

Вероятность развития несостоятельности трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора реципиента

У.В. Масликова✉, Е.Г. Хамаганова, М.Ю. Дроков, И.Ю. Урыбин,
Е.Д. Михальцова, Л.А. Кузьмина, Е.Н. Паровичникова
ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ,
125167, Россия, Москва, Новый Зыковский пр-д, д. 4

✉ Автор, ответственный за переписку: Ульяна Владиславовна Масликова, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ гематологии, maslikova.ulyana@outlook.com

Аннотация

Введение. Натуральные киллеры – «первая линия» противоопухолевой и противовирусной защиты в ранние сроки после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Количественные характеристики достигают нормальных значений уже в первый месяц после введения реципиенту стволовых клеток крови. Самоотолерантность натуральных киллеров достигается за счет множества рецепторов на их поверхности, но ключевую роль играют киллерные иммуноглобулиноподобные рецепторы. Их роль заключается в распознавании «своих» клеток и блокировке сигналов, направленных на уничтожение собственных клеток. Знание функциональной активности натуральных киллеров привело к изучению влияния несовпадений гена ингибирующего рецептора и лиганда на развитие несостоятельности трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Цель. Изучить вероятность развития несостоятельности трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора реципиента.

Материал и методы. В исследовании было выполнено генотипирование киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов 66 реципиентам стволовых клеток крови методом полимеразной цепной реакции. В зависимости от генотипа с помощью онлайн-калькулятора рецепторы классифицировали как «наилучший», «лучший» и «нейтральный». Конечной точкой оценки было развитие несостоятельности трансплантата при наличии различных генотипов иммуноглобулиноподобных рецепторов у реципиента.

Результаты. По полученным данным, наличие у реципиента «лучшего» и «наилучшего» генотипа киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов статистически значимо повышало риски развития различных форм несостоятельности трансплантата.

Заключение. Присутствие генотипа КИР2DL3 у реципиента гемопоэтических стволовых клеток значительно (в 3 раза) уменьшает вероятность развития первичной несостоятельности трансплантата. Указанный результат имеет важное значение в прогностическом плане, хотя в настоящее время путей влияния на него не разработано. Наличие «наилучшего» генотипа киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов у реципиента увеличивает вероятность развития несостоятельности трансплантата более чем в 3 раза по сравнению с лучшим и нейтральным генотипом (44,4% vs 13,4%).

Ключевые слова: киллерный иммуноглобулиноподобный рецептор, натуральные киллеры, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, несостоятельность трансплантата

Конфликт интересов Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов
Исследование проводилось без спонсорской поддержки

Для цитирования: Масликова У.В., Хамаганова Е.Г., Дроков М.Ю., Урыбин И.Ю., Михальцова Е.Д., Кузьмина Л.А. и др. Вероятность развития несостоятельности трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора реципиента. *Трансплантология*. 2023;15(1):23–33. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2023-15-1-23-33>

Probability of allogeneic hematopoietic stem cell transplant failure depending on the recipient's killer immunoglobulin-like receptor genotype

U.V. Maslikova[✉], E.G. Khamaganova, M.Yu. Drokov, I.Yu. Urybin,

E.D. Mikhaltsova, L.A. Kuzmina, E.N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology,

4 Noviy Zykovskiy Dr., Moscow 125167 Russia

[✉]Corresponding author: Ulyana V. Maslikova, Hematologist, Department of Chemotherapy for Hemoblastoses and Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation, National Medical Research Center for Hematology, maslikova.ulyana@outlook.com

Abstract

Introduction. Natural killers are the "first line" of antitumor and antiviral protection in the early stages after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Quantitative characteristics reach normal values already in the first month after the infusion of blood stem cells to the recipient. Self-tolerance of natural killers is achieved due to many receptors on their surface, but killer immunoglobulin-like receptors play a key role. Their role is to recognize "self" cells and block signals aimed at destroying their own cells. Knowledge of the functional activity of natural killers urged to studying the impact of mismatches between the inhibitory receptor gene and the ligand on the development of allogeneic hematopoietic stem cell transplant failure.

The aim of research was to study the probability of the graft failure development in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depending on the recipient's killer immunoglobulin-like receptor genotype.

Material and methods. Genotyping of killer-cell immunoglobulin-like receptors in 66 recipients of blood stem cells by the polymerase chain reaction method was performed in the study. Using an online calculator, receptors were classified as "best", "better" and "neutral" depending on the genotype. The end point of the assessment was the development of graft failure in the presence of different genotypes of immunoglobulin-like receptors in the recipient.

Results. According to the data obtained, the presence of the "best" and "better" killer-cell immunoglobulin-like receptor genotype in the recipient significantly increased the risks of developing various forms of graft failure.

Conclusion. The presence of the KIR2DL3 genotype in a recipient of hematopoietic stem cells significantly (by 3 times) reduces the likelihood of primary graft failure. This result is of great prognostic significance, although at present no ways of influencing it have been developed. The presence of the "best" killer immunoglobulin-like receptors genotype in the recipient increases the likelihood of developing graft failure by more than 3 times compared to the best and neutral genotype (44.4% vs. 13.4%).

Keywords: killer-cell immunoglobulin-like receptors, natural killer, stem cell transplantation, graft failure

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The study was performed without external funding

For citation: Maslikova UV, Khamaganova EG, Drokov MYu, Urybin IYu, Mikhaltsova ED, Kuzmina LA, et al. Probability of allogeneic hematopoietic stem cell transplant failure depending on the recipient's killer immunoglobulin-like receptor genotype. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2023;15(1):23–33. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2023-15-1-23-33>

алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
КИР – киллерный иммуноглобулиноподобный рецептор
КМ – костный мозг
МАК – миелоаблативное кондиционирование
МДС – миелодиспластический синдром
НК – натуральные киллеры
НТ – несостоятельность трансплантата
ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ – острый миелобластный лейкоз
ПМФ – первичный миелофиброз

ПНТ – первичная несостоятельность трансплантата
ТКИД – тяжелый комбинированный иммунодефицит
ТПХ – «трансплантат против хозяина»
ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз
ХПТ – «хозяин против трансплантата»
МНС-I – молекула главного комплекса гистосовместимости I класса
PCR-SSP – полимеразная цепная реакция с сиквенс-специфическими праймерами
RIC – кондиционирование пониженной интенсивности

Введение

Натуральные киллеры (НК) – клетки врожденной иммунной системы, обеспечивающие

защиту организма от инфекционных агентов и опухолевых клеток. В ответ на проникновение патогена НК-клетки способны секретировать цитокины в течение нескольких минут или часов,

таким образом образуя «первую линию» защиты организма. Созревание и обучение НК-клеток принципиально отличается от иных субпопуляций лимфоцитов. НК-клетки распознают чужеродные клетки без праймирования и предварительной активации, вместо этого взаимодействуя с рецепторами, отличными от хозяйских [1, 2]. Цитотоксическая активность появляется у НК-клеток после прохождения «лицензирования» (обучения). Самоотолерантность НК-клеток достигается при помощи появления самоингибирующих рецепторов в процессе созревания НК-клеток [3].

НК-клетки являются первой субпопуляцией донорских лимфоцитов, которые восстанавливаются после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [4–8]. В течение первого месяца после трансплантации количество НК-клеток восстанавливается до нормы, однако иммунофенотипические и функциональные характеристики зрелых клеток они приобретают в течение еще нескольких месяцев. Механизм действия большинства современных иммуносупрессивных препаратов связан с воздействием на клетки адаптивной иммунной системы. Именно поэтому в ранние сроки после алло-ТГСК врожденный иммунитет является важным фактором противоопухолевой и противoinфекционной защиты. На основании поверхностной экспрессии CD56 НК-клетки можно разделить на два основных подтипа: НК-клетки CD56^{bright} CD16 +/- и CD56^{dim} CD16+. На 30-й день после алло-ТГСК общее количество НК-клеток достигает нормальных значений, однако около половины из них представлены клетками с незрелым фенотипом – CD56^{bright}, в норме на их долю приходится около 10% всех НК-клеток в периферической крови [8]. Для дальнейшего созревания им требуется от 3 до 6 месяцев. НК-клетки незрелого фенотипа обладают уникальными характеристиками: на них отсутствует киллерный иммуноглобулиноподобный рецептор (КИР), в то же время присутствует большое количество других ингибирующих рецепторов – CD94/NKG2A. НК-клетки CD56^{bright} преимущественно секретируют цитокины, такие как гамма-интерферон и/или фактор некроза опухоли, и проявляют высокую пролиферативную способность. Вторым подтипом НК-клеток являются CD56^{dim}, которые выделяют большое количество перфоринов и гранзимов, тем самым проявляя мощную цитотоксическую способность. Функция НК-клеток определяется суммарным эффектом передачи

сигналов клетке-мишени через множество активирующих и ингибирующих рецепторов.

Предполагаемый механизм действия НК-клеток впервые был описан в 80-х годах прошлого века Люнгреном и Карпе. Их гипотеза была названа «отсутствующий я» ("missing self") и состояла в том, что для того, чтобы не причинять собственным клеткам организма вреда, НК-клетки должны отличить здоровые клетки от инфицированных. В своем исследовании они отметили, что НК-клетки убивали мутантные клетки, которые не несли на своей поверхности молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС-I), в то время как собственные клетки МНС-I+ они не затрагивали [9]. Таким образом, опухолевые или пораженные вирусными частицами клетки перестраивают МНС-I, чтобы избежать влияния Т-клеточного иммунного ответа, но попадают под воздействие НК-клеток. Распознавание «отсутствующего я» происходит у людей за счет киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора (КИР), который присутствует на 90–95% НК CD56^{dim} [10–11].

КИР представляют собой трансмембранные рецепторы, экспрессируемые на НК-клетках. Первоначально они были определены как ингибирующие рецепторы и названы «ингибирующие рецепторы клеток-киллеров». Гены КИР расположены на хромосоме 19q13.4 и наследуются независимо от МСН. Таким образом, только 1/4 HLA-идентичных родственных трансплантаций окажутся КИР-совместимыми, а в случае с неродственными трансплантациями КИР-идентичность практически не встречается.

На основании структурных особенностей строения рецепторов гены КИР были классифицированы и разделены на четыре группы: KIR2DL1–5, KIR3DL1–3, KIR2DS1–5 и KIR3DS1 (D – количество иммуноглобулиноподобных доменов в молекуле, L – long, S – short. Эти буквы в названии обозначают длинный или короткий цитоплазматический «хвост», последняя цифра указывает номер гена, кодирующего белок с данной структурой). Также выделяют два псевдогена: KIR2DP1 и KIR3DP1 (P – pseudogenes, псевдоген). Гены, имеющие длинный цитоплазматический «хвост», относятся к ингибирующим, короткий – к генам активирующих рецепторов. Эти группы объединяют в два гаплотипа: более широкий гаплотип В, который характеризуется наличием одного или нескольких из генов: KIR2DL5, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS5 и KIR3DS1, в различных комбинаци-

ях, в то время как гаплотип А практически не имеет вариаций и характеризуется отсутствием этих генов, включая только один активирующий рецептор KIR2DS4 [12].

Взаимодействие КИР с его лигандом (HLA-I: HLA-A, HLA-B, HLA-C) приводит к различной функциональной активности НК-клеток. HLA-C является основным лигандом КИР и в свою очередь разделяется на два эпитопа C1 и C2 на основании диморфизма в положении 80 домена $\alpha 1$. Основным эпитопом системы КИР является C1, который взаимодействует с KIR2DL2 и KIR2DL3. Именно взаимодействие с этим эпитопом предотвращает атаку НК-клеток на здоровые клетки организма, регулируя их цитотоксичность. Он кодирует два гаплотипа: KIR2DL2 относится к гаплотипу В, а KIR2DL3 – к гаплотипу А. Замена в аминокислотной последовательности КИР приводит к нарушению взаимодействия между рецептором и лигандом, приводя к исключению распознавания соответствующего лиганда [13].

Связываясь с соответствующим лигандом, КИР активирует или ингибирует НК-клетку. К активирующим относят КИР с коротким цитоплазматическим «хвостом» (KIR3DS1 и KIR2DS1), длинный цитоплазматический «хвост» характеризует ингибирующий потенциал (KIR3DL1, KIR2DL1 и KIR2DL5A/B).

Лиганды для активирующих КИР неизвестны. Отсутствие экспрессии специфического лиганда аллогенными клетками донора позволяет КИР распознавать чужеродные клетки, тем самым опосредуя аллореактивность НК-клеток.

При выполнении трансплантаций от HLA-несовместимых доноров несоответствующий лиганд может приводить к активации аллореактивности НК-клеток, тем самым обеспечивая эффект «трансплантат против лейкемии» за счет уничтожения остаточных опухолевых клеток. Этот эффект был отмечен среди реципиентов, страдающих острыми миелоидными лейкозами, что обусловлено физиологическими взаимодействиями между НК-клетками миелоидного ряда [14]. При лимфобластных лейкозах такой эффект не наблюдался. Описываемый феномен возникает, когда у донора есть определенный эпитоп HLA-C, которого нет у реципиента, тем самым НК-клетки донора не могут быть ингибированы и погибают под воздействием натуральных киллеров реципиента.

В зависимости от генов гаплотипа В выделяют три группы доноров – "best", "better" и "neutral". Для распределения по группам используется

калькулятор <https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/>. Наилучшим ("best") является донор, в гаплотипе которого присутствуют два В-мотива генов центромерной части (*CenB/B*). Лучший ("better") донор, в гаплотипе которого присутствует один или более В-мотивов, но без гомозиготности в центромерной части (не *CenB/B*). Нейтральный ("neutral") – донор, в гаплотипе которого полностью отсутствуют В-мотивы или присутствует только один, неважно в какой части (*TelB* или *CenB*). По данным D. Weisdorf et al., распространенность наилучшего, лучшего и нейтрального генотипов доноров составила 11%, 20% и 69% соответственно [15].

Обратный эффект аллореактивности НК-клеток может заключаться во влиянии оставшихся НК-клеток реципиента, которые взаимодействуют с трансплантатом, потенциально являясь фактором риска развития несостоятельности трансплантата (НТ). НТ – синдром, который характеризуется цитопенией в сочетании с гипоплазией костного мозга. В понятие несостоятельности трансплантата, согласно классификации Европейского общества по трансплантации костного мозга (European Society for Blood and Marrow Transplantation – EBMT) 2019 г., входят первичная и вторичная несостоятельность трансплантата – отсутствие приживления (первичная НТ) или потеря донорского кроветворения вследствие различных причин (вторичная НТ). Первичная и вторичная гипофункция трансплантата – двух или трехростковая цитопения в сочетании со 100% донорским кроветворением, – при условии отсутствия рецидива заболевания.

В связи с вышеописанным мы решили изучить влияние различных гаплотипов КИР на развитие НТ у небольшой группы пациентов, которым была выполнена алло-ТГСК в условиях ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ.

Цель. Изучить вероятность развития несостоятельности трансплантата у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от различных генотипов киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора при заболеваниях системы крови.

Материал и методы

В исследование включены 66 реципиентов гемопоэтических стволовых клеток, которым в период с 2018 по 2020 год выполнена алло-ТГСК; всего 31 женщина (47%) и 35 мужчин (53%). Во всех случаях пациенты находились в

клинико-гематологической ремиссии и источником трансплантата служили стволовые клетки крови. Пациенты со второй и последующими трансплантациями исключены из исследования. Преимущественно проводилось кондиционирование пониженной интенсивности ($n=57$, 86%), оставшимся 9 пациентам (14%) выполнено миелоаблативное кондиционирование.

Генотипирование КИР осуществляли методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (PCR-SSP) с использованием наборов KIR Genotyping SSP Kit (IBAG Healthcare, Germany). Материалом для исследования служила периферическая кровь пациента. Определяли присутствие всех известных доменов КИР (*KIR3DL3*, *KIR2DS2*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL5A/B*, *KIR2DS3/2DS5*, *KIR2DP1*, *KIR2DL1*, *KIR3DP1*, *KIR2DL4*, *KIR3DL1*, *KIR3DS1*, *KIR2DS1*, *KIR2DS4* и *KIR3DL2*).

Генотипы КИР обозначали как A/A, если они не содержали генотипа B (Cen A/A, Tel A/A). При наличии по крайней мере одного гаплотипа B они обозначались как B/x. Классифицировали КИР как «наилучший», «лучший» и «нейтральный» с помощью онлайн-калькулятора <https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/matching/ligand/>.

Конечной точкой была оценка развития несостоятельности трансплантата в зависимости от генотипа КИР. Отдельно оценивалось влияние наличия или отсутствия *KIR2DL3*, наилучшего генотипа в сравнении с лучшим и нейтральным, в третью группу сравнения отнесены наилучший и лучший генотип в сравнении с другими генотипами КИР.

Статистический анализ данных проводился с использованием языка программирования R 4.1. Оценка кумулятивной инцидентности несостоятельности трансплантата происходила с учетом конкурирующих рисков. Для оценки значимости различий между группами использовался тест Грея. Значения $p < 0,05$ с поправкой на FDR (False Discovery Rate – средняя доля ложных отклонений гипотез – среди всех отклонений) считались статистически значимыми.

Результаты

Демографические данные, характеристики пациентов, заболевания, информация о проведенной алло-ТГСК приведены в табл. 1. Успешное приживление трансплантата достигнуто у 29 пациентов (44%). Первичная несостоятельность трансплантата развилась у 15 пациентов (23%).

Вторичная несостоятельность встречалась в два раза реже, лишь в 10% случаев ($n=7$). Частота развития первичной и вторичной гипофункции трансплантата составила 14% и 10% соответственно ($n=7/n=9$). Преимущественно выполнялись гаплоидентичные трансплантации (37 пациентов – 56%), 38% составили алло-ТГСК от неродственных HLA-идентичных доноров, в 4 случаях трансплантация была выполнена от неродственных частично совместимых доноров ($n=4$), также было выполнено по 1 трансплантации от родственного частично совместимого и полностью HLA-идентичного доноров.

По полученным нами данным, отсутствие *KIR2DL3* в 3 раза чаще встречается у реципиентов, у которых впоследствии развилась несостоятельность трансплантата (табл. 2). Вероятность развития несостоятельности трансплантата у пациентов с/без экспрессии *KIR2DL3* статистически значимо различалась, составляя 44,4% в группе реципиентов без *KIR2DL3* и 13,4% в группе реципиентов с *KIR2DL3* ($p=0,007$) (рис. 1). Сходные результаты получены при оценке частоты развития несостоятельности трансплантата при сравнении результатов лечения пациентов с «наилучшим» генотипом КИР с таковыми у пациентов с «нейтральным»/«лучшим» генотипами (рис. 2) – 44,4% против 13,4% ($p=0,007$). Соответственно, вероятность развития несостоятельности трансплантата в группе с «лучшим» и «наилучшим» генотипами КИР статистически значимо превысила таковую у пациентов с нейтральным генотипом, 42,1% против 13,7% (рис. 3) ($p=0,013$).

Полученные данные показывают значительные различия в частоте развития первичной НТ, первичной гипофункции трансплантата, а также вторичной гипофункции трансплантата в зависимости от генотипа КИР (табл. 1). Выявленные данные не позволяют сделать какие-либо выводы о механизме воздействия на природу НТ в зависимости от генотипа КИР, но наметившиеся тенденции, возможно, будут более показательными при увеличении объема клинических данных.

Летальность реципиентов в группах сравнения различалась, однако количество наблюдений пока недостаточно для того, чтобы сделать последовательные выводы, и требует их большего числа.

Обсуждение

ПРОБЛЕМНЫЕ АСПЕКТЫ

PROBLEMATIC ASPECTS

Таблица 1. Характеристики пациентов, включенных в исследование (n=66)

Table 1. Characteristics of patients (n=66) included in the study

Характеристика	KIR2DL3		«Наилучший» / «лучший+нейтральный»		«Наилучший + лучший» / нейтральный	
	Да n=48	Нет n=18	Да n=48	Нет n=18	Да n=19	Нет n=47
Диагноз						
Лимфома	4 (8,3%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)	4 (8,3%)	1 (5,3%)	4 (8,5%)
МДС	3 (6,2%)	3 (17%)	3 (17%)	3 (6,2%)	3 (16%)	3 (6,4%)
ОЛЛ	16 (33%)	4 (28%)	5 (28%)	16 (33%)	6 (32%)	15 (32%)
ОМЛ	24 (50%)	5 (28%)	5 (28%)	24 (58%)	5 (26%)	24 (51%)
ПМФ	0 (0%)	3 (17%)	3 (17%)	0 (0%)	3 (16%)	0 (0%)
ХМЛ	1 (2,1%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)	1 (2,1%)	1 (5,3%)	1 (2,1%)
Тип донора (p-value)						
Неродственный частично совместимый	14 (29%)	9 (50%)	9 (50%)	14 (29%)	9 (47%)	14 (30%)
Неродственный полностью совместимый	3 (6,2%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)	3 (6,2%)	1 (5,3%)	3 (6,4%)
Родственный частично совместимый	1 (2,1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)
Гаплоидентичный	29 (60%)	8 (44%)	8 (44%)	29 (60%)	9 (47%)	28 (60%)
Родственный полностью совместимый	1 (2,1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)
Режим кондиционирования (p-value)						
МАК	7 (15%)	2 (11%)	2 (11%)	7 (15%)	2 (11%)	7 (15%)
RIC	41 (85%)	16 (89%)	16 (89%)	41 (85%)	17 (89%)	40 (85%)
Несостоятельность трансплантата (НТ) (p-value)						
нет	22 (46%)	7 (39%)	7 (39%)	22 (46%)	8 (42%)	21 (45%)
Первичная НТ	7 (15%)	8 (44%)	8 (44%)	7 (15%)	8 (42%)	7 (15%)
Вторичная НТ	4 (8,3%)	1 (5,6%)	2 (11%)	4 (8,3%)	2 (11%)	4 (8,5%)
Первичная гипофункция трансплантата	8 (17%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)	8 (17%)	1 (5,3%)	8 (17%)
Вторичная гипофункция трансплантата	7 (15%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (15%)	0 (0%)	7 (15%)
Смерть	21 (44%)	6 (33%)	6 (33%)	21 (44%)	7 (37%)	20 (43%)

Примечания: МАК – миелоаблативное кондиционирование; МДС – миелодиспластический синдром; ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз; ОМЛ – острый миелобластный лейкоз; ПМФ – первичный миелофиброз; ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз; RIC – кондиционирование пониженной интенсивности

Таблица 2. Частота развития несостоятельности трансплантата в зависимости от генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора

Table 2. The incidence of graft failure depending on the killer immunoglobulin-like receptor genotype

Характеристика	Наличие KIR2DL3, n=48	Наличие генотипа «наилучший»/ «лучший+нейтральный», n=18	Наличие генотипа «наилучший+лучший»/ нейтральный, n=19
Несостоятельность трансплантата (p-value)	0,06	0,059	0,07
Отсутствует	22 (46%)	7 (39%)	8 (42%)
Первичная НТ	7 (15%)	8 (44%)	8 (42%)
Вторичная НТ	4 (8,3%)	2 (11%)	2 (11%)
Первичная гипофункция трансплантата	8 (17%)	1 (5,6%)	1 (5,3%)
Вторичная гипофункция трансплантата	7 (15%)	0 (0%)	0 (0%)

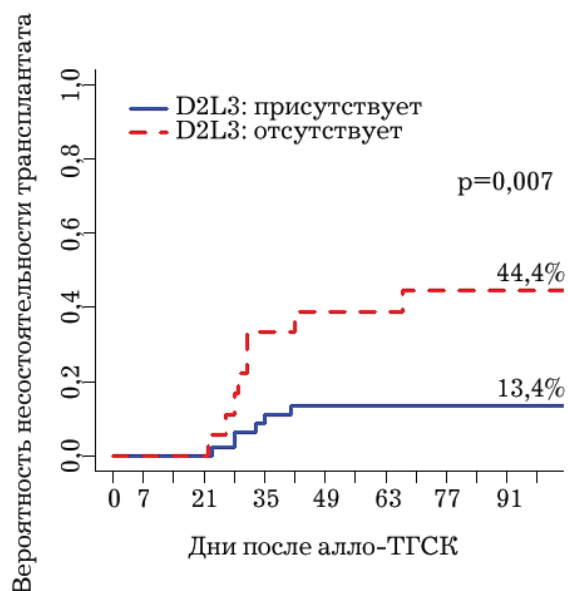


Рис. 1. Влияние наличия KIR2DL3 у реципиента на развитие несостоятельности трансплантата

Fig. 1. The effect of the KIR2DL3 presence in a recipient on the graft failure development

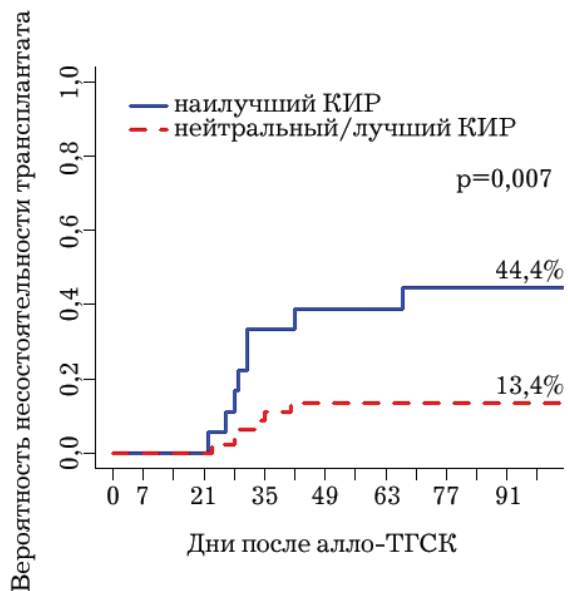


Рис. 2. Влияние «наилучшего» генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора у реципиента на развитие несостоятельности трансплантата

Fig. 2. The effect of the "best" killer immunoglobulin-like receptor genotype of the recipient on the graft failure development

Последовательных исследований влияния аллореактивности НК-клеток пациента на разви-

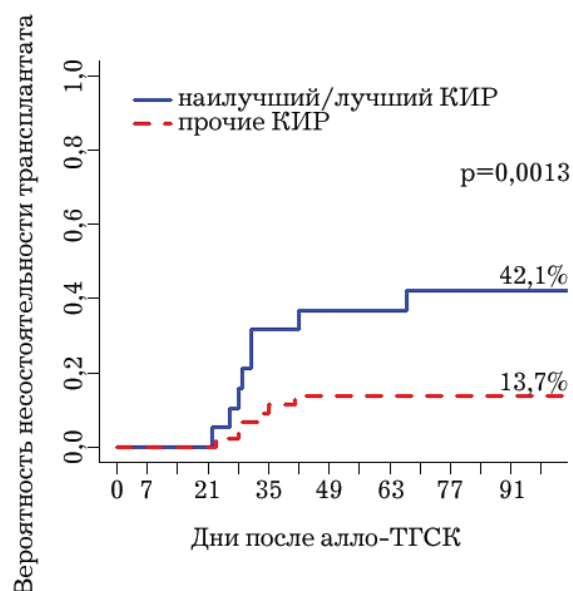


Рис. 3. Влияние групп генотипов киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора «наилучший» и «лучший» у реципиента на развитие несостоятельности трансплантата

Fig. 3. The impact of the "best" and "better" killer immunoglobulin-like receptor genotype groups in a recipient on the graft failure development

тие несостоятельности трансплантата в литературе найти не удалось. Имеются разнообразные данные, свидетельствующие о положительном эффекте аллореактивности НК-клеток донора, приводящем к развитию реакции «трансплантат против лейкоза» с более эффективным противоопухолевым ответом, снижением количества рецидивов и острой реакцией «трансплантат против хозяина» при выполнении алло-ТГСК от донора, преимущественно с гаплотипом В. Ruggeri et al. (1999 г.) оценивали риски развития отторжения трансплантата при выполнении алло-ТГСК от доноров, которые не экспрессируют эпитопы КИР реципиента, то есть являются аллореактивными по отношению к трансплантату. В группу вошли 17 пациентов, среди которых НТ развилась у 1 пациента, а у 5 пациентов развился рецидив основного заболевания. Принимая во внимание небольшую группу пациентов в анализе, сложно судить о влиянии количества несовпадений по HLA в направлении «хозяин против трансплантата» на развитие такого жизнеугрожающего осложнения, как НТ.

Существуют работы, которые показывают, что НК-клетки являются барьером для приживления костного мозга (КМ) аллотрансплантатов и

что они могут обусловить развитие отторжения КМ у мышей [15–19]. Предполагается, что зрелые НК-клетки, КИР которых не может распознавать аллели HLA-I на аллотрансплантате, опосредуют цитотоксичность и продукцию провоспалительных цитокинов, пока активирующие КИР задействованы лигандами, отображаемыми на клетках-мишенях. Мыши с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИД), у которых отсутствовали Т- и В-лимфоциты, но сохранялась нормальная функция НК-клеток, отторгали трансплантаты КМ (но не солидных органов), даже после летального облучения [16, 18].

Больших исследований аллореактивности КИР в направлении «хозяин против трансплантата» (ХПТ) не проводилось. В одноцентровом исследовании L. Li et al. анализировали данные 67 пациентов после трансплантации пуповинной крови и 26 пациентов после гапло-ТГСК [18]. Шестьдесят четыре реципиента пуповинной крови получили только одну трансплантацию, трем пациентам потребовалось повторное введение пуповинной крови из-за развития первичной несостоятельности трансплантата (ПНТ), в результате чего в общей сложности было проведено 70 трансплантаций пуповинной крови. В 32 парах несовпадение по КИР отмечалось в направлении ХПТ. НТ развилась у 23% (n=16) пациентов, при этом риск был выше при наличии несоответствий в лиганде КИР HLA-C по направлению ХПТ. Среди пациентов, достигших приживления, различия КИР существенно не повлияли на время восстановления уровня нейтрофилов и лимфоцитов. Среди пациентов с гапло-ТГСК было 14 несовпадений КИР в направлении ТПХ («трансплантат против хозяина») и 9 – в направлении ХПТ. Пять трансплантаций закончились неудачей (19%), при этом во всех случаях было различие КИР в направлении ТПХ. Таким образом, частота ПНТ при несоответствии КИР в направлении ТПХ в этой когорте составила 35,7% с отношением шансов 9,53; p=0,114. Из-за незначительной выборки невозможно сделать вывод об истинности этой находки КИР.

Полученные нами данные позволяют предположить, что НК-опосредованная аллореактивность может проявляться не только в направлении «трансплантат против опухоли», но и иметь обратное влияние – «реципиент против трансплантата», опосредуя развитие НТ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что различные генотипы КИР, а также их соответствие в

паре «донор–реципиент» оказывают влияние на риски развития группы осложнений, связанных с плохой функцией трансплантата, а именно – первичной и вторичной несостоятельностью трансплантата и первичной и вторичной гиподисфункцией. Использование классификации соответствия генотипов КИР («наилучший», «лучший» и «нейтральный») для принципиальной оценки этого эффекта вполне оправданно, хотя наименование является парадоксальным – наилучший донорский КИР сопряжен с наивысшим риском развития несостоятельности трансплантата у реципиента.

Заключение

Как видно из приведенных данных, присутствие генотипа КИР2DL3 у реципиента гемопоэтических стволовых клеток значительно (в 3 раза) уменьшает вероятность развития первичной несостоятельности трансплантата. Указанный результат имеет важное значение в прогностическом плане, хотя в настоящее время путей влияния на него не разработано. Наличие «наилучшего» генотипа киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов у реципиента значительно увеличивает вероятность развития несостоятельности трансплантата по сравнению с лучшим и нейтральным генотипом (44,4% vs 13,4%). Генотипы реципиента, относящиеся к группам «наилучший» и «лучший», существенно повышают возможность развития несостоятельности трансплантата. Это может определить необходимость выполнения генотипирования донора и реципиента гемопоэтических стволовых клеток перед трансплантацией для разработки инструментов прогнозирования и принятия решения. Потенциальными факторами воздействия на выявленный эффект могут стать увеличение клеточности трансплантата или интенсификация режимов кондиционирования с целью минимизации количества циркулирующих натуральных киллеров клеток – натуральных киллеров реципиента.

Таким, образом, генотипирование киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов у реципиента является перспективным методом для подбора оптимального донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Вывод

Наличие у реципиента «наилучшего» (экспрессирует гомозиготные гены *CenB/V* и 2 или более генов гаплотипа *KIR B*) генотипа киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов

увеличивает риск развития несостоятельности трансплантата в 3 раза по сравнению с «лучшим» (экспрессирует 2 или более локусов гена *KIR* гаплотипа *B*, но не *Cen B/V*) и «нейтральным» (не экспрессирует гены или экспрессирует 1 ген гаплотипа *B*) генотипами.

Список литературы/References

1. Becker PS, Suck G, Nowakowska P, Ullrich E, Seifried E, Bader P, et al. Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(4):477–484. PMID: 26810567 <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1792-y>
2. Raulet DH, Vance RE. Self-tolerance of natural killer cells. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(7):520–531. PMID: 16799471 <https://doi.org/10.1038/nri1863>
3. Михальцова Е.Д., Попова Н.Н., Дроков М.Ю., Капранов Н.М., Давыдова Ю.О., Васильева В.А. и др. Влияние режимов профилактики РТИХ на восстановление клеточного звена иммунной системы у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Медицинская иммунология*. 2021;23(5):1125–1136. Mikhaltsova ED, Popova NN, Drovkov MYu, Kapranov NM, Davydova YuO, Vasilieva VA, et al. Impact of graft-versus-host disease prophylaxis on immune reconstitution in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(5):1125–1136. (In Russ.) <https://doi.org/10.15789/1563-0625-IOG-2167>
4. Мелкова К.Н., Шароян Ж.В., Фролов Г.П. Естественные киллеры: лицензия на убийство. *Клиническая онкогематология*. 2020;13(3):273–279. Melkova KN, Sharoyan ZhV, Frolov GP. Natural killer cells: license to kill. *Clinical oncohematology*. 2020;13(3):273–9 (In Russ.) <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2020-13-3-273-279>
5. Ullah MA, Hill GR, Tey SK. Functional reconstitution of natural killer cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2016;7:144. PMID: 27148263 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00144> eCollection 2016.
6. Mikhaltsova E, Drovkov MY, Davydova JO, Kuzmina LA, Popova N, Dubnyak D, et al. Impact of post-transplant high-dose cyclophosphamide on reconstitution in bone marrow recipients. *Blood*. 2017;130(Suppl 1):5485. https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.5485.5485
7. Bignon JD, Gagne K. KIR matching in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol*. 2005;17(5):553–559. PMID: 16085405 <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.07.014>
8. Zhao XY, Yu XX, Xu ZL, Cao XH, Huo MR, Zhao XS, et al. Donor and host coexpressing KIR ligands promote NK education after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Adv*. 2019;3(24):4312–4325. PMID: 31869417 <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000242>
9. Kärre K, Ljunggren HG, Piontek G, Kiessling R. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature*. 1986;319(6055):675–678. PMID: 3951539 <https://doi.org/10.1038/319675a0>
10. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, Chen KS, Ghaheri BA, Ghayur T, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56(bright) subset. *Blood*. 2001;97(10):3146–3151. PMID: 11342442 <https://doi.org/10.1182/blood.v97.10.3146>
11. Montaldo E, Del Zotto G, Della Chiesa M, Mingari MC, Moretta A, De Maria A, et al. Human NK cell receptors/markers: a tool to analyze NK cell development, subsets and function. *Cytometry A*. 2013;83(8):702–713. PMID: 23650273 <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22302>
12. Mancusi A, Ruggeri L, Urbani E, Pierini A, Massei MS, Carotti A, et al. Haploidentical hematopoietic transplantation from KIR ligand-mismatched donors with activating KIRs reduces nonrelapse mortality. *Blood*. 2015;125(20):3173–3182. PMID: 25769621 <https://doi.org/10.1182/blood-2014-09-599993>
13. Moesta AK, Parham P. Diverse functionality among human NK cell receptors for the C1 epitope of HLA-C: KIR2DS2, KIR2DL2, and KIR2DL3. *Front Immunol*. 2012;3:336. PMID: 23189078 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00336> eCollection 2012
14. Хамаганова Е.Г., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А., Куликов С.М., Кузьминова Е.П., Юшкова А.А. и др. Влияние генов киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов и их HLA-лигандов на выживаемость больных острыми миелоидными лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2015;60(3):16–21. Khamaganova EG, Parovichnikova EN, Kuzmina LA, Kulikov SM, Kuzminova EP, Yushkova AA, et al. Effects of

killer immunoglobulin-like receptor genes and their HLA ligands on survival of patients with acute myeloid leukemias after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2015;60(3):16–21. (In Russ.).

15. Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein JP, Wang T, Le CT, et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2010;116(14):2411–2419. PMID: 20581313 <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-283051>

16. Barao I, Murphy WJ. The immunobiology of natural killer cells and bone marrow allograft rejection. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003;9(12):727–741. PMID: 14677112 <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2003.09.002>

17. Murphy WJ, Reynolds CW, Tiberghien P, Longo DL. Natural killer cells and bone marrow transplantation. *J Natl Cancer Inst*. 1993;85(18):1475–1482. PMID: 8360930 <https://doi.org/10.1093/jnci/85.18.1475>

18. Li L, Kolk M, Fernandez-Vina M, de Lima M, Otegbeye F. Interrogating the impact of KIR ligand mismatch in engraftment following HLA-disparate

stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(12):2294–2297. PMID: 32461586 <https://doi.org/10.1038/s41409-020-0957-7>

19. Maruyama K, Aotsuka N, Kumano Y, Sato N, Kawashima N, Onda Y, et al. Immune-mediated hematopoietic failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a common cause of late graft failure in patients with complete donor chimerism. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(1):43–49. PMID: 28860001 <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.08.018>

Информация об авторах

Ульяна Владиславовна
Масликова

врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-3009-4744>, maslikova.ulyana@outlook.com
20% – сбор материала согласно дизайну исследования, ведение базы больных, анализ результатов, анализ и формирование пакета статистико-математических данных, написание текста рукописи

Екатерина Георгиевна
Хамаганова

д-р биол. наук, заведующая лабораторией тканевого типирования ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>
15% – разработка концепции и дизайна исследования, редактирование рукописи

Михаил Юрьевич
Дроков

канд. мед. наук, руководитель сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-9431-8316>
15% – разработка концепции исследования, редактирование рукописи

Игорь Юрьевич
Урыбин

биолог отделения тканевого типирования ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ
15% – выполнение лабораторных исследований, участие в интерпретации данных

Екатерина Дмитриевна
Михальцова

канд. мед. наук, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-9372-5400>
15% – статистическая обработка данных и участие в их анализе

Лариса Анатольевна
Кузьмина

канд. мед. наук, заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>
10% – редактирование рукописи

Елена Николаевна
Паровичникова

д-р мед. наук, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>
10% – редактирование черновика рукописи, контроль интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи

Information about the authors

Ulyana V. Maslikova	Hematologist, Department of Chemotherapy for Hemoblastoses and Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation, National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0002-3009-4744 , maslikova.ulyana@outlook.com 20%, collection of material in accordance with the study design, keeping the patient database, analysis of the results, analysis and formation of the statistical and mathematical data package, writing the text of the manuscript
Ekaterina G. Khamaganova	Dr. Sci. (Biol.), Head of the Tissue Typing Laboratory, National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0002-0110-3314 15%, development of the study concept and design, editing the manuscript
Mikhail Yu. Drokov	Cand. Sci. (Med.), Head of the Sector for Scientific Research in Chemoblastosis Chemotherapy, Hematopoietic Depressions, and Bone Marrow Transplantation, National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0001-9431-8316 15%, the study concept development, manuscript editing
Igor Yu. Urybin	Biologist, of the Tissue Typing Department, National Medical Research Center for Hematology 15%, performing laboratory tests, participating in data interpretation
Ekaterina D. Mikhaltsova	Cand. Sci. (Med.), Researcher, Sector for Scientific Research of Chemotherapy for Hemoblastosis, Hematopoietic Depression and Bone Marrow Transplantation, National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0002-9372-5400 15%, statistical data processing and contribution in the data analysis
Larisa A. Kuzmina	Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Hemoblastosis Chemotherapy and Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation, National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0001-6201-6276 10%, editing the manuscript
Elena N. Parovichnikova	Dr. Sci. (Med.), Director general of the National Medical Research Center for Hematology, https://orcid.org/0000-0001-6177-3566 10%, editing the draft of the manuscript, control of intellectual content and final approval of the manuscript

Статья поступила в редакцию 19.08.2022;
одобрена после рецензирования 15.12.2022;
принята к публикации 28.12.2022

The article was received on August 19, 2022;
approved after reviewing December 15, 2022;
accepted for publication December 28, 2022