,	0.5390	0.0004

50, 51	0.000275	04	51-04-04(D:0.540)		04			
17, 04	0.000230							
02, 08	0.000082							
31, 33	1.229450	06,	51-13-06(D:0.813)	0.0059	06,	0.0055	0.0000	
62, 51	0.005287	07	62-14-07(D:0.501)		06			
13, 14	0.000216							
05, 06	0.000201							
24, 33	1.144652	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0693	04,	1.4274	0.0693	
51, 54	0.009866	04	54-04-04(D:0.968)		05			
04, 14	0.003239							
08, 05	0.000155							
02, 26	0.009235	08,	48-04-08(D:0.558)	0.0010	04,	0.4700	0.0007	
71, 48	0.000062	06	71-08-06(D:0.438)		08			
04, 08	0.000227							
07, 07	0.000000							
02, 02	0.848775	07,	35-11-07(D:0.971)	0.0422	04,	1.0548	0.0422	
35, 54	0.003941	04	54-04-04(D:0.968)		07			
04, 11	0.006346							
07, 08	0.000252							
02, 02	0.848775	07,	35-11-07(D:0.971)	0.0422	04,	1.0548	0.0422	
35, 54	0.003941	04	54-04-04(D:0.968)		07			
04, 11	0.006346							
07, 08	0.000252							
02, 11	0.133860	05,	48-14-05(D:0.705)	0.0081	05,	0.8092	0.0081	
61, 48	0.004341	06	61-08-06(D:0.366)		06			
08, 14	0.001300							
08, 05	0.000316							
02, 33	2.391717	06,	58-13-06(D:0.991)	0.2984	06,	1.9180	0.2984	
62, 58	0.034060	08	62-04-08(D:0.885)		08			
04, 13	0.072079							
04, 06	0.010847							
24, 26	1.818019	04,	51-04-04(D:0.540)	0.0877	04,	2.2668	0.0877	
61, 51	0.061226	09	61-09-09(D:0.999)		09			
04, 09	0.013406							
08, 09	0.004142							
02, 24	1.537210	05,	07-01-05(D:0.997)	0.0563	04,	0.0002	0.0000	
07, 35	0.043949	08	35-04-08(D:0.474)		08			
01, 04	0.027469							
04, 05	0.007490							
02, 24	0.107507	06,	52-15-06(D:1.007)	0.0291	06,	1.0615	0.0291	
61, 52	0.010570	07	61-12-07(D:0.681)		07			
12, 15	0.018361							
08, 06	0.008131							
02, 30	1.232717	04,	51-04-04(D:0.540)	0.0068	04,	0.0002	0.0000	
75, 51	0.004464	05	75-01-05(D:1.017)		08			
01, 04	0.000044							
08, 05	0.000000							
02, 31	0.230651	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0087	05,	0.3669	0.0087	
51, 54	0.007102	05	54-14-05(D:0.993)		05			
14, 14	0.000297							
07, 05	0.000104							

02, 11	2.266814	08,	35-04-08(D:0.474)	0.0376	08,	1.8180	0.0376
35, 51	0.034352	09	51-09-09(D:1.019)		09		
04, 09	0.005578						
09, 04	0.002106						
02, 26	0.144158	06,	35-08-06(D:0.455)	0.0001	05,	0.8715	0.0001
35, 48	0.000063	05	48-01-05(D:0.891)		06		
01, 08	0.000027						
08, 05	0.000012						
02, 02	0.197662	06,	60-08-06(D:0.988)	0.0105	06,	1.1949	0.0105
60, 61	0.002850	06	61-15-06(D:0.859)		06		
08, 15	0.001525						
08, 06	0.000300						
02, 24	0.448697	08,	46-04-08(D:0.564)	0.0051	04,	0.0040	0.0000
46, 51	0.002615	05	51-14-05(D:0.445)		08		
04, 14	0.004499						
07, 04	0.000933						
02, 33	0.432197	04,	55-04-04(D:0.747)	0.0157	02,	0.5390	0.0157
55, 58	0.004155	02	58-17-02(D:0.999)		04		
17, 04	0.004587						
02, 08	0.001660						
02, 33	0.186643	04,	58-04-04(D:0.690)	0.0029	04,	2.2268	0.0017
60, 58	0.000840	04	60-04-04(D:0.586)		08		
04, 04	0.001744						
07, 04	0.000266						
26, 33	0.691104	02,	44-07-02(D:0.993)	0.0294	02,	0.2172	0.0294
62, 44	0.022457	07	62-14-07(D:0.501)		07		
07, 14	0.022618						
02, 05	0.000901						
02, 24	0.340754	05,	56-14-05(D:0.749)	0.0009	05,	1.0839	0.0009
60, 56	0.000095	06	60-15-06(D:0.865)		06		
14, 15	0.000194						
07, 06	0.000006						
02, 32	0.448697	05,	27-14-05(D:0.935)	0.0005	04,	1.4274	0.0005
27, 44	0.000137	04	44-04-04(D:0.775)		05		
04, 14	0.000206						
07, 04	0.000000						
02, 03	0.386505	05,	35-14-05(D:0.675)	0.0725	05,	1.2294	0.0725
35, 44	0.028482	06	44-13-06(D:0.999)		06		
13, 14	0.005475						
07, 06	0.001836						
24, 33	0.386505	06,	44-13-06(D:0.999)	0.0747	05,	1.2294	0.0747
44, 48	0.003104	05	48-14-05(D:0.705)		06		
13, 14	0.012010						
07, 06	0.002522						
02, 02	0.148162	06,	46-08-06(D:0.979)	0.0049	06,	0.4462	0.0049
71, 46	0.003913	06	71-08-06(D:0.438)		06		
08, 08	0.003461						
04, 06	0.000984						
02, 24	2.226751	08,	62-04-08(D:0.885)	0.2316	08,	0.8928	0.2316
62, 62	0.052066	08	62-04 haplo 62-04		08		
04, 04	0.033048						

08, 04	0.006994							
02, 31	0.107507	07,	37-12-07(D:1.033)	0.0010	06,	1.0615	0.0010	
37, 51	0.000127	06	51-15-06(D:0.996)		07			
12, 15	0.000000							
08, 06	0.000000							
02, 24	0.848775	07,	48-11-07(D:0.955)	0.0133	04,	1.0548	0.0133	
48, 51	0.010574	04	51-04-04(D:0.540)		07			
04, 11	0.005701							
07, 08	0.002190							
02, 11	0.448697	05,	61-14-05(D:0.951)	0.0109	04,	1.4274	0.0037	
71, 61	0.000256	07	71-04-07(D:0.414)		05			
04, 14	0.000983							
07, 04	0.000039							
02, 02	0.068956	05,	48-14-05(D:0.705)	0.0029	05,	1.0839	0.0029	
48, 48	0.001549	06	48-15-06(D:0.604)		06			
14, 15	0.002176							
07, 05	0.000627							
24, 24	0.340754	05,	60-14-05(D:0.895)	0.0119	05,	1.0839	0.0119	
62, 60	0.005865	06	62-15-06(D:0.827)		06			
14, 15	0.000831							
07, 06	0.000170							
24, 31	1.144652	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0121	04,	1.4274	0.0121	
51, 55	0.004838	04	55-04-04(D:0.747)		05			
04, 14	0.000918							
08, 05	0.000213							
02, 31	0.134344	05,	35-14-05(D:0.675)	0.0028	04,	0.0006	0.0000	
35, 55	0.000248	06	55-08-06(D:0.575)		06			
08, 14	0.000467							
04, 05	0.000026							
02, 02	1.054834	07,	51-11-07(D:0.931)	0.0499	07,	0.8488	0.0499	
62, 51	0.021903	08	62-04-08(D:0.885)		08			
04, 11	0.009326							
07, 04	0.002852							
11, 24	2.107743	06,	52-15-06(D:1.007)	0.2094	06,	1.6902	0.2094	
62, 52	0.024417	08	62-04-08(D:0.885)		08			
04, 15	0.082030							
04, 06	0.006111							
02, 33	0.386505	06,	13-13-06(D:1.087)	0.0026	05,	1.2294	0.0026	
13, 35	0.001026	05	35-14-05(D:0.675)		06			
13, 14	0.000003							
07, 06	0.000002							
02, 24	0.230651	05,	48-14-05(D:0.705)	0.0107	05,	0.3669	0.0107	
48, 51	0.009179	05	51-14-05(D:0.445)		05			
14, 14	0.006886							
07, 05	0.003041							
11, 24	2.226751	08,	39-04-08(D:0.965)	0.0208	08,	0.8928	0.0208	
39, 62	0.003684	08	62-04-08(D:0.885)		08			
04, 04	0.001631							
08, 04	0.000400							
02, 24	0.166716	06,	51-15-06(D:0.996)	0.0216	06,	1.0615	0.0216	

61, 51	0.005112	07	61-12-07(D:0.681)		07		
12, 15	0.009240						
09, 06	0.000696						
01, 02	0.144158	06,	54-08-06(D:0.940)	0.0012	05,	0.8715	0.0012
62, 54	0.000073	05	62-01-05(D:0.694)		06		
01, 08	0.000000						
08, 05	0.000000						
11, 31	1.061529	05,	38-15-05(D:0.824)	0.0073	05,	0.0989	0.0073
38, 61	0.001579	07	61-12-07(D:0.681)		07		
12, 15	0.000115						
07, 06	0.000084						
26, 33	1.917967	06,	44-13-06(D:0.999)	0.0673	04,	2.3917	0.0673
61, 44	0.056356	04	61-04-04(D:0.410)		06		
04, 13	0.017156						
08, 06	0.005419						
26, 26	1.574719	06,	46-08-06(D:0.979)	0.2447	06,	1.2629	0.2447
62, 46	0.027876	08	62-04-08(D:0.885)		08		
04, 08	0.000484						
04, 06	0.000072						
02, 29	2.107743	06,	07-15-06(D:0.793)	0.0015	04,	0.0726	0.0002
07, 48	0.001060	08	48-04-08(D:0.558)		07		
04, 15	0.000128						
04, 06	0.000050						
02, 02	2.391717	08,	27-04-08(D:0.458)	0.0001	06,	1.9180	0.0001
27, 39	0.000042	06	39-13-06(D:1.000)		08		
04, 13	0.000015						
04, 06	0.000005						
02, 31	1.690237	04,	51-04-04(D:0.540)	0.0284	04,	2.1077	0.0284
61, 51	0.020634	06	61-15-06(D:0.859)		06		
04, 15	0.005609						
08, 06	0.002867						
24, 24	0.166716	06,	52-15-06(D:1.007)	0.0101	06,	1.0615	0.0101
52, 54	0.001276	07	54-12-07(D:0.860)		07		
12, 15	0.003247						
09, 06	0.000036						
02, 24	0.340754	05,	35-14-05(D:0.675)	0.0283	05,	1.0839	0.0283
35, 52	0.010743	06	52-15-06(D:1.007)		06		
14, 15	0.019962						
07, 06	0.007000						
02, 24	0.197662	06,	35-15-06(D:1.003)	0.0096	06,	1.1949	0.0138
35, 51	0.005544	04	51-08-04(D:0.395)		06		
08, 15	0.004495						
08, 06	0.000973						
24, 24	0.448697	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0693	04,	1.4274	0.0693
51, 54	0.046618	04	54-04-04(D:0.968)		05		
04, 14	0.018824						
07, 04	0.009757						
24, 30	0.003657	02,	13-07-02(D:0.993)	0.3002	02,	1.1580	0.3002
13, 44	0.000035	06	44-13-06(D:0.999)		06		
07, 13	0.005105						
08, 06	0.000000						

02, 02	2.266814	09,	46-09-09(D:0.939)	0.0966	08,	1.8180	0.0966
62, 46	0.012105	08	62-04-08(D:0.885)		09		
04, 09	0.019343						
09, 04	0.003057						
24, 24	0.138149	06,	35-08-06(D:0.455)	0.0072	04,	0.1323	0.0008
35, 61	0.004757	07	61-12-07(D:0.681)		07		
08, 12	0.001143						
07, 08	0.000479						
02, 31	0.006233	05,	48-14-05(D:0.705)	0.0078	05,	0.8092	0.0077
48, 51	0.002166	04	51-08-04(D:0.395)		06		
08, 14	0.005331						
09, 04	0.001111						
03, 33	0.013502	04,	44-04-04(D:0.775)	0.0133	04,	1.5747	0.0133
44, 54	0.000026	06	54-08-06(D:0.940)		06		
04, 08	0.000047						
09, 06	0.000002						
02, 24	0.013122	07,	07-08-07(D:0.830)	0.0052	06,	0.7929	0.0007
07, 51	0.002650	07	51-12-07(D:0.436)		07		
08, 12	0.000528						
07, 09	0.000000						
31, 33	0.277047	02,	58-17-02(D:0.999)	0.0182	02,	0.0871	0.0182
62, 58	0.013897	07	62-14-07(D:0.501)		07		
17, 14	0.000950						
02, 05	0.000909						
24, 24	0.448697	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0693	04,	1.4274	0.0693
51, 54	0.046618	04	54-04-04(D:0.968)		05		
04, 14	0.018824						
07, 04	0.009757						
24, 33	0.386505	05,	51-14-05(D:0.445)	0.0513	05,	1.2294	0.0513
51, 58	0.041833	06	58-13-06(D:0.991)		06		
13, 14	0.026716						
07, 06	0.016803						
11, 33	0.106425	02,	44-07-02(D:0.993)	0.0119	02,	0.6771	0.0119
44, 54	0.000585	07	54-12-07(D:0.860)		07		
07, 12	0.001059						
02, 09	0.000496						

Table VII. HLA-DQ predicted by linkage disequilibrium with incorrect first choice but correct second choice

HLA-A	HLA-B	HLA-DR	HLA-DQ	Predicted DQ by LD (1st) 2*h1*h1 frequency B-DR-DQ haplotype (D')	Predicted DQ by LD (2nd) 2*h1*h1 frequency B-DR-DQ haplotype (D')
02, 31	61, 51	04, 15	08, 06	04, 06 freq:0.01774 51-04-04(D:0.540) 61-15-06(D:0.859)	08, 06 freq:0.01160 51-04-08(D:0.313) 61-15-06(D:0.859)
02, 02	27, 59	01, 08	05, 06	05, 04 freq:0.00078 27-01-05(D:1.001) 59-08-04(D:1.329)	05, 06 freq:0.00043 27-01-05(D:1.001) 59-08-06(D:0.617)
11, 24	61, 51	04, 09	08, 09	04, 09 freq:0.06760 51-04-04(D:0.540) 61-09-09(D:0.999)	08, 09 freq:0.04420 51-04-08(D:0.313) 61-09-09(D:0.999)
02, 33	35, 58	13, 14	07, 06	05, 06 freq:0.03911 35-14-05(D:0.675) 58-13-06(D:0.991)	07, 06 freq:0.01537 35-14-07(D:0.172) 58-13-06(D:0.991)
03, 24	50, 51	17, 04	02, 08	02, 04 freq:0.00042 50-17-02(D:1.000) 51-04-04(D:0.540)	02, 08 freq:0.00028 50-17-02(D:1.000) 51-04-08(D:0.313)
31, 33	62, 51	13, 14	05, 06	06, 07 freq:0.00429 51-13-06(D:0.813) 62-14-07(D:0.501)	06, 05 freq:0.00327 51-13-06(D:0.813) 62-14-05(D:0.325)
02, 02	35, 54	04, 11	07, 08	07, 04 freq:0.04014 35-11-07(D:0.971) 54-04-04(D:0.968)	07, 08 freq:0.00267 35-04-08(D:0.474) 54-11-07(D:0.955)
02, 02	35, 54	04, 11	07, 08	07, 04 freq:0.04014 35-11-07(D:0.971) 54-04-04(D:0.968)	07, 08 freq:0.00267 35-04-08(D:0.474) 54-11-07(D:0.955)
02, 11	61, 48	08, 14	08, 05	05, 06	05, 08

				freq:0.00599	freq:0.00353
				48-14-05(D:0.705)	48-14-05(D:0.705)
				61-08-06(D:0.366)	61-08-08(D:0.220)
02, 31	61, 61	04, 07	02, 08	04, 02	08, 02
				freq:0.00096	freq:0.00081
				61-04-04(D:0.410)	61-04-08(D:0.337)
				61-07-02(D:0.640)	61-07-02(D:0.640)
11, 31	35, 35	12, 14	07, 05	09, 05	07, 05
				freq:0.00458	freq:0.00408
				35-12-09(D:0.429)	35-12-07(D:0.351)
				35-14-05(D:0.675)	35-14-05(D:0.675)
02, 33	62, 58	04, 13	04, 06	06, 08	06, 04
				freq:0.29825	freq:0.00053
				58-13-06(D:0.991)	58-04-04(D:0.690)
				62-04-08(D:0.885)	62-13-06(D:1.186)
24, 26	61, 51	04, 09	08, 09	04, 09	08, 09
				freq:0.06760	freq:0.04420
				51-04-04(D:0.540)	51-04-08(D:0.313)
				61-09-09(D:0.999)	61-09-09(D:0.999)
02, 24	07, 35	01, 04	04, 05	05, 08	05, 04
				freq:0.05633	freq:0.04391
				07-01-05(D:0.997)	07-01-05(D:0.997)
				35-04-08(D:0.474)	35-04-04(D:0.329)
02, 26	35, 35	04, 14	04, 05	08, 05	04, 05
				freq:0.01122	freq:0.00875
				35-04-08(D:0.474)	35-04-04(D:0.329)
				35-14-05(D:0.675)	35-14-05(D:0.675)
02, 24	61, 52	12, 15	08, 06	06, 07	06, 08
				freq:0.02881	freq:0.01057
				52-15-06(D:1.007)	52-15-06(D:1.007)
				61-12-07(D:0.681)	61-12-08(D:0.170)
02, 30	75, 51	01, 04	08, 05	04, 05	08, 05
				freq:0.00665	freq:0.00435
				51-04-04(D:0.540)	51-04-08(D:0.313)
				75-01-05(D:1.017)	75-01-05(D:1.017)
02, 02	51, 54	04, 04	08, 08	04, 04	04, 08
				freq:0.08124	freq:0.05312
				51-04-04(D:0.540)	51-04-08(D:0.313)
				54-04-04(D:0.968)	54-04-04(D:0.968)

02, 31	51, 54	14, 14	07, 05	05, 05 freq:0.00866 51-14-05(D:0.445) 54-14-05(D:0.993)	05, 07 freq:0.00709 51-14-07(D:0.349) 54-14-05(D:0.993)
02, 24	07, 27	01, 08	05, 06	07, 05 freq:0.01846 07-08-07(D:0.830) 27-01-05(D:1.001)	06, 05 freq:0.00342 07-01-05(D:0.997) 27-08-06(D:0.422)
02, 11	35, 51	04, 09	09, 04	08, 09 freq:0.03092 35-04-08(D:0.474) 51-09-09(D:1.019)	04, 09 freq:0.02410 35-04-04(D:0.329) 51-09-09(D:1.019)
02, 26	35, 48	01, 08	08, 05	06, 05 freq:0.00006 35-08-06(D:0.455) 48-01-05(D:0.891)	08, 05 freq:0.00005 35-08-08(D:0.344) 48-01-05(D:0.891)
24, 24	62, 35	04, 04	08, 04	08, 08 freq:0.08556 35-04-08(D:0.474) 62-04-08(D:0.885)	08, 04 freq:0.06669 35-04-04(D:0.329) 62-04-08(D:0.885)
02, 33	39, 44	04, 11	07, 08	07, 04 freq:0.00076 39-11-07(D:1.455) 44-04-04(D:0.775)	07, 08 freq:0.00056 39-04-08(D:0.965) 44-11-07(D:0.974)
02, 03	50, 51	17, 08	02, 06	02, 04 freq:0.00021 50-17-02(D:1.000) 51-08-04(D:0.395)	02, 06 freq:0.00018 50-17-02(D:1.000) 51-08-06(D:0.210)
02, 02	60, 61	08, 15	08, 06	06, 06 freq:0.00653 60-08-06(D:0.988) 61-15-06(D:0.859)	06, 08 freq:0.00232 60-15-06(D:0.865) 61-08-08(D:0.220)
02, 33	55, 58	17, 04	02, 08	04, 02 freq:0.01568 55-04-04(D:0.747) 58-17-02(D:0.999)	08, 02 freq:0.00415 55-04-08(D:0.103) 58-17-02(D:0.999)
26, 33	61, 44	04, 07	02, 08	02, 04 freq:0.03022 44-07-02(D:0.993)	02, 08 freq:0.02561 44-07-02(D:0.993)

				61-04-04(D:0.410)	61-04-08(D:0.337)
26, 33	62, 44	07, 14	02, 05	02, 07 freq:0.02939 44-07-02(D:0.993) 62-14-07(D:0.501)	02, 05 freq:0.02242 44-07-02(D:0.993) 62-14-05(D:0.325)
02, 03	35, 44	13, 14	07, 06	05, 06 freq:0.07241 35-14-05(D:0.675) 44-13-06(D:0.999)	07, 06 freq:0.02846 35-14-07(D:0.172) 44-13-06(D:0.999)
02, 11	62, 54	04, 09	08, 09	04, 09 freq:0.03597 54-04-04(D:0.968) 62-09-09(D:0.910)	08, 09 freq:0.03214 54-09-09(D:0.825) 62-04-08(D:0.885)
02, 02	71, 46	08, 08	04, 06	06, 06 freq:0.00492 46-08-06(D:0.979) 71-08-06(D:0.438)	04, 06 freq:0.00385 46-08-06(D:0.979) 71-08-04(D:0.372)
24, 31	51, 54	08, 15	04, 06	06, 06 freq:0.01421 51-15-06(D:0.996) 54-08-06(D:0.940)	04, 06 freq:0.01039 51-08-04(D:0.395) 54-15-06(D:1.006)
02, 24	46, 52	04, 15	04, 06	08, 06 freq:0.00975 46-04-08(D:0.564) 52-15-06(D:1.007)	04, 06 freq:0.00632 46-04-04(D:0.307) 52-15-06(D:1.007)
02, 24	48, 51	04, 11	07, 08	07, 04 freq:0.01163 48-11-07(D:0.955) 51-04-04(D:0.540)	07, 08 freq:0.00760 48-11-07(D:0.955) 51-04-08(D:0.313)
31, 33	44, 51	04, 07	02, 08	02, 04 freq:0.06128 44-07-02(D:0.993) 51-04-04(D:0.540)	02, 08 freq:0.04007 44-07-02(D:0.993) 51-04-08(D:0.313)
02, 02	48, 48	14, 15	07, 05	05, 06 freq:0.00292 48-14-05(D:0.705) 48-15-06(D:0.604)	05, 07 freq:0.00155 48-14-05(D:0.705) 48-15-07(D:0.274)
24, 24	62, 60	14, 15	07, 06	05, 06 freq:0.00826	07, 06 freq:0.00480

				60-14-05(D:0.895)	60-15-06(D:0.865)
				62-15-06(D:0.827)	62-14-07(D:0.501)
11, 11	27, 55	04, 08	04, 04	08, 06 freq:0.00066	04, 06 freq:0.00052
				27-04-08(D:0.458)	27-08-06(D:0.422)
				55-08-06(D:0.575)	55-04-04(D:0.747)
24, 26	35, 52	04, 15	04, 06	08, 06 freq:0.03851	04, 06 freq:0.03002
				35-04-08(D:0.474)	35-04-04(D:0.329)
				52-15-06(D:1.007)	52-15-06(D:1.007)
02, 24	62, 35	04, 04	08, 04	08, 08 freq:0.08556	04, 08 freq:0.06669
				35-04-08(D:0.474)	35-04-04(D:0.329)
				62-04-08(D:0.885)	62-04-08(D:0.885)
02, 02	62, 51	04, 11	07, 04	07, 08 freq:0.03830	07, 04 freq:0.01760
				51-11-07(D:0.931)	51-04-04(D:0.540)
				62-04-08(D:0.885)	62-11-07(D:0.787)
11, 24	62, 52	04, 15	04, 06	06, 08 freq:0.20846	06, 04 freq:0.00098
				52-15-06(D:1.007)	52-04-04(D:0.337)
				62-04-08(D:0.885)	62-15-06(D:0.827)
02, 33	13, 35	13, 14	07, 06	06, 05 freq:0.00249	06, 07 freq:0.00098
				13-13-06(D:1.087)	13-13-06(D:1.087)
				35-14-05(D:0.675)	35-14-07(D:0.172)
24, 24	60, 51	04, 14	07, 04	05, 04 freq:0.01094	07, 04 freq:0.00895
				51-14-05(D:0.445)	51-14-07(D:0.349)
				60-04-04(D:0.586)	60-04-04(D:0.586)
02, 24	48, 51	14, 14	07, 05	05, 05 freq:0.01068	05, 07 freq:0.00874
				48-14-05(D:0.705)	48-14-05(D:0.705)
				51-14-05(D:0.445)	51-14-07(D:0.349)
01, 02	62, 37	14, 15	05, 06	06, 07 freq:0.00029	06, 05 freq:0.00022
				37-15-06(D:0.784)	37-15-06(D:0.784)
				62-14-07(D:0.501)	62-14-05(D:0.325)
02, 26	60, 48	04, 09	08, 09	09, 04	09, 08

				freq:0.00756	freq:0.00301
				48-09-09(D:1.018)	48-09-09(D:1.018)
				60-04-04(D:0.586)	60-04-08(D:0.157)
02, 31	27, 51	01, 04	08, 05	05, 04	05, 08
				freq:0.05071	freq:0.03316
				27-01-05(D:1.001)	27-01-05(D:1.001)
				51-04-04(D:0.540)	51-04-08(D:0.313)
03, 24	07, 27	01, 08	05, 06	07, 05	06, 05
				freq:0.01846	freq:0.00342
				07-08-07(D:0.830)	07-01-05(D:0.997)
				27-01-05(D:1.001)	27-08-06(D:0.422)
26, 33	61, 44	04, 13	08, 06	06, 04	06, 08
				freq:0.06622	freq:0.05612
				44-13-06(D:0.999)	44-13-06(D:0.999)
				61-04-04(D:0.410)	61-04-08(D:0.337)
26, 26	62, 46	04, 08	04, 06	06, 08	06, 04
				freq:0.24406	freq:0.00042
				46-08-06(D:0.979)	46-04-04(D:0.307)
				62-04-08(D:0.885)	62-08-06(D:0.444)
02, 29	07, 48	04, 15	04, 06	06, 08	06, 04
				freq:0.00139	freq:0.00080
				07-15-06(D:0.793)	07-15-06(D:0.793)
				48-04-08(D:0.558)	48-04-04(D:0.253)
02, 31	61, 51	04, 15	08, 06	04, 06	08, 06
				freq:0.01774	freq:0.01160
				51-04-04(D:0.540)	51-04-08(D:0.313)
				61-15-06(D:0.859)	61-15-06(D:0.859)
11, 24	07, 75	01, 04	08, 05	05, 04	05, 08
				freq:0.00425	freq:0.00336
				07-01-05(D:0.997)	07-01-05(D:0.997)
				75-04-04(D:0.000)	75-04-08(D:0.000)
02, 26	71, 54	04, 04	08, 04	04, 07	04, 08
				freq:0.02410	freq:0.01653
				54-04-04(D:0.968)	54-04-04(D:0.968)
				71-04-07(D:0.414)	71-04-08(D:0.253)
24, 24	52, 54	12, 15	09, 06	06, 07	06, 09
				freq:0.00979	freq:0.00080
				52-15-06(D:1.007)	52-12-09(D:0.848)
				54-12-07(D:0.860)	54-15-06(D:1.006)

02, 24	35, 52	14, 15	07, 06	05, 06 freq:0.02733 35-14-05(D:0.675) 52-15-06(D:1.007)	07, 06 freq:0.01074 35-14-07(D:0.172) 52-15-06(D:1.007)
24, 24	51, 54	04, 14	07, 04	05, 04 freq:0.05694 51-14-05(D:0.445) 54-04-04(D:0.968)	07, 04 freq:0.04659 51-14-07(D:0.349) 54-04-04(D:0.968)
24, 33	35, 58	17, 08	02, 08	06, 02 freq:0.01034 35-08-06(D:0.455) 58-17-02(D:0.999)	08, 02 freq:0.00732 35-08-08(D:0.344) 58-17-02(D:0.999)
02, 02	62, 46	04, 09	09, 04	09, 08 freq:0.09422 46-09-09(D:0.939) 62-04-08(D:0.885)	09, 04 freq:0.00151 46-04-04(D:0.307) 62-09-09(D:0.910)
02, 24	35, 61	04, 12	07, 04	08, 07 freq:0.01182 35-04-08(D:0.474) 61-12-07(D:0.681)	04, 07 freq:0.00922 35-04-04(D:0.329) 61-12-07(D:0.681)
02, 31	27, 51	01, 04	08, 05	05, 04 freq:0.05071 27-01-05(D:1.001) 51-04-04(D:0.540)	05, 08 freq:0.03316 27-01-05(D:1.001) 51-04-08(D:0.313)
02, 24	07, 51	08, 12	07, 09	07, 07 freq:0.00521 07-08-07(D:0.830) 51-12-07(D:0.436)	07, 09 freq:0.00253 07-08-07(D:0.830) 51-12-09(D:0.151)
31, 33	62, 58	17, 14	02, 05	02, 07 freq:0.01818 58-17-02(D:0.999) 62-14-07(D:0.501)	02, 05 freq:0.01387 58-17-02(D:0.999) 62-14-05(D:0.325)
02, 31	07, 67	04, 04	08, 04	04, 04 freq:0.00006 07-04-04(D:0.616) 67-04-04(D:0.494)	04, 08 freq:0.00004 07-04-04(D:0.616) 67-04-08(D:0.292)
24, 24	51, 54	04, 14	07, 04	05, 04 freq:0.05694 51-14-05(D:0.445)	07, 04 freq:0.04659 51-14-07(D:0.349)

				54-04-04(D:0.968)	54-04-04(D:0.968)
24, 33	51, 58	13, 14	07, 06	05, 06 freq:0.05082 51-14-05(D:0.445) 58-13-06(D:0.991)	07, 06 freq:0.04159 51-14-07(D:0.349) 58-13-06(D:0.991)
31, 33	44, 51	08, 09	09, 04	06, 09 freq:0.00254 44-08-06(D:0.354) 51-09-09(D:1.019)	04, 09 freq:0.00077 44-08-04(D:0.028) 51-09-09(D:1.019)

Abstract

A study on prediction of HLA-DQ in cadaver donors
and it's clinical significance

Soo-Kyung Kim

Department of Laboratory Medicine

College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

BACKGROUND: Donor-specific HLA antibodies (DSA) against human leukocyte antigen (HLA) are known to cause antibody-mediated rejection (ABMR), therefore being an obstacle to organ transplantation. The importance of HLA-A, -B, and -DR in renal transplantation is well known. Korean Organ Network for Organ Sharing requires HLA-A, -B, and -DR type of donor and recipient for deceased donor kidney transplantation. Importance of HLA-DQ in renal transplantation has not been well known until recently. Recent studies show that DQ DSA is the most common de novo DSA detected after transplantation, and ABMR and graft loss are significantly increased in the presence of DQ DSA. The U.S. and European organ transplantation system requires HLA-DQ type of deceased donor. However, deceased donor HLA-DQ typing is not required in Korea and therefore it is difficult to determine whether detected DQ antibodies are DSA or not, after deceased donor transplantation. Because the HLA gene has strong linkage disequilibrium (LD), certain ethnicity carries a characteristic haplotype. In this study, HLA-DQ was predicted with HLA-A, -B, and -DR. PRA results were re-analyzed by using predicted patient and donor HLA-DQ. We also examined the significance of the predicted DQ (pDQ) DSA by reviewing patient's medical record.

METHODS: HLA-DQ prediction program was developed using LD algorithm and artificial neural network (ANN). Low resolution HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ types of 5,603 Koreans were used to analyze haplotype frequency and to develop DQ prediction program using ANN. The other data set of 403 Koreans with known HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ types were used to analyze accuracy of the program. The LD algorithm produces B-DR-DQ

haplotype and calculates LD, and picks HLA-DQ which shows highest LD. ANN were used to incorporate multi-layer perceptron. To assess the accuracy of the PRA DQ DSA, 1,970 PRA tests performed on 885 renal transplant recipients with known patient and donor HLA-A, -B, -DR, and -DQ were analyzed. In addition, to evaluate the clinical significance of HLA-DQ in renal transplantation, we evaluated the results of PRA and clinical results in 319 patients. With these patients, renal biopsy, creatinine, urine protein and treatment were reviewed and categorized into biopsy confirmed ABMR, clinically suspicious ABMR, biopsy not confirmed but treated with ABMR, clinically not suspicious ABMR, and biopsy confirmed as not ABMR.

RESULTS: Accuracy of HLA-DQ genotype predicted with LD algorithm was 75.4% and ANN was 75.7%. Accuracy of HLA-DQ allele predicted with LD algorithm was 87.1% and ANN was 87.3%. Accuracy of the DQ DSA was 97.5% with LD algorithm and 96.6% with ANN. It showed that patients with DQ or pDQ DSA had a significantly higher chance of receiving ABMR treatment than those without DQ or pDQ DSA (odds ratio 16.2, $P < 0.001$). There was no significant difference in the ABMR treatment rate between the group with DQ DSA and the group with pDQ DSA ($P = 0.152$). Among the patients with unknown donor HLA-DQ, 5.4% of the patients developed PRA DQ antibodies without other DSAs.

CONCLUSIONS: The DQ prediction program developed in this study will be useful in determining DSAs when donor HLA-DQ information is not available. In Korea, deceased donor HLA-DQ type is not required yet. Therefore, the prediction program would be helpful in timely diagnosis and treatment for patients who were transplanted with HLA-DQ unknown deceased donor. However, considering inaccuracies of the prediction program developed in this study, deceased donor HLA-DQ typing should be incorporated in transplantation program in Korea.