

# Význam receptorů NK buněk u alogenních transplantací krvetvorných buněk u pacientů s akutní myeloidní leukemií

## Role of NK cell receptors in allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia

Machuldová A.<sup>1,2</sup>, Pitule P.<sup>1,2</sup>, Dekojová T.<sup>2,3</sup>, Jindra P.<sup>3</sup>, Holubová M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoř nádorové biologie a imunoterapie, Biomedicínské centrum LF UK v Plzni

<sup>2</sup> Ústav histologie a embryologie, LF UK v Plzni

<sup>3</sup> Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

**SOUHRN:** NK buňky hrají u alogenní transplantace kostní dřeně významnou roli, nejen při eradikaci zbývajících nádorových buněk, ale ovlivňují i rozvoj reakce štěpu proti hostiteli. Je tedy třeba porozumět jejich regulaci a tomu, jakým způsobem může reakce imunitního systému pacienta NK buňky dárce ovlivňovat. Inhibice a aktivace NK buněk je řízena celou řadou receptorů, které reagují na široké spektrum ligandů. Ať už inhibičních, které signalizují NK buňkám, že je cílová buňka v pořádku nebo aktivačních, které vyjadřují nějaké poškození cílové buňky. Mezi nejprozkoumanější receptory patří KIR a dále NKG2D se svými ligandy MICA a MICB. Přehledu jejich role v transplantaci kostní dřeně se věnuje tato práce.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** akutní myeloidní leukemie – KIR – NKG2D – MICA – MICB

**SUMMARY:** NK cells play an important role in allogeneic stem cell transplantation; not only as effector cells in the eradication of remaining cancer cells but also as potential inducers of graft versus host disease. Hence, it is important to understand their regulation and how the patient's immune system affects donor NK cells. NK cell inhibition or activation is directed by many receptors which interact with a broad spectrum of ligands. Inhibition ligands signal that the target cell is healthy, and activating ligands reflect that the cell is damaged. The most investigated receptors are KIR together with the NKG2D receptor with its ligands MICA and MICB. This work describes their role in stem cell transplantation.

**KEY WORDS:** acute myeloid leukemia – KIR – NKG2D – MICA – MICB

### ÚVOD

Akutní myeloidní leukemie (AML) je nejčastějším typem akutních leukemií dospělých (až 80 %) [1]. Současně s tím má AML z leukemií nejkratší celkové přežití [2]. AML je v současné době vyléčitelná u 30–45 % pacientů ve věku do 60 let, ale se stoupajícím věkem úspěšnost léčby klesá až na 15–5 %.

Léčba AML spočívá v indukční chemoterapii a konsolidační terapii a u pacientů se středním a vysokým rizikem relapsu je, v případě dovolujícího zdravotního stavu pacienta, jako konsolidace

indikována alogenní transplantace hematopoetických buněk (HSCT) [3,4].

Cílem HSCT je vytvoření nové nemaligní krvetvorby, která následně vede také k likvidaci reziduálních leukemických buněk. Kmenové leukemické buňky nicméně vykazují schopnost na svém povrchu nevystavovat antigeny potřebné k navození specifické odpovědi imunitního systému a unikají tak nejen chemoterapii, ale i imunitnímu dohledu [5]. V takové situaci lze využít mechanismu přirozeného imunitního systému, konkrétně NK (*natural killer*, při-

rození zabíječi) buněk, které při setkání s jinou buňkou vyhodnocují přítomnost nebo absenci HLA třídy I (*human leukocyte antigen*, dále HLA-I) komplexu na buňce. V případě, že je HLA-I komplex přítomen, přijímá NK buňka set signálů, které vedou skrz inhibiční receptory (primárně KIR, *killer-cell immunoglobulin-like receptor*), k inhibici reakce NK buňky. V případě absence HLA-I dochází k tzv. *missing-self* efektu, kdy NK buňka nedostává inhibiční signál a rovnováha buňky se posouvá směrem k její aktivaci skrz aktivační receptory [6]. Na ak-

**Tab. 1. Inhibiční receptory NK buněk a jejich ligandy [10,11].**

Inhibiční receptory NK buněk	Ligandy
KIR2DL1	HLA-C skupiny 2
KIR2DL2/3	HLA-C skupin 1 i 2
KIR2DL5A/B	neznámé
KIR3DL3	neznámé
KIR3DL1	HLA-A a HLA-B alely kódující epitop Bw4
KIR3DL2	HLA-A*03 a HLA-A*11
CD94/NKG2A	HLA-E
LILRB1	HLA třídy I
LAG-3	HLA třídy II
KLRG1	kadheriny
SIGLECS	kyselina sialová, gangliosid DSGb5
NKRP1A	LLT1 (lektinu-podobný transkript 1)
PD-1	PD-L1, PD-L2
IRP60	$\alpha$ -Herpes virus, pseudorabies virus, fosfatidylserin, fosfatidyletanolamin
Tactile	PVR
IL1R8	IL-37
TIGIT	PVR
TIM-3	Gal-9, PtdSer, HMGB1, CEACAM1

**Tab. 2. Aktivační receptory NK buněk a jejich ligandy [10,11].**

Aktivační receptory NK buněk	Ligandy
KIR2DS1	HLA-C skupiny 2
KIR2DS2	Neznámé
KIR2DS3	Neznámé
KIR2DS5	HLA-C skupiny 2
KIR3DS1	HLA-F
KIR2DS4	Několik HLA-C a HLA-A*11
KIR2DL4	HLA-G
CD94/NKG2C	HLA-E
CD94/NKG2E	HLA-E
CD16 (Fc $\gamma$ RIII)	Fc část protilátky
CD94/NKG2D	MICA, MICB, ULBP1-6
DNAM-1	Nectin-2 a PVR
CD58	LFA-2
NKp30	B7-H6, HCMV-pp65, heparin sulfát
NKp44	MML5, virový hemaglutinin, PCNA
NKp46	Komplementový faktor P, virový hemaglutinin, heparan sulfát
NKp65	KACL
NKp80	AICL

HLA – human leukocyte antigen; NK – natural killer

tivaci buňky se podílí také okolní prostředí – cytokiny, kostimulační receptory či T lymfocyty [7].

NK buňky na základě recentních dat hrají roli nejen při odpovědi na transformované buňky, ale také v rozvoji GVHD (*graft versus host disease*, reakce štěpu proti hostiteli) [8,9]. Jejich přesná role a to, jakým způsobem mohou NK buňky ovlivňovat výsledek transplantace, je nyní předmětem intenzivního zkoumání, na kterém se podílí i naše pracoviště.

## RECEPTORY NK BUNĚK A JEJICH LIGANDY

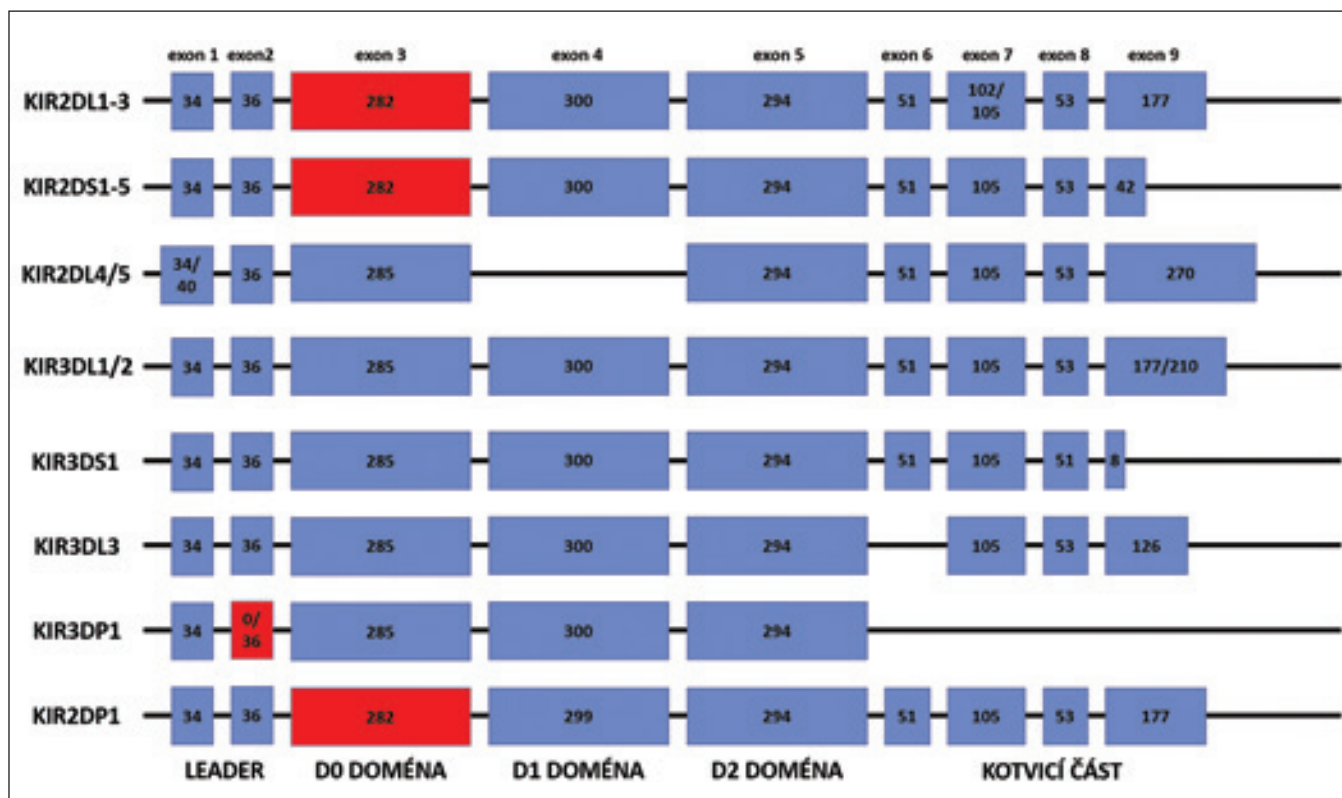
Každá zralá NK buňka má svůj specifický set receptorů, které řídí její aktivitu směrem k inhibici nebo aktivaci. Nejlépe prozkoumanými NK receptory jsou tzv. KIR receptory, kterým jako ligandy slouží primárně HLA-I proteiny (seznam známých receptorů NK buněk a jejich ligandů dle Boudreau et al., 2018 a Sivori et al., 2019 lze najít v tab. 1 a 2 [10,11]). Mezi nejvýznamnější aktivační receptory patří vedle KIR také NKG2D, jehož ligandy MICA a MICB vykazují zvýšenou expresi v rámci stresové odpovědi [12].

## KIR RECEPTORY

KIR receptory jsou exprimovány primárně na NK buňkách a v nižším množství také na NKT buňkách [13]. Tyto receptory jsou kódovány celou rodinou KIR genů, které se nacházejí na chromosomu 19. K dnešnímu dni známe 15 KIR genů, konkrétně 2DL1-5 (L1, L2/3, L4, L5A a L5B), 3DL1-3 (L1, L2, L3), 2DS1-5 (S1, S2, S3, S4, S5) a 3DS1, a dále 2 pseudogeny, 2DP1 a 3DP1 [14].

KIR geny se skládají z 9 exonů, exony 1 a 2 kódují vedoucí sekvenci, exon 3 doménu D0, exon 4 doménu 1, exon 5 doménu 2 a exony 6–9 pak transmembránovou a cytoplasmatickou část proteinu. Všechny geny nemusejí obsahovat všechny exony a stejně tak se mohou lišit délky jednotlivých exonů (obr. 1).

Názvosloví KIR genů odpovídá jejich proteinové struktuře, kdy první číslo, 2 nebo 3, značí počet extracelulárních domén a pís-



Obr. 1. Struktura genů KIR receptorů, převzato z <https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/about/>. Červeně označené jsou pseudoexon 3 a chybějící exon 2 pseudogenu 3DP1. Čísla v boxech značí počet bází. Kotvicí část se skládá ze stonku, transmembránové části a cytoplazmatické části.

mena S a L pak délku intracelulární části proteinu (*short*-krátká/*long*-dlouhá). S délkou intracelulární části je spojena i funkce proteinu. KIR proteiny s dlouhou intracelulární doménou – L – mají na svém konci zpravidla navázan ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*) a jsou tudíž inhibiční, KIR proteiny s krátkou intracelulární doménou – S – mají navázaný ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) a jsou aktivační. Jedinou výjimkou je KIR 2DL4, který může být jak inhibiční, tak aktivační. KIR geny mají vysokou alelickou variabilitu, konkrétně bylo k 05/2023 popsáno 1617 alel [15] (pozn. v roce 2020 jich bylo uvedeno ve stejné databázi IPD-KIR 1100 [16], dá se proto očekávat, že uvedené číslo ještě zdaleka není konečné). Nejvíce alel je popsáno u 3DL3 (229 alel kódujících 113 proteinů), ale nejvíce proteinů je tvořeno alelami genu 3DL2 (116 proteinů, které kóduje 168 alel).

KIR geny jsou děděny v tzv. haplotytech, které známe v základu dva, haplo-

typ A a haplotyp B. Každý z nich obsahuje 2 různé sady genů, ale oba haplotypy obsahují tzv. *framework* geny, tj. geny, které rámuji začátek a konec oblasti KIR genů – 3DL3, 3DP1, 2DL4 a 3DL2. Haplotyp A pak obsahuje pouze jeden aktivační KIR receptor – 2DS4. Ne vždy je ale tento protein nakonec exprimován na povrchu buňky a homozygoti pouze s haplotypem A tak na povrchu svých NK buněk nemusejí mít ve výsledku žádný aktivační KIR receptor [17].

Zatímco je variabilita haplotypu A postavena na alelické heterogenitě, variabilita haplotypu B je dána především kompozicí (přítomností či absencí) genů. Nejvíce zatím známých proteinů tvoří *framework* geny přítomné jak u haplotypu A, tak i B – 3DL2 (116 proteinů), 3DL3 (113) a 2DL1 (74), 3DP1 je *framework* pseudogen, proto proteiny netvoří. Další gen s nejčetnějším počtem proteinů je 3DL1, který se nachází jak u haplotypu A, tak i B, který tvoří 94 proteinů (známé k 05/2023) [18].

Stejně jako u dalších genů, ovlivňují genetické polymorfismy také expresi a funkci KIR genů. Již bylo zmíněno, že některé alely 2DS4 nevedou k proteinu exprimovanému na povrchu buňky [17]. Týká se to ale i například 2DL4 [19], 2DL2 [20], 2DL1 [20] nebo 3DL1 [21]. Některé polymorfismy vedou k předčasnému ukončení překladu při tvorbě proteinu, tj. k tzv. *null* alelám. Nejvíce *null* alel, 22, má gen 2DS4 (54 % z celkových 41 alel), následovaný genem 2DL1, který jich má ale výrazně méně, 7 ze 185 (4 %) [18]. Další polymorfismy pak mohou ovlivňovat hladinu exprese na povrchu buňky nebo mohou ovlivňovat sílu vazby receptoru k ligandu, obojí například u 3DL1 [22,23].

### ROLE HAPLOTYPU, POLYMORFISMŮ KIR RECEPTORŮ A SHODY A NESHODY KIR-HLA PŘI HSCT

Haplotyp A je složen převážně z inhibičních KIR, zatímco haplotyp B obsa-

huje více aktivačních KIR, v teoretické rovině by proto měl štěp dárce s haplotypem B vést k silnější reakci štěpu proti leukémii. U pacientů s AML, kteří podstoupili transplantaci s dárce s alespoň jedním B haplotypem bylo skutečně pozorováno nižší riziko relapsu [24,25]. Také transplantace štěpů od dárce s nižším zastoupením inhibičních receptorů vedly k nižšímu výskytu relapsů a delšímu přežití [26].

Roli hrají ale také jednotlivé alely či polymorfismy daných genů. Typ aminokyseliny na pozici 245 KIR 2DL1 ovlivňuje míru inhibiční funkce tohoto receptoru. Ve studii Bariho a kolektivu bylo prokázáno, že pacienti, kteří dostali štěp od dárce s 2DL1 se silnější inhibiční funkcí, vykazovali lepší přežití a nižší riziko relapsu [27]. Autoři dále popisují, že u buněk se slabší inhibiční funkcí 2DL1 pozorovali u NK buněk signifikantně méně degranulace a sekrece IFN- $\gamma$  [28]. S úplně opačným výsledkem přišel tým Boudreauho et al. [29]. Ti u pacientů se štěpem od dárce s alelami genu 3DL1 vedoucími k slabé nebo žádné inhibici (\*005, \*007 nebo \*004) pozorovali signifikantně nižší riziko relapsu a delší OS oproti pacientům se štěpem se silně inhibičními alelami (\*001, \*002) [29]. Podobných výsledků se dobrali Schaffer et al. [30, 31]. Alely 2DL1\*003 a 2DL3\*003 hrály roli v případě přítomnosti v haploidentickém štěpu pro pacienty s AML. Jejich přítomnost vedla k nižšímu výskytu relapsu [32].

## VLIV KIR – HLA SHODY A NESHODY NA HSCT

KIR – HLA shodu/neshodu mezi dárce a pacientem lze posuzovat dle více přístupů na základě toho, zda dochází k typizaci pouze HLA pacienta, dárce nebo zda je zahrnuta i typizace KIR. Přítomnost jednotlivých ligandů a receptorů, a tedy i případnou aloreaktivitu lze zkoumat jak genotypizací, tak ale i fenotypizací či funkčními testy NK buněk [33].

V případě, že máme informaci pouze o HLA pacienta, je využit model „chybějícího ligandu“ (*missing ligand*), kdy ne-

přítomnost některého z ligandů (HLA-C1, HLA-C2 či HLA-Bw4) pro inhibiční KIR může vést k aloreaktivě (NK nedostává inhibiční signál) v případě přítomnosti takového KIR u dárce. Tuto reakci ale pouze předpokládáme, protože nemáme jistotu, že dárce příslušný inhibiční KIR receptor má [34]. Tuto metodu lze využít v případě haploidentických transplantací, kdy dárce není vždy otypizován kompletně z důvodu předpokladu dědičnosti HLA.

Pokud máme informaci o HLA jak dárce, tak pacienta a u pacienta chybí HLA, které je přítomné u dárce, mluvíme o *missing-self* (nebo také *KIR-ligand* nebo *ligand-ligand missing*) neshodě. Pro představu, dárcovský štěp od dárce s HLA-C1 i HLA-C2 bude postrádat inhibiční signál od pacienta, který má pouze HLA-C1 a dojde tak k aloreaktivě [34]. Stejně jako v předchozím případě, i zde tuto reakci pouze předpokládáme. Tento model je využíván v nepřibuzenských transplantacích, kde jsou pacienti i dárce pro HLA plně typizováni.

Třetím modelem je model neshody receptoru a ligandu (*receptor-ligand mismatch*). V tomto případě známe HLA pacienta a KIR receptory dárce a minimálně jeden inhibiční KIR zůstává bez příslušného ligandu (například přítomnost KIR2DL1 u dárce, ale absence HLA-C2 u pacienta) [35].

Posledním modelem je „přítomnost aktivačního KIR“. Tento model pracuje s předpokladem, že vedle chybějícího inhibičního signálu je potřeba také přítomnost aktivačního signálu pro aktivaci NK buňky. Zde je tedy třeba znát typ aktivačního KIR a přítomnost jeho ligandu u pacienta [36].

Bylo popsáno, že pacienti s AML nebo myelodysplastickým syndromem (MDS), kteří měli KIR – HLA neshodu, měli signifikantně delší přežití bez nemoci (*disease-free survival*, DFS) i celkové přežití (*overall survival* – OS) a nižší riziko relapsu. V případě, že se pacient s dárce navíc neshodovali nejen v jednom, ale ve dvou ligandech, bylo dosahováno ještě lepšího DSF a OS [37].

Ruggeri s kolektivem sledovali 5leté přežití u pacientů s AML, kteří byli transplantováni s nebo bez KIR – HLA neshody. V případě neshody byla pravděpodobnost 5letého přežití kolem 60 %, v opačném případě to bylo méně než 5 % [38]. Podobný efekt – vyšší pravděpodobnost OS ve 4,5 letech v případě neshody (87 vs. 48 %;  $p = 0,006$ ) a vyšší pravděpodobnost DFS (87 vs. 39 %;  $p = 0,0007$ ) sledoval tým Sebastiana Giebela [39]. Ruggeri et al. popsali tentýž trend také u haploidentických transplantací [35]. Ne všechny práce tento efekt potvrdily. Beelen et al. nepozorovali žádný benefit v případě aloreaktivy [40] podobně jako Bornhäuser s kolektivem [41]. Rozdíl ve studiích se dá nepochybně vysvětlit rozdílnou populací pacientů, ale efekt by mohla hrát i KIR – HLA neshoda v případě aktivačních KIR. Tyto receptory by v případě shody naopak měly protektivní efekt s ohledem na relaps [42].

Z toho vyplývá, že interakce mezi KIR a HLA je důležitým faktorem při transplantaci kostní dřeně a je tedy vhodné tento parametr sledovat. To vedlo ke vzniku kalkulátoru shody KIR-HLA (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/matching/ligand/>), který umožňuje pracovištím tuto interakci sledovat na základě zadání HLA pacienta a HLA dárce. Slabinou tohoto kalkulátoru je ale to, že sleduje primárně interakci (shodu/neshodu) mezi inhibičními KIR a HLA, což ovšem vychází i z toho, že ligandy pro inhibiční receptory jsou známé lépe než pro aktivační KIR. Tento fakt ale může zkreslit výsledný způsob reakce NK buněk na buňky pacienta a je třeba se lepšímu prozkoumání aktivačních KIR věnovat.

## NKG2D RECEPTOR A JEHO LIGANDY

NKG2 (*natural killer group 2*) receptory jsou transmembránové molekuly typu II s doménou lektinového typu C, které mohou (ale nemusí) dimerizovat s proteinem CD94 na buněčném povrchu. Bylo popsáno 7 typů těchto receptorů, NKG2A, B, C, D, E, F a H [43,44]. NKG2A

a NKG2B jsou receptory inhibiční. Ostatní receptory z této rodiny jsou aktivní [45–47]. Tato rodina proteinů je přítomná na NK buňkách, ale i na CD8+ a CD4+ T lymfocytech [43,48,49].

NKG2D receptor, kódovaný genem KLRK1, vykazuje oproti KIR receptorům poměrně malou genetickou variabilitu, přesto byly popsány čtyři alely tvořící dva typy haplobloků, které mají vliv na cytotoxicitu buňky. Jedná se o alely LNK1, LNK2, HNK1, a HNK2. To, jestli je alela LNK1 nebo HNK1 je určeno na základě SNP (*single nucleotide polymorphism*) rs1049174 (na této pozici je buď C nebo G). LNK2 vs HNK2 je určeno polymorfismem rs2255336 (G → A). Jak již název napovídá (LNK – *low* NK), spouští LNK alela oproti HNK (*high* NK) alele nízkou cytotoxicitu. Haploblok Hb-1 obsahuje LNK1 a HNK1, které se mohou nacházet ve třech kombinacích – LNK1/LNK1, HNK1/HNK1 a LNK1/HNK1 a stejně tak u haplobloku Hb-2 jde o kombinace LNK2/LNK2, HNK2/HNK2 a LNK2/HNK2 [50]. Hayashi et al popsali, že kombinace HNK1/HNK1 vede ke sníženému riziku rozvoje nádorového onemocnění oproti kombinaci LNK1/LNK1 [50]. Espinoza s kolektivem došli k podobnému výsledku u HSCT, kdy pacienti se štěpem od dárců s HNK1/HNK1 dosahovali lepšího celkového přežití a nižší mortalitě způsobené transplantací [51]. V našem souboru dat nicméně žádný efekt haplotypu NKG2D na výsledek transplantace nebyl pozorován [52].

NKG2D receptor rozeznává ligandy MICA, MICB a ULBP1-6, které jsou exprimované na buňkách v případě, že buňky zažívají buněčný stres (tepelný šok, oxidativní stres, radiace), virovou infekci nebo nádorovou transformaci [49]. Tyto ligandy se mohou vyskytovat i na zdravých buňkách (proliferující buňky, myeloidní progenitorové buňky či zdravé intestinální epitelální buňky a buňky opravující poškozenou tkáň [49]), ale v takovém případě se předpokládá, že samotná přítomnost ligandu není pro reakci buněk s NKG2D receptorem dostatečná a převažuje množství inhibičních signálů [53].

Ligandy MICA a MICB patří do rodiny MIC (MHC class I-related chain), ULBP1-6 do rodiny ULBP/RAET (*human cytomegalovirus Unique Long 16-binding protein/Retinoic acid early transcript*). Obě tyto rodiny jsou příbuzné s HLA-I proteiny, ale na rozdíl od nich neasociují s  $\beta$ 2-mikroglobulinem a není o nich známo, že by na svém povrchu prezentovaly antigen [54]. Žádný antigen tak neovlivňuje způsob jejich vazby na receptor. NKG2D ligandy hrají zásadní roli v regulaci imunitní reakce, proto se cílové buňky naučily různým způsobem ovlivňovat jejich přítomnost na svém povrchu. Geny obou ligandů se skládají z vedoucí sekvence, kódované exonem 1, extracelulárních domén alpha1-3 (exony 2–4) a transmembránové a cytoplazmatické části (exony 5–6) (obr. 2) [55,56].

Oba geny jsou velmi polymorfní, k 03/2023 je v databázi sekvencí IMGT/HLA (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/about/statistics/>) 531 alel pro MICA a 244 pro MICB. Alel ale bude, stejně jako v případě KIR, nepochybně přibývat, v roce publikačního výstupu naší pracovní skupiny, tj. v roce 2021, bylo alel MICA 223 a MICB 138 [49].

### POLYMORFISMY NKG2D LIGANDŮ A JEJICH VLIV NA HSCT

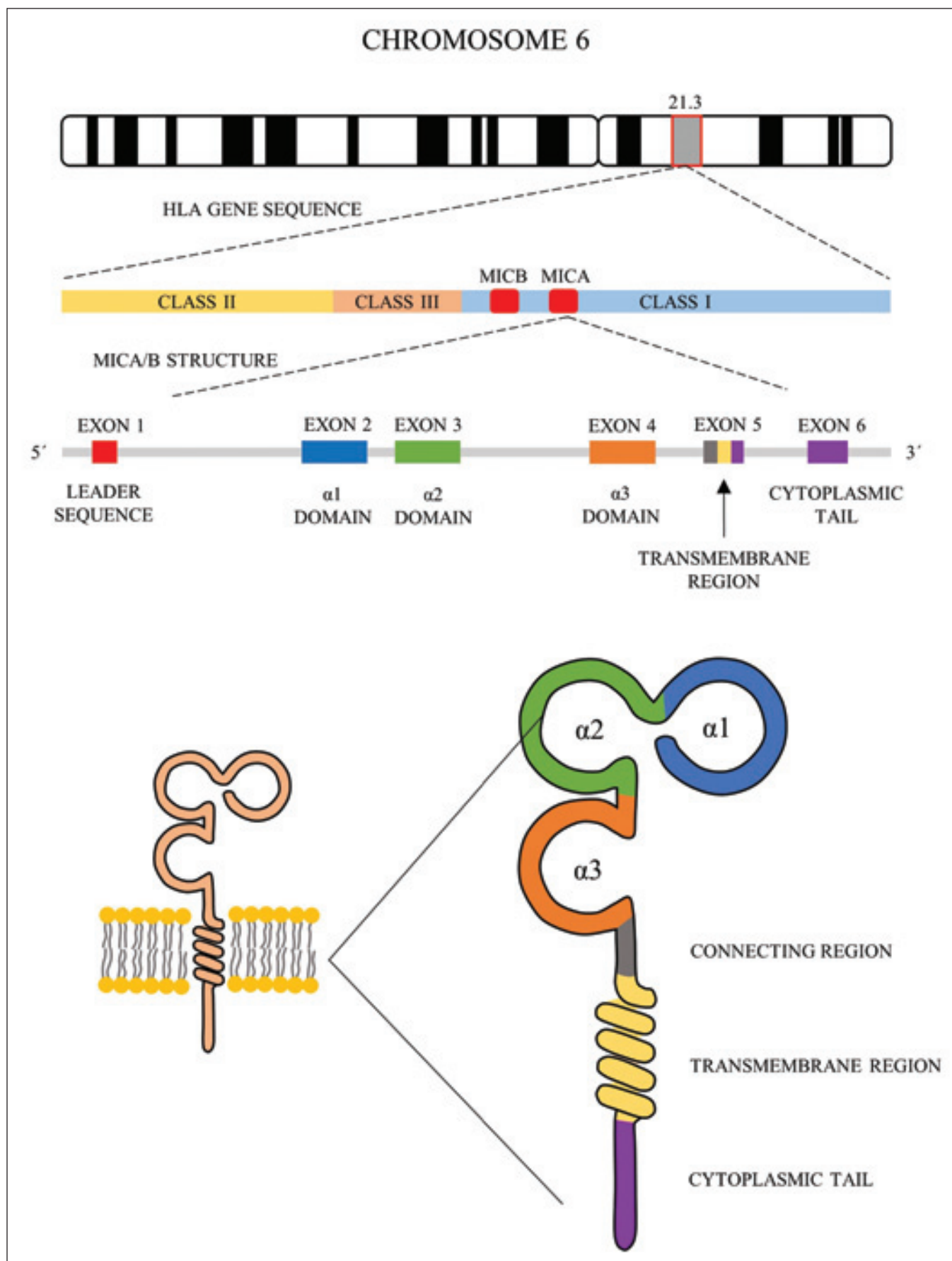
Na základě teorie o shodě mezi ligandy a receptory by měla neshoda mezi dárcem a pacientem v NKG2D ligandech vést k neschopnosti NK buněk tyto ligandy rozeznat a tím vést i k nižší reakci štěpu proti leukemii (GVL), ale na druhou stranu i k nižšímu riziku rozvoje GVHD [49]. Přesto tomu data neodpovídají. Práce kolektivů kolem Simrit Parmar, Raphaela Carapita a Daniela Fuersta popisují, že naopak shoda mezi dárcem a pacientem u MICA vede k nižšímu rozvoji aGVHD [57–59]. A stejně tak nižšímu cGVHD [57]. To může být vysvětleno tím, že primárně způsobují GVHD aloreaktivní  $\alpha\beta$  T lymfocyty, které neshodně NKG2D ligandy rozeznávají jako aloantigeny a přistupují k buňkám stejně jako

v případě neshody v HLA na antigenprezentujících buňkách [58,60].

U relapsu, tj. při nedostatečné reakci štěpu proti leukemii, ovšem nejsou data tak konsistentní. Parmar a Carapita se svými týmy pozorovali v případě neshody mezi dárcem a pacientem v MICA nižší riziko relapsu [57,58]. Fuerst s kolektivem naopak pozorovali v případě neshody mezi dárcem a pacientem vyšší riziko relapsu. Jejich studie ale byla, na rozdíl od dvou předchozích, postavená na shodě a neshodě v jedné aminokyselině, konkrétně na přítomnosti valinu nebo methioninu na pozici 129 (MICA-129Val/Met) [59].

Tento polymorfismus pak byl sledován v dalších pracích, a to i bez ohledu na shodu mezi dárcem a pacientem. Ligand MICA, který má na pozici 129 methionin, se váže k NKG2D receptoru s vyšší afinitou oproti MICA-129 s valinem, což vede k rozdílné síle i délce trvání odpovědi NK buňky. Zjednodušeně lze říci, že MICA-129Met se naváže silněji, díky čemuž spustí silnější reakci a o to dříve pak dojde k vyčerpání NKG2D receptoru a NK buňky. Homozygotní MICA-129 Met/Met pacienti pak mají z toho důvodu vyšší riziko aGVHD [61]. Naopak, u MICA-129Val je vazba k receptoru slabší, ale o to delší, a je tedy vyšší riziko cGVHD, což potvrdil Boukouaci s týmem [62]. Stejný tým také prokázal vliv solubilních MICA na vyšší riziko rozvoje cGVHD [62]. V našem datasetu hrál roli polymorfismus MICA-14, kdy podání štěpu od dárců s alespoň jednou kopií MICA-14Gly (místo MICA-14Trp) vedlo k významně kratšímu celkovému přežití ( $p = 0,0071$ ) [52].

Co se týče MICB, neshoda v rámci polymorfismu na pozici 98 (MICB-98Ile/Met) zvyšuje riziko rozvoje chronického i akutního GVHD v případě, že dárcem a příjemcem jsou jinak MICA a HLA shodní a pacient je přítom zároveň CMV pozitivní [63]. V případě, že byl pacient CMV negativní, nehrála neshoda takovou roli a v případě shody v MICB-98, nehrál zase roli CMV status pacienta [63]. V naší studii jsme pozorovali vliv polymorfismu



Obr. 2. Struktura genů a proteinů MICA a MICB. Převzato z Machulďová et al., 2021 [49].

MICB-58, kde přítomnost alespoň jedné kopie MICB-58Lys u pacienta vedla k nižšímu riziku relapsu než v případě, že MICB-58Lys přítomno nebylo. Toto pozorování nicméně nebylo potvrzeno statisticky ( $p = 0,069$ ) z důvodu nedostatečně velkého souboru pacientů.

## ZÁVĚR

Z uvedeného vyplývá, že receptory NK buněk hrají v transplantaci kostní dřeně důležitou roli. Mezi ty zásadní patří shoda mezi dárce a pacientem v HLA a inhibičními KIR vedoucí k slabší reakci štěpu proti leukémii, byť tento efekt není potvrzen všemi dostupnými pracemi. Taktéž se uvádí, že lepším dárce pro pacienta s AML je dárce s KIR haplotypem B pro přítomnost většího množství aktivačních KIR oproti haploidentickému dárce s haplotypem A. Popsáno bylo i několik alel a polymorfismů KIR genů, které ovlivňovaly výsledek allo-HSCT, ale tyto informace vyžadují další potvrzení na dostatečně velkém souboru pacientů. Podobné je to s alelami a polymorfismy receptoru NKG2D (LNK/HNK) a jeho ligandů MICA a MICB. Bylo popsáno několik polymorfismů (MICA-129, MICA-14, MICB-98, MICB-58), které se zdají mít na allo-HSCT vliv, ale stejně jako v případě KIR je potřeba dané efekty potvrdit ve studii zahrnující dostatečný počet pacientů. V každém případě ale platí, že si receptory NK buněk a jejich ligandy zaslouží další pozornost.

## Literatura

- Vakiti A, Mewawalla P. Acute myeloid leukemia. In: StatPearls. edn. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2022.
- Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. *Blood Rev.* 2019;36:70–87.
- Loke J, Buka R, Craddock C. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: who, when, and how? *Front Immunol.* 2021;12:659595.
- Giralt S, Bishop MR. Principles and overview of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. In., edn.: Springer US. 2009;1–21.
- Paczulla AM, Rothfelder K, Raffel S, et al. Publisher Correction: Absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion. *Nature.* 2019;572(7770):E19.
- Bertaina A, Andreani M. Major histocompatibility complex and hematopoietic stem cell transplantation: beyond the classical HLA polymorphism. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2):621.
- Horowitz A, Stegmann KA, Riley EM. Activation of natural killer cells during microbial infections. *Front Immunol.* 2011;2:88.
- Simonetta F, Alvarez M, Negrin RS. Natural killer cells in graft-versus-host-disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Front Immunol.* 2017;8:465.
- Olson JA, Leveson-Gower DB, Gill S, Baker J, Beilhack A, Negrin RS. NK cells mediate reduction of GVHD by inhibiting activated, alloreactive T cells while retaining GVT effects. *Blood.* 2010;115(21):4293–4301.
- Boudreau JE, Hsu KC. Natural killer cell education and the response to infection and cancer therapy: stay tuned. *Trends Immunol.* 2018;39(3):222–239.
- Sivori S, Vacca P, Del Zotto G, Munari E, Mingari MC, Moretta L. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. *Cell Mol Immunol.* 2019;16(5):430–441.
- Zingoni A, Cecere F, Vulpis E, et al. Genotoxic stress induces senescence-associated ADAM10-dependent release of NKG2D MIC ligands in multiple myeloma cells. *J Immunol.* 2015;195(2):736–748.
- Long EO, Colonna M, Lanier LL. Inhibitory MHC class I receptors on NK and T cells: a standard nomenclature. *Immunol Today.* 1996;17(2):100.
- Margolis DJ, Mitra N, Hoffstad OJ, et al. Association of KIR2DL5, KIR2DS5, and KIR2DS1 allelic variation and atopic dermatitis. *Scient Rep.* 2023;13(1):1730.
- Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD, Flicek P, Parham P, Marsh SG. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(Database issue):D423–D431.
- Dębska-Zielkowska J, Moszkowska G, Zieliński M, et al. KIR receptors as key regulators of NK cells activity in health and disease. *Cells.* 2021;10(7):1777.
- Hsu KC, Liu XR, Selvakumar A, Mickelson E, O'Reilly RJ, Dupont B. Killer Ig-like receptor haplotype analysis by gene content: evidence for genomic diversity with a minimum of six basic framework haplotypes, each with multiple subsets. *J Immunol.* 2002;169(9):5118–5129.
- Robinson J, Barker DJ, Georgiou X, Cooper MA, Flicek P, Marsh SGE. IPD-IMGT/HLA database. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D948–D955.
- Goodridge JP, Lathbury LJ, Steiner NK, et al. Three common alleles of KIR2DL4 (CD158d) encode constitutively expressed, inducible and secreted receptors in NK cells. *Eur J Immunol.* 2007;37(1):199–211.
- VandenBussche CJ, Dakshanamurthy S, Posch PE, Hurley CK. A single polymorphism disrupts the killer Ig-like receptor 2DL2/2DL3 D1 domain. *J Immunol.* 2006;177(8):5347–5357.
- Pando MJ, Gardiner CM, Gleimer M, McQueen KL, Parham P. The protein made from a common allele of KIR3DL1 (3DL1\*004) is poorly expressed at cell surfaces due to substitution at positions 86 in Ig domain 0 and 182 in Ig domain 1. *J Immunol.* 2003;171(12):6640–6649.
- Gardiner CM, Guethlein LA, Shilling HG, et al. Different NK cell surface phenotypes defined by the DX9 antibody are due to KIR3DL1 gene polymorphism. *J Immunol.* 2001;166(5):2992–3001.
- Carr WH, Pando MJ, Parham P. KIR3DL1 polymorphisms that affect NK cell inhibition by HLA-Bw4 ligand. *J Immunol.* 2005;175(8):5222–5229.
- Impola U, Turpeinen H, Alakulppi N, et al. Donor haplotype B of NK KIR receptor reduces the relapse risk in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation of AML patients. *Front Immunol.* 2014;5:405.
- Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood.* 2009;113(3):726–732.
- Shaffer BC, Hsu KC. How important is NK alloreactivity and KIR in allogeneic transplantation? *Best Pract Res Clin Haematol.* 2016;29(4):351–358.
- Bari R, Rujkijyanont P, Sullivan E, et al. Effect of donor KIR2DL1 allelic polymorphism on the outcome of pediatric allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2013;31(30):3782–3790.
- Bari R, Bell T, Leung WH, et al. Significant functional heterogeneity among KIR2DL1 alleles and a pivotal role of arginine 245. *Blood.* 2009;114(25):5182–5190.
- Boudreau JE, Giglio F, Gooley TA, et al. KIR3DL1/HLA-B subtypes govern acute myelogenous leukemia relapse after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2017;35(20):2268–2278.
- Shaffer BC, Heller G, Le Luduec J-B, et al. Selection of unrelated allogeneic hematopoietic cell donors based on KIR3DL1 allotypes is feasible and results in improved disease-free survival in transplant recipients with MDS and AML. *Blood.* 2016;128(22):990–990.
- Shaffer BC, Le Luduec J-B, Park S, et al. Prospective KIR genotype evaluation of hematopoietic cell donors is feasible with potential to benefit patients with AML. *Blood Adv.* 2021;5(7):2003–2011.
- Dubreuil L, Manianguou B, Chevallier P, et al. Centromeric KIR AA individuals harbor particular KIR alleles conferring beneficial NK cell features with implications in haplo-identical hematopoietic stem cell transplantation. *Cancers (Basel).* 2020;12(12):3595.
- Heidenreich S, Kröger N. Reduction of relapse after unrelated donor stem cell transplantation by KIR-based graft selection. *Front Immunol.* 2017;8:41.
- Symons HJ, Fuchs EJ. Hematopoietic SCT from partially HLA-mismatched (HLA-hap-

- lidentical) related donors. Bone Marrow Transplant. 2008;42(6):365–377.
35. Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. Blood. 2007;110(1):433–440.
36. Chewning JH, Gudme CN, Hsu KC, Selvakumar A, Dupont B. KIR2DS1-positive NK cells mediate alloresponse against the C2 HLA-KIR ligand group in vitro. J Immunol. 2007;179(2):854–868.
37. Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A, et al. Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukemia predicted by KIR and HLA genotypes. Blood. 2005;105(12):4878–4884.
38. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. Science. 2002;295(5562):2097–2100.
39. Giebel S, Locatelli F, Lamparelli T, et al. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. Blood. 2003;102(3):814–819.
40. Beelen DW, Ottinger HD, Ferencik S, et al. Genotypic inhibitory killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility enhances the long-term antileukemic effect of unmodified allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myeloid leukemias. Blood. 2005;105(6):2594–2600.
41. Bornhäuser M, Schwerdtfeger R, Martin H, Frank KH, Theuser C, Ehninger G. Role of KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation using unrelated donors. Blood. 2004;103(7):2860–2861; author reply 2862.
42. Verheyden S, Schots R, Duquet W, Demanet C. A defined donor activating natural killer cell receptor genotype protects against leukemic relapse after related HLA-identical hematopoietic stem cell transplantation. Leukemia. 2005;19(8):1446–1451.
43. Borrego F, Masilamani M, Marusina AI, Tang X, Coligan JE. The CD94/NKG2 family of receptors: from molecules and cells to clinical relevance. Immunol Res. 2006;35(3):263–278.
44. Kim DK, Kabat J, Borrego F, Sanni TB, You CH, Coligan JE. Human NKG2F is expressed and can associate with DAP12. Mol Immunol. 2004;41(1):53–62.
45. Orbelyan GA, Tang F, Sally B, et al. Human NKG2E is expressed and forms an intracytoplasmic complex with CD94 and DAP12. J Immunol. 2014;193(2):610–616.
46. Lanier LL, Corliss B, Wu J, Phillips JH. Association of DAP12 with activating CD94/NKG2C NK cell receptors. Immunity. 1998;8(6):693–701.
47. Bellón T, Heredia AB, Llano M, et al. Triggering of effector functions on a CD8+ T cell clone upon the aggregation of an activating CD94/kp39 heterodimer. J Immunol. 1999;162(7):3996–4002.
48. Creelan BC, Antonia SJ. The NKG2A immune checkpoint – a new direction in cancer immunotherapy. Nature Rev Clin Oncol. 2019;16(5):277–278.
49. Machuldova A, Holubova M, Caputo VS, et al. Role of polymorphisms of NKG2D receptor and its ligands in acute myeloid leukemia and human stem cell transplantation. Front Immunol. 2021;12:651751.
50. Hayashi T, Imai K, Morishita Y, Hayashi I, Kusunoki Y, Nakachi K. Identification of the NKG2D haplotypes associated with natural cytotoxic activity of peripheral blood lymphocytes and cancer immunosurveillance. Cancer Res. 2006;66(1):563–570.
51. Espinoza JL, Takami A, Onizuka M, et al. NKG2D gene polymorphism has a significant impact on transplant outcomes after HLA-fully-matched unrelated bone marrow transplantation for standard risk hematologic malignancies. Haematologica 2009;94(10):1427.
52. Machuldova A, Houdova L, Kratochvilova K, et al. Single-nucleotide polymorphisms in MICA and MICB genes could play a role in the outcome in AML patients after HSCT. J Clin Med. 2021;10(20):4636.
53. Eagle RA, Jafferji I, Barrow AD. Beyond stressed self: evidence for NKG2D ligand expression on healthy cells. Curr Immunol Rev. 2009;5(1):22–34.
54. Stephens HA. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved? Trends Immunol. 2001;22(7):378–385.
55. Pérez-Rodríguez M, Argüello JR, Fischer G, et al. Further polymorphism of the MICA gene. Eur J Immunogenet. 2002;29(1):35–46.
56. Bahram S. MIC genes: from genetics to biology. Adv Immunol. 2000;76:1–60.
57. Carapito R, Jung N, Kwemou M, et al. Matching for the nonconventional MHC-I MICA gene significantly reduces the incidence of acute and chronic GVHD. Blood. 2016;128(15):1979–1986.
58. Parmar S, Del Lima M, Zou Y, et al. Donor-recipient mismatches in MHC class I chain-related gene A in unrelated donor transplantation lead to increased incidence of acute graft-versus-host disease. Blood. 2009;114(14):2884–2887.
59. Fuerst D, Neuchel C, Niederwieser D, et al. Matching for the MICA-129 polymorphism is beneficial in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2016;128(26):3169–3176.
60. Abdelhakim H, Abdel-Aziz H, Saad A. Role of  $\alpha\beta$  T cell depletion in prevention of graft versus host disease. Biomedicines. 2017;5(3):35.
61. Isernhagen A, Malzahn D, Viktorova E, et al. The MICA-129 dimorphism affects NKG2D signaling and outcome of hematopoietic stem cell transplantation. EMBO Mol Med. 2015;7(11):1480–1502.
62. Boukouaci W, Busson M, Peffault de LaTour R, et al. MICA-129 genotype, soluble MICA, and anti-MICA antibodies as biomarkers of chronic graft-versus-host disease. Blood. 2009;114(25):5216–5224.
63. Carapito R, Aouadi I, Pichot A, et al. Compatibility at amino acid position 98 of MICB reduces the incidence of graft-versus-host disease in conjunction with the CMV status. Bone Marrow Transplant. 2020;55(7):1367–1378.

## PODÍL AUTORŮ NA RUKOPISU

AM – hlavní autor

PP, TD, PJ, MH – revize dokumentu

## PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena grantem ministerstva zdravotnictví – číslo NV18-03-00277 a projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806.

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou společností.

*Doručeno do redakce dne: 30. 5. 2023.*

*Přijato po recenzi dne: 15. 6. 2023.*

*Mgr. Alena Machuldová*

*Laboratoř nádorové biologie*

*a imunoterapie*

*Biomedicínské centrum*

*LF UK v Plzni*

*Alej Svobody 76*

*301 00 Plzeň*

*a Ústav histologie a embryologie*

*LF UK v Plzni*

*Karlovarská 48*

*301 00 Plzeň*

*e-mail: alena.machuldova@gmail.com*