

Влияние аллореактивности естественных киллерных клеток на эффективность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с деплецией α/β TCR/CD19+ лимфоцитов у педиатрических пациентов с острыми лейкозами

В.В. Захарова¹, Ж.Б. Шеховцова¹, О.А. Шрагина¹, Е.В. Райкина¹,
М.А. Илюшина¹, Я.О. Музалевский¹, А.Г. Кочетов², Л.Н. Шелихова¹,
М.А. Масчан¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва
² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва

Естественные киллеры (NK-клетки) – первая популяция лимфоцитов, которая восстанавливается после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Считается, что NK-клеточная аллореактивность определяется различием в активирующих и ингибирующих сигналах, посылаемых активирующими и ингибирующими иммуноглобулиноподобными рецепторами NK-клеток. Лиганды для KIR-рецепторов – молекулы человеческого лейкоцитарного антигена (HLA); аллореактивность NK-клеток определяется KIR-HLA несоответствием между донором и реципиентом, а также наличием определенных активирующих KIR-генов. Результаты современных исследований свидетельствуют о влиянии на эффективность реакции «трансплантат против лейкоза» множества факторов, основные из них – подбор донора с учетом его KIR-генотипа и трансплантационный протокол. Цель исследования – оценка влияния KIR-генотипа естественных киллеров HLA-гаплоидентичных родственных и HLA-идентичных неродственных доноров на риск развития рецидива и выживаемость пациентов с острыми лейкозами после аллогенной трансплантации ГСК. В исследование включено 142 пациента (медиана возраста – 11 лет) с острым миелобластным лейкозом ($n = 70$) и острым лимфобластным лейкозом ($n = 72$), которым была проведена первая аллогенная неродственная ($n = 64$) или гаплоидентичная ($n = 78$) трансплантация ГСК с деплецией α/β -Т-лимфоцитов в качестве процессинга трансплантата. Все пациенты на момент трансплантации ГСК находились в полной клинико-гематологической ремиссии, в качестве источника ГСК использовали стимулированные гранулоцитарным колониестимулирующим фактором стволовые клетки периферической крови. Полученные данные подтверждают современные представления о том, что наилучший эффект NK-аллореактивности зависит главным образом от трансплантационного протокола – вида режима кондиционирования, процессинга трансплантата и посттрансплантационной профилактики реакции «трансплантат против хозяина», поскольку это влияет на проявление потенциальной аллореактивности NK-клеток. При анализе влияния KIR-генотипа донора на эффективность трансплантации ГСК у пациентов с ОЛЛ выявлено снижение общей выживаемости пациентов с меньшим числом активирующих KIR-генов у донора – 0,31 (0,07–0,55) против 0,67 (0,53–0,81) у пациентов с большим их числом ($p = 0,016$). Статистически значимая разница при анализе данного фактора обнаружена также для безрецидивной выживаемости. При трансплантации ГСК от HLA-гаплоидентичных доноров потенциальная NK-аллореактивность доноров, предсказанная по модели «лиганд–лиганд», не оказала влияния на риск развития рецидива и выживаемость пациентов. При применении модели «рецептор–лиганд» наблюдалась тенденция к увеличению общей выживаемости пациентов в случае потенциальной NK-аллореактивности донора – 0,76 (0,63–0,88) против 0,56 (0,32–0,81), $p = 0,486$. Рекомендуется учитывать данные KIR-типирования при подборе гаплоидентичного донора для пациентов с острым лимфобластным лейкозом, поскольку большее количество активирующих KIR-генов (определяющее KIR В-гаплотип) у донора существенно улучшает общую и безрецидивную выживаемость.

Ключевые слова: иммуноглобулиноподобные рецепторы киллерных клеток, KIR-гены, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, донор.

Контактная информация:

Захарова Виктория Витальевна, научный сотрудник, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 5533
E-mail: hla.dgoi@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-2-39-50

The Influence of Natural Killer Cell Alloreactivity on the Outcome of α/β TCR/CD19+ depleted Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Patients with Acute Leukemia

V.V. Zakharova¹, Z.B. Shekhovtsova¹, O.A. Shragina¹, E.V. Raykina¹, M.A. Ilushina¹, Y.O. Muzalevskii¹, A.G. Kochetov², L.N. Shelikhova¹, M.A. Maschan¹

¹ Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

² Institute of Cardiology of National Medical Research Center for Cardiology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Correspondence:
Zakharova Viktoria Vitalievna,
Molecular Biology Laboratory, Dmitry
Rogachev National Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology
Address: Moscow, 117997,
1 Samori Mashela str.
Phone: (495) 287-65-70, add. 5533
Email: hla.dgoi@gmail.com

Natural killer (NK) cells constitute the first lymphocyte population to recover after an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). It is believed that NK cell alloreactivity is regulated by the difference between activating and inhibitory signals from activating and inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs). Human Leukocyte Antigen (HLA) molecules serve as ligands for KIR receptors. NK cell alloreactivity is determined by a KIR-HLA mismatch between donor and patient as well as the presence of specific activating KIR genes. Numerous recent studies show that several factors influence the effectiveness of the graft-versus-leukemia reaction. In particular, these factors include donor's KIR genotype and the transplant protocol. The aim of the study is to evaluate the influence of KIR genotype of both HLA-haploidentical related donors and HLA-identical unrelated donors on the relapse risk and survival of acute leukemia patients after allogeneic HSCT. The study includes 142 patients (the median age 11) with acute myeloid leukemia (n = 70) and acute lymphoid leukemia (ALL) (n = 72) received first HLA-identical unrelated (n = 64) and HLA-haploidentical (n = 78) with α/β TCR-depleted allogeneic HSCT. All patients were in complete hematologic remission at the moment of HSCT. Peripheral blood mononuclear cells were collected after the administration of granulocyte colony-stimulating factor and used as the source of hematopoietic stem cells. Results of the study are consistent with the conception that potential NK alloreactivity depends on the transplant protocol – conditioning regimen, transplant processing and post-transplant graft-versus-host-disease prophylaxis. The key finding of this study is that more number of activating KIR genes in donor's KIR genotype is associated with better overall survival of ALL patients (0,67 (95% CI: 0,53–0,81) vs 0,31 (95% CI: 0,07–0,55); $p = 0,016$). A similar effect was observed for the event-free survival. We failed to find a beneficial effect of NK alloreactivity based on the «ligand-ligand» model in the HLA-haploidentical related HSCT. NK alloreactivity for the same patient group, based on «receptor-ligand» model also showed no significant beneficial effect, however there was a tendency for better overall survival for patients transplanted from potentially NK alloreactive donors (0,76 (95% CI: 0,63–0,88) vs 0,56 (95% CI: 0,32–0,81); $p = 0,486$). In summary, it is recommended to consider donor's KIR genotype as additional criteria for donor selection prior to allogeneic HSCT for all patients.

Key words: killer cell immunoglobulin-like receptors, KIR genes, hematopoietic stem cell transplantation, donor.

Иммуноглобулиноподобные рецепторы (KIR) играют важнейшую роль в регуляции функциональной активности естественных киллеров (NK-клеток). KIR-система – высоко полиморфная, это проявляется в составе генов, их количестве, разнообразии аллельных вариантов и клональной экспрессии [1]. Лигандами для ингибирующих KIR-рецепторов являются антигены HLA I класса, лиганды большинства активирующих KIR пока неизвестны [2, 3].

Аминокислотные остатки в позициях 76 (всегда содержащий валин) и 80 альфа-домена тяжелой цепи всех HLA-C антигенов определяют KIR-связывающие эпитопы: примерно половина аллелей несет аспарагин в 80 позиции, что определяет C1 эпитоп, взаимодействующий с ингибирующими KIR2DL2 и KIR2DL3, а оставшаяся половина – лизин, определяющий C2 эпитоп, взаимодействующий с KIR2DL1 [2]. Небольшой процент HLA-A антигенов и около половины известных на сегодняшний день HLA-B антигенов формируют Bw4 группу в зависимости от аминокислотных остатков в позициях 77–83, которая связывается с ингибирующим KIR2DL3 [3].

Каждая NK-клетка экспрессирует множество ингибирующих и активирующих KIR-рецепторов, связывание которых с соответствующими лигандами определяет функциональные последствия взаимодействия NK-клетки с потенциальной мишенью. Толерантность NK-клеток к собственным неповрежденным тканям организма приобретает в процессе так называемого «обучения» и «лицензирования», при

котором в ходе созревания NK-клетки ее KIR-рецепторы взаимодействуют с молекулами HLA I класса, вследствие чего исключается развитие аутореактивности. Однако при вирусной инфекции или опухолевой трансформации клетки экспрессия молекул HLA I класса часто снижается, что приводит к преобладанию сигналов от активирующих KIR-рецепторов на NK-клетках и запуску механизмов цитотоксичности. Это уникальное свойство NK-клеток описано как «missing self»-гипотеза, или гипотеза «отсутствия своего» [4].

NK-клетки – первая популяция лимфоцитов, которая восстанавливается после аллогенной трансплантации ГСК и может оказывать сильный эффект «трансплантат против лейкоза», основанный на их аллореактивности. Для характеристики влияния взаимодействия NK-клеток и их лигандов на исходы аллогенной трансплантации ГСК предложены три модели.

1. Модель «лиганд-лиганд» основана на особенностях функционирования рецепторов NK-клеток и предполагает, что если у реципиента отсутствуют как минимум один или более KIR-лигандов (аллели HLA I класса групп C1, C2 или Bw4), которые имеются у донора, то донорские NK-клетки будут аллореактивны по отношению к пациенту (потенциальная аллореактивность в направлении «трансплантат против лейкоза»). Данная модель была подтверждена экспериментальными исследованиями на мышах в университете Перуджи [5]. Отсутствие лигандов у реципиента необходимо, но недостаточно для фор-

мирования потенциально аллореактивных клонов NK-клеток. Необходимо также присутствие у донора гена, кодирующего ингибирующий рецептор к отсутствующему у реципиента лиганду. Поскольку популяционное исследование показало, что ингибирующие KIR-гены присутствуют у 95% людей, предположение о наличии соответствующего KIR-рецептора у донора будет корректно на 95% [6, 7], а значит, определение KIR-генотипа донора повысит точность исследования. Данная модель не применима для трансплантаций, если донор и реципиент HLA-идентичны. Однако для неродственных с несовпадением по HLA-B или HLA-C и для гаплоидентичных аллогенных трансплантаций ГСК эта модель применима [8].

2. Модель «рецептор–лиганд» не принимает во внимание KIR-лиганды донора, поэтому применима для любого вида аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Аллореактивность в данном случае достигается при наличии у донора KIR-рецептора, к которому нет лиганда у реципиента. Эта модель основана на предположении, подтвержденном исследованием экспрессии KIR-рецепторов на поверхности NK-клеток методом проточной цитометрии в ранний посттрансплантационный период. В первые 90 дней после трансплантации ГСК вновь развивающиеся NK-клетки, экспрессирующие ингибирующие KIR-рецепторы, временно могут быть аллореактивны к клеткам реципиента, не несущим соответствующие лиганды. В этот период такие аллореактивные клоны NK-клеток могут оказывать такой же эффект, как в предыдущей модели. В последующем, когда костный мозг восстанавливается, NK-клетки проходят «обучение» и «лицензирование», аллореактивные клоны больше не образуются [6]. Частный случай данной модели – «missing ligand» («отсутствие лиганда»), это менее точная модель, в которой, по данным популяционного исследования, предполагается, что у большинства доноров имеются все ингибирующие KIR-гены, поэтому считается, что при отсутствии хотя бы одного из лигандов у пациента (C1, C2 или Bw4) донор потенциально аллореактивен [8].

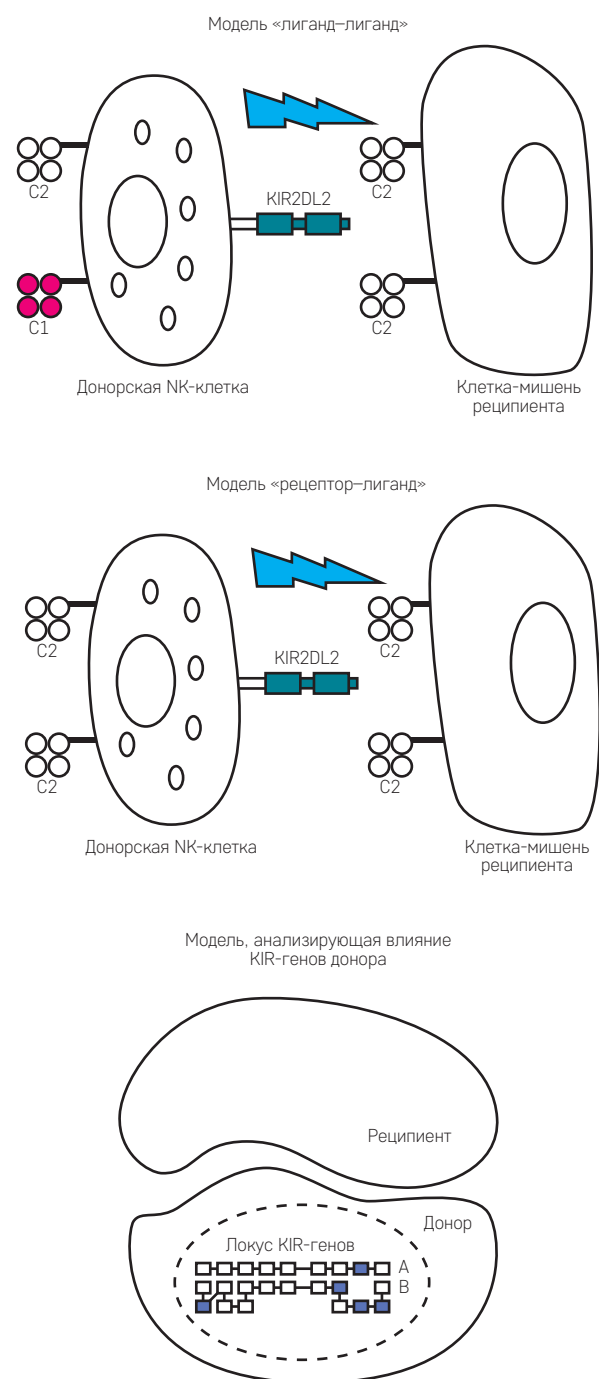
3. Модель, анализирующая влияние отдельных KIR-генов, а также общего количества KIR-генов донора без учета HLA-антигенов реципиента и донора. Эта модель наименее изучена; предполагается, что чем выше количество KIR-рецепторов на NK-клетке донора, тем больше вероятность, что различие между KIR-лигандами донора и реципиента будет определяться NK-клетками [9].

Данные модели схематично представлены на рисунке 1.

В данной работе проведена оценка влияния аллореактивности NK-клеток доноров в соответствии с тремя описанными моделям на риск развития ре-

Рисунок 1

Модели NK-аллореактивности



цидива, общую и безрецидивную выживаемость у пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), получивших гаплоидентичную и неродственную аллогенные трансплантации ГСК с использованием селективного удаления (деплеции) α/β -Т-лимфоцитов из трансплантата. Данный метод профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) был разработан исходя из данных о существенной роли NK-клеток в контроле инфекций и предотвращении рецидива у пациентов с гемобластомами. Наиболее убедительные результаты о позитивном влиянии

НК-клеток на исходы трансплантации ГСК были получены на модели гаплоидентичной трансплантации с использованием CD34+ селекции как метода обработки трансплантата [5]. Деплеция α/β -Т-лимфоцитов представляет собой новый метод процессинга, в результате которого в трансплантате сохраняются не только ГСК, но и большое количество эффекторов врожденного иммунитета, в первую очередь – зрелые НК-клетки и γ/δ -Т-клетки. Применение данного метода позволяет успешно выполнять трансплантацию ГСК от неродственных и гаплоидентичных доноров и сопряжено с низким риском отторжения и развития РТПХ [10–13]. Влияние KIR-генотипа и НК-аллоактивности в контексте нового метода обработки трансплантата исследованы в настоящей работе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В анализ были включены 142 пациента с диагнозами «ОМЛ» (n = 70) и «ОЛЛ» (n = 72) с полной клинико-гематологической ремиссией, получившие первую аллогенную трансплантацию ГСК от HLA-гаплоидентичных родственных (n = 74) и HLA-идентичных неродственных (n = 68) доноров с деплецией α/β -Т-лимфоцитов в качестве процессинга трансплантата на базе НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России в период с января 2012 по июнь 2016 года. Характеристика пациентов и доноров представлена в таблице 1.

Таблица 1
Характеристика пациентов

Параметр	Число пациентов, n (%)	
	всего: 142	
Диагноз	ОЛЛ	72 (50,7)
	ОМЛ	70 (49,3)
Медиана возраста на момент трансплантации, годы	11 (диапазон 1–26)	
Пол пациентов	Женский	51 (35,9)
	Мужской	91 (64,1)
Статус заболевания на момент трансплантации	Полная клинико-гематологическая ремиссия	
Тип донора	HLA-гаплоидентичный родственный	78 (54,9)
	Полностью HLA-идентичный неродственный (10/10)	51 (35,9)
	Неполностью HLA-идентичный неродственный (9/10, 8/10, 6/10)	13 (9,2)
Режим кондиционирования	Основанный на тотальном облучении тела (TBI/Flu/Mel_Thio)	21 (14,8)
	Основанный на треосульфане (Treo/Flu/Mel)	121 (85,2)
Текущий статус	Живы в полной ремиссии	86 (60,6)
	Рецидив	38 (26,8)
	Смерть, не связанная с рецидивом	18 (12,6)
Медиана наблюдения, годы	1,54 (диапазон 0,01–4,63)	

HLA-типирование. Всем донорам и реципиентам было проведено HLA-типирование по пяти локусам: HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 с помощью одной из следующих методик: полимеразная цепная реакция (ПЦР) с сиквенс-специфическими праймерами PCR-SSP (*Olerup SSP AB*, Стокгольм, Швеция), секвенирование по Сэнгеру, *Sequence-Based Typing (Invitrogen, США)*, высокопроизводительное секвенирование следующего поколения, NGS (*NGSgo, GenDx*, Нидерланды). Разнообразие методов связано с внедрением в лабораторию новых методик HLA-типирования в период исследования образцов пациентов. Для аллелей первого класса HLA-A*, -B* были определены эквивалентные им серологические группы (Bw4 или Bw6) согласно текущим данным *HLA Dictionary* [14]. Все аллели I класса HLA-C* были поделены на группы C1 и C2 согласно современной классификации [14].

KIR-типирование и интерпретация результатов. Геномная ДНК была выделена из периферической крови доноров с помощью набора «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ООО «НекстБио», Россия); KIR-гены доноров протипированы с помощью наборов *Olerup SSP KIR Genotyping kit (Olerup SSP AB, Стокгольм, Швеция)*. Продукт ПЦР оценивали на 1%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Вывод о наличии или отсутствии определенных KIR-генов (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5A, 2DL5B, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1) и двух псевдогенов (2DP1 и 3DP1) делали на основании присутствия или отсутствия, по результатам электрофо-

реза, фрагментов соответствующего молекулярного веса. KIR-генотипы доноров были отнесены к одной из групп – А или/и В – в зависимости от присутствия и количества определенных активирующих и ингибирующих генов и согласно геномной организации KIR-локуса [15]. Распределение доноров на группы в соответствии с их KIR В-контентом («neutral», «better», «best») проводили с помощью KIR В-content group калькулятора [16]. Под В-контентом подразумевается количество центромерных и теломерных мотивов, содержащих гены, определяющие KIR В-гаплотип. Выделяют три В-контента: нейтральный («neutral») – донор, в гаплотипе которого полностью отсутствуют В-мотивы или присутствует только один, неважно в какой части (TelV или CenV); лучший («better») – донор, в гаплотипе которого присутствует один или более В-мотив, но не в центромерной части (не CenVV, без гомозиготности в центромерной части по В-мотиву); наилучший («best») – донор, в гаплотипе которого присутствует один или более В-мотивов и именно в центромерной части (с CenVV) [17]. Алло-реактивность донора оценивали по трем описанным моделям алло-реактивности NK-клеток.

Кондиционирование и трансплантация. Всем пациентам было проведено миелоаблативное кондиционирование. Состав кондиционирования, серотерапия и профилактика РТПХ представлены в таблице 2.

Источником трансплантата были мобилизованные гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) стволовые клетки периферической

крови (ПСК), полученные в ходе процедуры афереза мононуклеаров. Собранные ПСК прошли процедуру деплеции α/β -Т-лимфоцитов с помощью CliniMACS системы (Miltenyi Biotec, Bergish Gladbach, Германия). Медиана количества CD34-позитивных клеток на 1 кг массы тела пациента в трансплантате составила $8,59 \times 10^6$ (от $3,9$ до $18,8 \times 10^6$).

С целью профилактики развития РТПХ всем пациентам была проведена посттрансплантационная иммуносупрессивная терапия, которая различалась в зависимости от года проведения трансплантации. Пациенты, перенесшие трансплантацию ГСК в 2012–2013 годах, получали такролимус с -1 до 30-го дня после трансплантации ГСК и метотрексат – 10 мг/м² коротким курсом после трансплантации. Пациенты, трансплантированные в 2014 году и позднее, получали бортезомиб – 1,3 мг/м² на 2-й и 5-й дни после трансплантации ГСК.

Статистический анализ данных: использовали программное обеспечение XLSTAT, Addinsoft, 2015. Риск рецидива основного заболевания оценивался с момента проведения трансплантации до даты последней консультации для выживших пациентов с помощью кумулятивной оценки частоты событий (cumulative incidence), конкурирующим риском при этом была трансплантат-ассоциированная смерть. Общую и безрецидивную выживаемость рассчитывали с помощью метода Каплана–Мейера. Безрецидивную выживаемость определяли от даты трансплантации ГСК до даты констатации рецидива заболевания, а в случае сохранения ремиссии – до даты последней консультации; общую выживаемость – от даты проведения трансплантации ГСК до даты смерти пациента от любой причины либо до даты последней консультации для выживших пациентов. Для сравнения функций выживаемости использовали log-rank-критерий; для сравнения кумулятивных рисков – критерий Грея (gray test). Различия считались статистически значимыми при $p\text{-value} < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частоты донорских KIR-генов и гаплотипов. Частота встречаемости отдельных KIR-генов у доноров представлена на рисунке 2. Как и предполагалось, три гена (2DL4, 3DL2, 3DL3) и один псевдоген (3DP1) были обнаружены у всех доноров без исключения, поскольку они «структурные» и присутствуют во всех гаплотипах. Наиболее часто встречающимся активирующим KIR-геном оказался 2DS4, обнаруженный у 130 (92%) доноров, а самым часто ингибирующим – 2DL1 – у 132 (93%) доноров. Гены 2DS1, 3DS1 и 2DL5A, находящиеся в теломерной части, обычно наследуются совместно, они были обнаружены у 51 (36%) донора, что определяло присутствие

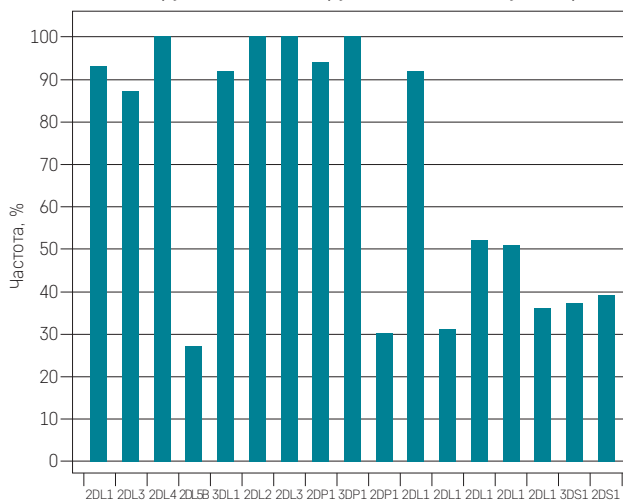
Таблица 2

Кондиционирование

Кондиционирование	Число пациентов, n
Треосульфат/флударабин	121
тиотепа	19
мельфалан	102
ТВи/флударабин	21
тиотепа	3
вепезид	18
Серотерапия	142
АТГАМ	55
Тимоглобулин	82
Без серотерапии	5
Посттрансплантационная профилактика РТПХ	142
Такролимус +/- метотрексат	57
Бортезомиб	72
Без профилактики	13

Рисунок 2

Частоты активирующих и ингибирующих KIR-генов у доноров



у них теломерного мотива TelB. Гены *2DS2* и *2DL2* также наследуются совместно и определяют центромерный мотив CenB. Эти гены были обнаружены у 73 (51%) доноров, не считая одного – с делетированным *KIR2DL2*. Медиана общего количества KIR-генов у доноров – 9 (от 7 до 15); активирующих генов – 2 (от 1 до 6); ингибирующих – 7 (от 5 до 9); 49 (35%) доноров имели KIR-гаплотип A; 93 (65%) – KIR-гаплотип B.

Три модели аллореактивности NK-клеток донора применяли для оценки влияния потенциальной аллореактивности на риск рецидива и выживаемость у пациента. Учитывая данные литературы, модели «лиганд–лиганд» и «рецептор–лиганд» применяли для пациентов, получивших гаплоидентичную трансплантацию ГСК (n = 78): 31 (40%) донор был потенциально аллореактивен по модели «лиганд–лиганд»; 49 (63%) – по модели «рецептор–лиганд». Модели «рецептор–лиганд» и оценка влияния количества активирующих,

Рисунок 3

Кумулятивный риск развития рецидива после трансплантации ГСК во всей группе пациентов (n = 142)

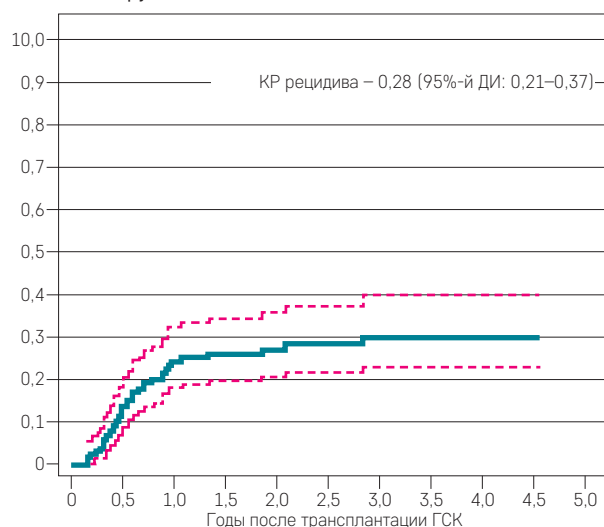


Рисунок 4

Общая выживаемость во всей группе пациентов после трансплантации ГСК (n = 142)

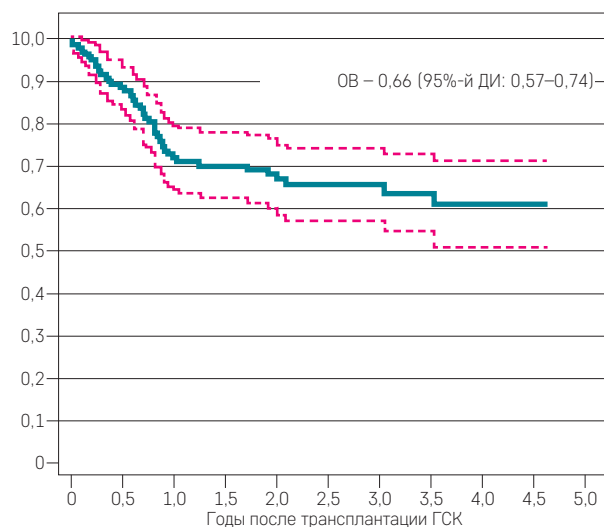


Таблица 3

Кумулятивный риск рецидива для всех пациентов в зависимости от диагноза и типа донора (медиану числа KIR-генов)

Группа пациентов	2DS1/3DS1/2DL5A отсутствуют/ присутствуют			2DS2/2DL2 отсутствуют/ присутствуют			%
	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	
Общая группа пациентов n = 142	29,8/ 25,7	21,3–41,8/ 15,9–41,7	0,66	27,4/ 28,9	18,2–41,4/ 19,9–42,0	0,72	29,5/ 31,2/ 16,8
Диагноз «ОМЛ» n = 70	22,3/ 24,4	11,9–41,7/ 11,8–50,3	0,75	25,9/ 20,7	14,1–47,8 / 10,0–42,9	0,53	23,5/ 32,4/ 9,1
Диагноз «ОЛЛ» n = 72	36,0 / 27,1	24,6–52,8/ 14,4–51,0	0,47	27,5/ 37,2	16,1–47,2/ 24,6–56,2	0,31	33,9/ 31,9/ 25,0
Тип донора: HLA-гаплоидентичный родственный n = 78	21,6 / 19,2	12,5–37,3/ 8,5–43,3	0,78	16,9/ 24,5	8,10–35,1/ 13,7–43,5	0,38	19,6/ 31,6/ 0
Тип донора: HLA-идентичный неродственный n = 64	37,1 / 31,7	24,5–56,3/ 18,0–56,0	0,75	38,2/ 31,9	24,2–60,1/ 19,6–52,1	0,72	40,7/ 28,2/ 25,0

ингибирующих и общего числа KIR-генов были применены для всех пациентов, пациентов с диагнозом «ОМЛ», «ОЛЛ», получивших гаплоидентичную и неродственную трансплантации ГСК. По модели «рецептор–лиганд» потенциальной аллореактивностью обладали 87 (61%) доноров. Отдельно оценивали KIR В-контент донора: 91 (64%) донор имел нейтральный контент; 32 (23%) – лучший и 19 (13%) – наилучший.

Результаты по всей группе пациентов. К моменту проведения анализа медиана времени наблюдения выживших пациентов после трансплантации ГСК составила 2,23 года (минимум – 200 дней, максимум – 4,6 года).

Приживление нейтрофильного ростка у 138 пациентов зафиксировано на 9–33-и сутки (медиана – 14 суток) после трансплантации ГСК. У 4 пациентов было отмечено первичное неприживление трансплантата: трое из них умерли, а четвертому успешно провели повторную трансплантацию ГСК. Таким образом, кумулятивная вероятность приживления нейтрофильного ростка в общей группе пациентов на 30-й день после трансплантации ГСК составила 0,98 (95%-й ДИ: 0,94–0,99).

Кумулятивная вероятность развития острой РТПХ II–IV стадии на 100-й день после трансплантации ГСК составила 0,25 (95% ДИ: 0,19–0,33); кумулятивная вероятность развития экстенсивной хронической РТПХ через 1 год после трансплантации ГСК – 0,12 (95%-й ДИ: 0,07–0,18).

Кумулятивный риск развития рецидива для всей когорты пациентов через 2 года после трансплантации ГСК составил 0,28 (95% ДИ: 0,21–0,37) (рис. 3); безрецидивная выживаемость всех пациентов после трансплантации ГСК с деплецией α/β -Т-лимфоцитов – 0,59 (95%-й ДИ 0,51–0,68); общая выживаемость – 0,66 (95%-й ДИ: 0,57–0,74) (рис. 4).

При сравнении рисков развития рецидива, общей и безрецидивной выживаемости в группах пациентов в зависимости от таких факторов, как несоответствие KIR-донора и HLA-пациента по модели «рецептор–лиганд», количество активирующих, ингибирующих и общее число KIR-генов, статистически значимых различий при однофакторном анализе не обнаружено (табл. 3–5). Однако при сравнении общей выживаемости пациентов в зависимости от присутствия СепВ-мотива (гены *KIR2DS2* и *KIR2DL2*) отмечен тренд в сторону повышения выживаемости у пациентов с присутствием СепВ-мотива ($n = 74$) – 0,70 (95% ДИ: 0,59–0,81) против 0,60 (95% ДИ: 0,47–0,73) в случае его отсутствия ($n = 68$), однако без статистической достоверности ($p = 0,391$).

После трансплантации ГСК с TCR $\alpha\beta$ + деплецией из 142 пациентов умерли 46 (32%). Кумулятивная вероятность смертности, ассоциированной с процедурой трансплантации ГСК, составила 0,13 (95% ДИ: 0,08–0,20) (рис. 5); медиана смертности, ассоциированной с трансплантацией ГСК, – 0,24 (от 0,01 до 0,98) года от момента трансплантации. Причинами смерти были тяжелые бактериальные и вирусные инфекции.

Результаты трансплантации ГСК в зависимости от диагноза. Кумулятивный риск рецидива для пациентов с диагнозом «ОМЛ» составил 0,23 (95% ДИ: 0,14–0,37). Кумулятивная вероятность трансплантационно-ассоциированной смертности – 0,10 (95% ДИ: 0,05–0,21). Общая выживаемость пациентов с диагнозом «ОМЛ» после трансплантации ГСК с TCR $\alpha\beta$ + деплецией – 0,74 (95%-й ДИ: 0,63–0,85).

Риски развития рецидива, общая и безрецидивная выживаемость в когорте пациентов с диагнозом «ОМЛ» в зависимости от несоответствия KIR-донора и HLA-пациента по модели «рецептор–лиганд», от количества активирующих, ингибирующих и обще-

генов в каждой группе рассчитывали отдельно, данные в таблице не представлены)

KIR В-контент «neutral»/ «better»/ «best»		Количество активирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Количество ингибирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Общее количество KIR-генов < медианы/ ≥ медианы		
95% ДИ	<i>p</i>	%	95% ДИ	<i>p</i>	%	95% ДИ	<i>p</i>	%	95% ДИ	<i>p</i>
21,1–41,1/ 17,8–54,6/ 6,00–47,2	0,47	27,1/ 28,6	16,6–44,4/ 20,5–40,1	0,71	26,9 / 29,3	17,5–41,3 / 20,4–42,1	0,64	26,5 / 29,5	16,7–41,9 / 20,8–41,8	0,60
13,1–42,1/ 13,8–75,7/ 1,2–70,3	0,61	22,1/ 24,8	11,3–43,1/ 12,8–48,3	0,85	0 / 24,2	0 / 15,2–38,8	0,38	22,7 / 24,0	10,9–47,0 / 13,0–44,5	0,92
23,0–50,0/ 15,4–65,9/ 7,5–83,0	0,74	32,2/ 33,3	17,9–58,1/ 22,3–49,6	0,85	28,7/ 35,4	16,2–50,8 / 23,6–53,0	0,47	29,8 / 34,8	16,9–52,4 / 23,2–52,2	0,55
11,2–34,1/ 15,1–66,3/ 0	0,26	24,2/ 17,2	13,8–42,6/ 8,10–36,4	0,45	18,6/ 22,4	9,00–38,5 / 12,5–40,2	0,62	19,7 / 21,4	9,60–40,1 / 11,8–38,6	0,81
27,6–59,9/ 12,2–65,6/ 9,50–65,6	0,59	33,7/ 35,2	18,6–61,3/ 23,5–52,9	0,83	33,8/ 35,8	20,5–55,5 / 22,8–56,3	0,79	32,6 / 36,3	18,5–57,4 / 24,0–55,1	0,68

Рисунок 5

Кумулятивная вероятность смерти, ассоциированной с трансплантацией ГСК, во всей группе пациентов (n = 142)

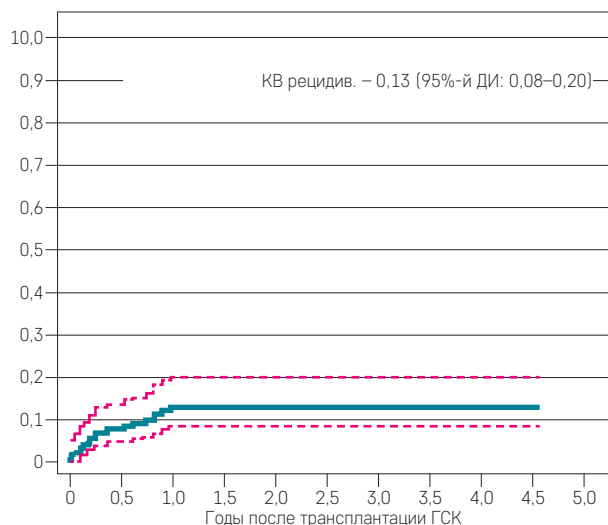


Рисунок 6

Общая выживаемость пациентов с ОЛЛ в зависимости от количества активирующих KIR-генов

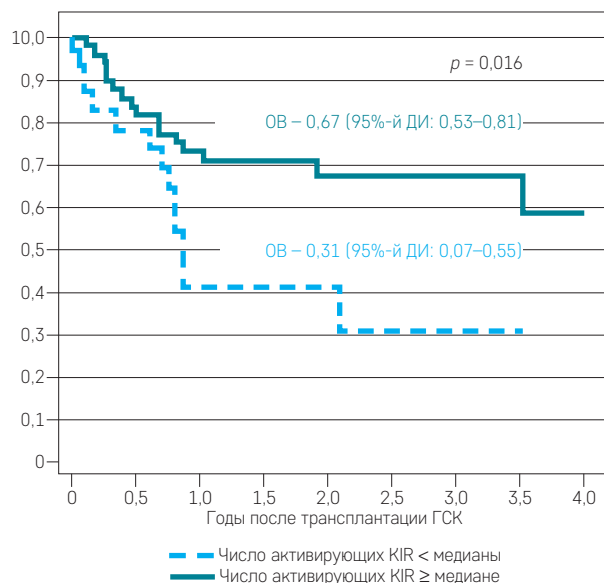


Таблица 4

Безрецидивная выживаемость для всех пациентов, в зависимости от диагноза и типа донора (медиану числа KIR)

Группа пациентов	2DS1/3DS1/2DL5A отсутствуют/ присутствуют			2DS2/2DL2 отсутствуют/ присутствуют			%
	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	
Общая группа пациентов n = 142	59,4/ 59,5	48,5-70,3/ 45,7-73,3	0,99	57,4/ 61,4	44,7-70,1/ 49,7-73,0	0,59	59,2/ 56,3/ 65,9
Диагноз «ОМЛ» n = 70	72,7/ 57,1	57,9-87,6/ 36,9-77,4	0,15	71,1/ 61,4	54,8-87,5/ 43,7-79,2	0,49	74,2/ 48,9/ 58,4
Диагноз «ОЛЛ» n = 72	47,6/ 61,8	32,6-62,5/ 43,0-80,6	0,28	44,2/ 60,2	26,5-61,8/ 44,5-75,9	0,20	46,4/ 61,9/ 75,0
Тип донора: HLA-гаплоидентичный родственный n = 78	65,6/ 70,4	51,6-79,5/ 52,7-88,2	0,66	64,3/ 70,5	48,4-80,3/ 55,6-85,4	0,56	66,9/ 56,6/ 100
Тип донора: HLA-идентичный неродственный n = 64	52,4/ 52,9	36,4-68,3/ 33,3-72,5	0,90	51,5/ 53,8	33,2-69,8/ 37,1-70,5	0,84	51,2/ 58,3/ 50,0

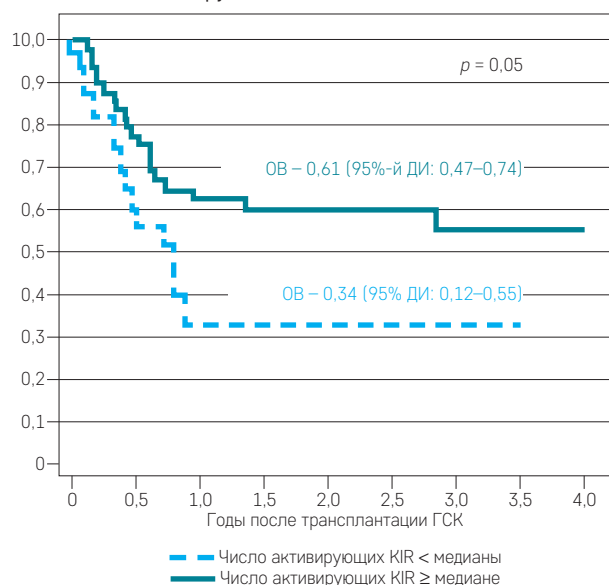
Таблица 5

Общая выживаемость для всех пациентов, в зависимости от диагноза и типа донора (медиану числа KIR-генов в

Группа пациентов	2DS1/3DS1/2DL5A отсутствуют/ присутствуют			2DS2/2DL2 отсутствуют/ присутствуют			%
	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	
Общая группа пациентов n = 142	66,1/ 64,8	55,1-77,0/ 51,3-78,4	0,61	60,3/ 70,2	47,4-73,2/ 59,0-81,5	0,39	66,6/ 63,0/ 65,4
Диагноз «ОМЛ» n = 70	80,2/ 65,7	66,8-93,7/ 47,3-84,2	0,08	74,2/ 74,4	58,6-89,8/ 58,4-90,3	0,77	81,0/ 66,7/ 57,7
Диагноз «ОЛЛ» n = 72	56,9/ 63,6	41,6-72,2/ 43,8-83,4	0,47	52,4/ 66,4	34,5-70,2/ 50,5-82,2	0,10	53,5/ 60,2/ 75,0
Тип донора: HLA-гаплоидентичный родственный n = 78	70,3/ 64,2	55,2-85,4/ 40,3-88,1	0,81	61,1/ 75,5	41,3-80,9/ 59,5-91,6	0,24	70,9/ 50,8/ 100
Тип донора: HLA-идентичный неродственный n = 64	60,1/ 65,2	44,4-75,8/ 46,8-83,6	0,92	58,4/ 65,1	40,4-76,4/ 49,1-81,2	0,89	61,7/ 72,7/ 50,0

Рисунок 7

Безрецидивная выживаемость пациентов с ОЛЛ в зависимости от количества активирующих KIR-генов



го числа KIR-генов по итогам однофакторного анализа статистически не отличались (табл. 3–5).

Кумулятивный риск рецидива в группе пациентов с диагнозом «ОЛЛ» составил 0,33 (95%-й ДИ: 0,24–0,46); кумулятивная вероятность смертности, ассоциированной с трансплантацией ГСК, – 0,15 (95%-й ДИ: 0,09–0,27). Общая выживаемость пациентов с ОЛЛ – 0,57 (95%-й ДИ: 0,45–0,70).

При анализе влияния KIR-генотипа донора на эффективность трансплантации ГСК выявлена статистически значимая разница общей выживаемости с худшими результатами в группе пациентов с меньшим числом активирующих KIR-генов у донора ($n = 23$) – 0,31 (95%-й ДИ: 0,07–0,55) по сравнению с пациентами с большим числом активирующих KIR-генов ($n = 49$) – 0,67 (95%-й ДИ: 0,53–0,81); $p = 0,016$ (рис. 6). Статистически значимая разница при анализе данного фактора обнаружена также для безрецидивной выживаемости (рис. 7).

генов в каждой группе рассчитывали отдельно, данные в таблице не представлены)

KIR-B-контент «neutral»/«better»/«best»		Количество активирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Количество ингибирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Общее количество KIR-генов < медианы/ ≥ медианы		
95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p
48,6–69,9/ 37,8–74,9/ 43,6–88,2	0,67	55,8/ 61,4	40,7–70,9/ 51,1–71,8	0,53	57,2/ 61,4	44,2–70,2/ 50,0–72,8	0,65	59,2/ 59,5	45,5–72,8/ 48,4–70,6	0,96
60,1–88,3/ 19,8–78,0/ 26,6–90,3	0,91	72,1/ 59,7	56,2–88,0/ 41,1–78,3	0,35	66,7/ 66,3	13,3–100/ 53,8–78,8	0,84	74,0/ 60,0	56,8–91,3/ 43,2–76,8	0,27
31,8–60,9/ 37,8–86,0/ 45,0–100	0,74	33,6/ 60,6	12,1–55,0/ 46,8–74,5	0,05	45,4/ 57,7	26,3–64,5/ 42,7–72,6	0,39	43,2/ 58,4	23,7–62,6/ 43,7–73,2	0,29
53,7–80,0/ 31,8–81,4/ 0	0,19	59,6/ 75,2	43,6–75,7/ 60,8–89,7	0,16	63,5/ 70,5	46,5–80,5/ 56,2–84,7	0,57	61,1/ 72,0	43,5–78,7/ 58,3–85,7	0,34
35,1–67,4/ 32,5–84,2/ 21,7–78,3	0,94	56,7/ 50,8	35,4–78,1/ 35,8–65,9	0,65	52,9/ 52,4	34,9–70,9/ 35,4–69,4	0,98	59,4/ 48,3	39,9–78,9/ 32,4–64,1	0,38

каждой группе рассчитывали отдельно, данные в таблице не представлены)

KIR B-контент «neutral»/«better»/«best»		Количество активирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Количество ингибирующих KIR-генов < медианы/ ≥ медианы			Общее количество KIR-генов < медианы/ ≥ медианы		
95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p	%	95% ДИ	p
55,9–77,3/ 45,1–80,9/ 42,9–87,9	0,73	58,1/ 69,3	42,7–73,5/ 59,1–79,4	0,33	58,4/ 71,4	45,2–71,7/ 60,5–82,3	0,27	61,1/ 68,5	47,3–75,0/ 57,8–79,3	0,62
68,0–94,0/ 42,3–91,0/ 25,7–89,7	0,08	78,6/ 68,9	64,4–92,7/ 51,0–86,8	0,35	66,7/ 74,4	13,3–100/ 62,9–85,9	0,64	78,1/ 71,1	62,5–93,7/ 55,4–86,9	0,43
37,6–69,4/ 34,8–85,5/ 45,0–100	0,45	31,0/ 67,3	6,8–55,1/ 53,4–81,3	0,01	42,5/ 65,5	20,2–64,7/ 50,4–80,5	0,17	40,8/ 66,0	18,7–62,8/ 51,2–80,9	0,12
56,6–85,3/ 21,7–80,0/ 0	0,15	64,8/ 72,2	46,4–83,2/ 55,0–89,5	0,57	59,5/ 75,1	38,1–80,9/ 59,8–90,4	0,26	57,7/ 76,2	36,2–79,2/ 61,3–91,1	0,15
45,9–77,5/ 49,9–95,6/ 21,7–78,3	0,73	61,5/ 62,3	40,6–82,5/ 47,7–77,0	0,78	56,5/ 67,1	38,7–74,3/ 51,0–83,1	0,65	63,8/ 61,0	44,8–82,7/ 45,4–76,5	0,55

Результаты трансплантации ГСК в зависимости от типа донора. Кумулятивный риск рецидива и общая выживаемость в группе пациентов ($n = 78$), получивших трансплантацию ГСК от HLA-гаплоидентичных родственных доноров, составили 0,21 (95%-й ДИ: 0,13–0,33) и 0,69 (95%-й ДИ: 0,56–0,81) соответственно. Кумулятивная вероятность смертности, ассоциированной с трансплантацией ГСК, – 0,13 (95%-й ДИ: 0,07–0,24).

При трансплантации ГСК от HLA-гаплоидентичных доноров потенциальная NK-аллореактивность доноров, предсказанная по модели «лиганд–лиганд», не оказала влияния на риск развития рецидива и выживаемость пациентов. При анализе по модели «рецептор–лиганд» наблюдалась тенденция к увеличению общей выживаемости пациентов ($n = 49$) в случае потенциальной NK-аллореактивности донора – 0,76 (95%-й ДИ: 0,63–0,88) против 0,56 (95%-й ДИ: 0,32–0,81) ($n = 29$), однако без статистической значимости ($p = 0,486$) (рис. 8).

При анализе общей выживаемости пациентов в зависимости от KIR B-контента донора отмечена тенденция в сторону улучшения выживаемости пациентов ($n = 7$), чьи доноры имели наилучший («best») B-контент – 1,00 (95%-й ДИ: 0,00–0,00), по сравнению с пациентами ($n = 17$), чьи доноры были с лучшим («better») B-контентом – 0,51 (95%-й ДИ: 0,22–0,80) и нейтральным («neutral») ($n = 54$) – 0,71 (95%-й ДИ: 0,57–0,85); $p = 0,153$ (рис. 9), однако это различие также не достигло статистической значимости.

Кумулятивный риск рецидива у пациентов, получивших трансплантацию ГСК от HLA-идентичных неродственных доноров, составил 0,35 (95%-й ДИ: 0,25–0,49). Кумулятивная вероятность смертности,

ассоциированной с трансплантацией ГСК, – 0,12 (95%-й ДИ: 0,06–0,24). Общая выживаемость пациентов, получивших неродственную трансплантацию ГСК, – 0,62 (95%-й ДИ: 0,50–0,74).

При анализе влияния KIR-генотипа и предсказанной NK-аллореактивности донора по модели «рецептор–лиганд» не выявлено статистически значимой разницы в риске развития рецидива, общей и безрецидивной выживаемости (см. табл. 3–5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исторически совпадение донора и реципиента по HLA-антигенам – самый важный фактор, определяющий исход трансплантации ГСК. Применение селективной деплеции α/β -Т-лимфоцитов позволило успешно выполнять трансплантации от частично совместимых и гаплоидентичных доноров без риска отторжения трансплантата и тяжелой РТПХ. Авторы метода постулировали, что центральными в реализации позитивных клинических эффектов трансплантации ГСК являются сохраненные в трансплантате NK-клетки. Принимая во внимание признанную роль KIR-рецепторов в функционировании NK-клеток, а также многочисленные, хотя и противоречивые, данные о влиянии KIR-генотипа на исходы различных типов трансплантаций ГСК, в настоящей работе предпринята попытка исследовать влияние NK-аллореактивности на основные результаты трансплантации ГСК с деплецией α/β -Т-лимфоцитов в группе детей с острыми лейкозами.

Исследование показало, что большее количество активирующих KIR-генов в KIR-генотипе донора ассоциировано с лучшей общей и безрецидивной

Рисунок 8

Общая выживаемость пациентов, получивших гаплоидентичную трансплантацию ГСК, при применении модели «рецептор–лиганд»

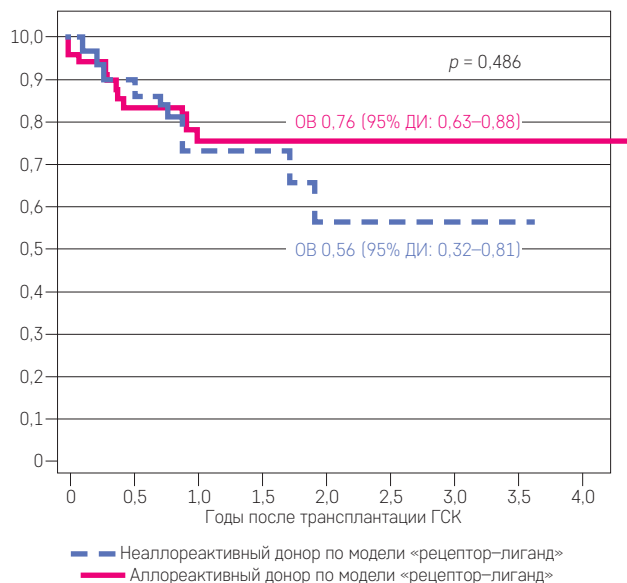
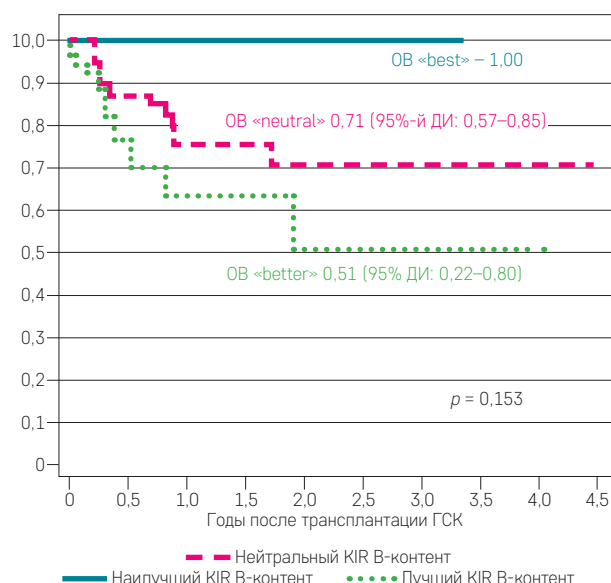


Рисунок 9

Общая выживаемость пациентов, получивших гаплоидентичную трансплантацию ГСК, в зависимости от KIR B-контента донора



выживаемостью пациентов с ОЛЛ. Опубликованные результаты проведенных ранее исследований не показали подобного эффекта у взрослых пациентов с ОЛЛ [17], однако результаты, полученные в нашей работе, согласуются с похожими современными исследованиями в детской популяции с ОЛЛ [19]. Возможно, это объясняется различием в процессинге трансплантата и данными о том, что бластные клетки детей с ОЛЛ экспрессируют активирующие KIR-лиганды и другие молекулы, обеспечивающие межклеточное взаимодействие, сильнее, чем у взрослых, что делает их более чувствительными к лизису донорскими NK-клетками [20].

Неожиданным оказалось отсутствие влияния NK-аллореактивности на частоту рецидивов по модели «лиганд–лиганд» в группе пациентов, получивших гаплоидентичную трансплантацию ГСК. Впервые данный феномен показал *L. Rugerri* и соавт. у пациентов с ОМЛ при гаплоидентичной трансплантации ГСК [5]. После публикации этих результатов проведено множество аналогичных ретроспективных исследований, в которых крайне редко показаны статистически достоверные результаты, но, что удивительно, в большинстве из них были получены данные, полностью противоположные ожидаемым, – отрицательный эффект NK-аллореактивных доноров. Разнообразие результатов объяснялось главным образом протоколом трансплантации [8]. В работе *L. Rugerri* и соавт. при процессинге трансплантата использовали позитивную селекцию CD34-позитивной фракции, что позволяло не проводить профилактику РТПХ после аллогенной трансплантации ГСК. Предполагается, что в условиях отсутствия фармакологической профилактики РТПХ и конкуренции за гомеостатические цитокины со стороны Т-лимфоцитов аллореактивный потенциал донорских NK-клеток реализуется наиболее полно. Однако для такого типа обработки трансплантата характерны поздняя иммунная реконституция и риск первичной недостаточности трансплантата. Принципиальное отличие примененного в данном исследовании метода подготовки трансплантата состоит в сохранении в нем большого количества зрелых донорских NK-клеток, противолейкемические эффекты которых могут в меньшей степени зависеть от NK-аллореактивности, чем у незрелых NK-клеток,

регенерирующих после трансплантации ГСК с CD34+ селекцией. Два современных исследования явно демонстрируют, что присутствие донорских Т-лимфоцитов в трансплантате препятствует проявлению NK-клеточной аллореактивности [21, 22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данное исследование вошла относительно небольшая и довольно гетерогенная выборка пациентов и их доноров (142 трансплантационные пары) с существенным преобладанием в ней доноров с нейтральным KIR В-контентом (65%) и, соответственно, очень малым количеством доноров с наилучшим KIR В-контентом (13%), а также присутствием среди неродственных доноров не полностью HLA-идентичных с пациентом (20% общего числа неродственных доноров), что могло дополнительно влиять на исходы трансплантации ГСК. Следовательно, учитывая вышесказанное и тенденцию к увеличению выживаемости при применении модели «рецептор–лиганд», выявленную в группе пациентов с гаплоидентичной трансплантацией ГСК, крайне необходимо дальнейшее исследование на большей выборке пациентов. Исследование показало, что данные KIR-типирования доноров могут быть учтены при трансплантации ГСК у пациентов с ОЛЛ, поскольку большее количество активирующих KIR-генов (определяющее KIR В-гаплотип) у донора существенно улучшает общую и безрецидивную выживаемость.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

В.В. Захарова <http://orcid.org/0000-0001-5949-5317>
Ж.Б. Шеховцова <http://orcid.org/0000-0002-9912-6572>
О.А. Шрагина <http://orcid.org/0000-0002-1547-4212>
Е.В. Райкина <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
М.А. Илюшина <http://orcid.org/0000-0001-7652-7704>
Я.О. Музалевский <http://orcid.org/0000-0003-3513-8299>
А.Г. Кочетов <http://orcid.org/0000-0003-3632-291X>
Л.Н. Шелихова <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
М.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- McQueen K.L., Parham P. Variable receptors controlling activation and inhibition of NK cells. *Current opinion in Immunology* 2002; 14: 615–21.
- Mandelboim O., Reyburn H.T., Vales-Gomez M., et al. Protection from lysis by natural killer cell of group 1 and 2 specificity is mediated by residue 80 in human Histocompatibility Leukocyte Antigen C alleles and also occurs with empty Major Histocompatibility Complex molecules. *The Journal of Experimental Medicine* 1996; 184: 913–22.
- Thananchai H., Gillespie G., Martin M.P., et al. Cutting edge: allele-specific and peptide-dependent interactions between KIR3DL1 and HLA-A and HLA-B. *The Journal of Immunol* 2007; 178: 33–7.

4. Ljunggren H.G., Karre K. In search of the «missing self»: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology today* 1990; 11: 237–44.
5. Rugerri L., Capanni M., Casucci M., Volpi I., et al. Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1999; 94: 333–9.
6. Uhrberg M., Valiante N.M., Shum B.P., et al. Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity* 1997; 7: 753–63.
7. Witt C.S., Dewing C.B., Sayer D.C., et al. Population frequencies and putative haplotypes of the killer cell immunoglobulin-like receptor sequences and evidence for recombination. *Transplantation* 1999; 68: 1784–89.
8. Mehra N.K., Kaur G., McCluskey J., et al. The HLA complex in Biology and Medicine: A Resource Book 2010; 31: 526–27.
9. Savani B.N., Mielke S., Adams S., Uribe M., et al. Rapid natural killer cell recovery determines outcome after T-cell-depleted HLA-identical stem cell transplantation in patients with myeloid leukemias but not with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2007; 21: 2145–52.
10. Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and threosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 668–74.
11. Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., et al. Single-center experience of unrelated and haploidentical stem cell transplantation with TCR $\alpha\beta$ and CD19 depletion in children with primary immunodeficiency syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (11): 1955–62.
12. Laberko A., Bogoyavlenskaya A., Shelikhova L., et al. Risk Factors and the Clinical impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus infections in Pediatric Recipients of TCR $\alpha\beta$ and CD19-Depleted Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23 (3): 483–90.
13. Balashov D., Laberko A., Shcherbina A., et al. A Conditioning Regimen with Plerixafor is Safe and Improves the Outcome of TCR $\alpha\beta$ and CD19+-Cell-Depleted Stem Cell Transplantation in Patients with Wiskott-Aldrich Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; (18): 30119–8.
14. <http://hla.alleles.org/dictionary/index.html>
15. Biassoni R., Vanni I., Ugolotti E. Killer immunoglobulin-like receptors and their ligands. *Histocompatibility book* 2012; 6: 97–9.
16. <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir>
17. Cooley S., Weisdorf D.J., Guethlein L.A., et al. Donor selection for natural killer receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2010; 116: 2411–19.
18. Rajalingham R. Overview of the killer cell immunoglobulin-like receptor system. *Methods in Molecular Biology Book* 2012; 882: 391–414.
19. Oevermann L., Michaelis S.U., Mezger M., Lang P., et al. KIR B haplotype donors confer a reduced risk for relapse after haploidentical transplantation in children with ALL. *Blood* 2014; 124: 2744–7.
20. Torelli G.F., Peragine N., Raponi S., et al. Recognition of adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia blasts by natural killer cells. *Haematologica* 2014; 99: 1248–54.
21. Yabe T., Matsuo K., Hirayasu K., et al. Donor killer immunoglobulin-like receptor genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T-cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 75–87.
22. Cooley S., McCullar V., Wangen R., et al. KIR reconstitution is altered by T-cells in the graft and correlates with clinical outcomes after unrelated donor transplantation. *Blood* 2005; 106: 4370–76.