

Significance of donor NK-cells alloreactivity in allogeneic hematopoietic stem cells transplantation in children

Tatsiana V. Shman, Katsiaryna P. Vashkevich, Aleksandr A. Migas, Mihail A. Matveyenka, Aleksey V. Alekseichik, Nina V. Minakovskaya, Olga V. Aleinikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Contact: Dr. Tatsiana V. Shman

E-mail: shman@oncology.by

Introduction

Natural killer (NK) cells as well as T-cells participate in allogeneic reactions after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Alloreactive NK cells are able to damage recipient's dendritic cells preventing graft versus host disease (GvHD) reaction, mediate anti-virus defense, and participate in graft-versus-leukemia reaction. Mismatches between inhibitory KIR (killer Ig-like receptor) of donor and HLA-I molecules of recipient comprise the basis of NK alloreactions.

Our purpose was to study the influence of donor NK alloreactivity upon incidence of acute GvHD, CMV reactivation, and incidence of relapses after allogeneic HSCT in children.

Patients and methods

KIR expression was assessed by PCR and flow cytometry. HLA genotyping was performed at the laboratories of The Republican Research & Production Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies (Belarus), DKMS (Germany) and Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology.

Analysis of NK cells alloreactivity performed according to the "receptor-ligand" model (as receptor-ligand mismatch). According to this model, donor NK cells are alloreactive towards recipient cells, when at least one of the studied inhibitory KIRs (KIR2DL1 and/or KIR2DL2/DL3 and/or KIR3DL1) do not have a corresponding ligand (HLA-C2 and/or HLA-C1 and/or HLA-Bw4) on recipient cells. HLA alleles for the KIR ligand groups were determined on the basis of HLA-I typing in recipient cells.

HLA alleles were aligned to KIR ligand groups (C1, C2, Bw4) using The Immuno Polymorphism Database (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/ligand.html>) and the published study results.

Our study included 169 patients at the age of 6 months to 18 years old diagnosed with various blood disorders, i.e., acute leukemia (ALL, AML, biphenotypic), CML, MDS, lymphoblastic lymphoma, Burkitt lymphoma, aplastic anemia, Fankoni anemia and primary immunodeficiency diseases, and underwent allogeneic HSCT from 2007 to 2016 years.

Results

Donor NK alloreactivity was found in 59.2% of the studied allogeneic HSCT cases, according to the data of flow cytometry and PCR. In the group of patients with non-malignant diseases with RIC conditioning in the cases of donor NK alloreactivity, the incidence of acute GvHD was 44.8% compared with 76.9 % in the cases without detectable alloreactivity ($p=0.05$). For the patients with oncological diseases with myeloablative conditioning, no relations were found between donor NK alloreactivity and incidence of acute GvHD. In the group of patients with mismatched CMV status during the first 100 day after HSCT, the lowest rate of CMV reactivation was in the cases of donor NK alloreactivity with absence of C2 ligands (20% vs 48.2%; $p=0.04$).

For the patients with nonmalignant diseases ($n=43$), we did not find significant differences in overall survival of patients, depending on NK-alloreactivity. However, in the group of patients with malignant diseases, the overall survival in the cases of alloreactivity was $68\pm 6\%$ as compared to the patients without alloreactivity ($48\pm 8\%$, $p=0.1$). For this group of patients, in the case of alloreactivity with absence of two ligands (C1-/Bw4- or C2-/Bw4-), the overall survival was $86\pm 9\%$ versus $45\pm 8\%$ in the cases without alloreactivity ($p=0.01$). In the patients subjected to allogeneic HSCT for oncohematological diseases, a number of transplants was made from matched unrelated donor (63 patients out of 126). E.g., the relapse-free survival for this type of HSCT was $88\pm 6\%$ in the case of donor NK alloreactivity, being only $57\pm 13\%$ among the patients without alloreactivity ($p=0.03$).

Conclusion

Selection of donors with NK-alloreactivity could result in decreasing rates of acute GvHD, virus reactivation, and incidence of relapses after allogeneic HSCT. However, effect of NK alloreactivity depends on type of transplantation and conditioning regimen, as well as cell composition of the grafts.

Keywords

Hematopoietic stem cell transplantation, natural killer cells, alloreactivity, KIR.

Значение аллореактивности донорских ЕК-клеток при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей

Татьяна В. Шман, Екатерина П. Вашкевич, Александр А. Мигас, Михаил А. Матвеевко, Алексей В. Алексейчик, Ю. Е. Марейко, Нина В. Минаковская, Ольга В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

Введение

Естественные киллерные (ЕК), также как и Т-клетки участвуют в осуществлении аллогенных реакций после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Аллореактивные ЕК клетки способны повреждать дендритные клетки реципиента, предотвращая развитие реакции трансплантат против хозяина (РТПХ), осуществлять противовирусную защиту, осуществлять реакцию трансплантат против лейкоза. Причиной аллореакций, вызванных ЕК-клетками, является несовместимость ингибиторных киллерных иммуноглобулин-подобных рецепторов (KIR – killer Ig-like receptor) ЕК-клеток донора с HLA-I системой реципиента. Целью работы было исследование роли аллореактивности донорских ЕК-клеток на развитие реакции трансплантат против хозяина, частоту инфекционных осложнений и рецидивов после аллогенной ТГСК у детей.

Пациенты и методы

Экспрессию KIR рецепторов донора оценивали методами ПЦР и проточной цитофлуориметрии. HLA типирование донора и реципиента выполняли в лаборатории иммунологического типирования органов и тканей РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск), в лаборатории Европейского банка доноров (DKMS, Германия) или в клинико-диагностической лаборатории Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск).

Анализ аллореактивности ЕК-клеток выполняли согласно модели «рецептор-лиганд» (несовместимость по рецептору и лиганду). Согласно этой модели ЕК клетки донора считали аллореактивными по отношению к клеткам реципиента в случае, если хотя бы один из ис-

следуемых ингибиторных рецепторов донора (KIR2DL1 и/или KIR2DL2/DL3 и/или KIR3DL1) не имел соответствующего лиганда (HLA-C2 и/или HLA-C1 и/или HLA-Bw4, соответственно) на клетках реципиента.

Наличие лигандов для KIR рецепторов ЕК-клеток донора определяли на основании данных HLA-I типирования клеток реципиента. Принадлежность HLA аллелей к группам KIR лигандов (C1, C2 и Bw4) определяли по сведениям базы данных The Immuno Polymorphism Database (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/ligand.html>) и опубликованным результатам исследований.

В исследуемую группу больных вошли 169 пациентов в возрасте от полутора до 18 лет с диагнозами острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, острый бифенотипический лейкоз, лимфобластная лимфома, лимфома Беркитта, апластическая анемия, анемия Фанкони, первичный иммунодефицит с проведенной аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии с 2007 по 2016 год.

Результаты

По данным проточной цитофлуориметрии и ПЦР количество аллогенных трансплантаций с донорской ЕК-аллореактивностью составило 59,2 %. Для пациентов с незлокачественными заболеваниями, получившими RIC кондиционирование, при наличии ЕК-аллореактивности частота острой РТПХ составила 44,8 %, тогда как без аллореактивности – 76,9% (p=0,05). Для пациентов со злокачественными заболеваниями с проведенным миелоаблативным кондиционированием, взаимосвязь между аллореактивностью донорских ЕК-клеток и развитием острой РТПХ не выявлена.

В группе пациентов с несовпадающим CMV статусом наименьшая частота реактивации CMV инфекции до +100 дня после ТГСК наблюдалась при наличии алло-реактивности в случае отсутствия лигандов группы С2 (48,2 % против 20 %, $p=0,04$).

Для пациентов с незлокачественными заболеваниями ($n=43$) достоверных различий в общей выживаемости в зависимости от наличия аллореактивности ЕК-клеток не выявлено. В группе пациентов с онкогематологическими заболеваниями при наличии аллореактивности общая выживаемость составила 68 ± 6 %, тогда как без аллореактивности – 48 ± 8 % ($p=0,1$). Для пациентов с онкогематологическими заболеваниями установлено, что при отсутствии двух лигандов (С1-/Вw4- или С2-/Вw4) общая выживаемость составила 86 ± 9 %, тогда как без аллореактивности (при наличии всех лигандов) – 45 ± 8 % ($p=0,01$). Среди проведенных трансплантаций для пациентов с онкогематологическими заболеваниями ($n=126$) наибольшее количество составили трансплантации от совместимого неродственного донора (63 из 126). Так, для этого типа трансплантаций безрецидивная выживаемость пациентов при наличии донорской ЕК-аллореактивности составила 88 ± 6 %, тогда как без аллореактивности – 57 ± 13 % ($p=0,03$).

Заключение

Выбор донора с ЕК-аллореактивностью может снизить частоту острой РТПХ и вирусной реактивации, а также уменьшить количество рецидивов при проведении аллогенной ТГСК. Однако эффект аллореактивности ЕК-клеток может зависеть от типа трансплантации и кондиционирования, а также от клеточного состава трансплантата.

Ключевые слова

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, НК-клетки, аллореактивность, KIR.