

บทความพิเศษ

บทบาทของ Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor ในการปล่อยเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

ดวงตะวัน ธรรมานิชานนท์

ห้องปฏิบัติการตรวจเนื้อเยื่อ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

Natural Killer (NK) cell เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง มีอยู่ประมาณร้อยละ 5-15 ของปริมาณเม็ดเลือดขาวในเลือด (peripheral blood lymphocyte) ในผู้ใหญ่ปกติ¹ นอกจากนี้ยังพบ NK cell ได้ในตับ รก และ peritoneum²

NK cell ถูกค้นพบเมื่อประมาณ 40 ปีก่อน (ในปี ค.ศ. 1972)³ เดิม NK cell มีชื่อว่า null lymphocyte เนื่องจากเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ไม่มีแอนติเจนจำเพาะที่พบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆ ได้แก่ ไม่มี CD19 (marker ของ B cell) ไม่มี CD3 (marker ของ T cell) ไม่มี CD14 (marker ของ monocyte) แต่ NK cell มี marker พิเศษที่จำเพาะคือ CD56⁴ ส่วนใหญ่การศึกษา NK cell จะให้นิยามของ NK cell ทาง phenotype ว่าเป็นเซลล์ที่มี CD56⁺CD3⁻CD19⁻CD14⁻

ต่อมาในปี ค.ศ. 1975 เซลล์นี้ได้รับการตั้งชื่อใหม่โดย Kiessling⁵ (จาก Karolinska Institute ประเทศสวีเดน) และ Herberman⁶ (จาก National Cancer Institute ประเทศสหรัฐอเมริกา) ว่า 'Natural Killer (NK) cell' เหตุผลที่ได้รับการตั้งชื่อเช่นนี้ เนื่องจาก NK cell มีความสามารถในการเป็น 'นักฆ่าโดยธรรมชาติ' (natural killer) จากการศึกษาในหนูทดลองพบว่า เซลล์นี้สามารถทำลายเซลล์มะเร็ง (cancer cell) และเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส (viral infected cell) ได้ทันที โดยไม่จำเป็นต้องผ่านการกระตุ้นจากแอนติเจนนั้นๆ มาก่อน (without prior sensitization) ความสามารถพิเศษแบบนี้ของ NK cell ต่างจากความสามารถในการทำลายเซลล์แปลกปลอมของ cytotoxic T cell ซึ่งจะทำหน้าที่ effector function เพื่อทำลายเซลล์แปลกปลอมได้นั้น ต้องผ่านการกระตุ้นจากแอนติเจนมาก่อน

ในการที่ NK cell จะทำลายเซลล์เป้าหมาย (target cell) เช่น เซลล์มะเร็ง หรือ เซลล์ติดเชื้อไวรัสได้นั้น ต้องมีการจับระหว่าง NK cell และเซลล์เป้าหมายก่อน (recognition of appropriate target) ซึ่งขั้นตอนนี้ NK cell จะใช้ receptor ที่อยู่บนผิวเซลล์ จับกับ ligand บนเซลล์เป้าหมาย หลังจากมีการจับระหว่าง NK

cell receptor และ ligand แล้ว จะมีการส่งสัญญาณเข้าไปภายในเซลล์เพื่อควบคุมการทำงานของ NK cell เนื่องจาก NK cell receptor สามารถส่งสัญญาณได้ 2 ลักษณะคือ สัญญาณกระตุ้น (activating signal) และสัญญาณยับยั้ง (inhibitory signal) ขึ้นกับชนิดของ NK receptor ว่าเป็นชนิดใด หากเป็น activating receptor จะส่งสัญญาณกระตุ้น (activating signal)⁷ หากเป็น inhibitory receptor จะส่งสัญญาณยับยั้ง (inhibitory signal)⁸ ผลรวมของสัญญาณจาก NK cell receptor จะส่งต่อการควบคุมการทำหน้าที่ทำลายเซลล์เป้าหมาย (cytotoxic activity) ของ NK cell⁹ นอกจากการทำลายเซลล์แล้ว ผลของการกระตุ้นยังทำให้กลุ่มย่อยของ NK cell บางกลุ่มสามารถหลั่ง cytokine บางชนิดด้วย นอกจากนี้ NK cell สามารถถูกกระตุ้นผ่านการจับระหว่าง CD16 ซึ่งอยู่บนผิวเซลล์ของ NK cell กับ Fc portion ของ Immunoglobulin (Ig) G ซึ่งอยู่บน opsonized cell ทำให้เกิดกระบวนการ antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)⁴

Receptor บน NK cell มีอยู่มากมายหลายชนิด Figure 1 แสดงตัวอย่างบางส่วน of NK cell receptor และ ligand กลุ่ม receptor กลุ่มใหญ่ใน NK cell receptor และมีบทบาทสำคัญในการควบคุมหน้าที่ของ NK cell คือ Killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIR)¹⁰ นอกจากนี้ KIR ยังเป็นกลุ่ม receptor ที่มีความหลากหลายสูง (polymorphism) อีกด้วย ในบทความพิเศษนี้จะแบ่งเนื้อหาออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ ส่วนแรกจะกล่าวถึงความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) และส่วนที่สองจะกล่าวถึงบทบาทของ KIR ในการปล่อยเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

1. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR)

1.1 KIR

KIR เป็น glycoprotein มีการแสดงออกอยู่บนผิวเซลล์

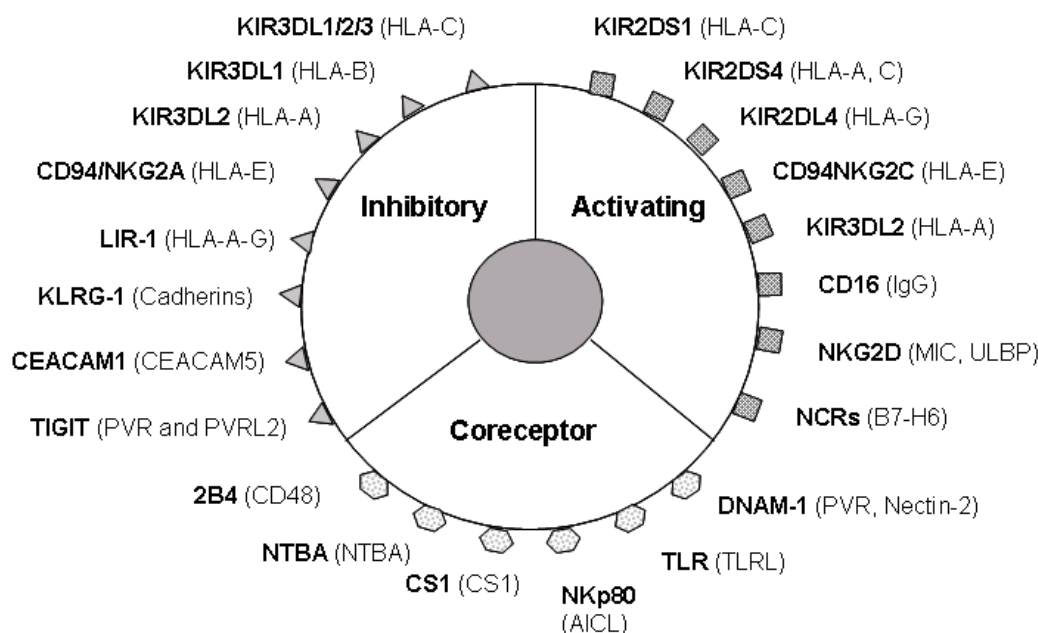


Figure 1 Examples of NK cell receptors and their ligands. Receptors are broadly classified based on their primary function (inhibitory receptors, activating receptors, and activating co-receptors). The known ligands are shown in parenthesis. Other families of receptors are not shown, including cytokine receptors (for IFN- α and IL-1, -2, -12, -15, -18 and -21), chemotactic receptors (CCR-2, -5, -7; CXCR-1, -3, -4, -6; CX3CR1; and Chem23R), adhesion receptors (CD2 and b1 and b2 integrins), and inhibitory co-receptors (CD300A, LAIR-1 and Siglec7). Figure was adapted from Leung W. Use of NK cell activity in cure by transplant: *Br J Haematol* 2011;155:14-29¹⁹.

ของ NK cell และ subset ของ T cell¹¹⁻¹² KIR ถูกจัดอยู่ใน immunoglobulin superfamily ยีนของ KIR อยู่ในบริเวณที่เรียกว่า leukocyte receptor cluster (LRC)¹³ บนโครโมโซมคู่ที่ 19 ตำแหน่ง 19q13.4¹⁴ ปัจจุบันมีการ KIR gene ที่ได้รับการค้นพบแล้ว 15 KIR gene และ 2 pseudogene

การเรียกชื่อของ KIR จะขึ้นกับลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล¹⁵ โดยขึ้นอยู่กับจำนวนของ extracellular domain และความยาวของ cytoplasmic tail ซึ่งแบ่งออกได้เป็นลักษณะสายสั้น (short cytoplasmic tail) และลักษณะสายยาว (long cytoplasmic tail) ยกตัวอย่างเช่น KIR ที่มี extracellular domain 2 domain และมี cytoplasmic tail สายสั้น จะเรียกว่า KIR2DS (2D = 2 extracellular domain, S = short cytoplasmic tail) ตามด้วยตัวเลขตามลำดับการค้นพบของโครงสร้างนั้นๆ เช่น KIR2S1 KIR2DS2 และ KIR2DS3 เป็นต้น

ลักษณะของ cytoplasmic tail จะบ่งชี้หน้าที่การทำงานของ KIR ได้ โดย KIR ที่มี cytoplasmic tail แบบสายยาว จะเป็น inhibitory receptor เนื่องจากมี immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) ที่สามารถส่งสัญญาณยับยั้งได้อยู่ใน cytoplasmic domain¹⁶ ยกเว้น KIR2DL4 ที่

เป็นได้ทั้ง inhibitory และ activating receptor เนื่องจากมี ITIM ที่สามารถส่งสัญญาณยับยั้ง และมีกรดอะมิโนในบริเวณ transmembrane domain ที่สามารถ interact กับ adapter molecule Fc ϵ RI-g ทำให้ส่งสัญญาณกระตุ้นได้¹⁷ ส่วน KIR ที่มี cytoplasmic tail แบบสายสั้น จะเป็น activating receptor เนื่องจากไม่มี ITIM อยู่ใน cytoplasmic domain แต่มีส่วน transmembrane domain ที่สามารถจับกับ adapter molecule DAP-12 ซึ่งมี immunoreceptor tyrosine-based activating motif (ITAM) ทำให้สามารถส่งสัญญาณกระตุ้นได้¹⁸

Allele ของแต่ละยีนจะเขียนตามหลังจากชื่อยีน โดยมีเครื่องหมายดอกจัน (*) คั่นกลางระหว่างชื่อยีน และ allele ตัวเลขสามตัวแรกหลังเครื่องหมายดอกจัน บ่งถึง allele ที่มีความแตกต่างกันของลำดับเบสในตำแหน่งที่ถอดรหัสพันธุกรรมได้โปรตีน (coding region) ที่แตกต่าง¹⁵ ตัวเลขสองตัวถัดมาบ่งถึง allele ที่มีความแตกต่างกันของลำดับเบสในตำแหน่งที่ถอดรหัสพันธุกรรมได้โปรตีนที่เหมือนกัน (silent substitution) ตัวเลขสองตัวสุดท้ายบ่งถึง allele ที่มีความแตกต่างกันของลำดับเบสในตำแหน่งที่ไม่ใช่ coding region (Figure 2)

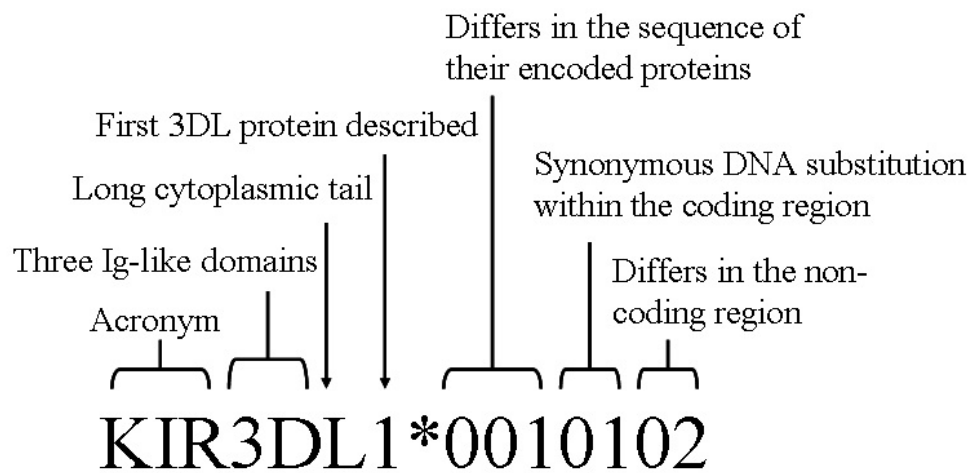


Figure 2 KIR allele nomenclature. Figure was adapted from www.ebi.ac.uk/ipd/kir/introduction.html.

1.2 ความหลากหลายของ KIR (KIR diversity)

KIR มีความหลากหลายเป็นอย่างมากและค่อนข้างซับซ้อน สามารถแยกประเภทของความหลากหลายของ KIR ได้เป็น 3 แบบ¹⁹ คือ 1) จำนวนและชนิดของ KIR gene 2) ความหลากหลายในระดับ allele และ 3) ระดับของการแสดงออก

จำนวนของ KIR gene ในแต่ละบุคคลมีความแตกต่างกันอย่างมาก จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าแต่ละคนมีจำนวนของ KIR gene ที่แตกต่างกันตั้งแต่ 8-16 ยีน โดยจำนวน KIR gene ที่พบได้บ่อยที่สุดคือ 13 ยีน นอกจากจำนวนของ KIR gene ในแต่ละบุคคลจะแตกต่างกันแล้ว ชนิดของยีนก็ยิ่งแตกต่างกันด้วย คนที่มีจำนวนยีนเท่ากันอาจจะมีการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน

ความหลากหลายของ KIR gene ในระดับ allele จะหลากหลายมากขึ้นกับชนิดของ KIR gene โดยแต่ละยีนมีความหลากหลายของ allele ได้ตั้งแต่ 4 allele จนถึงมากกว่า 40 allele ต่อยีน²¹ ส่วนระดับของการแสดงออก (level of expression) ของ KIR บนผิวเซลล์นั้นมีความแตกต่างกันขึ้นกับ allele¹⁹ ตัวอย่างเช่น KIR3DL1*004 ไม่มีการแสดงออกของยีนบนผิวเซลล์ ในขณะที่ KIR3DL1*002 มีการแสดงออกของยีนในระดับสูง²²

ในแต่ละคนนอกจากจะมีความแตกต่างของ KIR gene แล้ว ยังมีความแตกต่างของ ligand ของ KIR ซึ่งก็คือ HLA class I molecule ด้วย เนื่องจาก HLA gene อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ในขณะที่ KIR gene อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 การถ่ายทอด KIR gene และ ligand ของ KIR จึงไม่จำเป็นต้องไปด้วยกัน ดังนั้นพี่น้องที่เป็น HLA identical กัน อาจจะมี KIR haplotype ที่แตกต่างกันได้

1.3 KIR ligand

การจับกันระหว่าง KIR receptor และ KIR ligand นั้น

เป็นการจับกันแบบมีความจำเพาะ จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า KIR receptor ต่อ KIR ligand นั้นสามารถบ่งบอกความจำเพาะได้ชัดเจนในบาง KIR receptor แต่บาง KIR receptor ยังไม่สามารถบอกถึง KIR ligand ที่จำเพาะได้ชัดเจน จากการศึกษพบว่า โมเลกุล inhibitory KIR2DL จะจับกับ HLA-C allele ที่จำเพาะ โดย inhibitory KIR2DL จะจับกับ alleleใดของ HLA-C นั้นขึ้นกับชนิดของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 80 ของ HLA-C¹⁴ หาก HLA-C allele มีการดื้อมีโนตำแหน่งที่ 80 เป็น asparagine จะจัดอยู่ในกลุ่ม HLA-C1 group (HLA-C^{Asn80}) ซึ่งได้แก่ HLA-C*01 *03 *07 และ *08 และ KIR receptor ที่จำเพาะต่อ HLA-C1 group คือ inhibitory KIR2DL2 และ KIR2DL3 หาก HLA-C allele มีการดื้อมีโนตำแหน่งที่ 80 เป็น lysine จะจัดอยู่ในกลุ่ม HLA-C2 group (HLA-C^{Lys80}) ซึ่งได้แก่ HLA-C*02 *04 *05 และ *06 และ KIR receptor ที่จำเพาะต่อ HLA-C2 group คือ inhibitory KIR2DL1

สำหรับความจำเพาะระหว่าง inhibitory KIR receptor และ HLA-B นั้น ขึ้นกับตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 77-83 ในสาย heavy chain ของ HLA-B¹⁴ ซึ่งกรดอะมิโนที่ตำแหน่งดังกล่าวเป็นส่วนสำคัญในโครงสร้างของ Bw4 หรือ Bw6 โดย KIR receptor ที่จำเพาะต่อ HLA-Bw4 คือ KIR3DL1 ส่วน HLA-Bw6 นั้นไม่พบว่ามี KIR receptor จับกับ KIR receptor ใดๆ เลย นอกจากนี้มีรายงานว่า KIR2DL4 สามารถจับกับโมเลกุล HLA-G ได้ แต่ความสำคัญของการจับกันนี้ในทางชีววิทยายังไม่ทราบชัดเจน

ความจำเพาะระหว่าง activating KIR receptor และ KIR ligand นั้นมีรายงานอยู่น้อย เนื่องจากการจับกันระหว่าง activating KIR และ ligand นั้นมี affinity ต่ำ ทำให้ยากลำบากต่อการศึกษา ความจำเพาะที่มีรายงานคือ KIR2DS1 และ KIR2DS4 ซึ่งจำเพาะต่อ HLA-C2 group (HLA-C^{Lys80}) และ

Table 1 KIR genes and KIR ligands specificity²³

KIR	Identified ligand
2DL1	HLA-C ^{Lys80}
2DL2	HLA-C ^{Asn80}
2DL3	HLA-C ^{Asn80}
2DL4	HLA-G
2DL5	Not defined
2DS1	HLA-C ^{Lys80}
2DS2	Not defined
2DS3	Not defined
2DS4	HLA-A11 and some HLA-C alleles
2DS5	Not defined
3DL1	HLA-B Bw4
3DL2	HLA-A3, -A11
3DL3	Not defined
3DS1	Not defined

HLA-A11 ตามลำดับ¹⁴ ความจำเพาะระหว่าง KIR และ KIR ligand ได้สรุปไว้ใน Table 1²³

1.4 KIR haplotype

กลุ่มของ KIR gene ที่เรียงตัวกันอยู่ใน Leukocyte receptor complex (LRC) บนโครโมโซมข้างเดียวกัน เรียกว่า KIR haplotype ทุก KIR haplotype จะประกอบด้วย KIR gene 4 ยีนได้แก่ 2DL4, 3DP1, 3DL2 และ 3DL3 KIR gene 4 ยีนซึ่งพบในทุก KIR haplotype นี้เรียกว่า 'framework gene'¹⁶ นอกเหนือจาก framework gene แล้ว ใน KIR haplotype ยังประกอบด้วย KIR gene อื่นๆ อีก KIR gene ที่นอกเหนือจาก framework gene นี้จะเป็นตัวบ่งบอกว่า KIR haplotype นั้นเป็นแบบใด

KIR haplotype แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ A และ B haplotype¹⁶

- A haplotype มีจำนวนและชนิดของ KIR gene ที่คงที่ประกอบด้วย 7 KIR gene และ 2 KIR pseudogene (2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 2DP1 และ 3DP1) ในแต่ละยีน มีความหลากหลายของ allele ได้หลายแบบ
- B haplotype มีจำนวนและชนิดของ KIR gene ที่ไม่คงที่และมีความหลากหลายของ allele ในแต่ละยีนร่วมด้วย B haplotype ประกอบด้วยยีนอื่นซึ่งไม่ได้อยู่ใน group A haplotype (ไม่นับ framework gene)

สิ่งสำคัญของการแยกประเภท haplotype ที่มีความสำคัญต่อการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด คือ ใน 'A' haplotype มี activating gene อยู่เพียงยีนเดียว (คือ KIR2DS4) ในขณะที่ 'B' haplotype มีจำนวน activating gene มากกว่าหนึ่งยีน ด้วยเหตุที่ 'B' haplotype มี activating gene มากกว่า 'A' haplotype การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดจากผู้บริจาคที่มี 'B' haplotype จะมีผลของ NK cell alloreactivity ที่มากกว่า จากรายงานของ Cooley และคณะ²⁴ ซึ่งศึกษาผู้ป่วย acute myeloid leukemia (AML) 448 รายที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจาก unrelated donor พบว่า ความเสี่ยงของการเกิด leukemia relapse ลดลงในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจากผู้บริจาคที่เป็น 'B' haplotype รายงานต่อมาซึ่งศึกษาในผู้ป่วย AML 1,086 ราย²⁵ ก็ยืนยันถึงความสัมพันธ์ของ 'B' haplotype ต่ออุบัติการณ์การเกิด relapse ที่ลดลง (15% vs 37%)

1.5 การทำลายเซลล์เป้าหมายโดย NK cell

NK cell สามารถทำลายเซลล์เป้าหมายได้ ผ่าน 2 กระบวนการใหญ่ๆ ดังนี้

1.5.1 Missing-self recognition

กระบวนการนี้อยู่บนพื้นฐานของกลไกในการปกป้องเซลล์ปกติในร่างกายคนทั่วไป โดยในร่างกายปกติของคนเรามี HLA class I แสดงออกอยู่บนผิวเซลล์ปกติ HLA class I นี้จะจับกับ inhibitory NK cell receptor ทำให้เกิดการส่งสัญญาณยับยั้ง (inhibitory signal) ส่งผลให้การทำงานของ NK cell ถูกยับยั้งและไม่เกิดการทำลายเซลล์ปกติในร่างกายคนเรา²⁶ (Figure 3a) แต่ในกรณีเซลล์ผิดปกติเช่น เซลล์มะเร็ง หรือเซลล์ติดเชื้อไวรัส จะไม่มีการแสดงออกของ HLA class I (expression was down-regulated) ทำให้ไม่มีการจับกันระหว่าง HLA class I กับ inhibitory NK cell receptor ไม่มีการส่งสัญญาณยับยั้งการทำงานของ NK cell ส่งผลให้ผลรวมของสัญญาณใน NK cell เป็นสัญญาณ activating ดังนั้น NK cell ถูกกระตุ้นและทำลายเซลล์เป้าหมายซึ่งเป็นเซลล์ผิดปกติได้²⁷ (Figure 3b)

1.5.2 Induced-self recognition

กระบวนการนี้เกี่ยวข้องกับ NKG2D (activating receptor)²⁸ ซึ่งสามารถจับกับโปรตีนในร่างกาย (self-protein) ที่มีการแสดงออกมากขึ้น (upregulation) ในเซลล์ติดเชื้อหรือเซลล์มะเร็ง ตัวอย่างโปรตีนที่จับกับ NKG2D เช่น ULBP (cytomegalovirus UL16-binding protein), MICA (MHC class I-related chain A) และ MICB (MHC class I-related chain B)

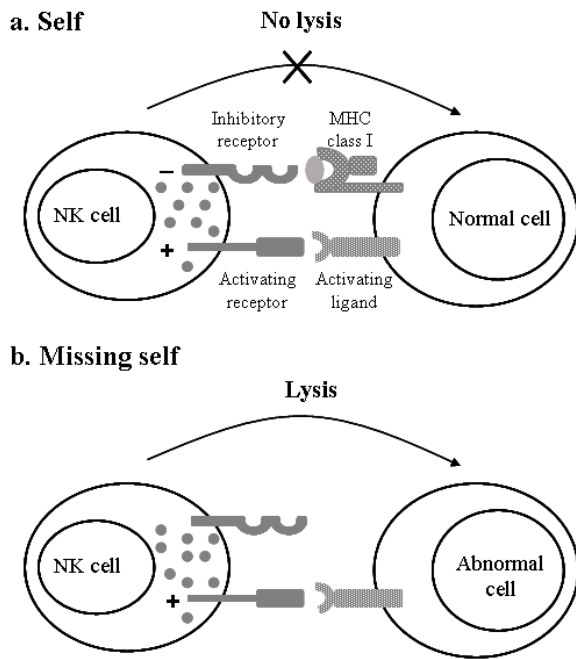


Figure 3 The missing-self recognition. a) The expression of appropriate self-HLA class I molecule protects healthy 'self' cells against NK cell reactivity. b) In the down-regulation of HLA class I molecule expression, owing to viral infection or transformation, target cells become susceptible to NK-mediated lysis. *Figure was adapted from Kumar V, McNerney ME. A new self: MHC-class-I-independent Natural-killer-cell self-tolerance. Nat Rev Immunol 2005;5:363-74²⁶.*

2. บทบาทของ KIR ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

2.1 ประโยชน์ของ NK cell alloreactivity ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต (hematopoietic stem cell transplantation; HSCT) จากบุคคลอื่นนั้น NK cell ของผู้บริจาคที่อยู่ใน graft จะสามารถทำปฏิกิริยากับเซลล์ของผู้รับได้ นั่นคือเกิด NK alloreactivity (allo = บุคคลอื่น reactivity = เกิดปฏิกิริยา) หลังจากนั้น NK cell ของผู้บริจาคจะทำลายเซลล์เป้าหมายซึ่งเป็นเซลล์ของผู้ป่วย และส่งผลให้เกิดประโยชน์ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตผ่านกลไกหลายแบบ¹⁹ ดัง Figure 4

การจะเกิด NK alloreactivity ได้นั้น NK cell ของผู้บริจาคต้องมีการแสดงออกของ inhibitory KIR ซึ่งไม่ตรงกับ ligand ที่จำเพาะในผู้รับ (missing ligand) นอกจากนี้ NK cell ของผู้บริจาคไม่ควรมีการแสดงออกของ CD94/NKG2A (inhibitory receptor) เนื่องจาก HLA-E ซึ่งเป็น ligand จำเพาะของมัน มีอยู่บน HLA class I⁺ cell ทุกเซลล์ หลังจากที่ถูก NK cell ของผู้บริจาคเข้าไปในผู้รับเมื่อมีการทำ HSCT NK cell ของผู้บริจาคมีการแสดงออกของ inhibitory KIR อยู่บนผิวเซลล์ ในขณะที่ผู้รับไม่มี HLA class I ligand ที่จับกับ KIR นั้นได้ จึงไม่เกิด inhibitory signal ส่งสัญญาณยับยั้งเข้าไปภายในเซลล์ ผลรวมของสัญญาณจึงเป็น activating signal ทำให้เกิด NK alloreactivity และสามารถเกิดปฏิกิริยาทำลายเซลล์ต่างๆ ของผู้รับได้ การที่ NK receptor ในผู้บริจาค mismatch กับ ligand ในผู้รับ เรียกว่า

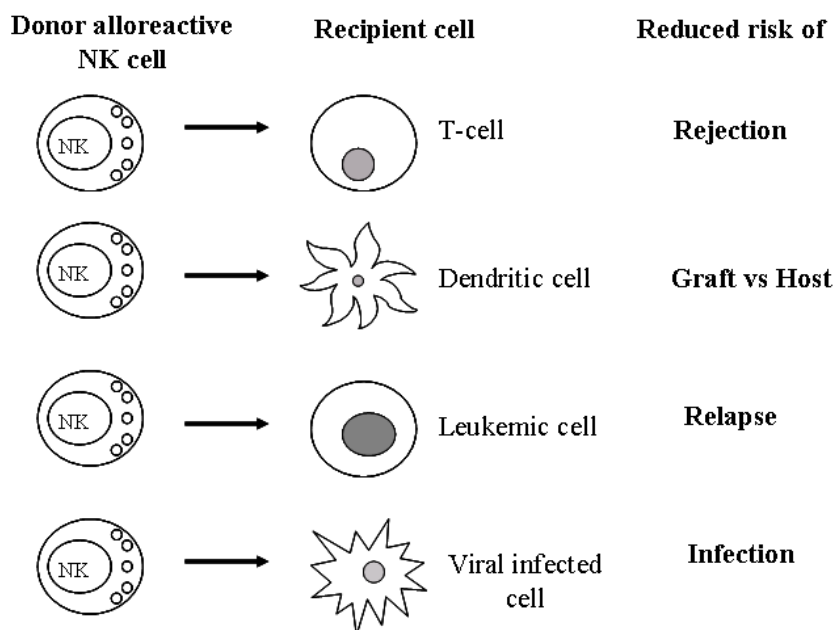


Figure 4 Multiple potential beneficial effects of donor alloreactive NK cells on the outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Figure was adapted from Leung W. Use of NK cell activity in cure by transplant: Br J Haematol 2011;155:14-29¹⁹.*

'receptor-ligand mismatch' ในลักษณะ graft versus host direction นั้นเอง

สิ่งที่น่าสนใจสำหรับการทำ HSCT ที่มี NK alloreactivity คือ alloreactive NK cell ไม่ก่อให้เกิด graft-versus-host disease (GvHD) ซึ่งตรงข้ามกับการทำ HSCT ที่มี T cell alloreactivity จะเกิดปัญหา T-cell mediated GvHD ได้ เหตุผลที่ถูกนำเสนอเพื่ออธิบายคือ เซลล์ส่วนใหญ่ของผู้รับที่ถูกทำลายโดย NK cell ของผู้บริจาค คือ hematopoietic cell แต่เซลล์อื่นๆ ของผู้รับ ซึ่งเป็นเป้าหมายใน T-cell mediated GvHD จะไม่ถูกทำลายโดย NK cell ของผู้บริจาค เนื่องจากเซลล์อื่นๆ ของผู้รับ (ยกเว้น hematopoietic cell) ไม่มี ligand สำหรับ activating NK receptor (ซึ่งจะถูกแสดงออกบนเซลล์บางชนิดเวลาที่มี stress หรือ tumor transformation) ดังนั้นจึงเสมือนว่า NK cell ของผู้บริจาคไม่สามารถมองเห็น resting cell ปกติได้ และ NK cell จึงไม่ถูกกระตุ้นเมื่อมีการ interact กับเซลล์อื่นๆ²⁹ เหตุผลนี้ได้รับการยืนยันจากการศึกษาในหนูทดลอง พบว่า allogeneic NK cell สามารถทำให้เกิด graft versus leukemia (GvL) effect โดยไม่มี GvHD เกิดขึ้น³⁰ และการศึกษาโดย Ruggeri และคณะ³¹ ซึ่งศึกษาในหนูทดลองที่ทำ HSCT พบว่า alloreactive NK cell ไม่ทำให้เกิด GvHD นอกจากนี้ยังสามารถฆ่า antigen-presenting cell (APC) ของผู้รับได้ ทำให้ลดการเกิด GvHD อีกด้วย

นอกเหนือจากว่า alloreactive NK cell ของผู้บริจาคจะสามารถทำลาย APC ของผู้รับและมีผลต่อการลดการเกิด GvHD แล้ว alloreactive NK cell ยังสามารถฆ่าเซลล์อื่นของผู้รับ ซึ่งส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต¹⁴ ดังนี้ (Figure 4)

- T cell ของผู้รับถูกทำลาย จึงลดการเกิด rejection ได้
- Leukemia cell ของผู้รับถูกทำลาย จึงลดการเกิด relapse ได้
- Viral infected cell ของผู้รับถูกทำลาย จึงลดการเกิดการติดเชื้อไวรัสได้

2.2 การศึกษาความสำคัญของ NK alloreactivity ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

แม้ว่าจะมีการค้นพบ NK cell และความสามารถของมันในการทำลายเซลล์มะเร็งมากกว่า 35 ปี แต่การศึกษาถึงความสำคัญของ NK cell alloreactivity ต่อการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตในทางคลินิก เพิ่งเริ่มมีการศึกษาเมื่อ 15 ปีก่อนนี้เอง รายงานแรกตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1997 โดย Valiante และคณะ³² หลังจากนั้นได้มีการศึกษาโดยคณะวิจัยอื่นตามมามากมาย มีหลายการ

ศึกษาที่รายงานว่าการ KIR mismatch มีความสัมพันธ์กับการลดการเกิด leukemia relapse^{31,33} โดย Ruggeri และคณะ³¹ รายงานว่ากลุ่มผู้ป่วย acute myeloid leukemia (AML) ที่มี KIR ligand incompatible donor 20 ราย มีความน่าจะเป็นในการเกิด relapse ที่ 5 ปีหลังปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเป็นร้อยละ 0 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มี KIR ligand compatible donor จำนวน 37 ราย มีความน่าจะเป็นในการเกิด relapse ที่ 5 ปี สูงถึงร้อยละ 75 แต่อย่างไรก็ตามมีหลายการศึกษาที่ไม่พบประโยชน์ของ KIR mismatch ต่อการลดการเกิด relapse ใน HSCT³⁴⁻³⁶ ผลการศึกษาถึงความสำคัญของ KIR mismatch ใน HSCT ที่ไม่สอดคล้องกันนั้น สามารถอธิบายได้จากการที่แต่ละการศึกษามีความแตกต่างกันในแง่ T cell alloreactivity และการให้นิยามของคำว่า KIR mismatch¹⁹

ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตนั้น HLA matching เป็นปัจจัยทางด้านผู้บริจาคที่มีความสำคัญมากที่สุดต่อความสำเร็จในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต³⁷ ผู้บริจาคที่มี HLA mismatch กับผู้ป่วยจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด graft rejection, GVHD และ transplant-related mortality เพิ่มขึ้น ในการศึกษาความสำคัญของ KIR ต่อผลของ HSCT นั้น หากคณะผู้วิจัยให้นิยามว่า KIR mismatch คือ KIR ligand ของผู้บริจาคและผู้ป่วยไม่ตรงกัน (KIR ligand mismatch) เนื่องจาก KIR ligand คือ HLA class I molecule ดังนั้น KIR ligand mismatch จึงเท่ากับผู้ป่วยและผู้บริจาคมี HLA class I mismatch ในระดับแอนติเจน จะทำให้เกิด T cell alloreactivity จาก T cell ของผู้บริจาค ส่งผลกระทบให้ผลทางคลินิกออกมาไม่ดี³⁸ ดังนั้นในการอ่านรายงานที่เกี่ยวข้องกับความสำคัญของ KIR ใน HSCT ควรพิจารณาว่าคณะผู้วิจัยให้นิยามของ KIR mismatch ว่าอย่างไร นอกจากนี้การศึกษาวิจัยในผู้ป่วยที่การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจาก HLA mismatched donor และไม่มีการทำ T cell depletion จะทำให้มีผลของ T cell alloreactivity มาเกี่ยวข้องและทำให้ไม่พบประโยชน์ของ KIR mismatch ต่อผลทางคลินิกใน HSCT ได้

2.3 ผลของ NK alloreactivity ใน cord blood transplantation และ ใน HLA-identical sibling donor

การศึกษารายงานของ KIR mismatch ใน HSCT นั้น หากศึกษาในผู้ป่วยที่ไม่มีผลของ T cell alloreactivity มาเกี่ยวข้อง เช่นในการ cord blood transplantation หรือ HLA-identical sibling donor จะสามารถเห็นความสำคัญของ KIR mismatch ได้เด่นชัดขึ้น

ในการทำ HSCT โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจาก cord blood นั้น เมื่อเปรียบเทียบกับการทำ HSCT โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด

เม็ดโลหิตจากผู้ใหญ่ที่มี HLA matching ในระดับเดียวกัน จะมี T cell alloreactivity ที่น้อยกว่า ดังนั้นผลของ KIR mismatch ในการทำ HSCT โดยใช้เซลล์จาก cord blood น่าจะเห็นได้เด่นชัดกว่า ในรายงานของ Willemze และคณะ³⁹ ซึ่งศึกษาผู้ป่วย acute leukemia 218 ราย ที่ได้รับการทำ cord blood HSCT พบว่า KIR mismatch ระหว่างผู้บริจาคและผู้ป่วยสัมพันธ์กับการเกิด relapse ลดลง (20% vs. 37%) และอัตราการรอดชีวิตที่ดีขึ้น

การศึกษาผู้ป่วยโรค myeloid leukemia ที่ได้รับการทำ HSCT จากผู้บริจาคที่ HLA-identical⁴⁰ พบว่า KIR receptor-ligand mismatch มีผลดีต่อการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต โดยในกลุ่มผู้ป่วยที่มี KIR receptor-ligand mismatch มีอุบัติการณ์การเกิด relapse น้อยกว่า ($p = 0.04$; hazard ratio, 0.41; 95% confidence interval 0.18-0.97) และมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มี KIR receptor-ligand mismatch

2.4 ผลของ NK alloreactivity ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจาก haploidentical donor

ในการทำ HSCT จากผู้บริจาคซึ่งเป็นญาติที่มี HLA haplotype เหมือนผู้ป่วยเพียง 1 ข้าง (haploidentical donor) นั้น จะมีผลของ T cell alloreactivity มาเกี่ยวข้องต่อผลการปลูกถ่าย ดังได้กล่าวแล้วภายใต้หัวข้อ 2.2 ดังนั้นในที่นี้จะทบทวนถึงบทบาทของ NK alloreactivity เฉพาะที่ทำการศึกษาใน T cell-depleted haploidentical HSCT เท่านั้น

ในการทำ T cell-depleted HSCT นั้น ผู้ป่วยมีโอกาสเสี่ยงสูงต่อการเกิด leukemia relapse จากการที่ไม่มี T-cell mediated GvL effect แต่ผู้ป่วยมีโอกาสนี้จะมีการเกิด relapse ลดลงได้หากทำ HSCT จากผู้บริจาคที่มี NK alloreactivity ต่อผู้ป่วย โดย Ruggeri และคณะ³¹ ได้แสดงให้เห็นว่า alloreactive NK cell สามารถฆ่า leukemic blast ที่มี KIR ligand ไม่ตรงกันได้ (KIR-KIR ligand mismatch) ทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในหนูทดลอง (in vivo model) นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นผลทางคลินิกด้วยว่า กลุ่มผู้ป่วยที่มี KIR ligand incompatible donor มีความน่าจะเป็นในการเกิด relapse น้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี KIR ligand compatible donor อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0005$) ต่อมาคณะผู้วิจัยนี้ได้ขยายการศึกษาขึ้น โดยศึกษาผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่เป็น AML จำนวน 112 ราย³³ พบว่าการทำ HSCT จาก NK alloreactive donor มีความสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงต่อการเกิด relapse หรือการตาย มี relative risk 0.48 (95%CI 0.29-0.78; $p > 0.001$) และจากการวิเคราะห์แบบ multivariate analysis แสดงให้เห็นว่า NK alloreactive donor เป็นปัจจัยสำคัญต่อ prognosis ที่ดีของผู้ป่วย อีกคณะวิจัย⁴¹ ได้ศึกษาผู้ป่วยผู้ใหญ่

84 รายที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว (ทั้ง myeloid และ lymphoid) พบว่าในกลุ่มผู้ป่วย myeloid malignancy ที่ได้ทำ HSCT จากผู้บริจาคที่มี KIR receptor-ligand mismatch มีอัตราการรอดชีวิตดีกว่า ($p = 0.009$) และเกิด relapse-related mortality ต่ำกว่า ($p = 0.036$) กลุ่มผู้ป่วยที่ทำ HSCT จากผู้บริจาคที่ไม่มี KIR receptor-ligand mismatch แต่ในกลุ่มผู้ป่วย lymphoid malignancy ไม่พบผลของ KIR receptor-ligand mismatch ต่ออัตราการรอดชีวิตและ relapse-related mortality

นอกจากความสำคัญของ NK alloreactivity ใน haploidentical HSCT ได้พบในผู้ป่วยผู้ใหญ่แล้ว ผลในผู้ป่วยเด็กก็เป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากการศึกษาในผู้ป่วยเด็กที่เป็น Acute lymphoblastic leukemia (ALL)⁴² พบว่า donor-derived NK cell ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยภายหลังจากการทำ HSCT สามารถฆ่า leukemia blast ของผู้ป่วยซึ่งมี KIR receptor-ligand mismatch ได้

2.5 ผลของ NK alloreactivity ใน non-malignant disease

นอกจาก KIR mismatch จะมีผลดีต่อผลของการทำ HSCT ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวแล้ว ยังพบว่า KIR mismatch มีผลดีต่อการทำ HSCT ในผู้ป่วยโรคเลือดอื่นๆ ด้วย จากการศึกษาโดย Littera และคณะ⁴³ ซึ่งศึกษาผู้ป่วยธาลัสซีเมีย 78 ราย ที่ได้รับการทำ HSCT จาก HLA-matched unrelated donor พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการทำ HSCT จากผู้บริจาคที่มี KIR haplotype แบบ AA haplotype มีความเสี่ยงในการเกิด GvHD สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีผู้บริจาคที่มี KIR B haplotype อย่างน้อย 1 haplotype (AB หรือ BB haplotype) (hazard ratio 4.5, 99% confidence interval = 1.2-17.1, $p=0.003$) ในปีที่แล้วก็มีรายงานการศึกษาธาลัสซีเมีย 114 ราย ที่ได้รับการทำ HSCT จาก unrelated donor⁴⁴ พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการทำ HSCT จากผู้บริจาคที่ไม่มี functional activating KIR gene จะมีความเสี่ยงในการเกิด GvHD และ transplant-related mortality สูงกว่าผู้ป่วยที่ได้รับการทำ HSCT จากผู้บริจาคที่มี activating KIR gene

2.6 การนำผล KIR typing ประกอบการคัดเลือกผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

NK cell มีความสำคัญต่อผลของการทำ HSCT ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น ดังนั้นการคัดเลือกผู้บริจาคโดยคำนึงถึง KIR receptor-ligand mismatch ระหว่างผู้บริจาคและผู้ป่วยจึงมีความสำคัญยิ่ง การพิจารณา KIR receptor-ligand mismatch นั้นทำโดยดู KIR typing ในผู้บริจาค หากผู้บริจาคมี KIR receptor แต่ผู้ป่วยไม่มี ligand ซึ่งจำเพาะกับ KIR นั้น ก็จะถือว่าผู้ป่วย-ผู้บริจาคเกิด KIR receptor-ligand mismatch

การคำนึงถึง NK alloreactivity ระหว่างผู้ป่วยและผู้บริจาค ร่วมกับการพิจารณาปัจจัยอื่นๆ ของผู้บริจาค เช่น อายุ เพศ HLA matching ปริมาณเซลล์ เป็นต้น จะมีประโยชน์อย่างยิ่งเมื่อผู้ป่วยมี potential donor หลายราย ข้อมูลนี้จะช่วยประกอบการคัดเลือกผู้บริจาคคนใดเหมาะสมกับการเป็นผู้บริจาคมากที่สุด

แนวทางการคัดเลือกผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต โดยพิจารณา NK cell alloreactivity¹⁹

กรณีมีผู้บริจาคที่เป็น HLA-matched (พี่น้อง, unrelated donor หรือ cord blood)

- เลือกผู้บริจาคที่มี KIR receptor-ligand mismatch
- เลือกผู้บริจาคที่มี B haplotype

กรณีไม่มีผู้บริจาคที่เป็น HLA-matched และทำ HSCT โดยไม่มี T cell depletion

- เลือกผู้บริจาคที่มี HLA mismatch ให้น้อยที่สุด
- เลือกผู้บริจาคที่มี KIR receptor-ligand mismatch
- เลือกผู้บริจาคที่มี B haplotype
- พยายามไม่เลือกผู้บริจาคที่มี KIR ligand mismatch

กรณีไม่มีผู้บริจาคที่เป็น HLA-matched และทำ HSCT โดยมี T cell depletion หรือ single cord blood transplant

- เลือกผู้บริจาคที่มี KIR receptor-ligand mismatch
- เลือกผู้บริจาคที่มี B haplotype
- เลือกผู้บริจาคที่มี KIR ligand mismatch

สรุป

Natural Killer (NK) cell มีบทบาทสำคัญในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต โดยสามารถช่วยในการต่อสู้กับการติดเชื้อและการควบคุมเซลล์มะเร็ง ที่สำคัญคือ alloreactive NK cell ไม่ทำให้เกิด graft-versus-host disease NK cell ถูกควบคุมการทำงานโดย Killer immunoglobulin-like receptor (KIR) ซึ่งเป็น receptor ที่สำคัญบนผิวเซลล์ของ NK cell หลายการศึกษาพบว่า NK alloreactivity มีความสำคัญต่อผลของการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต ด้วยเหตุที่ KIR gene มีความหลากหลายอย่างมากในแต่ละคน ทั้งในด้านจำนวนและชนิดของ KIR gene การมี allele polymorphism และความหลากหลายของการแสดงออก การคัดเลือกผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตโดยพิจารณา NK alloreactivity ร่วมกับปัจจัยอื่นๆ ของผู้บริจาค จึงเป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต

References

1. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR, Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1986;136:4480-6.
2. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989;47:187-376.
3. Rosenberg EB, Herberman RB, Levine PH, Halterman RH, McCoy JL, Wunderlich JR. Lymphocyte cytotoxicity reactions to leukemia-associated antigens in identical twins. *Int J Cancer* 1972;9:648-58.
4. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 2001;22:633-40.
5. Kiessling R, Klein E, Wigzell H. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol* 1975;5:112-7.
6. Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer* 1975;16:216-29.
7. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2001;19:197-223.
8. Long EO. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. *Annu Rev Immunol* 1999;17:875-904.
9. Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol* 2005;23:225-74.
10. Parham P. Immunogenetics of killer-cell immunoglobulin-like receptors. *Tissue Antigens* 2003;62:194-200.
11. Moretta L, Romagnani C, Pietra G, Moretta A, Mingari MC. NK-CTLs, a novel HLA-E-restricted T-cell subset. *Trends Immunol* 2003;24:136-43.
12. Vivier E, Anfosso N. Inhibitory NK-cell receptors on T cells: witness of the past, actors of the future. *Nat Rev Immunol* 2004;4:190-8.
13. Suto Y, Maenaka K, Yabe T, Hirai M, Tokunaga K, Tadok K, et al. Chromosomal localization of the human natural killer cell class I receptor family genes to 19q13.4 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1996;35:270-2.
14. Williams AP, Bateman AR, Khakoo SI. Hanging in the balance. KIR and their role in disease. *Mol Interv* 2005;5:226-40.
15. Marsh SG, Parham P, Dupont B, Geraghty DE, Trowsdale J, Middleton D, et al. Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Tissue Antigens* 2003;62:79-86.
16. Hsu KC, Chida S, Geraghty DE, Dupont B. The killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genomic region: gene-order, haplotypes and allelic polymorphism. *Immunol Rev* 2002;190:40-52.
17. Kikuchi-Maki A, Catina TL, Campbell KS. Cutting edge: KIR2DL4 transduces signals into human NK cells through association with the Fc receptor gamma protein. *J Immunol* 2005;174:3859-63.
18. Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998;391:703-7.

19. Leung W. Use of NK cell activity in cure by transplant. *Br J Haematol* 2011;155:14-29.
20. Tammakorn C, Mongkolsuk T, Thammanichanon D, Pakakasama S, Kitpoka P. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Thai blood donors. *J Med Assoc Thai* 2011;94:738-42.
21. Parham P, Abi-Rached L, Matevosyan L, Moesta AK, Norman PJ, Older Aguilar AM, et al. Primate-specific regulation of natural killer cells. *J Med Primatol* 2010;39:194-212.
22. 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;171:6640-9.
23. Moretta L, Locatelli F, Pende D, Marcenaro E, Mingari MC, Moretta A. Killer Ig-like receptor-mediated control of natural killer cell alloreactivity in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2011;117:764-71.
24. Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, Saetern K, Klein J, Le CT, et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2009;113:726-32.
25. Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein J, Wang T, Le CT, et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2010;116:2411-9.
26. Ljunggren HG, Karre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today* 1990;11:237-44.
27. Kumar V, McNerney ME. A new self: MHC-class-I-independent natural-killer-cell self-tolerance. *Nat Rev Immunol* 2005;5:363-74.
28. Bottino C, Castriconi R, Moretta L, Moretta A. Cellular ligands of activating NK receptors. *Trends Immunol* 2005;26:221-6.
29. Moretta L, Locatelli F, Pende D, Mingari MC, Moretta A. Natural killer alloeffector responses in haploidentical hemopoietic stem cell transplantation to treat high-risk leukemias. *Tissue Antigens* 2010;75:103-9.
30. Asai O, Longo DL, Tian ZG, Hornung RL, Taub DD, Ruscetti FW, et al. Suppression of graft-versus-host disease and amplification of graft-versus-tumor effects by activated natural killer cells after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Invest* 1998;101:1835-42.
31. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik W, Tosti A, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002;295:2097-100.
32. Valiante NM, Parham P. Natural killer cells, HLA class I molecules, and marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1997;3:229-35.
33. Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, Urbani E, Carotti A, Aloisi T, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007;110:433-40.
34. Bishara A, De Santis D, Witt CC, Brautbar C, Christiansen FT, Or R, et al. The beneficial role of inhibitory KIR genes of HLA class I NK epitopes in haploidentically mismatched stem cell allografts may be masked by residual donor-alloreactive T cells causing GVHD. *Tissue Antigens* 2004;63:204-11.
35. Farag SS, Bacigalupo A, Eapen M, Hurley C, Dupont B, Caligiuri MA, et al. The effect of KIR ligand incompatibility on the outcome of unrelated donor transplantation: a report from the center for international blood and marrow transplant research, the European blood and marrow transplant registry, and the Dutch registry. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:876-84.
36. Huang XJ, Zhao XY, Liu DH, Liu KY, Xu LP. Deleterious effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion. *Leukemia* 2007;21:848-51.
37. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 2007;110:4576-83.
38. Lowe EJ, Turner V, Handgretinger R, Horwitz EM, Benaïm E, Hale GA, et al. T-cell alloreactivity dominates natural killer cell alloreactivity in minimally T-cell-depleted HLA-non-identical paediatric bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 2003;123:323-6.
39. Willemze R, Rodrigues CA, Labopin M, Sanz G, Michel G, Socie G, et al. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction improves outcomes after umbilical cord blood transplantation for acute leukemia. *Leukemia* 2009;23:492-500.
40. Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A, Pinto C, Heller G, Arkun K, et al. Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukemia predicted by KIR and HLA genotypes. *Blood* 2005;105:4878-84.
41. Chen DF, Prasad VK, Broadwater G, Reinsmoen NL, Deoliveira A, Clark A, et al. Differential impact of inhibitory and activating Killer Ig-Like Receptors (KIR) on high-risk patients with myeloid and lymphoid malignancies undergoing reduced intensity transplantation from haploidentical related donors. *Bone Marrow Transplant* 2011.
42. Pende D, Marcenaro S, Falco M, Martini S, Bernardo ME, Montagna D, et al. Anti-leukemia activity of alloreactive NK cells in KIR ligand-mismatched haploidentical HSCT for pediatric patients: evaluation of the functional role of activating KIR and redefinition of inhibitory KIR specificity. *Blood* 2009;113:3119-29.
43. Littera R, Orru N, Vacca A, Bertaina A, Caocci G, Mulargia M, et al. The role of killer immunoglobulin-like receptor haplotypes on the outcome of unrelated donor haematopoietic SCT for thalassaemia. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:1618-24.
44. Littera R, Orru N, Caocci G, Sanna M, Mulargia M, Piras E, et al. Interactions between killer immunoglobulin-like receptors and their human leucocyte antigen Class I ligands influence the outcome of unrelated haematopoietic stem cell transplantation for thalassaemia: a novel predictive algorithm. *Br J Haematol* 2012;156:118-28.

