

Rola niezgodności HLA w transplantacjach komórek krwiotwórczych

The role of HLA disparity in hematopoietic stem cells transplantation

Jacek Nowak

Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Niezgodność antygenów leukocytów ludzkich (HLA) między dawcą a biorcą krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC) umożliwia rozpoznanie allogeniczne poprzez immunokompetentne limfocyty T i naturalne komórki cytotoksyczne (NK) oraz indukuje chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD), zjawisko przeszczep przeciwko białaczkę (GvL) i/lub może spowodować odrzucenie przeszczepu. W artykule przedstawiono zakres zmienności ludzkiego genomu, metody typowania HLA i główne aspekty nowego nazewnictwa alleli HLA, które zaczną obowiązywać w 2010 roku, oraz zasady interpretacji wyników genotypowania HLA na poziomie wysokiej rozdzielczości. Opisano również główne grupy rodzinnych i niespokrewnionych dawców HSC i przedstawiono zakres możliwych niezgodności, a także ich wpływ na przebieg zdrowienia po transplantacji HSC. Zgodność HLA między dawcą i biorcą HSC ma podstawowe znaczenie dla wyniku transplantacji, a jednocześnie dla wielu pacjentów nie ma całkowicie zgodnego dawcy. W niektórych sytuacjach, szczególnie w przypadku młodszych pacjentów, transplantacja HSC od dawcy alternatywnego z pojedynczą niezgodnością (o poziomie zgodności 9/10 alleli) może się okazać równie korzystna, jak transplantacja od całkowicie zgodnego dawcy (10/10). Dla pozostałych pacjentów należy poszukiwać dawcy z akceptowalnymi niezgodnościami. Akceptowalność niezgodności HLA zależy nie tylko od rodzaju niezgodności, lecz również od pilności zabiegu transplantacji, potencjalnych korzyści, jakie daje efekt GvL, oraz od dostępności i skuteczności alternatywnych metod leczenia.

Słowa kluczowe: polimorfizm genetyczny, transplantacja komórek krwiotwórczych, HLA, rodzinny dawca komórek krwiotwórczych, niespokrewniony dawca komórek krwiotwórczych, zgodny dawca, dawcy alternatywni

Hematologia 2010; 1: 49–58

Abstract

Human leukocyte antigen (HLA) disparity between hematopoietic stem cell (HSC) donor and recipient triggers T-cell and NK-cell allorecognition, and induces the graft-versus-host disease (GvHD), graft-versus-leukemia (GvL) effect and/or may cause an engraftment failure. This review shows the scope of human genomic variation, the methods of HLA typing, principles of the novel HLA nomenclature effective as from 2010 and interpretation of high-resolution HLA results. It describes the main subsets of related and unrelated HSC donors and sum up the

main aspects of HLA disparity and their effect on the outcome of the patients after allogeneic HSC transplantation. The HLA match between HSC donor and recipient is crucial, but for many patients a perfectly matched donor can be unavailable. The HSC transplantation from the alternative mismatched donor with one allele/antigen mismatch (9/10) can be as beneficial as HSC transplantation from fully matched donor (10/10), especially in younger patients. For the remaining patients, the donors with permissive mismatches may be the option. The permissiveness depends not only on the potential adverse effect of the HLA mismatches, but also on the urgency of the transplantation, desirable GvL effect, and potential efficacy of the alternative therapy available for the patient.

Key words: genetic diversity, hematopoietic stem cell transplantation, human leukocyte antigens, sibling donor, unrelated donor, matched donor, alternative donors

Hematologia 2010; 1: 49–58

Wstęp

Różnorodność genetyczna osób zdrowych może być przyczyną różnic antygenowych, które po transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC, *hematopoietic stem cells*) mogą wywoływać takie zjawiska, jak reakcja przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvH, *graft-versus-host*), przeszczep przeciwko białaczce (GvL, *graft-versus-leukemia*) lub odrzucenie przeszczepu. Dwie dowolne osoby, jakimi są dawca i biorca HSC, zawsze się od siebie różnią strukturą genetyczną, swoistością pobocznych antygenów zgodności tkankowej (mHA, *minor histocompatibility antigens*), genów dla receptorów immunoglobulinopodobnych (KIR, *killer cell immunoglobulin-like receptor*), krotnością powtórzeń sekwencji mikrosatelitarnych i minisatelitarnych, polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP, *single nucleotide polymorphism*) oraz swoistością wielu innych grup genów [1]. Za najważniejsze antygeny transplantacyjne uznaje się jednak antygeny leukocytów ludzkich (HLA, *human leukocyte antigen*) kodowane w obrębie genetycznego obszaru głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*). Wyjątkową cechą HLA jest zdolność indukowania odpowiedzi odpornościowej zarówno dzięki prezentacji różnych peptydów receptorom komórek T (TCR, *T-cell receptor*), jak i dzięki rozpoznawaniu przez TCR polimorficznych fragmentów obcych cząsteczek HLA. W przyszłości prawdopodobnie konieczna stanie się dokładniejsza analiza genetyczna pacjenta i dawcy krwiotwórczych komórek macierzystych [2], obecnie jednak standardem jest typowanie HLA w zakresie *loci* A, B, C, DRB1 i DQB1 [3]. Znaczenie doboru pary dawca–biorca w zakresie *locus* DPB1 jest nadal przedmiotem badań, a typowanie HLA-DRB3/4/5 odnosi się raczej do doboru haplo-

typów podregionu DR i również nieco wykracza poza aktualne standardy.

Metody typowania HLA i prezentacji wyników

W doborze pary dawca–biorca HSC stosowane są różne metody typowania HLA, oparte najczęściej na badaniu DNA. Metoda hybrydyzacji ze swoistymi sondami oligonukleotydowymi (SSOPH, *sequence-specific oligonucleotide probe hybridization*) polega na amplifikacji jednego lub kilku długich fragmentów genu HLA odpowiadających eksonom i ich sondowaniu poprzez odwrotną hybrydyzację z szeregiem krótkich sond genetycznych o znanej sekwencji. Metoda amplifikacji za pomocą zestawu swoistych primerów (SSP, *sequence-specific primer*) obejmuje wiele amplifikacji krótkich fragmentów genu HLA przy użyciu wielu par primerów o znanej sekwencji i wykrywaniu produktów amplifikacji w elektroforezie na żelu agarozowym. Sekwencjonowanie (SBT, *sequencing-based typing*) polega na wstępnej amplifikacji jednego lub kilku eksonów z zastosowaniem znakowanych fluorescencyjnie trifosforanów dideoksynukleotydów terminalnych, dodanych do mieszaniny amplifikacyjnej w określonych proporcjach w stosunku do nieznakowanych trifosforanów nukleotydów. Określenie sekwencji nukleotydów zamplifikowanych fragmentów odbywa się na drodze rozwinięcia elektroforetycznego i laserowej analizy sekwencji nukleotydów przy użyciu sekwenatora DNA oraz porównawczej analizy bibliotek znanych alleli HLA. Rzadziej stosowaną obecnie metodą jest elektroforetyczna analiza konformacji po hybrydyzacji z referencyjną nicią DNA (RSCA, *reference strand-based conformation analysis*). Typowanie serologiczne, wykonywane najczęściej za pomocą testu limfocytotoksycznego według

Terasakiego w modyfikacji NIH lub testu fluorescencyjnego, bywa nadal stosowane jako metoda wstępnego lub wspomagającego typowania HLA, pozwalającego ocenić obecność alleli o obniżonej ekspresji lub braku ekspresji (allele *null*), albo zawęzić zakres primerów stosowanych w genotypowaniu potwierdzającym o wysokiej rozdzielczości.

Genotypowanie HLA może dostarczyć informacji na poziomie niskiej, pośredniej lub wysokiej rozdzielczości. Za badanie o niskiej rozdzielczości uznaje się określenie grupy alleli o zbliżonej sekwencji, przedstawiane w zapisie w postaci nazwy *locus*, gwiazdki świadczącej o genetycznym sposobie typowania i dwóch pierwszych cyfr swoistości allelicznej (np. A*01 lub DRB1*15). Badanie o wysokiej rozdzielczości dostarcza jednoznacznej informacji przynajmniej o tej części allelu HLA, która koduje sekwencję aminokwasów w cząsteczce HLA i odpowiada za efekt biologiczny (jednoznaczna identyfikacja antygeny). Zapis wyniku genotypowania o wysokiej rozdzielczości obejmuje przynajmniej cztery pierwsze cyfry po gwiazdce, na przykład A*0101 lub DRB1*1302. Dwie kolejne cyfry w zapisie wyniku genotypowania HLA (np. A*240201 i A*240202) dotyczą tak zwanych substytucji synonimowych (inny triplet nukleotydów koduje ten sam aminokwas), a jeszcze dwie kolejne cyfry — polimorfizmu nukleotydów w intronach, tj. poza obszarem kodowania białka (np. A*01010101 i A*01010102). W związku z wysoką homologią między grupami alleli i diploidalnością ludzkiego genomu wynik badania HLA przeprowadzonego metodą o wysokiej rozdzielczości może być niejednoznaczny i obejmować kilka (czasami wiele) alleli należących do tej samej grupy o niskiej rozdzielczości, na przykład DRB1*0401/03/04/08. Brak jednoznaczności wyniku na tym poziomie jest określane mianem wyniku o pośredniej rozdzielczości. Zapis wyniku o pośredniej rozdzielczości może ulec skróceniu dzięki zastosowaniu tak zwanych kodów NMDP, czyli dwu-, trzy- i czteroliterowych skrótów, których ewidencję prowadzi *National Marrow Donor Program* na ogólnodostępnej stronie internetowej [4]. Na przykład, zapis DRB1*0401/03/04/08 można skrócić, używając kodu DRB1*04EX.

W związku z wykryciem znacznie większego polimorfizmu alleli HLA niż początkowo sądzono, w 2010 roku zmieni się sposób zapisu alleli. Istotnym *novum* nomenklatury alleli HLA, obowiązującym od połowy 2010 roku, będzie zmiana dwucyfrowych ciągów znaczeniowych alleli na trzycyfrowe, oddzielone dwukropkiem, na przykład allele A*0101 i A*02010101 będą zapisywane, odpowiednio, jako A*001:001 i A*002:001:001:001.

Niejednoznaczne wyniki stanowią istotny problem diagnostyczny, między innymi w związku z nieokreślonym znaczeniem praktycznym dodatkowych alleli niewykluczonych w badaniu o pośredniej rozdzielczości. Próbuąc rozwiązać niedogodności związane z wykonywaniem wielu dodatkowych typowań, wymaganych niekiedy przez transplantologów pragnących oprzeć się na jednoznacznych wynikach, przeprowadzono szerokie badania allelicznego poziomu HLA metodami definitywnymi i określono zakres niejednoznaczności, których rozstrzygnięciem był zawsze genotyp zawierający najczęstsze allele. W badaniu Cano i wsp. [5], przeprowadzonym w reprezentatywnej dla populacji ogólnoswiatowej grupie ponad 25 000 osób, zdefiniowano tak zwane powszechne i dobrze udokumentowane allele HLA (CWD, *common and well-documented*). Lista alleli należących do CWD obejmuje, w zależności od *locus*, 26–33% wszystkich odkrytych dotąd alleli HLA (tab. 1). Interpretacja powyższych badań, zaakceptowana przez Amerykańskie Towarzystwo Zgodności Tkankowej i Immunogenetyki (ASHI, *American Society of Histocompatibility and Immunogenetics*), pozwala na zdefiniowanie genotypów HLA (genotyp obejmuje dwa odrębnie kodowane allele w *locus*) na poziomie wysokiej rozdzielczości. Zgodnie z definicją ASHI genotyp o wysokiej rozdzielczości może zawierać wiele alternatywnych genotypów, pod warunkiem że tylko jeden z nich zawiera jeden (u homozygot) lub dwa (u heterozygot) allele CWD, a wszystkie pozostałe alternatywne genotypy zawierają rzadkie allele, nienależące do CWD [5]. Oceniono, że genotyp obejmujący dwa allele CWD jest około 10 000 razy bardziej prawdopodobny niż każdy z alternatywnych genotypów zawierających dwa rzadkie allele. Jeśli alternatywne genotypy zawierają różne allele CWD, to wyniku nie

Tabela 1. Liczba powszechnych i dobrze udokumentowanych alleli HLA (CWD, *common and well documented*), według Cano i wsp. [5]

Table 1. The number of common and well documented (CWD) HLA alleles, according to Cano et al. [5]

Locus HLA	Liczba alleli CWD	Liczba alleli HLA	Odsetek (%)
A	130	489	27
B	245	830	30
C	81	266	31
DRB1	143	463	31
DQB1	26	78	33
DPB1	52	125	42

uznaje się za badanie o wysokiej rozdzielczości, a niejednoznaczności te muszą być w razie potrzeby rozstrzygnięte w bezpośrednim genotypowaniu.

Dodatkowo, zgodnie z definicją ASHI, a także Europejskiej Federacji Immunogenetyki (EFI, *European Federation for Immunogenetics*), wynik o wysokiej rozdzielczości może zawierać kilka alternatywnych alleli, pod warunkiem że substytucje nukleotydów występujące wewnątrz eksonów są zlokalizowane poza istotnym, z punktu widzenia efektu biologicznego, obszarem rozpoznania antygenowego (ARS, *antigen recognition site*), tj. poza eksonami 2 i 3 alleli klasy I i eksonem 2 alleli klasy II. Wydaje się, że łączne kryterium „tylko jednego genotypu zawierającego allele CWD plus możliwość substytucji poza obszarem ARS” stanowi racjonalną podstawę decyzji klinicznych dotyczących zgodności tkankowej między dawcą a biorcą HSC. Istotną korzyścią, wynikającą z przyjęcia powyższej definicji wyniku genotypowania o wysokiej rozdzielczości, może być przyspieszenie doboru pary dawca–biorca, co ma istotne znaczenie kliniczne [6] w związku z zapotrzebowaniem na szybkie doборы dawców HSC dla zwiększającego się odsetka biorców, u których wykryto ostrą białaczkę [7]. Ostateczny wynik typowania HLA powinien zawsze zawierać wszystkie alternatywne allele, których nie wykluczono w bezpośrednim genotypowaniu. Informacja na temat spełniania przez niejednoznaczny wynik kryterium wysokiej rozdzielczości może być umieszczona w uwagach dotyczących interpretacji wyniku genotypowania HLA.

Dawcy HSC

Optymalnym dawcą HSC jest brat lub siostra pacjenta o identycznym genotypie w zakresie *loci* HLA-A, B, C, DRB1 i ewentualnie DQB1. Stopień zgodności takiego dawcy określa się jako zgodność 8/8 lub 10/10 alleli lub całkowitą zgodność. Optymalni dawcy są pożądanymi dla wszystkich potrzebujących pacjentów, lecz ich dostępność w Polsce wynosi 15–30% i zależy między innymi od dzietności polskich rodzin. Celem doboru rodzinnego dawcy konieczne jest badanie rodzinne obejmujące pacjenta, jego rodzeństwo i dostępnych rodziców w zakresie *loci* HLA-A, B, i DRB1 na poziomie niskiej rozdzielczości. U pacjenta i wstępnie zgodnego dawcy należy wykonać typowanie potwierdzające, obejmujące pobranie niezależnej próbki krwi, powtórzenie przynajmniej jednego badanego wcześniej *locus* oraz rozszerzenie typowania o *loci* C i ewentualnie DQB1 na poziomie niskiej rozdzielczości. Celem typowania potwierdzającego jest wykluczenie błędów

administracyjnych i technicznych. Dobór dawcy rodzinnego z ograniczoną liczbą niezgodności, jaki niekiedy jest akceptowany do transplantacji HSC w związku z brakiem optymalnego dawcy, wymaga przeprowadzenia genotypowania HLA na poziomie wysokiej rozdzielczości.

Dla pacjentów nieposiadających rodzinnego dawcy doskonałą opcją może być całkowicie zgodny dawca niespokrewniony, tj. o stopniu zgodności 10/10 alleli. Dawcy tacy są dostępni dla 30–70% pacjentów w zależności od częstości genotypu pacjenta i jego pochodzenia etnicznego, w tym dla około 50% polskich chorych [7]. W doborze niespokrewnionego dawcy HSC konieczne jest genotypowanie na poziomie wysokiej rozdzielczości (4 cyfry po gwiazdce), a wynik musi być potwierdzony w badaniu nowych próbek pacjenta i dawcy.

Dla pacjentów nieposiadających akceptowalnego dawcy rodzinnego i całkowicie zgodnego dawcy niespokrewnionego poszukuje się dawcy alternatywnego, co oznacza najlepszego możliwego dawcę o różnym stopniu niezgodności HLA w stosunku do pacjenta.

Trzy podstawowe grupy alternatywnych dawców to haploidentyczni dawcy rodzeni (5–9/10 zgodnych alleli), częściowo niezgodne (lub w rzadkich przypadkach całkowicie zgodne) jednostki krwi pępowinowej (CBU, *cord blood unit*) od niespokrewnionych dawczyń (3–6/6 alleli zgodnych w zakresie *loci* A, B i DRB1) lub częściowo niezgodni dawcy niespokrewnieni (9/10, 8/10 lub 7/10). Do transplantacji HSC powinni być akceptowani jedynie dawcy z tak zwanymi permissywnymi, tj. mało szkodliwymi, niezgodnościami, ale określenie permissywności jest przedmiotem stałej dyskusji. Negatywny wpływ niezgodności HLA na wynik transplantacji HSC może zależeć od liczby niezgodnych alleli, niezgodnego *locus* i poziomu rozdzielczości (poziom antygenowy lub alleliczny). Przebieg potransplantacyjny może być również zaburzony zależnie od położenia substytucji aminokwasów w obrębie ARS lub poza nim. Struktury ARS bezpośrednio wiążą peptyd i TCR. Te biologicznie istotne struktury obejmują w cząsteczkach HLA klasy I domeny α_1 i α_2 (kodowane w eksonach 2 i 3 genu łańcucha ciężkiego cząsteczki klasy I), a w cząsteczkach klasy II — domeny β_2 (kodowane w eksonie 2 genu łańcucha β cząsteczki klasy II). Przypuszcza się, że istotna klinicznie może być również liczba substytucji aminokwasów, a nawet położenie pojedynczej substytucji w cząsteczce HLA. Ligacja KIR między dawcą a biorcą HSC polega na swoistym grupowo wiązaniu się cząsteczek HLA klasy I z odpowiednimi receptorami KIR. Poziom niezgodności ligacji

KIR-HLA, która oprócz grupowej swoistości charakteryzuje się również zróżnicowanym powinowactwem, może również wpływać na przebieg potransplantacyjny. Analiza dotychczasowych danych wskazuje, że także zgodność haplotypowa może mieć istotne znaczenie dla przebiegu po transplantacji HSC, biorąc pod uwagę istnienie regulacji tych szerokich struktur genetycznych na poziomie transkrypcyjnym w postaci efektu domen chromosomowych [8]. Wszystkie powyższe typy niezgodności HLA między dawcą a biorcą HSC opisywano jako czynniki ryzyka dla wyniku transplantacji, a ich wystąpienie należy porównać z ryzykiem zastosowania alternatywnych w stosunku do transplantacji metod leczenia dostępnych dla pacjenta. Uznawany za korzystny dla chorych na nowotwory efekt GvL zależy również w znacznym stopniu od zakresu niezgodności HLA [9]. Efekt ten jest stosunkowo łatwy do wykazania, ale jego podstaw nie wyjaśniono w pełni i nadal znaczną trudność sprawia precyzyjna kontrola równowagi między nasileniem GvL a niekorzystną ciężką chorobą GvH. Badanie oddziaływania klinicznego niezgodności HLA jest dodatkowo utrudnione przez szeroki zakres i różnorodność oddziaływań oraz wybitny polimorfizm genów tego układu, co utrudnia gromadzenie danych klinicznych pochodzących od wystarczająco licznych i jednolitych grup pacjentów.

Wpływ niezgodności HLA na przebieg transplantacji HSC

Wyniki transplantacji HSC od całkowicie zgodnych rodzinnych dawców (MRD, *matched related donor*), głównie od rodzeństwa, są wyraźnie lepsze od wyników transplantacji od częściowo niezgodnego rodzeństwa (*non-MRD*) i niespokrewnionych dawców (UD, *unrelated donor*) [10–13]. U biorców HSC pochodzących od MRD ryzyko infekcji [10, 11], reaktywacji cytomegalowirusa (CMV, *cytomegalovirus*) [12] i śmierci zależnej od transplantacji (TRM, *transplantation-related mortality*) [13] jest znacznie niższe niż w drugiej porównywanej grupie (szczegóły dotyczące omawianych niezgodności HLA oraz istotność statystyczną przedstawiono w tab. 2). Odtworzenie odporności zależnej od limfocytów T było znacznie opóźnione w grupie *non-MRD* + UD [14]. Całkowite przeżycie (OS, *overall survival*) pacjentów po transplantacji HSC wydłużyło się istotnie po 1998 roku, gdy zarzucono lub ograniczono mało dokładne metody PCR-fingerprintingu i serologiczne, a w ostatecznym doborze pary dawca–biorca metody genetyczne o niskiej rozdzielczości coraz częściej zaczęto uzupełniać metodami

o wysokiej rozdzielczości [15]. Należy jednak uwzględnić fakt, że mniej więcej w tym samym czasie znacznie ulepszono zarówno procedury transplantacyjne, jak i procedury wykrywania i leczenia potransplantacyjnej wznowy choroby podstawowej i GvH, co z pewnością również wpłynęło korzystnie na przeżycie pacjentów po transplantacji HSC [16].

Przeprowadzone w ostatnim czasie porównania wskaźników OS, przeżycia wolnego od choroby (DFS, *disease free survival*), TRM, ryzyka wznowy i ostrej choroby GvH wysokiego stopnia po transplantacji HSC od dokładnie zbadanych i w pełni zgodnych niespokrewnionych dawców wykazały zbliżone poziomy tych wskaźników do występujących w przypadku transplantacji od klasycznych zgodnych dawców rodzinnych [17]. Podobieństwa te wskazują, że skuteczność lecznicza transplantacji HSC od całkowicie zgodnych UD i od MRD jest zbliżona [17], a w przypadku starszych pacjentów, których rodzeństwo jest również z reguły w starszym wieku, dawca niespokrewniony może się okazać lepszy [18]. Przedstawione wyżej spostrzeżenia tylko pośrednio wskazywały na istotną rolę niezgodności HLA w gorszym przebiegu potransplantacyjnym.

W bezpośrednich badaniach wpływu liczby niezgodnych między dawcą a biorcą alleli HLA wykazano jej wybitne znaczenie w transplantacjach HSC od UD. W wielośrodkowych badaniach przeprowadzonych w ramach 13. Międzynarodowych Warsztatów i Konferencji Zgodności Tkankowej (13th *International Histocompatibility Workshop and Conference* [IHWC]) w ogromnej (n = 2399) grupie par dawca–biorca jednoznacznie potwierdzono tę zależność. Pojedyncza niezgodność dawcy na poziomie allelu lub antygeny (9/10) powodowała istotne skrócenie OS u pacjentów po transplantacji HSC z mieloablacyjnym przygotowaniem w stosunku do chorych, którzy otrzymali przeszczep z podobnym przygotowaniem od dawcy w pełni zgodnego (10/10) [19]. Po podobnej transplantacji od dawców z dwoma i więcej niż dwoma niezgodnymi allelami/antygenami OS ulegało dalszemu skróceniu w odpowiednich grupach pacjentów [19]. Interesujący jest fakt, że wzbogacenie standardowej immunosupresji biorców przeszczepu z pojedynczym niezgodnym allelem/antygenem w zakresie A, B, DRB1 lub DQB1 (zgodność 7/8) przez podanie globuliny antytymocytarnej (ATG, *anti-thymocyte globulin*) prowadziło do występowania ostrej choroby GvH z podobną częstością, jak u biorców zgodnego przeszczepu (8/8) [20]. W wyniku immunosupresji o podobnym zakresie u dzieci z ostrymi białaczkami, które otrzymały przeszczep od UD o stopniu zgodności 7/10 lub 8/10, uzyskano zadowalający

Tabela 2. Rola niezgodności antygenów leukocytów ludzkich (HLA, *human leukocyte antigen*) w transplantacjach komórek krwiotwórczych**Table 2.** The significance of HLA disparity in hematopoietic stem cells transplantation

HLA	Rola	Istotność	n	Písm.
Pacjenci z rzadkimi v. częstymi allelami lub haplotypami HLA	3-letnie przeżycie po HSCT 10/10 od UD	53% v. 74%; p = 0,01	350	[6]
Non-MRD lub UD v. MRD	Zakażenia. Niezależny czynnik ryzyka śmierci z powodu późnej infekcji (zapalenie płuc, sepsa, zakażenie OUN, rozsiana ospa wietrzna)	RR = 3,86; p = 0,004	688	[10]
Stopień zgodności HLA był niezależnym czynnikiem ryzyka	Zakażenia. Częste zakażenia krwi (ziarniaki G+, pałeczki G-, grzyby)	HR 1,84; 95% CI 1,00–3,37; p = 0,05	136	[11]
Non-MRD lub MRD z ostrą GvHD v. MRD	Reaktywacja CMV	Skumulowana częstość 73% v. 15%	269	[12]
Dawcy inni niż autologiczni lub MRD	Predykcyjny czynnik śmiertelności w grupie dzieci z VOD	HR = 23,6; p = 0,006	138	[13]
Non-MRD i MUD v. MRD	Stan odporności T-komórkowej przeciwko adenowirusom u dzieci	Opóźniona rekonstrukcja po HSCT od non-MRD i MUD	22	[14]
Lepszy dobór UD po 1998 r. (dane hr niedostępne)	5-letnie przeżycie w grupie z SAA	32 ± 8% przed do 57 ± 8% po 1998 r.; p < 0,0001	498	[15]
HSCT po 1990 r., rodzeństwo identyczne w zakresie HLA	TRM. Lepsze procedury transplantacyjne i skuteczniejsze leczenie zagrażającej wznowy po HSCT	30% przed i 7% po 1990 r.; p < 0,001	170	[16]
Zgodni w zakresie alleli HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 UD v. MRD	2-letnie wskaźniki: OS, EFS, TRM, wznowa, ostra GvHD stopnia III-IV	NS	236	[17]
1 MM (allel lub antygen)	OS (analiza wieloczynnikowa)	HR = 1,38; p < 0,0001	705	[19]
2 MM (allele i/lub antygeny)		HR = 1,50; p < 0,0001	368	
> 2 MM (allele i/lub antygeny)		HR = 1,94; p < 0,0001	246	
Locus A (tylko pojedyncza MM)	OS (analiza wieloczynnikowa)	HR = 1,08; p = 0,61	99	[19]
Locus B (tylko pojedyncza MM)		HR = 1,52; p = 0,02	57	
Locus C (tylko pojedyncza MM)		HR = 1,52; p < 0,0001	257	
DRB1 (tylko pojedyncza MM)		HR = 1,72; p = 0,02	29	
DQB1 (tylko pojedyncza MM)		HR = 1,36; p = 0,08	65	
7–8/10 MM UD u dzieci po supresji ATG, CsA, MTX	EFS (<i>plateau</i>) OS (<i>plateau</i>)	60,3% (95% CI 35,5–78,1) 74,9% (95% CI 49,1–88,9)	24	[21]
Tylko pojedyncze MM na poziomie allelu lub antygeny	Ryzyko przewlekłej GvHD w ciągu 3 lat (trend od MUD poprzez MM 1 allelu do MM 1 antygeny)	p = 0,015	144	[28]

cd. →

Tabela 2. cd. Rola niezgodności antygenów leukocytów ludzkich (HLA, *human leukocyte antigen*) w transplantacjach komórek krwiotwórczych

Table 2. cont. The significance of HLA disparity in hematopoietic stem cells transplantation

HLA	Rola	Istotność	n	Piśm.
MM allelu (wysoka rozdzielczość) A, B lub DRB1 w przeszczepianej CBU (inaczej niż dla MM antygeny [MM o niskiej rozdzielczości])	Brak wpływu na wskaźnik wszczepienia, odrzucenia, ostrą GvHD, TRM i długotrwałe (6-letnie) OS	NS	65	[29]
Znaczna niezgodność MHC klasy I (> 5α5β) z negatywną częstością CTLp jest lepiej tolerowana niż mniejsza niezgodność	4-letnie przeżycie	80% v. 47%; HR = 0,131; 95% CI = 0,03–0,61; p = 0,009	53	[30]
Niezgodność ligandów KIR + ATG i CsA v. zgodność	4,5-letnie OS 4,5-letnie DFS 4,5-letnia TRM	87% v. 48%; p = 0,006 87% v. 39%; p = 0,0007 6% v. 40%, p = 0,01	130	[36]
Alloreaktywność z komórek NK v. z komórek T (po HSCT u dzieci niezgodnych w zakresie HLA)	OS niezgodnych w zakresie NK — brak poprawy w stosunku do MM HLA-A Wyższe ryzyko ostrej GvHD Wyższe ryzyko przewlekłej GvHD	HR = 1,03; p = 0,95 HR = 2,74; p = 0,03 HR = 7,1; p = 0,026	105	[37]
	Wyższe ryzyko śmierci	HR = 2,2; p = 0,039		

n (number of donor/recipient pairs involved) — liczba par dawca–biorca objętych badaniem; Piśm. — pozycja piśmiennictwa; HSCT (*hematopoietic stem cell transplantation*) — transplantacja komórek krwiotwórczych; UD (*unrelated donor*) — niespokrewniony dawca; non-MRD — częściowo niezgodny dawca rodzinny; MRD (*matched related donor*) — zgodny dawca rodzinny; RR (*relative risk*) — względne ryzyko; OUN — ośrodkowy układ nerwowy; HR (*hazard ratio*) — proporcja ryzyka; CI (*confidence interval*) — przedział ufności; GvHD (*graft-versus-host disease*) — choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi; CMV (*cytomegalovirus*) — wirus cytomegalii; VOD (*veno-occlusive disease*) — zakrzepica żył wątrobowych; MUD (*matched unrelated donor*) — zgodny dawca niespokrewniony; hr (*high-resolution*) — wysoka rozdzielczość; SAA (*severe aplastic anemia*) — ciężka anemia aplastyczna; TRM (*transplantation-related mortality*) — śmiertelność związana z przeszczepieniem; OS (*overall survival*) — całkowite przeżycie; EFS (*event-free survival*) — przeżycie wolne od progresji choroby; NS (*not significant*) — brak istotności statystycznej różnicy; MM (*mismatch*) — niezgodność; ATG (*anti-thymocyte globulin*) — globulina antytmocytna; CsA (*cyclosporine A*) — cyklosporyna A; MTX (*methotrexate*) — metotreksat; CBU (*cord blood unit*) — jednostka krwi pępowinowej; MHC (*major histocompatibility complex*) — główny kompleks zgodności tkankowej; > 5α5β — powyżej 5 substytucji aminokwasowych w obrębie struktur α i β cząsteczki HLA; CTLp (*cytotoxic T lymphocyte precursors*) — prekursorzy cytotoksycznych limfocytów T; NK (*natural killers*) — komórki naturalnej cytotoksyczności

poziom DFS i OS [21]. Wieloczynnikowa analiza danych 13th IHWC pod kątem ważności każdego z badanych *loci* wykazała niezależny szkodliwy wpływ pojedynczej niezgodności antygeny/allelu *locus* C, B i DRB1, przynajmniej w parach dawca–biorca pochodzenia europejskiego [19]. W przeciwieństwie do nich w wieloczynnikowej analizie par dawca–biorca pochodzących z Japonii nie potwierdzono niezależnego szkodliwego wpływu pojedynczej niezgodności antygeny/allelu w *locus* C, wpływ ten potwierdzono natomiast dla *loci* A, B i DRB1 [19]. Interpretacja tej etnicznej różnicy nie jest prosta. Dane dotyczące par japońskich były, co prawda, mniej liczne, ponieważ stanowiły około 10% badanych, ale ich wiarygodność wydaje się wysoka. W uściślonej analizie wpływu niezgodności alleli należących do grupy HLA-A2, przeprowadzonej w ramach kolejnych, 14. Międzynarodowych Warsztatów i Konferencji Zgodności Tkankowej (14th

IHWC), wykazano, że tylko niezgodność A*0201/A*0206 (typowa dla populacji japońskiej) istotnie zwiększa ryzyko śmierci biorcy [22]. Wszystkie pozostałe rodzaje niezgodności alleli w obrębie grupy A2 nie wpływały istotnie na przeżycie biorcy, łącznie z niezgodnością A*0201/A*0205 — najczęstszą w parach europejskich. Jednocześnie analiza niezgodnych alleli o różnej swoistości dowiodła, że tworzą one ograniczoną liczebnie grupę alleli o niskiej częstości genowej [23]. Dodatkowo, silna nierównowaga sprzężeń, występująca w całej rozciągłości genetycznego obszaru MHC [24, 25], sugeruje możliwość występowania niezgodności dłuższej części haplotypu między biorcą HSC a dawcą, u którego wykryto pojedynczą niezgodność HLA. Haplotypy charakteryzują się większą swoistością dla grup etnicznych niż allele [26]. Łączna analiza powyższych faktów sugeruje, że obserwowane etniczne różnice wpływu niezgodnych alleli

mogą mieć podłoże haplotypowe, a analiza potransplantacyjnego przebiegu pod kątem zgodności haplotypów mogłaby rzucić nowe światło na mechanizm oddziaływania niezgodności HLA w transplantacjach HSC [27].

Alleliczny i antygenowy poziom niezgodności różnorodnie oddziałuje na przebieg transplantacji [28–30]. W pracy Greinix i wsp. [28] niezgodność pojedynczego allelu klasy I nie wpływała istotnie na OS. Analiza sekwencji aminokwasów wykazała, że niezgodność na poziomie allelicznym obejmuje najczęściej substytucję jednego lub kilku aminokwasów, a niezgodność na poziomie antygenowym obejmuje najczęściej substytucję powyżej 10, a niekiedy znacznie większej liczby aminokwasów w cząsteczce HLA. Niezgodność antygenowa na poziomie molekularnym reprezentuje zatem łatwo rozpoznawalną różnicę dla immunokompetentnych limfocytów T i w ten sposób może silnie stymulować odpowiedź odpornościową [28]. Niezgodność na poziomie allelicznym obejmuje znacznie mniejsze różnice strukturalne i teoretycznie powinna wzbudzać słabszą stymulację odpornościową. Zgodnie z tą teorią nie wykazano szkodliwego wpływu niezgodności na poziomie allelu na przebieg transplantacji CBU u dzieci i młodzieży [29]. Diametralnie odmiennie obserwacje poczyniono w pracy Heemskerk i wsp. [30], którzy wykazali, że przeszczepy od dawców ze znaczną niezgodnością HLA, obejmującą substytucję powyżej 5 aminokwasów w każdej ze struktur α i β cząsteczki HLA klasy I wraz z negatywnym wynikiem badania częstości prekursorów cytotoksycznych limfocytów T (CTLp, *cytotoxic T lymphocyte precursors*), są lepiej tolerowane niż przeszczepy z niezgodnością o mniejszej liczbie substytucji. Może to sugerować, że cząsteczki HLA o wybitnie zmienionej strukturze ARS nie mogą zostać rozpoznane i nie biorą udziału w generowaniu reakcji immunokompetentnych limfocytów T przeciwko przeszczepowi. Jednoznaczne potwierdzenie kliniczne tych obserwacji będzie istotnie wpływać na sposób selekcji dawców do transplantacji HSC. Podobne rozbieżności obserwowano podczas próby oceny wpływu liczby substytucji aminokwasowych w niezgodnej cząsteczce HLA dawcy na przebieg potransplantacyjny. Liniowy wzrost liczby substytucji znamienne korelował z niekorzystnym przebiegiem [31] lub, w innych badaniach, nie miał wpływu na przebieg po transplantacji HSC [28].

W badaniach Ferrary i wsp. [31] wykazano istotne znaczenie lokalizacji substytucji aminokwasu w określonej pozycji w obrębie cząsteczki HLA. Szczególnie silny negatywny wpływ na przeżycie pacjentów po transplantacji HSC zaobserwowano

dla substytucji aminokwasu w pozycji 116 cząsteczki HLA klasy I [31]. Dalsze szczegółowe badania pozwoliły na potwierdzenie, że tylko kierunkowa substytucja asparaginy przez kwas asparaginowy lub leucyny przez serynę, odpowiednio w cząsteczkach *locus* A lub C, niekorzystnie wpływała na przeżycie biorców HSC w populacji japońskiej [32]. Wymienione substytucje obserwowano z wysoką częstością u pacjentów japońskich [32], ale autor niniejszej pracy wykazał w swoich badaniach, że były one całkowicie nieobecne w populacji europejskiej [33]. Całościowa ocena przedstawionych wyżej rozbieżnych, a być może zależnych od pochodzenia etnicznego pacjentów, danych dotyczących znaczenia niezgodności HLA na poziomie molekularnym, ukazała gwałtowną potrzebę poszukiwania innych, bardziej ogólnych mechanizmów wpływu niezgodności HLA, uwzględniających opisane rozbieżności.

Jak wspomniano, cząsteczki HLA klasy I są ligandami receptorów KIR, występujących na komórkach NK. Ligacja HLA-KIR jest czynnikiem stymulującym lub hamującym zdolność komórek NK do cytolizy obcych komórek, w tym komórek nowotworowych i allogenicznych, w zależności od typu pobudzanego receptora KIR i powinowactwa ligacji [34]. W pracy Giebela i wsp. [35] wykazano istotnie dłuższe przeżycie pacjentów z niezgodnością HLA polegającą na zdolności wiązania przez jego cząsteczki HLA odmiennych grup KIR niż występujące u niespokrewnionego dawcy (niezgodność ligandów KIR) w stosunku do pacjentów, którzy mieli dawcę zgodnego w zakresie ligandów KIR. Inni badacze nie potwierdzili jednak tej prawidłowości [36]. Rozbieżność ta mogła być spowodowana innym rodzajem immunosupresji, jakiej poddawano badanych w obu grupach oraz spodziewanymi silnymi reakcjami odpornościowymi wzbudzanymi jednocześnie przez niezgodność HLA na zasadzie rozpoznania T-komórkowego, które prawdopodobnie dominuje nad rozpoznaniem typu KIR i może niwelować korzystny efekt tej niezgodności [37]. Współistnienie niezgodności obu typów na tej samej cząsteczce HLA utrudnia jednoznaczne wykazanie korzystnego wpływu jednej z nich, jak również komplikuje, a bardzo często uniemożliwia selekcję niespokrewnionego dawcy o wybiórczej niezgodności ligandów KIR.

Niekorzystny wpływ niezgodności HLA był znacznie silniej wyrażony u pacjentów, u których wykonano przeszczepienie w optymalnej fazie choroby niż u pacjentów z grupy podwyższonego ryzyka lub takich, u których wykonano transplantację w późniejszej fazie choroby [38]. W przypadku braku optymalnego dawcy (10/10) coraz więcej danych

przemawia za dążeniem do przyspieszonej akceptacji dawcy częściowo niezgodnego lub haploidentycznego, w przypadku której perspektywy są lepsze niż w przypadku przedłużania doboru dawcy poza optymalną fazę choroby [6].

Wnioski

Dobranie w pełni zgodnego w zakresie HLA dawcy jest podstawowym wymogiem skutecznej i względnie bezpiecznej transplantacji HSC, lecz dla znacznej części potrzebujących chorych optymalny dawca nie jest dostępny. Wykonanie transplantacji HSC od dawcy z niezgodnością pojedynczego allelu/antygeny (9/10) może dać podobnie korzystny wynik, jak transplantacja od optymalnego dawcy, zwłaszcza u młodszych pacjentów. Dla pozostałych pacjentów dobrą opcją może być transplantacja HSC od dawcy z permisywnymi niezgodnościami HLA. Permisywność niezgodności zależy nie tylko od potencjalnie szkodliwego wpływu niezgodnego antygeny, ale także od pilności zabiegu transplantacji, potencjalnych korzyści z wystąpienia efektu GvL oraz przewidywanej skuteczności dostępnej terapii alternatywnej.

Piśmiennictwo

- Mullally A., Ritz J. Beyond HLA: the significance of genomic variation for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109: 1355–1362.
- Bogunia-Kubik K., Kościńska K., Polak M., Lange A. MHC class III typing in donor selection for allogeneic haematopoietic stem cell transplants. W: Lange A. (red.). *Standardization of donor-recipient matching in transplantation*. Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, New York 2006: 141–156.
- Lange A. Immunogenetics in haematology and stem cell transplantation. *Int. J. Immunogenet.* 2008; 35: 361.
- http://bioinformatics.nmdp.org/HLA/Allele_Codes/DNA_Type_Lookup/dnatyp.pl?dna=
- Cano P., Klitz W., Mack S.J. i wsp. Common and well-documented HLA alleles. Report of the Ad-Hoc Committee of the American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. *Hum. Immunol.* 2007; 68: 392–417.
- Tiercy J.M., Nicoloso G., Passweg J. i wsp. The probability of identifying a 10/10 HLA allele-matched unrelated donor is highly predictable. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 515–522.
- Nowak J., Graczyk-Pol E., Mika-Witkowska R., Zajko M., Rogatko-Koroś M., Sak-Budzisz J. Skuteczność poszukiwania przez Ośrodek Instytutu Hematologii i Transfuzjologii niespokrewnionych dawców komórek krwiotwórczych w krajowych i zagranicznych rejestrach w latach 2001–2006 dla pacjentów z ostrymi i przewlekłymi białaczkami. *Postępy Nauk. Med.* 2007; 20: 298–303.
- Cohen B.A., Mitra R.D., Hughes J.D., Church G.M. A computational analysis of whole-genome expression data reveals chromosomal domains of gene expression. *Nat. Genet.* 2000; 26: 183–186.
- Godder K.T., Henslee-Downey P.J., Mehta J. i wsp. Long-term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased $\gamma\delta$ T-cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 751–757.
- Bjorklund A., Aschan J., Labopin M. i wsp. Risk factors for fatal infectious complications developing late after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 1055–1062.
- Poutsiaka D.D., Price L.L., Ucuzian A., Chan G.W., Miller K.B., Snyderman D.R. Blood stream infection after hematopoietic stem cell transplantation is associated with increased mortality. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 63–70.
- Özdemir E., Saliba R.M., Champlin R.E. i wsp. Risk factors associated with late cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 125–136.
- Cheuk D.K.L., Wang P., Lee T.L. i wsp. Risk factors and mortality predictors of hepatic veno-occlusive disease after pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 935–944.
- Myers G.D., Bollard C.M., Wu M.-F. i wsp. Reconstitution of adenovirus-specific cell-mediated immunity in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 677–686.
- Viollier R., Socié G., Tichelli A. i wsp. Recent improvement in outcome of unrelated donor transplantation for aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41: 45–50.
- Vicente D., Lamparelli T., Gualandi F. i wsp. Improved outcome in young adults with de novo acute myeloid leukemia in first remission, undergoing an allogeneic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 349–354.
- Yakoub-Agha I., Mesnil F., Kuentz M. i wsp. Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy: A prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 5695–5702.
- Ottinger H.D., Beelen D.W., Peceny R., Elmaagacli A.H., Grosse-Wilde H. Change of paradigm in donor selection for hematopoietic stem cell transplantation for patients above 40 years with early stage leukaemia in HLA-identical siblings are no longer first choice. *Bone Marrow Transpl.* 2004; 33 (supl. 1): S68 [abstrakt O376].
- Petersdorf E.W., Gooley T., Malkki M., Horowitz M. Impact of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. W: Hansen J.A. (red.). *Immunobiology of the human MHC (Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference)*. IHWG Press, Seattle 2009.
- Finke J., Schmoor C., Lang H., Potthoff K., Bertz H. Matched and mismatched allogeneic stem-cell transplantation from unrelated donors using combined graft-versus-host disease prophylaxis including rabbit anti-T lymphocyte globulin. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 506–513.
- Sedlacek P., Formankova R., Mejstrikova E. i wsp. Allogeneic stem cell transplantation in children with leukemia using human leukocyte antigen-mismatched unrelated donors. *Pediatr. Transplant.* 2008; 12: 24–31.
- Morishima Y., Kawase T., Malkki M., Petersdorf E.W. Effect of HLA-A2 allele disparity on clinical outcome in hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Tissue Antigens* 2007; 69 (supl. 1): 31–35.

23. Hurley C.K., Fernandez-Vina M., Hildebrand W.H. i wsp. A high-degree of HLA disparity arises from limited allelic diversity: analysis of 1775 unrelated bone marrow transplant donor-recipient pairs. *Hum. Immunol.* 2007; 68: 30–40.
24. Lange A. Genetic factors predicting IFN-gamma generation potential in patients with sarcoidosis and after haematopoietic stem cell transplantation. *Int. J. Immunogenet.* 2008; 35: 385–388.
25. Nowak J., Kalinka-Warzocha E., Juszczyński P. i wsp. Haplotype-specific pattern of association of human MHC with non-Hodgkin's lymphoma outcome. *Tissue Antigens* 2008; 71: 16–26.
26. Middleton D., Menchaca L., Rood H., Komerofsky R. New allele frequency database: www.allelefrequencies.net. *Tissue Antigens* 2003; 61: 403–407.
27. Nowak J., Warzocha K. „Numbers” or haplotypes: what we really search for in unrelated donors. W: Lange A. (red.). *Standardization of donor-recipient matching in transplantation*. Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, New York 2006: 129–134.
28. Greinix H.T., Fae I., Schneider B. i wsp. Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 57–62.
29. Liao C., Wu J.Y., Xu Z.P. i wsp. Indiscernible benefit of high-resolution HLA typing in improving long-term clinical outcome of unrelated umbilical cord blood transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 201–208.
30. Heemskerk M.B.A., Cornelissen J.J., Roelen D.L. i wsp. Highly diverged MHC class I mismatches are acceptable for haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 193–200.
31. Ferrara G.B., Bacigalupo A., Lamparelli T. i wsp. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leukocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 2001; 98: 3150–3155.
32. Kawase T., Morishima Y., Matsuo K. i wsp. High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 2007; 110: 2235–2241.
33. Nowak J., Rogatko-Koroś M., Zajko M., Mika-Witkowska R., Graczyk-Pol E., Sak-Budzisz J. Wpływ substytucji aminokwasu w pozycji 116 cząsteczki MHC klasy I na wynik transplantacji komórek krwiotwórczych — krytyczna analiza. *Acta Haematol. Pol.* 2007; 38 (supl. 2): 84–85.
34. Cook M.A., Milligan D.W., Fegan C.D. i wsp. The impact of donor KIR and patient HLA-C genotypes on outcome following HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for myeloid leukemia. *Blood* 2004; 103: 1521–1526.
35. Giebel S., Locatelli F.W., Lamparelli T. i wsp. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood* 2003; 102: 814–819.
36. Bornhäuser M., Schwerdtfeger R., Martin H., Frank C., Theuser C., Ehninger G. Role of KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation using unrelated donors. *Blood* 2004; 103: 2860–2861.
37. Lowe E.J., Turner V., Handgretinger R. i wsp. T-cell alloreactivity dominates natural killer cell alloreactivity in minimally T-cell-depleted HLA-non-identical paediatric bone marrow transplantation. *Br. J. Haematol.* 2003; 123: 323–326.
38. Petersdorf E.W., Gooley T., Horowitz M. Clinical significance of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Tissue Antigens* 2007; 69 (supl. 1): 25–30.