

Vecchi e nuovi antigeni di istocompatibilità dei trapianti

Trapianto renale

Antonio Amoroso

Dipartimento di Scienze Mediche Genetica dei Trapianti



Antonio Amoroso

Corrispondenza a:

Antonio Amoroso
Dipartimento di Scienze Mediche
Genetica dei Trapianti
Via Santena, 19 - 10126 Torino - Italy
Phone: +39 011 6334441
Fax: +39 011 6336529
Mobile: +39 335 1328227
E-mail: antonio.amoroso@unito.it

ABSTRACT

Il sistema genetico che influenza maggiormente l'esito dei trapianti di organi è il Complesso Maggiore d'Istocompatibilità (MHC – Major Histocompatibility Complex), che nell'uomo è noto anche come sistema HLA (Human Leucocyte Antigens). Questi geni sono molto polimorfici, vale a dire che ogni individuo della popolazione ha ereditato un set di geni che si combinano in maniera pressoché unica. Essi codificano per glicoproteine di superficie delle cellule che dunque variano da un individuo all'altro e sono riconosciute come bersaglio in caso di trapianto dal sistema immunitario del ricevente.

Si considera che il giusto abbinamento per caratteristiche HLA tra donatore e ricevente possa spiegare meno della metà delle cause immunologiche di fallimento del trapianto. È ben conosciuto che differenze per altre caratteristiche genetiche possano essere responsabili di una quota non piccola dell'insuccesso del trapianto dovuto a cause immunologiche. Queste caratteristiche vengono definite geni (e i loro prodotti antigeni) minori d'istocompatibilità.

I nuovi approcci di studio del genoma consentono di esaminare tutta la variabilità di un ricevente, e di confrontarla con quella del donatore: in questo modo è possibile valutare se collisioni genetiche particolari (vale a dire incompatibilità per alcune di esse) possano influenzare l'esito del trapianto. Questi studi hanno consentito di definire nuovi geni la cui compatibilità tra donatore e ricevente può essere rilevante per il successo del trapianto.

PAROLE CHIAVE: trapianti, genomica, istocompatibilità

Introduzione

La prevalenza globale della malattia renale allo stadio terminale (ESRD) continua a crescere. Nel 2016 negli Stati Uniti sono stati eseguiti 19.301 trapianti di rene e circa cinque volte di più nel mondo. Grazie ai miglioramenti nelle tecniche chirurgiche, nei protocolli di immunosoppressione e nella gestione clinica delle complicanze post-trapianto, i tassi di sopravvivenza a cinque anni del trapianto per i reni ottenuti da donatori deceduti e viventi hanno raggiunto livelli massimi rispettivamente del 75,3% e dell'85,3% [1-3]. Tuttavia, la prevalenza di casi di ESRD negli Stati Uniti ha continuato ad aumentare di circa 20.000 casi all'anno negli ultimi tre decenni, creando una maggiore necessità di allotrapianti renali. Si ritiene che questo aumento sia dovuto principalmente al peggioramento delle diete e ad altri fattori modificabili associati allo stile di vita occidentale, ma anche all'aumento della longevità dei casi di ESRD pre-trapianto.

È ben noto che i fattori genetici contribuiscono allo sviluppo e alla progressione di specifici tipi di malattia renale cronica (CKD), tuttavia molti studi precedenti sono stati di portata limitata a causa delle piccole dimensioni del campione e delle strategie di genotipizzazione [4-8]. Gli studi su famiglie con fenotipi gravi di malattie, come la sindrome di Alport e la malattia di Fabry, hanno contribuito in modo significativo alla comprensione delle caratteristiche genetiche di queste condizioni [9-11]. Tuttavia, le forme più lievi di queste malattie e il loro ruolo nello sviluppo dell'ESRD devono ancora essere esplorate in modo approfondito.

Array di genotipizzazione a livello del genoma

La genotipizzazione dell'intero genoma basata su array da diverse popolazioni di pazienti facilita la determinazione molto precisa dell'ascendenza utilizzando metodi come l'analisi delle componenti principali [12, 13]. Gli studi di associazione sull'intero genoma (GWAS) tra i pazienti con CKD hanno rilevato varianti genetiche sia rare sia comuni significativamente associate al declino della velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) e alla microalbuminuria, alcuni dei più forti predittori di esiti di CKD, nonostante l'80% dei partecipanti GWAS avesse eGFR nell'intervallo normale [7, 14-18].

I risultati degli studi sull'intero genoma possono anche fornire nuovi bersagli terapeutici per rallentare la progressione dell'insufficienza renale cronica a ESRD, che può ritardare o influire sulla necessità di trapianto in alcune popolazioni di pazienti [19, 20]. Ad esempio, la cistinosi nefropatica, una rara malattia autosomica recessiva, è causata da una delezione di 57 kb nel gene *CTNS* in circa il 75% dei pazienti di origine europea e progredisce in ESRD se non trattata [21]. Tuttavia, è stato riscontrato che il trattamento con cisteamina orale entro i cinque anni di età riduce significativamente la prevalenza e ritarda l'insorgenza di ESRD [21]. Inoltre, almeno 38 geni sono stati associati allo sviluppo della glomerulosclerosi segmentaria focale genetica (FSGS), alcuni dei quali hanno dimostrato di essere responsivi al trattamento con glucocorticoidi [22]. I risultati del GWAS possono anche fornire informazioni sulla biologia dell'ESRD, aiutando a rimuovere l'eterogeneità diagnostica.

È stato riscontrato che i due alleli di rischio *APOL1* (G1 e G2) trovati in alta frequenza nelle popolazioni dell'Africa subsahariana e fortemente associati a FSGS e nefropatia da HIV attivano la proteinasi R, inducendo così danno glomerulare e proteinuria [23-25].

Nel complesso, i risultati dello screening dell'intero genoma possono consentire ai medici di fornire diagnosi genetiche accurate per la causa primaria dell'ESRD, consentendo una gestione terapeutica tempestiva ed efficace e aiutando nella valutazione dei membri della famiglia come donatori viventi [26].

Sequenziamento dell'intero esoma e dell'intero genoma

Nell'ultimo decennio, gli approcci di sequenziamento dell'intero esoma (WES) e di sequenziamento dell'intero genoma (WGS) sono stati utilizzati con successo per scoprire e diagnosticare disordini genetici in un contesto clinico [27-30]. Il WES in genere fornisce una copertura del sequenziamento sufficiente su circa il 95% dei nucleotidi nelle regioni codificanti catturate ed è stato utilizzato per diagnosticare rari disturbi mendeliani ad alta penetranza, scoprire varianti comuni e identificare mutazioni causali nel cancro [31, 32]. Il WES è stato recentemente implementato come strumento diagnostico di prima linea nella medicina clinica.

In uno studio su feti con anomalie congenite del rene e delle vie urinarie (CAKUT), sono state scoperte varianti patogene nel 13% dei casi [33]. Il WES è stato applicato anche all'insufficienza renale cronica e all'ESRD a esordio nell'adulto, in cui circa il 10% dei casi è causato da mutazioni mendeliane [28, 30, 34]. In una coorte di >3.000 pazienti con insufficienza renale cronica avanzata ed ESRD accertati per uno studio clinico, WES ha identificato varianti diagnostiche nel 9,3% dei pazienti che comprendevano 66 malattie monogeniche [30]. Delle 343 varianti rilevate, 141 (40%) non erano state precedentemente segnalate come patogene. Inoltre, sono state identificate varianti diagnostiche nel 17,1% degli individui con nefropatia di origine sconosciuta, modificando la gestione medica avviando cure multidisciplinari, richiedendo il rinvio a studi clinici e guidando la selezione dei donatori per il trapianto [30].

Tuttavia, va notato che molti studi sulla CKD che utilizzano WES hanno avuto difficoltà per ottenere popolazioni di controllo adeguate.

WGS è l'approccio più completo per il rilevamento di varianti ereditarie a causa di una copertura più completa dell'intero genoma, sebbene vi siano ulteriori sfide rispetto a WES. WGS può catturare varianti genetiche a singolo nucleotide, piccole inserzioni e delezioni (Indels) e varianti di numero di copie (Cnvs) in tutto il genoma umano, comprese le regioni non codificanti proteine. Sebbene abbia un costo per campione più elevato e possa essere più difficile da analizzare rispetto a WES, risultati diagnostici sono evidenti nei pazienti con risultati WES negativi o inconcludenti [35-36]. È stato dimostrato che il WGS identifica una variante genetica diagnostica in circa il 10-50% degli individui con una sospetta malattia genetica, a seconda della popolazione dello studio clinico sottoposta a screening [30, 37, 38].

Nonostante i progressi tecnologici che consentono di condurre la ricerca su scala genomica, molti studi sono stati ostacolati da piccole dimensioni del campione in singoli centri di trapianto, nonché dal vasto numero di covariate cliniche complesse di donatori e riceventi e fenotipi correlati alla malattia osservati nel trapianto.

Il Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC) ha realizzato il primo GWAS su larga scala con DNA sia del donatore che del ricevente di trapianto di rene con l'obiettivo di identificare varianti genetiche, oltre alle regioni HLA, che contribuiscono in modo significativo a lungo e/o breve termine alla sopravvivenza dell'allotrapianto renale [39]. In questo studio iniziale, a livello genomico non sono stati osservati con significatività segnali riferiti a regioni diverse dall'HLA, illustrando la necessità di armonizzare coorti di trapianto di rene più ampie e con fenotipo certo. Oltre alla variante comune *CYP3A5**3 di perdita di funzione (rs776746), scoperta in precedenza, lo studio DeKAF (Deterioration of Kidney Allograft Function) ha identificato due varianti del *CYP3A5*, rs10264272 e rs41303343, e una variante del *CYP3A4*, rs35599367, che spiegano ulteriori porzioni di varianza osservate per le concentrazioni ematiche di Tacrolimus aggiustate per la dose (TAC) per i trapiantati di rene sia afroamericani (AA) sia europei (EA) [40-43]. Questi risultati illustrano l'utilità degli studi sull'intero genoma nel determinare i regimi di terapia immunosoppressiva post-trapianto, contribuendo potenzialmente a miglioramenti nella sopravvivenza dell'allotrapianto

renale. Un altro studio [44] ha mostrato che il GWAS può predire le complicanze post-trapianto. I punteggi di rischio poligenico calcolati dal GWAS del cancro della pelle diversi dal melanoma (NMSC) nella popolazione generale hanno predetto il rischio e il tempo di insorgenza nel post-trapianto di NMSC e hanno aggiunto un valore predittivo aggiuntivo oltre a quello spiegato dalle variabili cliniche [45].

Gli array di genotipizzazione dell'intero genoma sono ben consolidati come mezzo efficace per l'identificazione di CNV noti e nuovi [46-48]. Lo screening delle CNVs all'interno dei soggetti è di grande interesse sia per la valutazione dell'architettura genetica della malattia primaria sia per gli studi di eventuali ulteriori regioni genomiche i cui prodotti sono bersaglio di una risposta alloimmune. iGeneTRAI_N ha sviluppato un'ampia *pipeline* di perdita di funzione (*Loss of Function – LoF*) che include la ricostruzione dell'aplotipo di oltre 10 milioni di varianti genotipizzate e imputate direttamente. Si è particolarmente interessati a varianti di perdita di funzione in entrambe le copie dello stesso gene (mediante varianti a singolo nucleotide e/o CNV). Le combinazioni più interessanti sono quelle in cui il ricevente risulta LoF per entrambe le copie di un gene, mentre il donatore risulta omozigote per copie corrette o eterozigote per una LoF. L'analisi di queste combinazioni donatore-ricevente (o "collisioni genomiche"), consente di identificare associazioni tra regioni genomiche precedentemente ignorate con eventi di rigetto e perdita del trapianto [44].

Lo screening CNV in regioni a priori coinvolte per la malattia primaria è stato eseguito in coorti iGeneTRAI_N. Ad esempio, è stato eseguito lo screening CNV in pazienti con nefronoftisi (NPH), la causa genetica più comune di ESRD nei bambini e spesso causata da delezioni omozigoti del gene *NPHP1* completo [49-52]. In iGeneTRAI_N, è stata precedentemente esaminata questa regione in un sottogruppo ad esordio nell'adulto (circa 5.600 pazienti).

Dei soggetti analizzati, 26 pazienti hanno mostrato delezioni omozigoti di CNV in *NPHP1*. È interessante notare che solo il 12% di questi pazienti era stato precedentemente diagnosticato come affetto da NPH e molti presentavano ESRD più tardi nell'età adulta [26]. Pertanto, l'utilizzo della perdita del gene in due copie di *NPHP1* dagli array *genomewide* per accertare lo stato dell'NPH ed esaminare le informazioni relative all'NPH, inclusa l'accuratezza dell'accertamento del caso e l'età di insorgenza, mostra una forte prova di principio per l'uso in altre malattie autosomiche recessive/dominanti ad alta penetranza e la necessità di un ulteriore sequenziamento per varianti rare a singolo nucleotide in pazienti con ESRD ad esordio adulto. Inoltre, in una recente analisi dell'intero genoma delle CNV in quasi 3.000 casi di CAKUT, sono stati identificati 45 disturbi genomici distinti e noti in 37 loci genomici indipendenti nel 4% dei casi di CAKUT e sono stati trovati nuovi disturbi genomici in un ulteriore ~ 2% di casi [47].

Grazie ad un approccio del genere, in un recente studio collaborativo di più coorti di pazienti di origine geografica differente sottoposti a trapianto di rene, è stato identificato *LIMS1* come nuovo antigene minore di istocompatibilità. In maniera riproducibile in tutte le coorti, i riceventi che risultavano possedere varianti LoF di questo gene in entrambe le copie, avevano una prospettiva di successo del trapianto significativamente peggiore, ed un rischio di rigetto aumentato. È stato inoltre possibile rilevare nei sieri dei pazienti omozigoti per varianti LoF di *LIMS1*, la presenza di anticorpi in grado di riconoscere la proteina prodotta da questo gene [48].

La genotipizzazione e l'imputazione dell'intero genoma utilizzando grandi set di dati di sequenziamento dell'intero genoma (WGS), come il progetto 1000 genomes (1KGP), in genere non è in grado di identificare varianti nelle popolazioni ancestrali più comuni con una frequenza allelica minore (MAF) di <0,005, tuttavia è spesso possibile identificare CNV rare utilizzando sonde monomorfiche o basate su SNP che siano specifiche per i loci di interesse.

Conclusioni

Gli studi di genotipizzazione dell'intero genoma sono diventati molto convenienti e semplificati. Tuttavia, sono necessarie grandi dimensioni del campione, dell'ordine di 10.000-100.000, per rilevare sia varianti rare con contributi grandi che varianti comuni con contributi minori a uno o più fenotipi specifici [53]. Sebbene sia molto importante rafforzare il potere statistico per rilevare le basi genetiche dei fenotipi correlati al trapianto aggregando coorti simili, è necessario prestare grande attenzione quando si combinano set di dati di genotipizzazione e fenotipizzazione, soprattutto perché le covariate dello studio dei trapianti sono molto complesse e possono variare notevolmente in base all'era e regione geografica. Occorre disporre di una pipeline unificata di analisi GWAS per il controllo dei dati e per garanzia di qualità, compresi gli aggiustamenti per la stratificazione basata sulla popolazione [49].

Le analisi degli studi di associazione si adattano a tutte le covariate di studio note/disponibili, inclusi i dati demografici del paziente e le caratteristiche cliniche. Gli array di genotipizzazione dell'intero genoma sono generalmente scarsi nel rilevare varianti patogene di frequenza più rare, ad eccezione di CNV medio-grandi. I progressi significativi nelle tecnologie genomiche e il costo decrescente delle analisi WES/WGS negli ultimi anni hanno reso sempre più fattibile condurre studi sull'intero genoma meglio progettati in un ambiente clinico [54]. Tuttavia, esistono ancora vantaggi significativi nell'avere set di dati di array di genotipizzazione dell'intero genoma, poiché sul DNA originale vengono generalmente eseguite rigorose misure di controllo della qualità e della concordanza di genere, di discendenza e di tipizzazione HLA, che possono essere fatte prima di passare alle piattaforme WES o WGS per una caratterizzazione genetica più approfondita. I GWAS sono in grado di fornire informazioni dettagliate sui punteggi di rischio genetico e sui CNV patogeni, poiché le varianti dell'intero genoma sono coperte da array convenzionali di genotipizzazione dell'intero genoma [13, 26, 44, 55, 56]. Ad esempio, una metanalisi su 36 articoli ha identificato tre varianti genetiche che sono significativamente associate al diabete di nuova insorgenza dopo il trapianto (NODAT), tutte varianti note di fattori di rischio per il diabete di tipo 2. L'integrazione e l'analisi di set di dati multi-omici ampi e complessi è stata dimostrata in una serie di recenti pubblicazioni ad alto impatto, che in generale aumentano, di circa 10 volte, il potere statistico di rilevare e illustrare varianti funzionali [57-60]. I dati genomici possono essere integrati con i risultati di studi sui trapianti di proteomica, metabolomica e trascrittomica per caratterizzare ulteriormente i rischi clinici e consentire trattamenti personalizzati, poiché numerosi studi dispongono di set di dati/campioni multi-omici [48].

L'avvento del sequenziamento dell'RNA unicellulare (RNASeq) ha prodotto importanti approfondimenti sulla biologia della CKD. Gli atlanti dei tratti quantitativi di espressione (eQTL) sono stati generati per i compartimenti glomerulari e tubulari da cellule renali umane. È stato dimostrato che l'integrazione dei risultati degli studi sull'intero genoma della CKD con eQTL da RNAseq e delle mappe della regione regolatoria nota permette di identificare nuovi geni della CKD [61].

Il progetto Human Cell Atlas è un'importante iniziativa internazionale che mira a creare mappe di riferimento complete di tutte le cellule umane per ottenere informazioni fondamentali sulla comprensione della salute umana e aiuterà senza dubbio nella diagnosi e nella sorveglianza di una serie di malattie [62].

Poiché la popolazione dei trapiantati di rene e dei donatori continua a crescere, con l'aumentare dei risultati post-trapianto, saremo in grado di aumentare ulteriormente la nostra conoscenza delle basi genetiche dell'ESRD, della malattia primaria e degli esiti post-trapianto, come rigetto acuto e perdita dell'innesto. Questi approcci di sequenziamento possono fornire ulteriori informazioni sulle interazioni donatore-ricevente che influenzano i risultati del trapianto. Sebbene sia ben stabilito che

Le corrispondenze alleliche tra i loci HLA influiscono sugli esiti clinici dopo il trapianto, vi è una scarsità di ricerche sull'intero genoma condotte per identificare le interazioni donatore-ricevente indipendentemente dall'HLA [8, 48, 63, 64]. Un recente studio iGeneTRAI_N sul trapianto di rene ha mostrato una ridotta sopravvivenza dell'allograpianto nei riceventi che presentano un aumento degli SNP non sinonimi (nsSNP) che coinvolgono proteine transmembrana renale. È stato inoltre dimostrato che è possibile rilevare alloanticorpi contro peptidi amminoacidici personalizzati progettati con un certo numero di questi nsSNP transmembrana renali utilizzando sieri di questi pazienti [65]. Infine, i dati di tutti gli studi sui trapianti di rene possono essere utilizzati per tutti gli altri organi al fine di ottenere ulteriori informazioni sulla genetica del rigetto acuto, della sopravvivenza dell'allograpianto/paziente e degli esiti farmacogenomici.

BIBLIOGRAFIA

1. Cohen, D. J., St Martin, L., Christensen, L. L., Bloom, R. D., and Sung, R. S. (2006). Kidney and pancreas transplantation in the United States, 1995-2004. *Am. J. Transplant.* 6 (5 Pt 2), 1153–1169. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01272.x>.
2. Serur, D., Saal, S., Wang, J., Sullivan, J., Bologa, R., Hartono, C., et al. (2011). Deceased-donor kidney transplantation: improvement in long-term survival. *Dial Transplant.* 26 (1), 317–324. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq415>.
3. Vignolini, G., Campi, R., Sessa, F., Greco, I., Larti, A., Giancane, S., et al. (2019). Development of a robot-assisted kidney transplantation programme from deceased donors in a referral academic centre: technical nuances and preliminary results. *BJU Int.* 123 (3), 474–484. <https://doi.org/10.1111/bju.14588>.
4. Azarpira, N., Kazemi, K., and Darai, M. (2014). Influence of p53 (rs1625895) polymorphism in kidney transplant recipients. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl* 25 (6), 1160–1165. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.144248>.
5. Misra, M. K., Kapoor, R., Pandey, S. K., Sharma, R. K., and Agrawal, S. (2014). Association of CTLA-4 gene polymorphism with end-stage renal disease and renal allograft outcome. *J. Interferon Cytokine Res.* 34 (3), 148–161. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0069>.
6. Phelan, P. J., Conlon, P. J., and Sparks, M. A. (2014). Genetic determinants of renal transplant outcome: where do we stand? *Nephrol.* 27 (3), 247–256. <https://doi.org/10.1007/s40620-014-0053-4>.
7. Parsa, A., Kanetsky, P. A., Xiao, R., Gupta, J., Mitra, N., Limou, S., et al. (2017). Genome-wide association of CKD progression: the chronic renal insufficiency cohort study. *Am. Soc. Nephrol.* 28 (3), 923–934. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015101152>.
8. Stapleton, C. P., Conlon, P. J., and Phelan, P. J. (2018). Using omics to explore complications of kidney transplantation. *Transpl Int.* 31 (3), 251–262. <https://doi.org/10.1111/tri.13067>.
9. Gillion, V., Dahan, K., Cosyns, J. P., Hilbert, P., Jadoul, M., Goffin, E., et al. (2018). Genotype and outcome after kidney transplantation in alport syndrome. *Kidney Int. Rep.* 3 (3), 652–660. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2018.01.008>.
10. Kashiwagi, Y., Suzuki, S., Agata, K., Morishima, Y., Inagaki, N., Numabe, H., et al. (2018). A family case of X-linked Alport syndrome patients with a novel variant in COL4A5. *CEN Case Rep.* 8 (2), 75–78. <https://doi.org/10.1007/s13730-018-0368-4>.
11. McCloskey, S., Brennan, P., and Sayer, J. A. (2018). Variable phenotypic presentations of renal involvement in Fabry disease: a case series. *F1000 Res* 7, 356. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13708.1>.
12. Cai, M., Dai, H., Qiu, Y., Zhao, Y., Zhang, R., Chu, M., et al. (2013). SNP set association analysis for genome-wide association
13. Li, Y. R., van Setten, J., Verma, S. S., Lu, Y., Holmes, M. V., Gao, H., et al. (2015). Concept and design of a genome-wide association genotyping array tailored for transplantation-specific studies. *Genome Med.* 7, 90. <https://doi.org/10.1186/s13073-015-0211-x>.
14. Boger, C. A., Chen, M. H., Tin, A., Olden, M., Kottgen, A., de Boer, I. H., et al. (2011). CUBN is a gene locus for albuminuria. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22 (3), 555–570. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010060598>.
15. Boger, C. A., Gorski, M., Li, M., Hoffmann, M. M., Huang, C., Yang, Q., et al. (2011b). Association of eGFR-Related Loci Identified by GWAS with Incident CKD and ESRD. *PLoS Genet.* 7 (9), e1002292. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002292>.
16. Reznichenko, A., Boger, C. A., Snieder, H., van den Born, J., de Borst, M. H., Damman, J., et al. (2012). UMOD as a susceptibility gene for end-stage renal disease. *BMC Med. Genet.* 13, 78. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-13-78>.
17. Gorski, M., Tin, A., Garnaas, M., McMahon, G. M., Chu, A. Y., Tayo, B. O., et al. (2015). Genome-wide association study of kidney function decline in individuals of European descent. *Kidney Int.* 87 (5), 1017–1029. <https://doi.org/10.1038/ki.2014.361>.
18. Limou, S., Vince, N., and Parsa, A. (2018). Lessons from CKD-related genetic association studies—moving forward. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 13 (1), 140–152. <https://doi.org/10.2215/CJN.09030817>.
19. Wuttke, M., and Kottgen, A. (2016). Insights into kidney diseases from genome-wide association studies. *Rev. Nephrol.* 12 (9), 549–562. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.107>.
20. Kalatharan, V., Lemaire, M., and Lanktree, M. B. (2018). Opportunities and challenges for genetic studies of end-stage renal disease in Canada. *Can. J. Kidney Health Dis.* 5, 2054358118789368. <https://doi.org/10.1177/2054358118789368>.
21. Brodin-Sartorius, A., Tete, M. J., Niaudet, P., Antignac, C., Guest, G., Ottolenghi, C., et al. (2012). Cysteamine therapy delays the progression of nephropathic cystinosis in late adolescents and adults. *Kidney Int.* 81 (2), 179–189. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.277>.
22. Rosenberg, A. Z., and Kopp, J. B. (2017). Focal segmental glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12 (3), 502–517. <https://doi.org/10.2215/CJN.05960616>.
23. Kopp, J. B., Nelson, G. W., Sampath, K., Johnson, R. C., Genovese, G., An, P., et al.

- (2011). APOL1 genetic variants in focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22 (11), 2129–2137. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011040388>.
24. Limou, S., Nelson, G. W., Kopp, J. B., and Winkler, C. A. (2014). APOL1 kidney risk alleles: population genetics and disease associations. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 21 (5), 426–433. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.06.005>.
 25. Okamoto, K., Rausch, J. W., Wakashin, H., Fu, Y., Chung, J. Y., Dummer, P. D., et al. (2018). APOL1 risk allele RNA contributes to renal toxicity by activating protein kinase R. *Biol.* 1, 188. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0188-2>.
 26. Snoek, R., van Setten, J., Keating, B. J., Israni, A. K., Jacobson, P. A., Oetting, W. S., et al. (2018). NPHP1 (Nephrocystin-1) gene deletions cause adult-onset ESRD. *Am. Soc. Nephrol.* 29 (6), 1772–1779. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017111200>.
 27. Mallawaarachchi, A. C., Hort, Y., Cowley, M. J., McCabe, M. J., Minoche, A., Dinger, M. E., et al. (2016). Whole-genome sequencing overcomes pseudogene homology to diagnose autosomal dominant polycystic kidney disease. *Eur. J. Hum. Genet.* 24 (11), 1584–1590. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.48>.
 28. Lata, S., Marasa, M., Li, Y., Fasel, D. A., Groopman, E., Jobanputra, V., et al. (2018). Whole-Exome Sequencing in Adults With Chronic Kidney Disease: A Pilot Study. *Ann. Intern Med.* 168 (2), 100–109. <https://doi.org/10.7326/M17-1319>.
 29. Warejko, J. K., Tan, W., Daga, A., Schapiro, D., Lawson, J. A., Shril, S., et al. (2018). Whole exome sequencing of patients with steroid-resistant nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13 (1), 53–62. <https://doi.org/10.2215/CJN.04120417>.
 30. Groopman, E. E., Marasa, M., Cameron-Christie, S., Petrovski, S., Aggarwal, V. S., Milo-Rasouly, H., et al. (2019). Diagnostic utility of exome sequencing for kidney disease. *N Engl. J. Med.* 380 (2), 142–151. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1806891>.
 31. Huang, K. L., Mashl, R. J., Wu, Y., Ritter, D. I., Wang, J., Oh, C., et al. (2018). Pathogenic germline variants in 10,389 adult cancers. *Cell* 173 (2), 355–370 e314. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.039>.
 32. Zhang, J., Qiu, W., Liu, H., Qian, C., Liu, D., Wang, H., et al. (2018). Genomic alterations in gastric cancers discovered via whole-exome sequencing. *BMC Cancer* 18 (1), 1270. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5097-8>.
 33. Lei, T. Y., Fu, F., Li, R., Wang, D., Wang, R. Y., Jing, X. Y., et al. (2017). Whole exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nephrol. Dial Transplant.* 32 (10), 1665–1675. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx031>.
 34. Wuhl, E., van Stralen, K. J., Wanner, C., Ariceta, G., Heaf, J. G., Bjerre, A. K., et al. (2014). Renal replacement therapy for rare diseases affecting the kidney: an analysis of the ERA-EDTA Registry. *Dial Transplant.* 29 Suppl 4, iv1–iv8. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu030>.
 35. Alfares, A., Aloraini, T., Subaie, L. A., Alissa, A., Qudsi, A. A., Alahmad, A., et al. (2018). Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing. *Genet. Med.* 20 (11), 1328–1333. <https://doi.org/10.1038/gim.2018.41>.
 36. Lionel, A. C., Costain, G., Monfared, N., Walker, S., Reuter, M. S., Hosseini, S. M., et al. (2018). Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test. *Genet. Med.* 20 (4), 435–443. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.119>.
 37. van der Ven, A. T., Connaughton, D. M., Ityel, H., Mann, N., Nakayama, M., Chen, J., et al. (2018). Whole-exome sequencing identifies causative mutations in families with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Am. Soc. Nephrol.* 29 (9), 2348–2361. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017121265>.
 38. Mann, N., Braun, D. A., Amann, K., Tan, W., Shril, S., Connaughton, D. M., et al. (2019). Whole-Exome sequencing enables a precision medicine approach for kidney transplant recipients. *J. Am. Soc.* 30 (2), 201–215. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018060575>.
 39. Hernandez-Fuentes, M. P., Franklin, C., Rebollo-Mesa, I., Mollon, J., Delaney, F., Perucha, E., et al. (2018). Long- and short-term outcomes in renal allografts with deceased donors: a large recipient and donor genome-wide association study. *Am. J. Transplant.* 18 (6), 1370–1379. <https://doi.org/10.1111/ajt.14594>.
 40. Dai, Y., Hebert, M. F., Isoherranen, N., Davis, C. L., Marsh, C., Shen, D. D., et al. (2006). Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab. Dispos.* 34 (5), 836–847. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.008680>.
 41. Jacobson, P. A., Oetting, W. S., Brearley, A. M., Leduc, R., Guan, W., Schladt, D., et al. (2011). Novel polymorphisms associated with tacrolimus trough concentrations: results from a multicenter kidney transplant consortium. *Transplantation* 91 (3), 300–308. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318200e991>.
 42. Oetting, W. S., Schladt, D. P., Guan, W., Miller, M. B., Remmel, R. P., Dorr, C., et al. (2016). Genomewide association study of tacrolimus concentrations in african american kidney transplant recipients identifies multiple CYP3A5 alleles. *Am. J. Transplant.* 16 (2), 574–582. <https://doi.org/10.1111/ajt.13495>.
 43. Oetting, W. S., Wu, B., Schladt, D. P., Guan, W., Remmel, R. P., Mannon, R. B., et al. (2018).

- Genome-wide association study identifies the common variants in CYP3A4 and CYP3A5 responsible for variation in tacrolimus trough concentration in Caucasian kidney transplant recipients. *Pharmacogenomics J.* 18 (3), 501–505. <https://doi.org/10.1038/tpj.2017.49>.
44. International Genetics and Translational Research in Transplantation Network (iGeneTRaiN). (2015). Design and Implementation of the International Genetics and Translational Research in Transplantation Network. *Transplantation* 99 (11), 2401–2412. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000913>.
 45. Stapleton, C. P., Birdwell, K. A., McKnight, A. J., Maxwell, A. P., Mark, P. B., Sanders, M. L., et al. (2019). Polygenic risk score as a determinant of risk of non-melanoma skin cancer in a European-descent renal transplant cohort. *J. Transplant.* 19 (3), 801–810. <https://doi.org/10.1111/ajt.15057>.
 46. Sallustio, F., Cox, S. N., Serino, G., Curci, C., Pesce, F., De Palma, G., et al. (2015). Genome-wide scan identifies a copy number variable region at 3p21.1 that influences the TLR9 expression levels in IgA nephropathy patients. *J. Hum. Genet.* 23 (7), 940–948. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.208>.
 47. Ai, Z., Li, M., Liu, W., Foo, J. N., Mansouri, O., Yin, P., et al. (2016). Low alpha defensin gene copy number increases the risk for IgA nephropathy and renal dysfunction. *Sci. Transl. Med.* 8 (345), 345ra388. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf2106>.
 48. Steers NJ, Li Y, Drace Z, D'Addario JA, Fischman C, Liu L, et al. (2019) Genomic Mismatch at LIMS1 Locus and Kidney Allograft Rejection. *N Engl J Med.* 2019 May 16;380(20):1918-1928. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803731>.
 49. Verbitsky, M., Westland, R., Perez, A., Kiryluk, K., Liu, Q., Krithivasan, P., et al. (2019). The copy number variation landscape of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Genet.* 51 (1), 117–127. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0281-y>.
 50. Levy, M., and Feingold, J. (2000). Estimating prevalence in single-gene kidney diseases progressing to renal failure. *Kidney Int.* 58 (3), 925–943. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00250.x>.
 51. Hildebrandt, F. (2010). Genetic kidney diseases. *Lancet* 375 (9722), 1287–1295. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60236-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60236-X).
 52. Wolf, M. T., and Hildebrandt, F. (2011). Nephronophthisis. *Nephrol.* 26 (2), 181–194. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1585-z>.
 53. Korte, A., and Farlow, A. (2013). The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant Methods* 9, 29. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-29>.
 54. Gumpinger, A. C., Roqueiro, D., Grimm, D. G., and Borgwardt, K. M. (2018). Methods and tools in genome-wide association studies. *Methods Mol. Biol.* 1819, 93–136. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8618-7_5.
 55. Sampson, M. G., and Juppner, H. (2013). Genes, exomes, genomes, copy number: what is their future in pediatric renal disease. *Pediatr. Rep.* 1 (1), 52–59. <https://doi.org/10.1007/s40124-012-0001-5>.
 56. Marigorta, U. M., Rodriguez, J. A., Gibson, G., and Navarro, A. (2018). Replicability and prediction: lessons and challenges from GWAS. *Trends Genet.* 34 (7), 504–517. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.03.005>.
 57. Chen, R., Mias, G. I., Li-Pook-Than, J., Jiang, L., Lam, H. Y., Chen, R., et al. (2012). Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes. *Cell* 148 (6), 1293–1307. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.009>.
 58. Piening, B. D., Zhou, W., Contrepois, K., Röst, H., Gu Urban, G. J., Mishra, T., et al. (2018). Integrative personal omics profiles during periods of weight gain and loss. *Cell Syst.* 6 (2), 157–170. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2017.12.013>.
 59. Schüssler-Fiorenza Rose, S. M., Contrepois, K., Moneghetti, K. J., Zhou, K., Mishra, T., Mataraso, S., et al. (2019). A longitudinal big data approach for precision health. *Med.* 25 (5), 792–804. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0414-6>.
 60. Zhou, W., Sailani, M. R., Contrepois, K., Zhou, Y., Ahadi, S., Leopold, S. R., et al. (2019). Longitudinal multi-omics of host-microbe dynamics in prediabetes. *Nature* 569 (7758), 663–671. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1236-x>.
 61. Qiu, C., Huang, S., Park, J., Park, Y., Ko, Y. A., Seasock, M. J., et al. (2018). Renal compartment-specific genetic variation analyses identify new pathways in chronic kidney disease. *Med.* 24 (11), 1721–1731. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0194-4>.
 62. Regev, A., Teichmann, S. A., Lander, E. S., Amit, I., Benoist, C., Birney, E., et al. (2017). The human cell atlas. *Elife* 6, 1–30. <https://doi.org/10.7554/eLife.27041>.
 63. Thorsby, E. (2009). A short history of HLA. *Tissue Antigens* 74 (2), 101–116. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2009.01291.x>.
 64. Chan-On, C., and Sarwal, M. (2016). Non-HLA Antibodies in clinical transplantation. *Clin. Transpl* 32, 45–61.
 65. Reindl-Schwaighofer, R., Heinzl, A., Kainz, A., van Setten, J., Jelencsics, K., Hu, K., et al. (2019). Contribution of non-HLA incompatibility between donor and recipient to kidney allograft survival: genome-wide analysis in a prospective cohort. *Lancet* 393 (10174), 910–917. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32473-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32473-5)