



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIDCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Jagoda Siemaszko

ROZPRAWA DOKTORSKA

Zmienność genetyczna oraz ekspresja receptorów komórek NK
z rodziny NKG2 i ich ligandów w przebiegu allogenicznego
przeszczepienia komórek krwiotwórczych

Genetic Variability and Expression of NK Cell Receptors Belonging to the NKG2 Family
and Their Ligands in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcome

Promotor:

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Wrocław 2024

*Pragnę złożyć serdeczne podziękowania Pani promotor
prof. dr hab. Katarzynie Boguni-Kubik,
za nieocenioną pomoc w przygotowaniu niniejszej rozprawy,
wsparcie merytoryczne oraz cierpliwość i wyrozumiałość,
a także ciągłą motywację do poszerzania wiedzy.*

*Dziękuję pracownikom oraz koleżankom doktorantkom z zespołu
Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki
za okazaną mi pomoc, życzliwość i cenne wskazówki.*

Podziękowania kieruję jednak przede wszystkim do;

*Rodziców, którzy umożliwili mi podążenie ścieżką naukową.
zapewnili mi wsparcie na każdym etapie edukacji
oraz nigdy we mnie nie zawąpili i dali mi możliwość
realizacji własnych celów*

oraz

*Maćka, który wspierał mnie i dodawał otuchy każdego dnia
oraz wierzył w moje możliwości.*

Dziękuję, Kochanie.



Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Niniejsza rozprawa doktorska wykonana została w Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki w ramach grantu OPUS-16 pt. *Epigenomiczne, immunogenetyczne i proteomiczne strategie identyfikacji determinant komórek NK o prognostycznym znaczeniu u pacjentów poddanych alogenicznemu przeszczepieniu komórek krwiotwórczych - badania wielośrodkowe*, kierowanego przez prof. dr hab. Katarzynę Bogunię-Kubik

SPIS TREŚCI

Streszczenie	9
Summary	13
Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy	15
Oświadczenia Współautorów	17
Publikacja nr 1	123
Publikacja nr 2	137
Publikacja nr 3	147
Publikacja nr 4	171

Streszczenie

Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (ang. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, HSCT) to procedura stosowana głównie w leczeniu chorób i dysfunkcji układu krwiotwórczego, w tym chorób rozrostowych. HSCT wykonywane jest z wykorzystaniem materiału pochodzącego od odpowiednio dobranej dawcy w głównym układzie zgodności tkankowej (ang. Major Histocompatibility Complex, MHC, u człowieka - Human Leukocyte Antigen, HLA). Pomimo wysokiego współczynnika sukcesu, wdrażania nowych strategii kondycjonowania biorców i profilaktyki, procedura ta obarczona jest ryzykiem wystąpienia groźnych komplikacji poprzyszczepowych. Wśród nich wyróżnia się m.in. infekcje bakteryjne, grzybicze i wirusowe, odrzucenie przeszczepienia czy wznowę choroby pierwotnej. Jednymi z najczęściej występujących komplikacji po allogenicznym HSCT są infekcja wirusem cytomegalii (CMV) a także, występująca w dwóch formach; ostrej i przewlekłej, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. Graft-versus-Host Disease, acute/chronic GvHD). Ryzyko wystąpienia choroby GvH związane jest z wieloma czynnikami zarówno ze strony biorcy jak i dawcy, ale najbardziej istotnym jest stopień doboru w HLA pomiędzy parą dawca/biorca. Dla powodzenia allogenicznego przeszczepienia decydujący jest czas procesu pełnej odnowy układu immunologicznego w zakresie wszystkich populacji limfocytarnych.

Komórki NK (ang. Natural Killers) są populacją limfocytów, które jako jedne z pierwszych ulegają rekonstytucji w organizmie biorcy po allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych. Wykazują one właściwości typowe zarówno dla wrodzonej jak i nabytej odporności, co czyni je niezwykle ciekawym przedmiotem badań. Prawidłowe funkcjonowanie komórek NK regulowane jest przez szereg aktywujących i hamujących receptorów zlokalizowanych na ich powierzchni. Wśród nich wyróżnia się receptory lektynopodobne należące do rodziny NKG2, w tym receptor hamujący NKG2A oraz receptory aktywujące NKG2C i NKG2D. Mają one zdolność do oddziaływania z komórkami docelowymi, na powierzchni których dochodzi do ekspresji HLA-E, MICA i MICB należących do nieklasycznych cząsteczek MHC klasy I.

Geny kodujące zarówno klasyczne, jak i nieklasyczne cząsteczki MHC zlokalizowane są w regionie położonym na krótszym ramieniu chromosomu 6. Podobnie do klasycznych *loci*, geny kodujące nieklasyczne cząsteczki MHC klasy I cechują się znaczną zmiennością polimorficznością. Wyjątek stanowi *HLA-E*, którego allele *01:01 oraz *01:03 występują z częstością ok. 99% w ogólnej populacji, a ich rozkład jest niemal identyczny.

HLA-E jest ligandem dla dwóch receptorów; hamującego NKG2A oraz aktywującego NKG2C (kodowanych, odpowiednio, przez geny *KLRC1* oraz *KLRC2*). Pomimo strukturalnego podobieństwa obydwu receptorów, zdolność NKG2A do wiązania HLA-E jest ponad 6-krotnie większa, niż NKG2C, co spowodowane jest przez różnice reszt aminokwasowych w pozycjach 165-168 (dla NKG2C) oraz 167-170 (dla NKG2A). Spośród nieklasycznych *loci* MHC klasy I, największą zmiennością polimorficzną cechuje się *MICA*, dla którego odkrytych zostało ponad 100 alleli. *MICA* oraz *MICB* są ligandami dla receptora aktywującego NKG2D, którego obecność powiązana jest z cytolitycznymi i cytotoksycznymi właściwościami komórkami NK. Cząsteczki *MICA*/*MICB* oraz *HLA-E* mogą występować zarówno w postaci białek transbłonowych, jak i w macierzy zewnątrzkomórkowej w postaci rozpuszczalnej (ang. soluble, s; s*MICA*, s*MICB*, s*HLA-E*).

Wyniki uzyskane podczas przygotowania niniejszej rozprawy doktorskiej opisane zostały w trzech publikacjach oryginalnych. Omówione zostały w nich zagadnienia związane ze zmiennością polimorficzną genów kodujących receptory NKG2A (*KLRC1*), NKG2C (*KLRC2*) i NKG2D (*KLRK1*) oraz ich ligandy, cząsteczki *HLA-E*, *MICA* i *MICB*, jak również ekspresją powierzchniową omawianych receptorów na komórkach NK, a także poziomem rozpuszczalnych form ich ligandów w surowicy pacjentów.

Pierwsza z prac (Siemaszko i wsp. *Frontiers In Immunology*, 2023) skupia się na receptorach NKG2A oraz NKG2C oraz cząsteczce HLA-E, która jest ich wspólnym ligandem. Badania nad zmiennością genetyczną *NKG2A/KLRC1*, *NKG2C/KLRC2* i *HLA-E* wykazały, że u biorców chorych na ostrą białaczkę szpikową (ang. Acute Myeloid Leukaemia, AML) allel *NKG2A* rs7301582 C występuje rzadziej w porównaniu do grupy dawców. Pacjenci, u których doszło do rozwinięcia ostrej postaci GvHD o bardziej nasilonym przebiegu II-IV stopnia częściej charakteryzowali się obecnością delekcji zlokalizowanej w genie kodującym aktywujący receptor NKG2C, niż osoby u których nie wystąpiły objawy aGvHD lub rozwinęła się ona jedynie w łagodnym stopniu I.

W przypadku polimorfizmu rs1264457 w genie kodującym cząsteczkę HLA-E zaobserwowano, że występowanie niezgodności między dawcą i biorcą przeszczepu w allelach *HLA-E* u par w pełni zgodnych w zakresie klasycznych loci HLA (10/10) skutkuje podwyższonym ryzykiem rozwinięcia cGvHD, a także wystąpieniem infekcji CMV po przeszczepieniu. Nie zauważono natomiast związku pomiędzy brakiem zgodności w allelach *HLA-E*, a rozwinięciem aGvHD.

Kolejnym aspektem pracy było zbadanie czy stężenie rozpuszczalnej formy HLA-E w surowicy biorców, pobranej po HSCT, jest powiązane z wystąpieniem poprzyszczepowych powikłań. Wykazano, że zarówno biorcy, którzy rozwinęli przewlekłą, jak i ostrą chorobę GvH charakteryzują się zmniejszonym poziomem sHLA-E, w porównaniu do biorców, u których te komplikacje nie zostały zdiagnozowane. Dodatkowo, zauważono też znaczący wzrost poziomu sHLA-E w surowicy pobranej 90 dni po przeszczepieniu, w porównaniu do stężenia tego białka 30 dni po transplantacji.

Badania nad ekspresją receptora NKG2C na powierzchni komórek NK przeprowadzone zostały za pomocą cytometrii przepływowej. Wykazały one, że biorcy, u których rozwinęła się infekcja CMV charakteryzują się podwyższonym odsetkiem komórek NK NKG2C+ w dniu 60 oraz 90 po przeszczepieniu, w porównaniu do biorców, u których nie doszło do rozwinięcia infekcji. Podobne zależności zaobserwowano także w przypadku populacji komórek NK NKG2A-/NKG2C+. Dodatkowo, zaobserwowano pewne relacje pomiędzy wystąpieniem wariantów polimorficznych, a ekspresją powierzchniową receptora NKG2C. U pacjentów z obecnością co najmniej jednego allelu *NKG2A* rs7301582 T oraz z delekcją *NKG2C* zaobserwowano zmniejszony odsetek komórek NK NKG2C+ w porównaniu do pozostałych chorych po transplantacji.

Kolejna publikacja (Siemaszko i wsp. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2024) dotyczy genetycznej charakterystyki cząsteczki MICB, która jest jednym z ligandów aktywującego komórki NK receptora NKG2D. Badania nad zmiennością polimorficzną *MICB* wykazały, że w przypadku obydwu badanych polimorfizmów (rs1065075 oraz rs3828903), allele G występują ze zmniejszoną częstością u dawców, których biorcy rozwinęli przewlekłą postać choroby GvH. Natomiast obecność allelu *MICB* rs1065075 G u dawcy lub biorcy przeszczepu związana była z obniżonym ryzykiem rozwoju infekcji CMV. Zależność pomiędzy występowaniem allelu G w polimorfizmie *MICB* rs1065075, a rzadszym rozwojem infekcji CMV została dodatkowo potwierdzona z wykorzystaniem analizy wieloczynnikowej, która uwzględniała zmienne takie jak wiek biorcy, czy obecność przeciwciał anty-CMV w klasie IgG u dawcy i biorcy przed transplantacją. Badania nad znaczeniem rozpuszczalnej formy MICB przeprowadzone zostało z wykorzystaniem surowicy biorców pobranej 30 dni od przeprowadzenia procedury transplantacji komórek krwiotwórczych. Stwierdzono, że pacjenci, u których doszło do infekcji CMV lub u których zdiagnozowano przewlekłą postać GvHD charakteryzowali się podwyższonym poziomem rozpuszczalnej formy MICB w porównaniu do pacjentów, u których nie doszło do rozwoju tych komplikacji. Ponadto zaobserwowano, iż stężenie sMICB może być związane z obecnością specyficznych wariantów genetycznych *MICB*. Wyższe poziomy rozpuszczalnej formy MICB w surowicy występowały u pacjentów z homozygotycznym genotypem AA zarówno w przypadku polimorfizmu rs1065075, jak i rs3828903.

W ostatnim, nieopublikowanym manuskrypcie, wchodzącym w skład rozprawy, zostały omówione zagadnienia związane z cząsteczką MICA oraz receptorem aktywującym NKG2D. Badania nad rozpuszczalną formą MICA w surowicy pacjentów pobranej 30 i 90 dni po przeszczepieniu ujawniły, że stężenie sMICA wzrasta wraz z upływem czasu po HSCT. Podwyższony poziom rozpuszczalnej formy MICA został stwierdzony w surowicy biorców pobranej 30 dni po przeszczepieniu, u których zdiagnozowano zarówno ostrą, jak i przewlekłą postać GvHD. Zaobserwowano również, iż

stężenie rozpuszczalnej formy MICA może być związane z genotypem *MICA*. Pacjenci, u których wykryto co najmniej jeden allel rs1065075 G (genotypy AG oraz GG), a także pacjenci, których dawcy posiadali allel rs1065075 G, charakteryzowali się podwyższonym stężeniem rozpuszczalnej formy MICA w surowicy w porównaniu do osób, u których wykryto homozygotyczny genotyp AA.

U pacjentów ze zdiagnozowaną przewlekłą chorobą GvH ekspresja powierzchniowa receptora NKG2D na komórkach NK była podwyższona w dniu +60 i +90 od przeszczepienia w porównaniu do osób, u których nie wykryto tej choroby. Dodatkowo, odsetek komórek NKG2D⁺ NK różnił się u biorców w zależności od poziomu rozpuszczalnej formy MICA. Wyższe częstotliwości komórek NKG2D⁺ NK w +30 dniu po przeszczepieniu występowały u pacjentów, u których poziom rozpuszczalnej formy MICA w surowicy był niższy (*sMICA* < mediana).

Ponadto, stwierdzono potencjalne znaczenie prognostyczne polimorfizmu *NKG2D* rs1049174 w przypadku ryzyka rozwoju ostrej postaci choroby GvH. Rozkład genotypów polimorfizmu rs1049174 w grupie biorców bez lub z łagodnym stopniem I aGvHD był zbliżony do rozkładu genotypów w grupie kontrolnej, którą stanowiły zdrowe niespokrewnione osoby, dawcy krwi z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu. Istotne różnice zaobserwowano porównując biorców z bardziej nasiloną chorobą aGvH II-IV stopnia i osoby zdrowe z grupy kontrolnej lub biorców bez ostrej choroby aGvH II-IV stopnia.

Zwieńczeniem cyklu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej jest praca przeglądowa dotycząca opisu biologicznych i klinicznych właściwości receptora aktywującego NKG2C, a także jego oddziaływaniu z cząsteczką HLA-E, będącej wspólnym ligandem dla receptorów NKG2C i NKG2A (Siemaszko i wsp. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2023).

Wynik opisane w cyklu prac wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej wskazują na istotną rolę zmienności genetycznej i ekspresji powierzchniowej receptorów komórek NK z rodziny NKG2 w przebiegu procesu odnowy układu immunologicznego u pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepieniu komórek krwiotwórczych. Występowanie określonych wariantów genetycznych, predysponujących do rozwinięcia omawianych poprzyszczepowych powikłań może mieć znaczenie prognostyczne. Z kolei rozpuszczalne formy ligandów receptorów komórek NK, należące do nieklasycznych cząsteczek MHC klasy I, mają potencjalne znaczenie jako biomarkery rozwoju poprzyszczepowych komplikacji, takich jak ostra i przewlekła choroba GvH oraz infekcja CMV.

Summary

Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) is a curative procedure used as a treatment in haematological diseases or disorders, including blood cancers. In contrast to autologous, allogeneic HSCT is performed with the use of biologic material from donor specifically matched within the Major histocompatibility complex (MHC) with recipient. Despite high success rate, developing new conditioning and prophylaxis strategies, HSCT may still lead to development of some post-transplant complications. These complications include infections (bacterial, fungal and viral), graft rejection, relapse of the primary disease or Graft-versus-Host Disease (GvHD). One of the most common post-transplant complications is Cytomegalovirus (CMV) infection and GvHD, which can occur in two forms; acute and chronic. The proper reconstitution of immune system is critical for the success of HSCT.

Natural Killer (NK) cells are the first donor-derived lymphocytes, which are reconstituted in recipient organism after allogeneic HSCT. NK cells exhibit characteristics of both innate and adaptive immunity, making them a compelling subject of study. Proper functioning of NK cells is regulated by a set of activating and inhibitory receptors, which are located on their surface. One of the receptor groups is the C-type lectin-like NKG2 family members of which are inhibitory NKG2A and activating NKG2C and NKG2D. They can react with their target cells, which show surface expression of HLA-E, MICA and MICB, belonging to non-classical MHC class I molecules. Genes encoding for these molecules are localized within the MHC region on the short arm of chromosome 6. Similar to classical, non-classical MHC molecules are highly polymorphic. HLA-E molecule is an exception which polymorphism is mostly limited to two alleles (*01:01 and *01:03) present in the general population with almost 99% frequency and with a similar distribution. HLA-E is a ligand for two receptors; inhibitory NKG2A and activating NKG2C (encoding by *KLRC1* and *KLRC2* genes, respectively). Despite the structural similarity of both receptors, the HLA-E binding affinity of NKG2A is 6-fold higher than of NKG2C, which is caused by amino acid differences at positions 167-170 (for NKG2C) and 167-170 (for NKG2A). The most polymorphic molecule of non-classical MHC is MICA with over 100 alleles discovered. Both MICA and MICB are ligands for activating NKG2D receptor, which presence is associated with cytolytic and cytotoxic properties of NK cells. MICA/MICB and HLA-E molecules can be detected as transmembrane proteins as well as in their soluble forms (sMICA, sMICB, sHLA-E) in the extracellular matrix.

Results obtained for this doctoral dissertation are described in three publications (two published papers, one paper currently under review). These publications aimed to describe polymorphic diversity of genes encoding for NKG2A, NKG2C and NKG2D receptors as well as their ligands HLA-E, MICA and MICB molecules. They also examined the surface expression of NKG2 receptors on NK cells and the concentration of soluble forms of their ligands in serum samples.

The first paper focused on NKG2A and NKG2C receptors and their ligand, the HLA-E molecule. Studies on genetic distribution of *NKG2A/KLRC1*, *NKG2C/KLRC2* and *HLA-E* showed that HSCT recipients diagnosed with acute myeloid leukaemia (AML, which was the most common diagnosis in our study group) the *NKG2A* rs7301582 C allele was more frequently present when compared with the donor group. Recipients who developed acute GvHD in more severe II-IV grades were more frequently characterised with the presence of deletion localized within gene encoding for NKG2C activating receptor when compared with individuals without or diagnosed only with mild grade I aGvHD. As for the HLA-E molecule, its donor/recipient mismatch within the rs1264457 polymorphism was associated with a higher incidence of chronic GvHD and CMV infection when compared to fully HLA-matched (10/10) donor/recipient pairs. No association between HLA-E mismatch and acute GvHD development was observed. Next, the relationship between soluble HLA-E concentration in serum collected after HSCT and risk of development of post-transplant complications was checked. Measurements showed that recipients with chronic and acute GvHD are characterised with decreased sHLA-E level when compared with individuals

free of these complications. Additionally, increased serum sHLA-E was observed in samples collected 90 days after HSCT in comparison to samples collected at day +30 after transplantation. Analysis of surface expression of NKG2C receptor on the NK cells was performed with the use of flow cytometry. The results showed increased percentage of NKG2C+ NK cells in recipients diagnosed with post-transplant CMV infection at day +60 and +90 after HSCT in relation to individuals without infection. Similarly, the percentage of NKG2A-NKG2C+ NK cell population was increased in CMV-infected individuals. Furthermore, an association between genetic polymorphisms and surface expression of NKG2C receptor was observed. Among recipients carrying at least one *NKG2A* rs7301582 T and with the *NKG2C* deletion the percentage of NKG2C+ NK cells was decreased as compared with other recipients.

Second publication presented results of the studies on MICB molecule, which is one of the activating NKG2D receptor's ligands. Genetic variability studies showed that in both analysed polymorphisms (rs1065075 and rs3828903) the G allele was less frequently detected among donors for recipients who developed cGvHD. Additionally, the *MICB* rs1065075 G allele was less frequently present among donors for recipients with CMV infection. The same relationship was observed in the recipient group. This association was additionally confirmed by a multivariate analysis, which included recipient's age and the CMV IgG serostatus of both the donor and recipient prior to transplantation. Studies on serum sMICB was performed on samples collected 30 days after HSCT procedure. The obtained results showed that recipients who developed CMV infection or those who were diagnosed with cGvHD were characterised with increased level of serum sMICB, as compared to individuals free of these complications. Moreover, sMICB concentration could also be related with the presence of specific genetic variants. The homozygous AA genotype of both studied polymorphisms (rs1065075 and rs3828903) was associated with increased concentration of serum soluble MICB.

In the third, unpublished manuscript, the issues related to the MICA molecule and the activating NKG2D receptor were discussed. Studies on soluble MICA in serum collected 30 and 90 days after transplantation revealed that its concentration increased with time after HSCT. Increased level of sMICA was also detected at day +30 in recipients who were diagnosed with acute and chronic GvHD. A possible relationship between serum sMICA and *MICA* genetic variants was also observed. Recipients carrying at least one *MICA* rs1065075 G allele (genotypes AG and GG) as well as recipients whose donors were carriers of *MICA* rs1065075 G allele characterised with increased serum sMICA when compared to AA homozygous individuals. Among the recipients diagnosed with chronic GvHD, the NKG2D surface expression on NK cells was significantly increased at days +60 and +90 after HSCT. Furthermore, the percentage of NKG2D+ NK cells differed in recipients based on the sMICA concentration. Individuals with lower serum sMICA concentration (sMICA < median) were characterised with increased percentage of NKG2D+ NK cells 30 days after transplantation. *NKG2D* rs1049174 polymorphism showed potential prognostic properties in development of aGvHD. Genetic distribution of this SNP in recipients without or with mild grade I of aGvHD was similar to distribution in the control group (unrelated healthy volunteers from the Regional Centre of Transfusion Medicine and Blood Bank in Wrocław, Poland). Differences were observed when the healthy individuals and recipients without or only with mild grade I were compared with recipients who developed more severe grades II-IV of aGvHD.

Additionally, this doctoral dissertation includes a review paper on the activating NKG2C receptor. The paper describes the biological and clinical functions of the receptor as well as its interactions with HLA-E molecule, which is a common ligand for both NKG2A and NKG2C receptors.

The findings presented in this series of publications which are part of this doctoral dissertation highlight the significance of genetic variability and expression of NKG2 NK cell receptors in the reconstitution of immune system in recipients after allogeneic HSCT. Presence of specific genetic variants associated with development of post-transplant complications could be used as a prognostic factors. Soluble forms of NK cell receptors' ligands could potentially be used as a biomarkers for development of post-transplant complications such as GvHD or CMV infection.

Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy

1. Siemaszko, J., Łacina, P., Szymczak, D., Szeremet, A., Majcherek, M., Czyż, A., Sobczyk-Kruszelnicka, M., Fidyk, W., Solarska, I., Nasiłowska-Adamska, B., Skowrońska, P., Bieniaszewska, M., Tomaszewska, A., Basak, G. W., Giebel, S., Wróbel, T., & Bogunia-Kubik, K. (2023). Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. *Frontiers in Immunology*, 14, 1227897. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1227897> - praca oryginalna
2. Siemaszko, J., Dratwa, M., Szeremet, A., Majcherek, M., Czyż, A., Sobczyk-Kruszelnicka, M., Fidyk, W., Solarska, I., Nasiłowska-Adamska, B., Skowrońska, P., Bieniaszewska, M., Tomaszewska, A., Basak, G. W., Giebel, S., Wróbel, T., & Bogunia-Kubik, K. (2024). MICB Genetic Variants and Its Protein Soluble Level Are Associated with the Risk of Chronic GvHD and CMV Infection after Allogeneic HSCT. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012> - praca oryginalna
3. Siemaszko, J., Łacina, P., Szymczak, D., Szeremet, A., Majcherek, M., Czyż, A., Sobczyk-Kruszelnicka, M., Fidyk, W., Solarska, I., Nasiłowska-Adamska, B., Skowrońska, P., Bieniaszewska, M., Tomaszewska, A., Basak, G. W., Giebel, S., Wróbel, T., & Bogunia-Kubik, K. (2024). Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Human Immunology* praca przyjęta do druku
4. Siemaszko, J., Marzec-Przyszlak, A., & Bogunia-Kubik, K. (2023). Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 71(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s00005-023-00674-z> - praca przeglądowa

Oświadczenia Współautorów

mgr Jagoda Siemaszko

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań



(Podpis współautora)

dr Piotr Łacina

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań



(Podpis współautora)

dr n. med. Donata Szymczak
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:
Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897
jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Donata Symonak

dr n. med. Agnieszka Szeremet
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



dr Maciej Majcherek
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



prof. dr hab. n. med. Anna Czyż
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

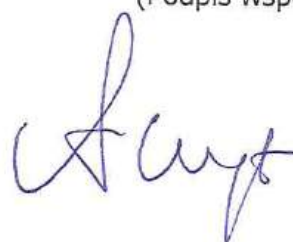
Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr n. med. Wojciech Fidyk
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr n. med. Iwona Solarska
Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

dr hab. n. med. Barbara Nasiłowska - Adamska
Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

B. Nasiłowska-Adamska

mgr Patrycja Skowrońska
Bank Tkanek i Komórek
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Patrycja Skowrońska

dr hab. n. med. Maria Bieniaszewska
Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

dr n. med. Agnieszka Tomaszewska

Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

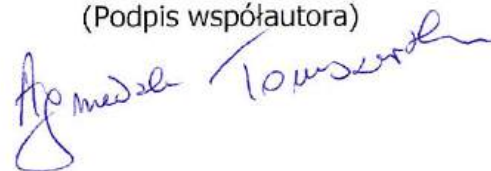
jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


 dr. med. Agnieszka Tomaszewska
 Specjalista chorób wewnętrznych
 Internista, Internista
 i Transplantologii Klinicznej
 1637100

(Podpis współautora)


 Agnieszka Tomaszewska

Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. Med. Grzegorz Władysław Basak
Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób
Wewnętrznych, Wydział Lekarski,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

prof. dr hab. n. med. Grzegorz W. Basak
 Specjalista chorób wewnętrznych
 hematologii i transplantacji klinicznej



Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Sebastian Giebel
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Tomasz Wróbel
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in Immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik, Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, *Frontiers in immunology*, 14, 2023, 1227897

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sHLA-E w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

mgr Jagoda Siemaszko

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

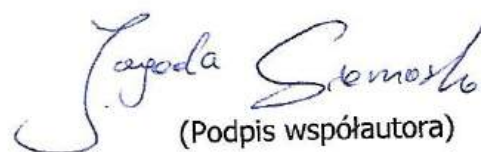
Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr n. med. Marta Dratwa-Kuzmin

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

Marta Drotos-Kuźniak

(Podpis współautora)

dr n. med. Agnieszka Szeremet
 Katedra i Klinika Hematologii,
 Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
 Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

dr Maciej Majcherek
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



prof. dr hab. n. med. Anna Czyż
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

M. Jobczyk-Kronebich

(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Wojciech Fidyk
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

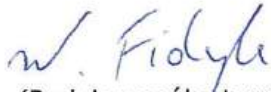
Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr n. med. Iwona Solarska
Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



dr hab. n. med. Barbara Nasiłowska - Adamska
Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

B. Bieniaszewska

mgr Patrycja Skowrońska
Bank Tkanek i Komórek
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Patrycja Skowrońska

dr hab. n. med. Maria Bieniaszewska
Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:
Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>
jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

dr n. med. Agnieszka Tomaszewska

Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

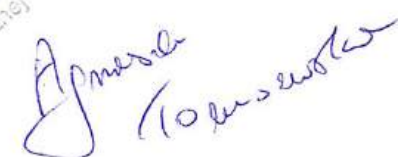
Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


 (Podpis współautora)

 dr n. med. Agnieszka Tomaszewska
 specjalista chorób wewnętrznych
 Internista, kardiolog, kardiolog
 i internista kliniczny
 1897160

prof. dr hab. Med. Grzegorz Władysław Basak
Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób
Wewnętrznych, Wydział Lekarski,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

prof. dr hab. n. med. Grzegorz W. Basak
 Specjalista chorób wewnętrznych
 hematologii i transfuzjologii klinicznej



Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Sebastian Giebel
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Tomasz Wróbel

Katedra i Klinika Hematologii,

Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Signed by /
Podpisano przez:
Tomasz Wróbel

Date / Data:
2024-09-15
10:03

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

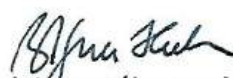
Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Marta Dratwa, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel, and Katarzyna Bogunia-Kubik, MICB genetic variants and its soluble level are associated with the risk of chronic GvHD and CMV infection after allogeneic HSCT, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Marta Dratwa	oznaczenie stężenia sMICB w surowicy pacjentów
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

mgr Jagoda Siemaszko

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr Piotr Łacina

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań



(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Donata Szymczak
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Donata Symonak

dr n. med. Agnieszka Szeremet
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Agnieszka Tomaszewska

dr Maciej Majcherek
 Katedra i Klinika Hematologii,
 Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
 Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

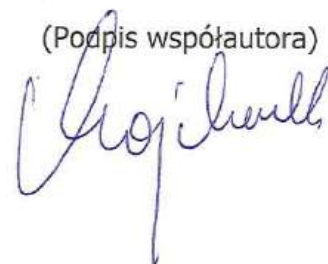
Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



prof. dr hab. n. med. Anna Czyż
Katedra i Klinika Hematologii,
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

dr n. med. Wojciech Fidyk
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

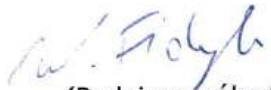
Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

dr n. med. Iwona Solarska

Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,

Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

dr hab. n. med. Barbara Nasiłowska - Adamska
Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Śkowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

B. Nasiłowska-Adamska

mgr Patrycja Skowrońska
Bank Tkanek i Komórek
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

Patrycja Skowrońska

dr hab. n. med. Maria Bieniaszewska
Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

dr n. med. Agnieszka Tomaszewska

Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

dr n. med. Agnieszka Tomaszewska
specjalista chorób wewnętrznych
Hematologia i Onkologia
1597 160

(Podpis współautora)

Agnieszka Tomaszewska

Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. Med. Grzegorz Władysław Basak
Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób
Wewnętrznych, Wydział Lekarski,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)

prof. dr hab. n. med. Grzegorz W. Basak
Specjalista chorób wewnętrznych
hematologii i transplantologii klinicznej
1883664

Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Sebastian Giebel
Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii,
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie,
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. n. med. Tomasz Wróbel

Katedra i Klinika Hematologii,

Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań

(Podpis współautora)



Signed by /
Podpisano przez:

Tomasz Wróbel

Date / Data:
2024-09-15
10:03

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik
 Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki
 Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
 im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Piotr Łacina, Donata Szymczak, Agnieszka Szeremet, Maciej Majcherek, Anna Czyż, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Wojciech Fidyk, Iwona Solarska, Barbara Nasiłowska-Adamska, Patrycja Skowrońska, Maria Bieniaszewska, Agnieszka Tomaszewska, Grzegorz W. Basak, Sebastian Giebel, Tomasz Wróbel and Katarzyna Bogunia-Kubik. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, manuskrypt nieopublikowany, złożony do redakcji

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	przeprowadzenie genotypowania oraz oznaczenie stężenia sMICA w surowicy pacjentów, opracowanie wyników i przeprowadzenie analizy statystycznej, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, opracowanie rycin, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu
Piotr Łacina	udział w przeprowadzeniu analizy statystycznej, edycja tekstu oraz finalizacja manuskryptu
Donata Szymczak	przeprowadzenie eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i opracowanie wyników
Agnieszka Szeremet	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maciej Majcherek	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Anna Czyż	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Wojciech Fidyk	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Iwona Solarska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych

Barbara Nasiłowska-Adamska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Patrycja Skowrońska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Maria Bieniaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Agnieszka Tomaszewska	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Grzegorz W. Basak	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Sebastian Giebel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Tomasz Wróbel	pozyskanie materiału klinicznego do badań, opis par dawca-biorca, gromadzenie i ocena danych klinicznych
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem pracy, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i finalizacja publikacji, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem oraz zapewnienie środków na przeprowadzenie badań


(Podpis współautora)

mgr Jagoda Siemaszko

Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Aleksandra Marzec-Przyszlak, Katarzyna Bogunia-Kubik, Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2023, 71(1), 9

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	udział w opracowaniu koncepcji pracy, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu, przygotowanie schematów
Aleksandra Marzec-Przyszlak	przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja tekstu, przygotowanie schematów
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem manuskryptu, edycja i finalizacja manuskryptu, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem


(Podpis współautora)

mgr inż. Aleksandra Marzec-Przyszlak

Zabrze, 12.09.2024r.

Politechnika Śląska

Wydział Inżynierii Biomedycznej

Katedra Informatyki Medycznej i Sztucznej Inteligencji

ul. Roosevelta 40, 41-800 Zabrze

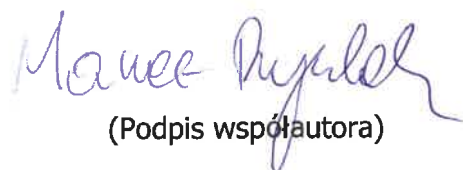
Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

Jagoda Siemaszko, Aleksandra Marzec-Przyszlak, Katarzyna Bogunia-Kubik, Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2023, 71(1), 9

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	udział w opracowaniu koncepcji pracy, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu, przygotowanie schematów
Aleksandra Marzec-Przyszlak	przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja tekstu, przygotowanie schematów
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem manuskryptu, edycja i finalizacja manuskryptu, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem


(Podpis współautora)

Wrocław, 13.09.2024

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik
Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk

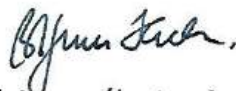
Oświadczenie

Oświadczam, że mój udział w następującej pracy:

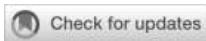
Jagoda Siemaszko, Aleksandra Marzec-Przyszlak, Katarzyna Bogunia-Kubik, Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2023, 71(1), 9

jest prawidłowo scharakteryzowany w poniższej tabeli.

Autor	Opis udziału własnego
Jagoda Siemaszko	udział w opracowaniu koncepcji pracy, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja i opracowanie końcowej wersji manuskryptu, przygotowanie schematów
Aleksandra Marzec-Przyszlak	przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, edycja tekstu, przygotowanie schematów
Katarzyna Bogunia-Kubik	opracowanie koncepcji pracy, nadzór nad przygotowaniem manuskryptu, edycja i finalizacja manuskryptu, korekta i akceptacja końcowej wersji manuskryptu, zarządzanie projektem


(Podpis współautora)

Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications
after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells



OPEN ACCESS

EDITED BY

Michael Uhlin,
Karolinska Institutet, Sweden

REVIEWED BY

Roberto Littera,
R. Binaghi Hospital, Italy
Rafael Tomoya Michita,
Baylor College of Medicine, United States

*CORRESPONDENCE

Katarzyna Bogunia-Kubik
✉ katarzyna.bogunia-kubik@hirsfeld.pl

RECEIVED 23 May 2023

ACCEPTED 15 September 2023

PUBLISHED 13 October 2023

CITATION

Siemaszko J, Łacina P, Szymczak D,
Szeremet A, Majcherek M, Czyż A,
Sobczyk-Kruszelnicka M, Fidyk W,
Solarska I, Nasiłowska-Adamska B,
Skowrońska P, Bieniaszewska M,
Tomaszewska A, Basak GW, Giebel S,
Wróbel T and Bogunia-Kubik K (2023)
Significance of HLA-E and its two NKG2
receptors in development of complications
after allogeneic transplantation of
hematopoietic stem cells.
Front. Immunol. 14:1227897.
doi: 10.3389/fimmu.2023.1227897

COPYRIGHT

© 2023 Siemaszko, Łacina, Szymczak,
Szeremet, Majcherek, Czyż,
Sobczyk-Kruszelnicka, Fidyk, Solarska,
Nasiłowska-Adamska, Skowrońska,
Bieniaszewska, Tomaszewska, Basak, Giebel,
Wróbel and Bogunia-Kubik. This is an open-
access article distributed under the terms of
the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
(CC BY). The use, distribution or
reproduction in other forums is permitted,
provided the original author(s) and the
copyright owner(s) are credited and that
the original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells

Jagoda Siemaszko¹, Piotr Łacina¹, Donata Szymczak²,
Agnieszka Szeremet², Maciej Majcherek², Anna Czyż²,
Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka³, Wojciech Fidyk³,
Iwona Solarska⁴, Barbara Nasiłowska-Adamska⁴,
Patrycja Skowrońska⁵, Maria Bieniaszewska⁶,
Agnieszka Tomaszewska⁷, Grzegorz W. Basak⁷,
Sebastian Giebel³, Tomasz Wróbel²
and Katarzyna Bogunia-Kubik^{1*}

¹Laboratory of Clinical Immunogenetics and Pharmacogenetics, Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland, ²Department of Hematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland, ³Department of Bone Marrow Transplantation and Hematology-Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice, Poland, ⁴Institute of Hematology and Blood Transfusion Medicine, Warsaw, Poland, ⁵Cell and Tissue Bank, University Medical Center in Gdansk, Gdansk, Poland, ⁶Department of Hematology and Transplantation, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland, ⁷Department of Hematology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

Transplantation of hematopoietic stem cells (HSCT) is a procedure commonly used in treatment of various haematological disorders which is associated with significantly improved survival rates. However, one of its drawbacks is the possibility of development of post-transplant complications, including acute and chronic graft-versus-host disease (GvHD) or CMV infection. Various studies suggested that NK cells and their receptors may affect the transplant outcome. In the present study, patients and donors were found to significantly differ in the distribution of the *NKG2A* rs7301582 genetic variants – recipients carried the C allele more often than their donors (0.975 vs 0.865, $p < 0.0001$). Increased soluble HLA-E (sHLA-E) levels detected in recipients' serum 30 days after transplantation seemed to play a prognostic and protective role. It was observed that recipients with higher sHLA-E levels were less prone to chronic GvHD (11.65 vs 6.33 pg/mL, $p = 0.033$) or more severe acute GvHD grades II-IV (11.07 vs 8.04 pg/mL, $p = 0.081$). Our results also showed an unfavourable role of HLA-E donor-recipient genetic incompatibility in CMV infection development after transplantation (OR=5.92, $p = 0.014$). Frequencies of NK cells (both CD56dim and CD56bright) expressing NKG2C were elevated in recipients who developed CMV, especially 30 and 90 days post-transplantation ($p < 0.03$). Percentages of NKG2C+ NK cells lacking NKG2A expression were also increased in these patients. Moreover, recipients carrying a *NKG2C* deletion

characterized with decreased frequency of NKG2C+ NK cells ($p < 0.05$). Our study confirms the importance of NK cells in the development of post-transplant complications and highlights the effect of HLA-E and NKG2C genetic variants, sHLA-E serum concentration, as well as NKG2C surface expression on transplant outcome.

KEYWORDS

HSCT, NK cells, NK cell receptors, NKG2A, NKG2C, HLA-E, sHLA-E, transplant outcome

Introduction

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a standard form of treatment for patients diagnosed with haematological disorders, including malignancies. Even though it is a common procedure, it may lead to development of serious complications, such as graft-versus-host disease (GvHD), which may occur in an acute (aGvHD) or chronic (cGvHD) form. Acute GvHD is initiated as a reaction of donor cells towards tissues of the recipient. It affects skin, gut, lung and liver depending on the severity of the disease, which is graded I to IV. Chronic GvHD has a different pathogenesis and can affect more organs than aGvHD (1, 2). Aside from GvHD, another type of post-transplant complications is viral infections, particularly those caused by Herpesviridae such as cytomegalovirus (CMV) or Epstein-Barr virus (EBV). Asymptomatic, latent CMV infections are extremely common, with as many as 50% of people being seropositive for CMV (3). However, CMV reactivation may be life-threatening in immunocompromised persons, such as post-HSCT patients (4).

Natural killer (NK) cells, as the first donor-delivered lymphocytes to reconstitute after HSCT, have protective properties against GvHD with a simultaneous ability to induce a graft-versus-leukaemia (GvL) effect (5–7). NK cells are orchestrated by a wide set of activating and inhibitory receptors, whose ligands are classical and non-classical Major Histocompatibility Complex (MHC) molecules, e.g. HLA-E. In contrast to other MHC molecules, HLA-E is very conserved and its polymorphism is mostly limited to two major alleles, *01:01 and *01:03, comprising over 99% of allele frequency globally (8). Both of these alleles are distributed with similar frequencies and differ in a single Arg/Gly substitution in position 107. Other *HLA-E* alleles exist, although they are extremely rare. Some of these alleles also characterize with alternative substitutions in position 107 (e.g. *HLA-E**01:48, with allele frequency of 0.0007%) (9). HLA-E serves as a ligand for two NKG2 receptors, inhibitory NKG2A and activating NKG2C (encoded by the *KLRC1* and *KLR2C* genes, respectively). It can also be secreted in a soluble form (sHLA-E). This soluble form may play a role in immune regulation (10), and sHLA-E levels are increased in various cancers and autoimmune diseases (11–14). HLA-E:NKG2A/C interactions are essential for balancing the NK cell reactivity (15). Despite the molecular and structural similarities of these two receptors, HLA-E binds NKG2A with 6-fold higher

affinity, what helps to monitor the expression of the MHC class I molecules on normal cells (16). NKG2C expression is low in immature NK cells, and then subsequently increases during maturation, while NKG2A expression concurrently decreases (17). A specific subset of NKG2C+ cells has been observed to expand in response to cytomegalovirus (CMV) reactivation, but not other viral infections such as EBV. These cells can function like adaptive memory cells, and, if transplanted from CMV seropositive donors, exhibit a heightened response to a secondary CMV event (18–21). They persist for a long time after infection and lack NKG2A expression (20). NKG2C+ NK cells were also observed to interact with CMV-specific CD8+ T cells to combat CMV infection (22). Both NKG2A and NKG2C are minimally polymorphic compared to classical HLA genes. There are several rarely studied single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *NKG2C* gene, some of which are located in coding regions, associated with three alleles designated as *NKG2C**01, *NKG2C**02 and *NKG2C**03 (23, 24). In contrast, a major NKG2C deletion resulting in a loss of expression or reduced expression (in homo- and heterozygotes, respectively) has been far better studied and is well known for its importance in viral infections (25). As reported in many studies (26–28), patients carrying at least one *del* variant are more susceptible for CMV (especially reactivation after HSCT), and HIV infections, nonetheless the studies are not always consisted (29). It has been recently suggested that the *NKG2C* deletion may also increase risk for SARS-CoV-2 infections, although this seems to require further validation (30).

The selected *HLA-E* rs1264457 SNP is localized in the third exon. It results in a T (*01:01)/C (*01:03) nucleotide substitution associated with Gly to Arg amino acid exchange. The selected polymorphism for the NKG2A inhibiting receptor was rs7301582, an intronic C/T substitution. Both SNPs (*HLA-E* rs1264457 and *NKG2A* rs7301582) have also been studied in our recent study on post-transplant complications in paediatric HSCT recipients (31), while in our previous work on patients with inflammatory (rheumatoid) arthritis, they were described to be associated with response to anti-TNF treatment (32, 33). Another authors investigated these two SNPs in their studies, as e.g. Kordelas et al., who proved a protective effect of *HLA-E**01:03 homozygosity in overall survival after HSCT (34, 35).

We hypothesize that HLA-E, NKG2A and NKG2C expression and polymorphism play a role in the development of complications after HSCT in a Polish population. Various studies previously described the

role of HLA-E and NKG2A/C polymorphisms in different population groups, although their results were not always consistent (28, 36–44). In our present study, we aimed to determine the role of *HLA-E* genetic polymorphism and soluble HLA-E concentration, as well as *NKG2A* and *NKG2C* gene polymorphisms and protein expression within the NK cells in the development of post-transplant complications in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells.

Materials and methods

The study group consisted of 200 HSCT recipients (aged 19-73) and 104 of their donors treated in five Polish transplantation centres. Patients were assigned for allogeneic HSCT according to European Society for Blood and Marrow Transplantation criteria. Exclusion criteria were: age < 18 years old, high Haematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index (HCT CI), and Karnofsky index < 80%. The most common haematological disease was acute myeloid leukaemia (AML), diagnosed in 42.5%, followed by acute lymphoblastic leukaemia (ALL), diagnosed in 13.5% of recipients. The patients characteristics and transplant details are presented in Table 1. Recipients and donors were genotyped at high resolution level for at least 5 HLA loci (HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1). This study complies with the Declaration of Helsinki and was approved by the Wroclaw Medical University Ethics Committee (identification code KB-561/2019).

TABLE 1 Patients’ characteristics and transplant details.

Clinical data	Number of patients
N	200
Age median (range)	52 (19-73)
Recipient sex	
M/F	117/83 (58.50%/41.50%)
Diagnosis	
AML	85 (42.5%)
ALL	27 (13.5%)
MDS	24 (12%)
MPN	18 (9%)
NHL	17 (8.5%)
HL	9 (4.5%)
PCM	6 (3%)
Other	14 (7%)
Type of donor	
MUD	45 (22.5%)
MMUD	13 (6.5%)
MSD	96 (48%)

(Continued)

TABLE 1 Continued

Clinical data	Number of patients
haploidentical	56 (28%)
Donor/Recipient sex match	
M/M	88 (44%)
M/F	47 (23.5%)
F/M	28 (14%)
F/F	33 (16.5%)
Donor/Recipient CMV status match	
+/+	130 (65%)
+/-	16 (8%)
-/+	35 (17.5%)
-/-	19 (9.5%)
Conditioning	
MAC	107 (53.5%)
RIC	86 (43%)
NMA	3 (1.5%)
Post-transplant complications	
aGvHD grades I-IV	81 (40.5%)
aGvHD grades II-IV	42 (21%)
cGvHD	42 (21%)
CMV infection	81 (40.5%)
Relapse	23 (11.5%)
Death	23 (11.5%)

AML, acute myeloid leukaemia; ALL, acute lymphoblastic leukaemia; MDS, Myelodysplastic Syndrome; MPN, myeloproliferative neoplasm; PCM, plasma cell myeloma; HNL, non-Hodgkin lymphoma; HL, non-Hodgkin lymphoma; Other (including Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria; Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm); MUD, matched unrelated donor; MMUD, mismatched unrelated donor; MSD, matched sibling donor; MAC, myeloablative conditioning; RIC, reduced intensity conditioning; NMA, non-myeloablative conditioning; CMV, cytomegalovirus.

Soluble HLA-E measurement

Serum from 102 recipients was used for measurement of sHLA-E concentration. Serum sHLA-E was measured with use of the commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (ELK Biotechnology, USA, Cat.No. ELK2168). Experiment was performed following the manufacturer’s protocol. Absorbance was measured at $\lambda=450\text{nm}$ using Sunrise microplate reader (Tecan, Switzerland).

SNP genotyping

For the genetic studies, whole blood of the HSCT recipients and their donors was collected into ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes. Genomic DNA extraction was performed using NucleoSpin Blood kit (MACHEREY-NAGEL, Germany, Cat.No.

740951.50) following the manufacturer's protocol. Two single nucleotide polymorphisms were chosen based on literature analysis and the online SNPinfo Web Server prediction tool (45). SNPs detection was performed with the use of LightSNiP assays (TibMOLBIOL, Switzerland) and carried out in a LightCycler 480 II instrument (Roche Applied Science, Germany) with melting curves analyses. A negative control using PCR-grade water instead of DNA was included in all experiments.

NKG2C deletion

The *NKG2C/KLRC2* *wt/del* variants were determined using PCR-SSP with two pairs of oligonucleotides as previously described (46, 47). First pair of primers (KLRdelf 5'-ACTCGGATTTCTATTGATGC-3' and KLRdelfR 5'-ACAAGTGATGTATAAGAAAAAG-3') is specific for *NKG2C* deletion while second pair (KLRFg669 5'-CAGTGTGGATCTTCAATG-3' and KLRR+135 5'-TTTAGTAATTGTGTGCATCCTA-3') amplifies in the presence of *NKG2C* gene. The PCR was performed with the use of Multiplex Master Mix (EURx, Poland, Cat. No. E2820-01) at following conditions: 10 min of initial denaturation at 95°C, then 40 cycles of 30s denaturation at 94°C, 90s annealing at 56°C and 30s extension at 72°C, then 7min of final extension at 68°C. For *NKG2C* *wt/del* detection 10 µl of final PCR products were electrophoresed in 2% agarose gels with 1x TBE buffer stained with SimplySafe™ (EURx, Poland, Cat.No. E0301-100, E0230-01 and E4600-01) and then visualized by the UV exposure.

Flow cytometry analysis

For the flow cytometer analysis, 10 mL of peripheral blood, collected in EDTA tubes (BD), was used. Recipients' blood was collected before HSCT and at four time points after transplantation; +21, +30, +60 and +90 days. Cells were surface stained in one eight-colour tube. The following mouse anti-human monoclonal antibodies, all purchased from Becton Dickinson and Company (BD), San Jose, CA, were used for analysis: CD94 (BD Pharmingen™ FITC, Clone HP-3D9, Cat.No. 555888), NKG2C (CD159c, BD OptiBuild™ BB700, Clone 134591, Cat.No. 748162), CD56 (BD Pharmingen™ APC, Clone B159, Cat.No. 555518), CD3 (BD Pharmingen™ APC-H7, Clone SK7, Cat.No. 560176), NKG2A (CD159a, BD OptiBuild™ BV421, Clone 131411, Cat.No. 747924), CD16 (BD Horizon™ V500, Clone 3G8, Cat.No. 561393) Lysing solution BD was used for lysing (diluted 10 times). The evaluation of nucleated cells was carried out on an 8-color FACS Canto II flow cytometer (BD).

The gating strategy for the assessment of NKG2 receptor on NK cells is shown below (Figure 1).

Statistical analysis

Genotype and allele frequencies of studied SNP's were calculated using the Fisher's exact test. For analyses related to sHLA-E concentration, the nonparametric Mann-Whitney test for continuous variables was used. Logistic regression model was

used for multivariate analysis of CMV infection risk. Programs used for data visualisations were RStudio v.4.2 and GraphPad Prism v.5.0. The flow cytometer data were analysed with the use of BD FACSDiva software v8.0.0. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. All alleles were in the Hardy Weinberg equilibrium, both in recipients and in donors.

Results

Donor-recipient genotyping – differences in *NKG2A* genotype distribution between patients and donors

Frequency of recipient and donor genotypes and alleles are shown in Table 2. Donors and HSCT recipients did not differ in genotype or allele distribution of *HLA-E* rs1264457 polymorphism and *NKG2C* *wt/del* variants. A significant difference was seen in genotype distribution of *NKG2A* rs7301582 polymorphism between recipients and donors. Recipients carried the CC genotype (65.5% vs 49.04%, OR=1.97; 95%CI 1.218 – 3.197, p<0.0001) and C allele (97.50% vs 86.54%, OR=2.09, 95%CI 1.424-3.077, p<0.0001) more frequently than their donors. The latter relationship was also seen when the patients with AML and group of healthy donors were considered. The patients diagnosed with AML (85 recipients, 42.5% of all patients) characterized with decreased frequency of *NKG2A* rs7301582 T allele when compared to donor group (35.29% vs 50.96%, p=0.039) (Figure 2).

Donor-recipient matching – role of *HLA-E* mismatch

Interestingly, donor-recipient *HLA-E* matching seems to have an impact on HSCT outcome. Among 60 10/10 *HLA* matched donor/recipient pairs, 7 pairs were mismatched in regards to the *HLA-E* rs1264457 SNP. We observed that the CMV infection occurred more frequently among recipients transplanted with *HLA-E* mismatched donors (5/7 cases, 71.43%) than after *HLA-E* matched transplantation (11/53, 20.75%, p=0.013, Figure 3A). A model using multivariate logistic regression including *NKG2C* genotype, *HLA* mismatch, donor and recipient CMV status, donor and recipient sex as well as age showed that *HLA-E* mismatch is an independent marker of CMV infection (p=0.014, OR=5.92, 95%CI 1.57 – 29.22). Furthermore, this analysis also confirmed the prognostic value of recipient CMV status (p=0.003, OR=35.90, 95%CI 4.89 – 812.49).

No associations were observed in analyses performed separately for AML and ALL patients (p>0.05). Interestingly, symptoms of chronic GvHD were observed among recipients with *HLA-E* mismatched donors more frequently (3/7 cases, 42.86%) than among matched pairs (11/53 cases, 20.75%), however, this difference did not reach statistical significance (p=0.339, Figure 3B). No associations between *HLA-E* compatibility and the risk of acute GvHD were observed (Figure 3C).

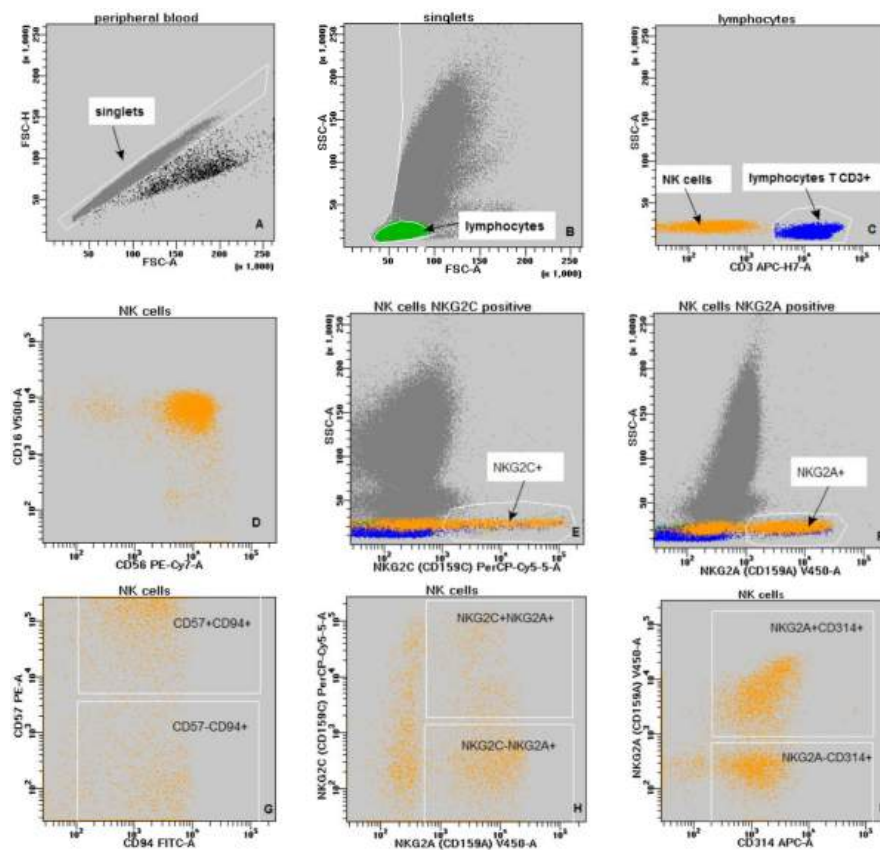


FIGURE 1

The gating strategy (A–G): grey - singlets; green - lymphocytes; blue - lymphocytes T CD3+; orange - NK cells. (A) - discrimination of doublets (FSC-A vs. FSC-H); (B) - discrimination of debris and lymphocytes gating; (FSC-A vs. SSC-A); (C) - lymphocyte subpopulations: lymphocytes T CD3+ (blue) and NK cells (orange) - (CD3 vs. SSC-A); (D) - NK cells (CD56 vs. CD16); (E) - NK cells NKG2C positive (NKG2C vs. SSC-A); (F) - NK cells NKG2A positive (NKG2A vs. SSC-A); (G) - NK cells double positive CD94+CD57+ (CD94 vs. CD57); (H) - NK cells double positive NKG2A+NKG2C+ (NKG2A vs. NKG2C); (I) - NK cells double positive CD314+NKG2A+ (CD314 vs. NKG2A).

Serum sHLA-E concentration

For the soluble HLA-E level measurements, 102 samples of serum collected 30 days after HSCT were used. Median serum sHLA-E concentration in the recipient group was 9.92 pg/mL (Table 3). The HSCT recipients diagnosed with cGvHD characterized with significantly decreased sHLA-E level in comparison to those without cGvHD symptoms (6.33 vs 11.65 pg/mL, $p=0.033$, Figure 4A). In recipients suffering from aGvHD grades II-IV, median sHLA-E level was also decreased when compared to the recipients without aGvHD symptoms or diagnosed with mild grade I, but this difference was not statistically significant (8.04 vs 11.07 pg/mL, $p=0.081$, Figure 4B).

An additional analysis of sHLA-E concentration was performed on 40 serum samples collected from patients 90 days after transplantation. The median serum sHLA-E concentration equalled 29.20 pg/mL 90 days after transplantation. No differences were found in sHLA-E levels measured in this time point between patients having and lacking various post-transplant complications (Table 3). This included 30 patients from whom the samples were also collected 30 days after HSCT. In this group of patients we observed a significant increase in sHLA-E level at day 90

after transplantation as compared to day 30 (9.93 vs 29.31 pg/mL, $p<0.001$, Figure 5). Similar difference was seen when we compared all the samples collected at 30 ($n=102$) and 90 ($n=40$) day after HSCT (9.92 vs 29.20 pg/mL, $p<0.001$). No associations were seen when sHLA-E serum concentration was compared to the results of *HLA-E* rs1264457 genotyping.

NKG2C deletion and sHLA-E serum level

The NKG2C deletion analysis showed that patients diagnosed with more severe aGvHD grades II-IV carried the *del* variant more frequently. Recipients who did not develop aGvHD or were diagnosed with grade I of the disease, characterised with decreased frequency of the *del* variant which was detected more often in patients with severe II-IV aGvHD (25.93% vs 51.61%, $p=0.003$, Figure 6).

Interestingly, a potential relationship between the NKG2C genotype and sHLA-E serum concentration was observed. Recipients carrying at least one NKG2C *del* allele (*wt/del* or *del/del* genotypes) seemed to characterize with increased sHLA-E levels. Their median serum sHLA-E concentration was 15.248 pg/mL,

TABLE 2 Distribution of genetic variants in patients and HSCT donors.

		Recipients (N=200)	Donors (N=104)	P value
NKG2A rs7301582				
genotypes	CC	131(65.50%)	51 (49.04%)	< 0.0001 ¹
	CT	64 (32.00%)	39 (37.50%)	
	TT	5 (2.50%)	14 (13.46%)	
alleles	C	326 (81.50%)	141 (67.79%)	< 0.0001
	T	74 (18.50%)	67 (32.21%)	
HLA-E rs1264457				
genotypes	CC	37 (18.5%)	21 (20.19%)	0.759 ² 0.900 ³
	CT	92 (46%)	47 (45.19%)	
	TT	71 (35.5%)	36 (34.62%)	
alleles	C	166 (41.5%)	89 (42.79%)	0.795
	T	234 (58.5%)	119 (57.21%)	
NKG2C deletion				
genotypes	wt/wt	134 (67%)	72 (69.23%)	0.701 ⁴ 1 ⁵
	wt/del	63 (31.5%)	29 (27.88%)	
	del/del	3 (1.5%)	3 (2.88%)	
alleles	wt	331 (82.75%)	173 (83.17%)	0.910
	del	69 (17.25%)	35 (16.83%)	

¹CC/CT vs TT and CC vs CT/TT; ²CC vs CT/TT; ³CC/CT vs TT; ⁴wt/wt+wt/del vs del/del; ⁵wt/wt vs wt/del + del/del.

while in *wt/wt* homozygotes this value equalled 9.923 pg/mL ($p=0.332$).

Expression of NKG2C on NK cells

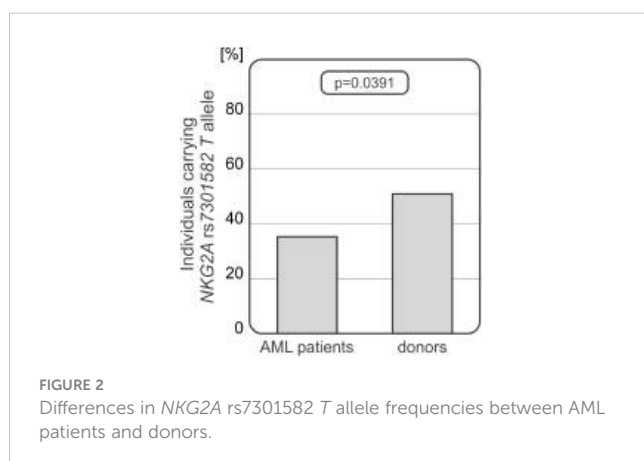
Peripheral blood of 28 HSCT recipients was used for flow cytometry analysis of NK cells expressing NKG2A and NKG2C. The analysis focused on all NK cells as well as their subsets (NK CD56dim and NK CD56bright cells), based on expression of CD3, CD16 and CD56 markers. Differences in expression of NKG2 receptors were assessed and compared at various time points

before (day 0) and after (days +21, +30, +60 and +90) transplantation and related with the transplant outcome. Some statistically significant associations were detected with respect to the development of CMV infection and the frequency of NK cells expressing NKG2C. The average onset of CMV infection in this cohort was 44 days after HSCT.

Recipients presented with a higher frequency of NK cells directly after HSCT, which decreases over time with a simultaneous increase of T cell percentage. As expected the frequency of NK CD56bright cells was higher than that observed of the NK CD65dim subpopulation (Figure 7).

The frequency of NKG2C+ NK cells was significantly higher in recipients who developed CMV infection after HSCT (Figures 8A–C). At days +60 and +90 day after HSCT, recipients with CMV infection ($n=13$) characterized with increased frequency of NKG2C+ cells compared to individuals without infection ($n=15$). This association was observed in both CD56bright and CD56dim NK cell subsets ($p=0.006$ and $p=0.009$ for the frequency of NK CD56bright cells expressing NKG2C at day +60 and day +90, respectively, and $p=0.025$ and $p=0.003$ for the frequency of NK CD56dim cells expressing NKG2C at day +60 and day +90, respectively).

Moreover, a time-dependent increase in frequency of NKG2C+ NK cells after HSCT was observed in CMV patients ($n=7$). These recipients characterized with the highest frequency of NKG2C+ NK cells 90 days after transplantation, especially as compared to day +30 post HSCT (Figures 8D–F). An additional analysis of the NKG2A-/NKG2C+ NK cell subpopulation showed that it was



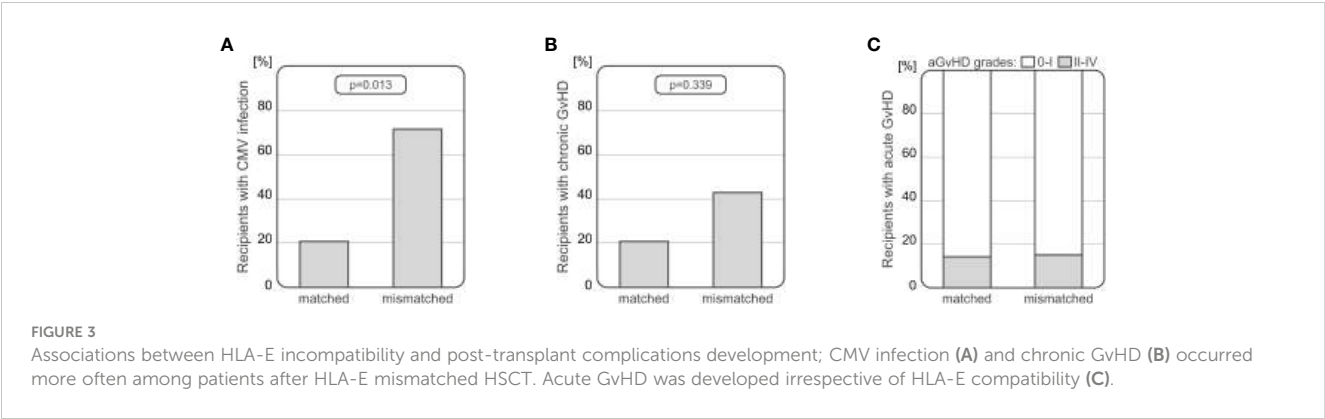
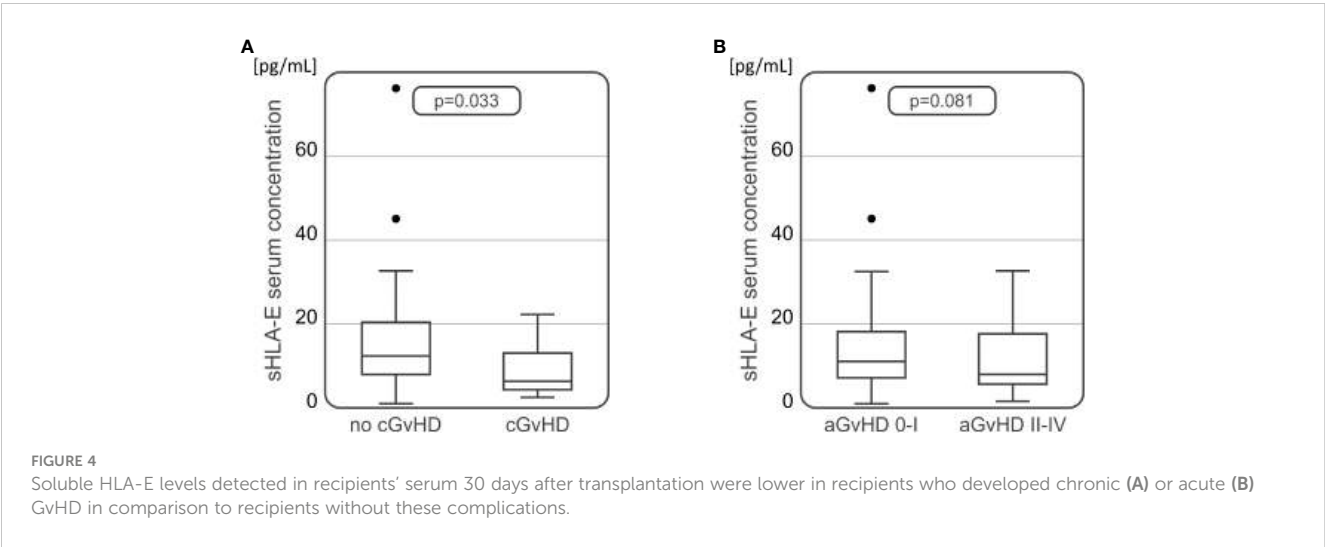


TABLE 3 Median (with IQR) serum sHLA-E concentration values in different post-transplant conditions.

	n	+30 days [pg/mL]	P value	n	+90 days [pg/mL]	P value
All recipients	102	9.92 (6.30-18.68)		40	29.20 (24.22-40.04)	
No cGvHD	84 (82.35%)	11.65 (6.75-20.31)	0.033	20 (50%)	29.31 (17.82-36.26)	0.376
cGvHD	18 (17.65%)	6.33 (4.09-14.74)		20 (50%)	29.10 (24.28-44.87)	
aGvHD 0-I	81 (79.41%)	11.07 (6.5-19.32)	0.081	33 (82.5%)	28.94 (22.33-39.78)	0.512
aGvHD II-IV	21 (20.59%)	8.04 (5.44-18.19)		7 (17.5%)	29.27 (24.63-42.14)	
CMV	37 (36.27%)	9.01 (6.31-20.73)	0.645	26 (65%)	29.27 (19.79-43.86)	0.512
No CMV	65 (63.73%)	9.93 (5.67-16.14)		14 (35%)	28.94 (24.14-37.27)	
Age <52	48 (47.06%)	10.55 (6.29-19.63)	0.134	20 (50%)	29.20 (21.91-39.25)	0.883
Age >52	54 (52.94%)	8.79 (5.65-18.1)		20 (50%)	29.01 (23.99-39.59)	



more frequently detected in recipients who developed CMV infection after HSCT (Figure 9).

Interestingly, we also observed an association between the frequency of NKG2C+ NK cells and the presence of NKG2C deletion in the recipients. In patients who suffered from CMV infection and did not have NKG2C deletion, the frequency of NK cells expressing NKG2C increased to approach its maximum at day +90 after HSCT. Significant differences between recipients with and without NKG2C del variant were observed for the whole population of NK cells (p=0.048, Figure 10A), as well as for the two NK cell subsets – the NK CD56bright cells (p=0.042, Figure 10B), and NK CD56dim cells 90 days after HSCT (p=0.005, Figure 10C). Among the recipients with CMV infection after HSCT (n=12), half of them had the NKG2A CC/NKG2C wt/wt haplotype. Those recipients

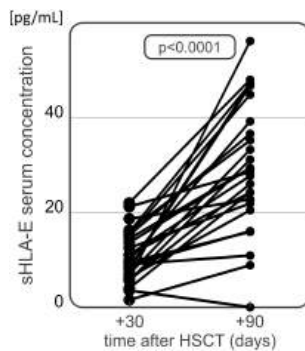


FIGURE 5
Serum sHLA-E concentration in HSCT recipients at day 30 and 90 after transplantation. A significant time-dependent increase has been observed.

characterized with increased frequency of NKG2C⁺ NK cells, especially 3 months after HSCT (Figure 10). These associations were also seen when the patients positive for CMV IgG before transplantation were considered. There were 21 out of 28 (75%) seropositive recipients analysed.

Discussion

Since GvHD and viral infections remain the most common HSCT complications, the need to develop new forms of treatment and characterize new prognostic as well as risk factors is a high priority. The HLA-E: NKG2A/C interaction may be a key element of these processes.

A number of studies report that donor and recipient *HLA-E*01:03* homozygous genotype is related with better HSCT outcome due to a lower risk of acute and chronic GvHD development and a lower rate of relapse (48–53). However in contrast, in T-cell-replete transplantations, donor *HLA-E*01:01/*01:03* genotype was associated with a higher transplant-related mortality and lower disease-free survival (36). Also, a study on kidney transplant patients showed that *HLA-E*01:03* allele was correlated with a higher incidence of CMV infection after transplantation (37). A similar association was observed between *HLA-E*01:03* and

hepatitis C viral infection (38). This shows that results of previous studies on HLA-E polymorphism are somewhat inconsistent. Interestingly, our present study did not show any association between the presence of either *HLA-E*01:03* or *HLA-E*01:01* allele and a risk of post-transplant complications. However, we observed that HLA-E mismatch between donor and recipient is associated with a higher risk of CMV infection after HSCT. Likewise, an earlier study observed that HLA-E mismatch affected HSCT survival in patients with acute leukaemias, particularly in patients with advanced disease (54). In our previous studies, we also observed the unfavourable effect of HLA-E mismatching in patients after HSCT, such as increased acute GvHD risk (55–57). This suggests that HLA-E incompatibility, in addition to the presence or absence of specific alleles, may be an important factor affecting HSCT outcome.

Production of cell-free soluble HLA molecules is known to be implicated in cancer immune escape (58). HLA-E can likewise be present in a soluble form, resulting largely from proteolytic cleavage of membrane-bound HLA-E by matrix metalloproteinases (59). Increased soluble HLA-E concentration was associated with disease susceptibility in various disorders, including chronic hepatitis B, juvenile idiopathic arthritis, and gastric cancer (60–62). Soluble HLA-E is also involved in endothelial cell activation and may have a role in immunoregulatory functions of the endothelium (10). Furthermore, increased sHLA-E was detected in various different tumour cell culture supernatants and was proved to be upregulated by various cytokines, such as IFN- γ , IFN- α and TNF- α (11). Conversely, we showed that recipients with GvHD characterized with decreased serum sHLA-E levels 30 days after transplantation. This association was especially seen in patients with chronic GvHD, and to a lesser extent in patients with severe acute GvHD. Similarly, a recent study by Kordelas et al. showed that HSCT recipients who developed acute or chronic GvHD had lower sHLA-E levels up to one year after transplantation (35). These results suggest that decreased sHLA-E serum concentration may serve as prognostic factor for the development of GvHD with lower levels being associated rather with unfavourable prognosis. We also noticed that sHLA-E concentrations increased over time after HSCT, irrespective of the presence or absence of post-transplant complications. This observation might suggest that higher sHLA-E concentrations later on after transplantation may be related with better transplant outcome. Obviously this hypothesis requires further and more comprehensive studies.

Expression of the activating NKG2C NK cell receptor was shown to decrease a year after HSCT, following development of both acute and chronic GvHD in previous studies (39–41). This was not observed in our study, although it may be possible that this discrepancy was due to a shorter time of observation (3 months) of our patients. Conversely, NKG2C expression on NK cells is known to increase during CMV infection (19, 63), leading to emergence of potent mature NKG2A⁺/NKG2C⁺ CD56dim NK cells a year after transplantation (64). This is in accordance with our results showing a notable increase in NKG2C expression on all NK cell subtypes at the third month after transplantation as well as an increase of the unique NKG2A⁺/NKG2C⁺ NK cell population. The presence of the NKG2C deletion was previously reported to affect CMV reactivation

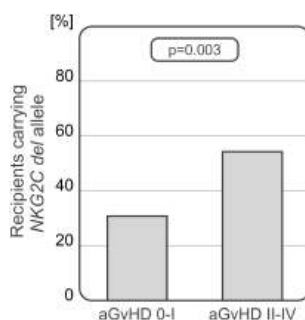


FIGURE 6
Recipients who developed severe acute GvHD grades II-IV carried the NKG2C del variant more frequently.

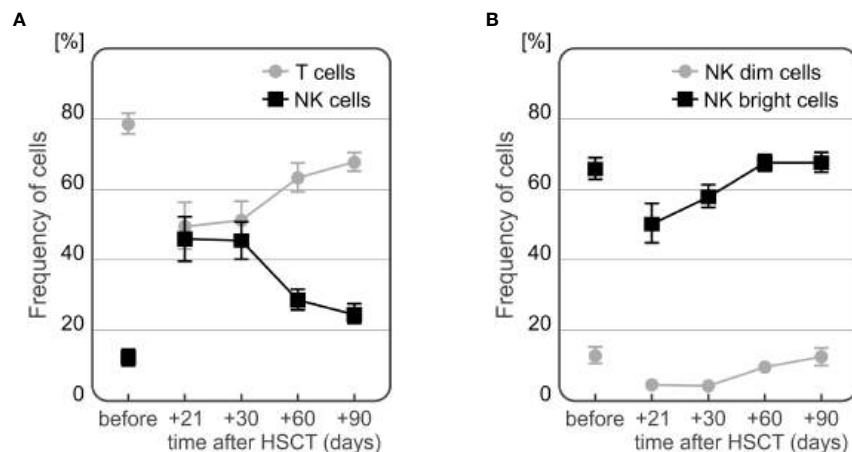


FIGURE 7

Changes in frequencies of T and NK cells (A) and NK cell subpopulations (B) during the observation period.

after haploidentical HSCT or lung transplantation (28, 42, 43). We did not observe such an association. However, our study revealed that in patients with post-transplant CMV infection who carried at least one *NKG2C del* allele, the frequency of NKG2C+ NK cells was decreased in comparison to *wild type* homozygotes. This observation proves a functional association between the *NKG2C*

gene polymorphism and its expression in patients with CMV infection. Interestingly, this finding seems to be confirmed in part by an earlier study on *NKG2C* deletion in CMV seropositive children (65). Although this association between *NKG2C* deletion and decreased NKG2C+ NK may be expected, there are studies indicating that it's not always present (44).

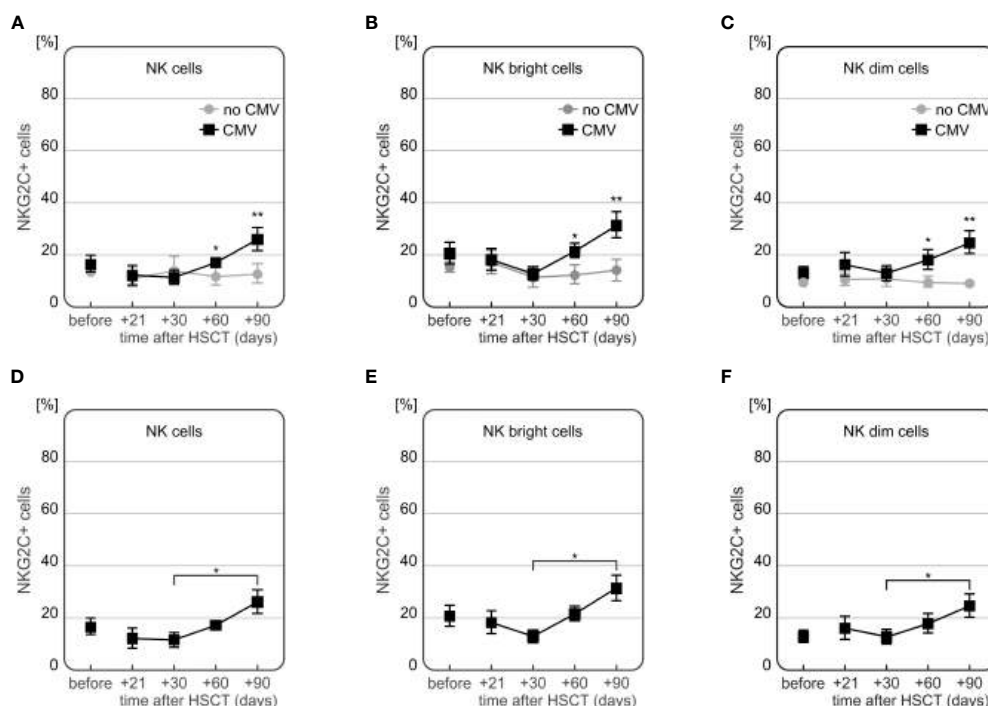


FIGURE 8

Differences in expression of NKG2C on NK cells in HSCT recipients with CMV infection at various time points after transplantation. Frequency of NKG2C+ cells was increased 60 (* $p=0.005$) and 90 (** $p=0.007$) days after HSCT in patients who developed CMV infection as compared to patients without this complication (A). Frequency of NKG2C+ NK CD56bright cells was higher among recipients with CMV infection (day +60 * $p=0.006$ and day +90 ** $p=0.009$, (B). Similarly, frequency of NKG2C+ NK CD56dim cells was increased in recipients with CMV infection (day +60 * $p=0.025$ and day +90 ** $p=0.003$, (C). Patients with CMV infection characterized with a significant increase in frequency of NK cells expressing NKG2C cells between days 30 and 90 after HSCT (* $p=0.016$, D). A significant difference between days 30 and 90 after HSCT was also observed for the frequencies of NKG2C+ NK CD56bright cells (* $p=0.008$, E) as well as NKG2C+ NK 56dim cells (* $p=0.030$, in patients with CMV infection F).

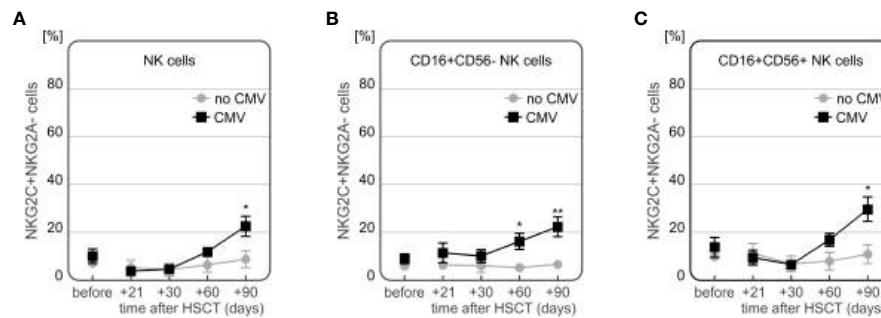


FIGURE 9

Differences in expression of NKG2A-/NKG2C+ NK cells in patients with CMV infection at various time points after transplantation. Increased frequency of NKG2A-/NKG2C+ NK cells in recipients with CMV infection 90 days after HSCT ($p=0.003$, A). Frequency of NKG2A-/NKG2C+ CD56bright NK cells was significantly increased in CMV patients 30 and 90 days after transplantation ($p=0.002$ and $p=0.002$, respectively, B). Higher frequency of NKG2A-/NKG2C+ population of CD56dim NK cells was observed in 90 days after HSCT ($p=0.004$, C).

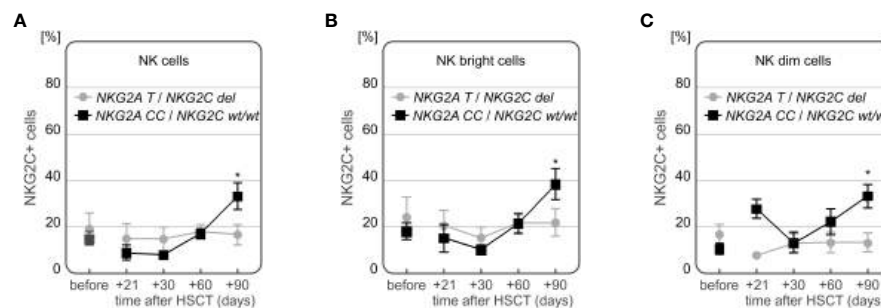


FIGURE 10

Differences in frequencies of NKG2C+ NK cells in patients with CMV infection carrying various *NKG2C* genotypes. Decreased frequency of NK cells expressing NKG2C receptor in recipients carrying *NKG2C* deletion (A $p=0.048$, B $p=0.042$ for NK cells and NK CD56bright subpopulation, respectively). Significantly higher frequency of NKG2C+ NK CD56dim cells in recipients with *NKG2A* rs7301582 CC and *NKG2C* wt genotype at +90 day after HSCT ($p=0.005$, C).

Little is known about the *NKG2A* rs7301582 polymorphism. The C variant was reported to have a negative impact on response to anti-TNF treatment in Polish patients with rheumatoid arthritis (33). The present study is, to the best of our knowledge, the first to indicate the potential significance of *NKG2A* rs7301582 polymorphism in HSCT. It is uncertain how this SNP could exert its effect, since it is located in an *NKG2A* gene intron (intron 6). It is possible that this variant could affect splicing, although there is no evidence for it. Introns are known to affect gene expression by various indirect means, e.g. changing mRNA stability, influencing methylation/chromatin modifications, or harbouring cryptic splice sites (66, 67). Furthermore, SNPs can also act affect expression of other remote genes in a trans manner (68). Here, we confirm the role of *NKG2A* rs7301582 C allele as a negative factor since it occurred more frequently in recipients diagnosed with AML than in donor group.

Our study has, however, some limitations, i.e. small sample size, non-homogenous recipient group and lack of availability of all donor samples. Being aware of these limitations, we still are assured that our results make a strong contribution to the development of the field.

Taken together, the results obtained in this present study imply that the donor/recipient HLA-E mismatch is associated

with a higher incidence of CMV infection after transplantation. Decreased serum sHLA-E concentration is associated with development of both chronic and acute GvHD in adult HSCT recipients. We also observed significant differences in the frequency of NKG2C expressing NK cells in the context of CMV infection. Recipients who were diagnosed with this complication were characterized by increased percentage of NKG2C+ NK cells. Moreover, we proved that *NKG2C* deletion was associated with expression level of the receptor, as patients carrying the *del* allele had a decreased frequency of NKG2C+ NK cells. Regarding the *NKG2A* polymorphism, the rs7301582 C allele may be associated with higher AML susceptibility. In conclusion, our results suggest that the sHLA-E level and expression of NKG2C on NK cells may act as a potential markers of post-transplant complications.

Data availability statement

The datasets presented in this study can be found in online repositories. The data can be found at: <https://cloud.hirszfeld.pl/>

[index.php/s/sFaqtFN4wwiKWbK](https://www.frontiersin.org/index.php/s/sFaqtFN4wwiKWbK). Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Ethics statement

The studies involving humans were approved by Wrocław Medical University Ethics Committee. The studies were conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements. The participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

JS performed genotyping studies and assessment of sHLA-E concentration in serum samples, statistical analyses, drafted and finalized the manuscript; PŁ contributed to statistical analyses; DS performed flow cytometry experiments; AC, AS, MM, MS-K, WF, IS, BN-A, PS, MB, AT, GB, SG, TW provided patients' clinical samples and clinical data; AC contributed to the conception of clinical data analysis; KB-K contributed to the conception and design of the study, data analysis, drafted and finalized the manuscript, and provided funding. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by the grant from the National Science Centre (Poland): 2018/31/B/NZ2/03065.

References

- Bogunia-Kubik K, Łacina P. From genetic single candidate gene studies to complex genomics of GvHD. *Br J Haematol* (2017) 178(5):661–75. doi: 10.1111/bjh.14704
- Saidu NEB, Bonini C, Dickinson A, Grce M, Inngjerdigen M, Koehl U, et al. New approaches for the treatment of chronic graft-versus-host disease: current status and future directions. *Front Immunol* 11 (2020) 578314:5783143. doi: 10.3389/fimmu.2020.5783143
- Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ. *Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys, 1988–2004* Vol. 50. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America (2010) p. 1439–47. doi: 10.1086/652438
- Wei-Lu, Chen SJ, Huang SF, Chan YJ, Wang FD, Chen HP. Clinical significance of human cytomegalovirus viraemia and the effect of antiviral therapy in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Microbiol Immunol Infect = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi* (2019) 52(3):402–8. doi: 10.1016/j.jmii.2017.08.019
- 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):4293–301. doi: 10.1182/blood-2009-05-222190
- Gao F, Ye Y, Gao Y, Huang H, Zhao Y. Influence of KIR and NK cell reconstitution in the outcomes of hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol* (2020) 11:2022. doi: 10.3389/fimmu.2020.02022
- Foley B, Cooley S, Verneris MR, Curtsinger J, Luo X, Waller EK, et al. NK cell education after allogeneic transplantation: dissociation between recovery of cytokine-producing and cytotoxic functions. *Blood* (2011) 118(10):2784–92. doi: 10.1182/blood-2011-04-347070
- Felicio LP, Porto IO, Mendes-Junior CT, Veiga-Castelli LC, Santos KE, Vianello-Brandani RP, et al. Worldwide HLA-E nucleotide and haplotype variability reveals a conserved gene for coding and 3' untranslated regions. *Tissue Antigens* (2014) 83(2):82–93. doi: 10.1111/tan.12283
- Paech C, Albrecht V, Putke K, Schöfl G, Schöne B, Schmidt AH, et al. HLA-E diversity unfolded: Identification and characterization of 170 novel HLA-E alleles. *HLA* (2021) 97(5):389–98. doi: 10.1111/tan.14195
- Coupe S, Moreau A, Hamidou M, Horejsi V, Souillou JP, Charreau B. Expression and release of soluble HLA-E is an immunoregulatory feature of endothelial cell activation. *Blood* (2007) 109(7):2806–14. doi: 10.1182/blood-2006-06-030213
- Allard M, Oger R, Vignard V, Percier JM, Fregni G, Périat A, et al. Serum soluble HLA-E in melanoma: a new potential immune-related marker in cancer. *PLoS One* (2011) 6(6):e21118. doi: 10.1371/journal.pone.0021118
- Morandi F, Cangemi G, Barco S, Amoroso L, Giuliano M, Gigliotti AR, et al. Plasma levels of soluble HLA-E and HLA-F at diagnosis may predict overall survival of neuroblastoma patients. *BioMed Res Int* (2013) 2013:956878. doi: 10.1155/2013/956878
- Wagner B, da Silva Nardi F, Schramm S, Kraemer T, Celik AA, Dürig J, et al. HLA-E allelic genotype correlates with HLA-E plasma levels and predicts early progression in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* (2017) 123(5):814–23. doi: 10.1002/cncr.30427
- Kanevskiy L, Erokhina S, Kobzyeva P, Streltsova M, Sapozhnikov A, Kovalenko E. Dimorphism of HLA-E and its disease association. *Int J Mol Sci* (2019) 20(21):5496. doi: 10.3390/ijms20215496
- Iwaszko M, Bogunia-Kubik K. Clinical significance of the HLA-E and CD94/NKG2 interaction. *Arch Immunol Ther Exp* (2011) 59:353. doi: 10.1007/s00005-011-0137-y
- Kaiser BK, Pizarro JC, Kerns J, Strong RK. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. *PNAS* (2008) 105(18):6696–701. doi: 10.1073/pnas.0802736105
- Björkström NK, Riese P, Heuts F, Andersson S, Fauriat C, Ivarsson MA, et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood* (2010) 116(19):3853–64. doi: 10.1182/blood-2010-04-281675

Acknowledgments

The authors would like to thank Dr. Tomasz Kubik for his assistance.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1227897/full#supplementary-material>

18. Gumá M, Angulo A, Vilches C, Gómez-Lozano N, Malats N, López-Botet M. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood* (2004) 104(12):3664–71. doi: 10.1182/blood-2004-05-2058
19. Lopez-Vergés S, Milush JM, Schwartz BS, Pando MJ, Jarjoura J, York VA, et al. Expansion of a unique CD57⁺NKG2C⁺ natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* (2011) 108(36):14725–32. doi: 10.1073/pnas.1110900108
20. Foley B, Cooley S, Verneris MR, Curtsinger J, Luo X, Waller EK, et al. Human cytomegalovirus (CMV)-induced memory-like NKG2C(+) NK cells are transplantable and expand *in vivo* in response to recipient CMV antigen. *J Immunol* (2012) 189(10):5082–8. doi: 10.4049/jimmunol.1201964
21. Gang M, Wong P, Berrien-Elliott MM, Fehniger TA. Memory-like natural killer cells for cancer immunotherapy. *Semin Hematol* (2020) 57(4):185–93. doi: 10.1053/j.seminhematol.2020.11.003
22. Grutza R, Moskora W, Senff T, Bäckner E, Lindemann M, Zimmermann A, et al. NKG2C^{pos} NK cells regulate the expansion of cytomegalovirus-specific CD8⁺ T cells. *J Immunol (Baltimore Md. 1950)* (2020) 204(11):2910–7. doi: 10.4049/jimmunol.1901281
23. Asenjo J, Moraru M, Al-Akoui-Sanz K, Altadill M, Muntasell A, López-Botet M, et al. Diversity of NKG2C genotypes in a European population: Conserved and recombinant haplotypes in the coding, promoter, and 3'-untranslated regions. *HLA* (2022) 100(5):469–78. doi: 10.1111/tan.14734
24. Asenjo J, Muntasell A, López-Botet M, Moraru M, Vilches C. Complete genomic characterization of a new KLRC2 allele, NKG2C*03. *HLA* (2021) 98(3):259–61. doi: 10.1111/tan.14231
25. Vietzen H, Döhler B, Tran TH, Süsal C, Halloran PF, Eskandary F, et al. Deletion of the natural killer cell receptor NKG2C encoding *KLR2C* gene and kidney transplant outcome. *Front Immunol* (2022) 13:829228. doi: 10.3389/fimmu.2022.829228
26. Rangel-Ramírez VV, García-Sepulveda CA, Escalante-Padrón F, Pérez-González LF, Rangel-Castilla A, Aranda-Romo S, et al. NKG2C gene deletion in the Mexican population and lack of association to respiratory viral infections. *Int J Immunogenet* (2014) 41(2):126–30. doi: 10.1111/iji.12104
27. Thomas R, Low HZ, Kniesch K, Jacobs R, Schmidt RE, Witte T. NKG2C deletion is a risk factor of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* (2012) 28(8):844–51. doi: 10.1089/AID.2011.0253
28. Vietzen H, Pollak K, Honsig C, Jaksch P, Puchhammer-Stöckl E. NKG2C deletion is a risk factor for human cytomegalovirus viremia and disease after lung transplantation. *J Infect Dis* (2018) 142:17(5):802–806. doi: 10.1093/infdis/jix608
29. Toson B, Michita RT, Matte MCT, Soares R, Lawisch GKS, Mattevi VS, et al. Assessment of NKG2C copy number variation in HIV-1 infection susceptibility, and considerations about the potential role of lacking receptors and virus infection. *J Hum Genet* (2022) 67(8):475–9. doi: 10.1038/s10038-022-01029-w
30. Vietzen H, Zoufaly A, Traugott M, Aberle J, Aberle SW, Puchhammer-Stöckl E. Deletion of the NKG2C receptor encoding *KLRC2* gene and HLA-E variants are risk factors for severe COVID-19. *Genet Med* (2021) 23(5):963–7. doi: 10.1038/s41436-020-01077-7
31. Siemaszko J, Ussowicz M, Rybka B, Ryczan-Krawczyk R, Kałwak K, Bogunia-Kubik K. The impact of NKG2A and NKG2D receptors and HLA-E and MICA ligands polymorphisms on post-transplant complications after paediatric allogeneic HSCT: a single-centre experience. *Front Gen* (2023) 14:1186123. doi: 10.3389/fgene.2023.1186123
32. Iwaszko M, Świerkot J, Kolossa K, Jeka S, Wiland P, Bogunia-Kubik K. Polymorphisms within the human leukocyte antigen-E gene and their associations with susceptibility to rheumatoid arthritis as well as clinical outcome of anti-tumour necrosis factor therapy. *Clin Exp Immunol* (2015) 182(3):270–7. doi: 10.1111/cei.12696
33. Iwaszko M, Świerkot J, Kolossa K, Jeka S, Wiland P, Bogunia-Kubik K. Influence of CD94 and NKG2A variants on susceptibility to rheumatoid arthritis and efficacy of anti-TNF treatment. *Jt Bone Spine* (2016) 83(1):75–9. doi: 10.1016/j.jbspin.2015.06.010
34. Kanwugu ON, Adadi P. HIV/SARS-CoV-2 coinfection: A global perspective. *J Med Virol* (2021) 93(2):726–32. doi: 10.1002/jmv.26321
35. Kordelas L, Schwich E, Lindemann M, Heinemann FM, Buttkeireit U, Horn PA, et al. Decreased soluble human leukocyte antigen E levels in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation are associated with severe acute and extended chronic graft-versus-host disease and inferior overall survival. *Front Immunol* (2020) 10:3027. doi: 10.3389/fimmu.2019.03027
36. Tsamadou C, Fürst D, Wang T, He N, Lee SJ, Spellman SR, et al. Donor HLA-E status associates with disease-free survival and transplant-related mortality after non *in vivo* T cell-depleted HSCT for acute leukemia. *Biol Blood Marrow Transplantation: J Am Soc Blood Marrow Transplant* (2019) 25(12):2357–65. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.08.007
37. Guberina H, da Silva Nardi F, Michita RT, Dolff S, Bienholz A, Heinemann FM, et al. Susceptibility of HLA-E*01:03 allele carriers to develop cytomegalovirus replication after living-donor kidney transplantation. *J Infect Dis* (2018) 25:217(12):1918–1922. doi: 10.1093/infdis/jix638
38. Hosseini E, Sarraf Kazerooni E, Azarkeivan A, Sharifi Z, Shahabi M, Ghasemzadeh M. HLA-E*01:01 allele is associated with better response to anti-HCV therapy while homozygous status for HLA-E*01:03 allele increases the resistance to anti-HCV treatments in frequently transfused thalassemia patients. *Hum Immunol* (2022) 83(7):556–63. doi: 10.1016/j.humimm.2022.04.010
39. Jaiswal SR, Bhakuni P, Bhagwati G, Aiyar HM, Chakrabarti A, Chakrabarti S. Alterations in NKG2A and NKG2C subsets of natural killer cells following epstein-Barr virus reactivation in CTLA4Ig-based haploidentical transplantation is associated with increased chronic graft-versus-host disease. *Transplantation* (2020) 104(1):e23–30. doi: 10.1097/TP.0000000000002941
40. Kordelas L, Steckel NK, Horn PA, Beelen DW, Rebmann V. (2016) The activating NKG2C receptor is significantly reduced in NK cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with severe graft-versus-host disease. *Int J Mol Sci* (2016) 17(11):1797. doi: 10.3390/ijms17111797
41. Simonetta F, Alvarez M, Negrin RS. Natural killer cells in graft-versus-host-Disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Front Immunol* (2017) 8:465. doi: 10.3389/fimmu.2017.00465
42. Cao K, Marin D, Sekine T, Rondon G, Zhao W, Smith NT, et al. Donor NKG2C copy number: an independent predictor for CMV reactivation after double cord blood transplantation. *Front Immunol* (2018) 9:2444. doi: 10.3389/fimmu.2018.02444
43. Yu XX, Shang QN, Liu XF, He M, Pei XY, Mo XD, et al. Donor NKG2C homozygosity contributes to CMV clearance after haploidentical transplantation. *JCI Insight* (2022) 7(3):e149120. doi: 10.1172/jci.insight.149120
44. Puiggras A, Blanco G, Muntasell A, Rodríguez-Rivera M, Nonell L, Altadill M, et al. Reduced expansion of CD94/NKG2C⁺ NK cells in chronic lymphocytic leukemia and CLL-like monoclonal B-cell lymphocytosis is not related to increased human cytomegalovirus seronegativity or NKG2C deletions. *Int J Lab Hematol* (2021) 43(5):1032–40. doi: 10.1111/ijlh.13494
45. Xu Z, Taylor JA. SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res* (2009) 37:W600–5. doi: 10.1093/nar/gkp290
46. Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, et al. Molecular genetic analyses of human NKG2C (KLRC2) gene deletion. *Int Immunol* (2004) 16:163–8. doi: 10.1111/j.1399-0039.2012.01911.x
47. Moraru M, Cañizares M, Muntasell A, de Pablo R, López-Botet M, Vilches C. Assessment of copy-number variation in the NKG2C receptor gene in a single-tube and characterization of a reference cell panel, using standard polymerase chain reaction. *Tissue Antigens* (2012) 80:184–7. doi: 10.1111/j.1399-0039.2012.01911.x
48. Tamouza R, Busson M, Rocha V, Fortier C, Haddad Y, Brun M, et al. Homozygous status for HLA-E0103 confers protection from acute graft-versus-host disease and transplant-related mortality in HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* (2006) 82:1436–40. doi: 10.1097/01.tp.0000244598.92049.dd
49. Hosseini E, Schwarzer AP, Ghasemzadeh M. The impact of HLA-E polymorphisms in graft-versus-host disease following HLA-E matched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Iran J Allergy Asthma Immunol* (2012) 11:15–21.
50. Ludajic K, Rosenmayr A, Fae I, Fischer GF, Balavcara Y, Bickeböller H, et al. Association of HLA-E polymorphism with the outcome of hematopoietic stem-cell transplantation with unrelated donors. *Transplantation* (2009) 88:1227–8. doi: 10.1097/TP.0b013e3181bbb8fe
51. Danzer M, Polin H, Pröll J, Haunschild R, Hofer K, Stabenheimer S, et al. Clinical significance of HLA-E*0103 homozygosity on survival after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* (2009) 88(4):528–32. doi: 10.1097/TP.0b013e3181b0e79e
52. Mossallam GI, Fattah RA, El-Haddad A, Mahmoud HK. HLA-E polymorphism and clinical outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Egyptian patients. *Hum Immunol* (2015) 76(2-3):161–5. doi: 10.1016/j.humimm.2014.12.017
53. Zino E, Frumento G, Marktel S, Sormani MP, Ficari F, Di Terlizzi S, et al. A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood* (2004) 103:1417–24. doi: 10.1182/blood-2003-04-1279
54. Tsamadou C, Fürst D, Vucinic V, Bunjes D, Neuchel C, Mytilineos D, et al. Human leukocyte antigen-E mismatch is associated with better hematopoietic stem cell transplantation outcome in acute leukemia patients. *Haematologica* (2017) 102(11):1947–55. doi: 10.3324/haematol.2017.169805
55. Bogunia-Kubik K, Polak M, Kościńska K, Jaskuła E, Lange A. Chromosome 6 gene polymorphisms as the factors affecting the risk of HSCT outcome. *Eur J Immunol* (2009) 39(S1):S734. doi: 10.1002/eji.200990056
56. Bogunia-Kubik K, Jaskuła E, Polak M, Kościńska K, Sędzimirska M, Lange A. Non classical HLA-E and G gene polymorphisms affect the HSCT outcome. *Bone Marrow Transplant* (2010) 45(S2):S135. doi: 10.1038/bmt.2010.40
57. Bogunia-Kubik K, Jaskuła E, Gębura K, Marzec A, Iwaszko M, Polak M, et al. The impact of donor-recipient matching for non-classical HLA-E and HLA-G, and HSP70-hom (HSPA1L) on HSCT outcome. *Bone Marrow Transplant* (2011) 46(S1):S95. doi: 10.1038/bmt.2011.48
58. Bangia N, Ferrone S. Antigen presentation machinery (APM) modulation and soluble HLA molecules in the tumor microenvironment: do they provide tumor cells with escape mechanisms from recognition by cytotoxic T lymphocytes? *Immunol Invest* (2006) 35(3-4):485–503. doi: 10.1080/08820130600808246
59. Derré L, Corvaisier M, Charreau B, Moreau A, Godefroy E, Moreau-Aubry A, et al. Expression and release of HLA-E by melanoma cells and melanocytes: potential impact on the response of cytotoxic effector cells. *J Immunol* (2006) 177(5):3100–7. doi: 10.4049/jimmunol.177.5.3100
60. Zidi I, Laaribi AB, Bortolotti D, Belhadj M, Mehri A, Yahia HB, et al. HLA-E polymorphism and soluble HLA-E plasma levels in chronic hepatitis B patients. *HLA* (2016) 87(3):153–9. doi: 10.1111/tan.12767

61. Prigione I, Penco F, Martini A, Gattorno M, Pistoia V, Morandi F. HLA-G and HLA-E in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology* (2011) 50(5):966–72. doi: 10.1093/rheumatology/keq418
62. Morinaga T, Iwatsuki M, Yamashita K, Yasuda-Yoshihara N, Yamane T, Matsumoto C, et al. Dynamic alteration in HLA-E expression and soluble HLA-E via interaction with natural killer cells in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* (2023) 30(2):1240–52. doi: 10.1245/s10434-022-12505-0
63. Muntasell A, Vilches C, Angulo A, López-Botet M. Adaptive reconfiguration of the human NK-cell compartment in response to cytomegalovirus: a different perspective of the host-pathogen interaction. *Eur J Immunol* (2013) 43(5):1133–41. doi: 10.1002/eji.201243117
64. Foley B, Cooley S, Verneris MR, Pitt M, Curtsinger J, Luo X, et al. Cytomegalovirus reactivation after allogeneic transplantation promotes a lasting increase in educated NKG2C+ natural killer cells with potent function. *Blood* (2012) 119(11):2665–74. doi: 10.1182/blood-2011-10-386995
65. Muntasell A, López-Montañés M, Vera A, Heredia G, Romo N, Peñafiel J, et al. NKG2C zygosity influences CD94/NKG2C receptor function and the NK-cell compartment redistribution in response to human cytomegalovirus. *Eur J Immunol* (2013) 43(12):3268–78. doi: 10.1002/eji.201343773
66. Shaul O. How introns enhance gene expression. *Int J Biochem Cell Biol* (2017) 91(Pt B):145–55. doi: 10.1016/j.biocel.2017.06.016
67. Cooper DN. Functional intronic polymorphisms: Buried treasure awaiting discovery within our genes. *Hum Genomics* (2010) 4(5):284–8. doi: 10.1186/1479-7364-4-5-284
68. Yao C, Joeheanes R, Johnson AD, Huan T, Liu C, Freedman JE, et al. Dynamic role of trans regulation of gene expression in relation to complex traits. *Am J Hum Genet* (2017) 100(4):571–80. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.02.003

MICB Genetic Variants and Its Protein Soluble Level Are Associated with the Risk of Chronic GvHD and CMV Infection after Allogeneic HSCT

MICB Genetic Variants and Its Protein Soluble Level Are Associated with the Risk of Chronic GvHD and CMV Infection after Allogeneic HSCT

Jagoda Siemaszko¹ · Marta Dratwa¹ · Agnieszka Szeremet² · Maciej Majcherek² · Anna Czyż² · Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka³ · Wojciech Fidyk³ · Iwona Solarska⁴ · Barbara Nasiłowska-Adamska⁴ · Patrycja Skowrońska⁵ · Maria Bieniaszewska⁶ · Agnieszka Tomaszewska⁷ · Grzegorz W. Basak⁷ · Sebastian Giebel³ · Tomasz Wróbel² · Katarzyna Bogunia-Kubik¹✉

Abstract

The aim of the present study was to determine the associations between the *MICB* genetic variability and the expression and the risk of development of post-transplant complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). HSCT recipients and their donors were genotyped for two *MICB* polymorphisms (rs1065075, rs3828903). Moreover, the expression of a soluble form of MICB was determined in the recipients' serum samples after transplantation using the Luminex assay. Our results revealed a favorable role of the *MICB* rs1065075 G allele. Recipients with donors carrying this genetic variant were less prone to developing chronic graft-versus-host disease (cGvHD) when compared to recipients without any symptoms of this disease (41.41% vs. 65.38%, $p = 0.046$). Moreover, the *MICB* rs1065075 G allele was associated with a lower incidence of cytomegalovirus (CMV) reactivation, both as a donor ($p = 0.015$) and as a recipient allele ($p = 0.039$). The *MICB* rs1065075 G variant was also found to be associated with decreased serum soluble MICB (sMICB) levels, whereas serum sMICB levels were significantly higher in recipients diagnosed with CMV infection ($p = 0.0386$) and cGvHD ($p = 0.0008$) compared to recipients without those complications. A protective role of the G allele was also observed for the rs3828903 polymorphism, as it was more frequently detected among donors of recipients without cGvHD (89.90% vs. 69.23%; $p = 0.013$). *MICB* genetic variants, as well as serum levels of sMICB, may serve as prognostic factors for the risk of developing cGvHD and CMV infection after allogeneic HSCT.

Keywords

MICB · sMICB · NK cells · HSCT · Post-transplant complications

Received: 20 February 2024 / Accepted: 13 May 2024/

© L. Hirszfild Institute of Immunology and Experimental Therapy, Wrocław, Poland 2024

1. Introduction

According to the European Society for Blood and Marrow Transplantation registry, a total of 47,412 hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) procedures were performed in 2021. Allogeneic HSCT constituted 42% of them (19,806) (Passweg et al. 2023). Although HSCT has a high success rate, it may still lead to some post-transplant complications, including graft-versus-host-disease (GvHD) and cytomegalovirus (CMV) infection (Eberhardt et al. 2023; González-Cruz et al. 2023; Holtick et al. 2024; Sulaiman et al. 2024). Natural killer (NK) cells are the first cell subset to reconstitute after HSCT. They belong to the innate lymphoid cells family

and are one of the most important parts of the human innate immunity (Peterson and Barry 2021; Blunt and Khakoo 2023; Prokopeva et al. 2023). The NK cells are regulated by their activating and inhibitory receptors, i.e., killer Ig-like receptors, natural cytotoxicity receptors, or C-type lectin-like proteins, with the activating NKG2D being one of the most studied receptors (Patil and Schwarzer 2009; Bogunia-Kubik and Łacina 2021; Siemaszko et al. 2023).

In humans, ligands for the NKG2D receptor are the MHC class I chain-related A and B molecules (MICA and MICB) and the UL-16 binding proteins (Siemaszko et al. 2021). These molecules serve as natural biomarkers, as they are typically not expressed on normal cells but are often overexpressed on stress-induced or transformed cells (Goulding et al. 2023; Sánchez-Cerrillo et al. 2023). Both MICA and MICB can be expressed in serum in their soluble forms (Nagai et al. 2022). It was reported that the soluble MICA (sMICA) levels were decreased in healthy individuals compared with its elevated levels in patients suffering from various diseases and malignancies, e.g., ankylosing spondylitis, non-small cell carcinoma, pancreatic cancer, breast cancer as well as SARS-CoV-2 infection (Wang et al. 2015; Onyeaghala et al. 2017; Wang et al. 2021; Farzad et al. 2022; Kshersagar et al. 2022). The impact of the serum soluble MICB (sMICB) molecule has

¹ Laboratory of Clinical Immunogenetics and Pharmacogenetics, Hirszfild Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

² Department of Hematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

³ Department of Bone Marrow Transplantation and Hematology-Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice, Poland

⁴ Institute of Hematology and Blood Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

⁵ Cell and Tissue Bank, University Medical Center in Gdansk, Gdansk, Poland

⁶ Department of Hematology and Transplantation, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

⁷ Department of Hematology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

✉ katarzyna.bogunia-kubik@hirszfild.pl

been, however, less studied. A study conducted on cancer patients (individuals diagnosed with various malignancies, including prostate cancer, gastrointestinal cancers, breast cancer, or lung cancer) revealed that they had increased sMICB levels in the serum when compared with healthy individuals. A significant association was also observed between the sMICB level and metastasis (Holdenrieder et al. 2006b). As MICA is the most polymorphic of all nonclassical MHC and MHC-like molecules, another frequently studied factor is its genetic variability. One of the most-frequently studied *MICA* single nucleotide polymorphisms (SNPs) is the methionine (Met)-to-valine (Val) amino acid exchange at position 129. Contrary to the Val isoform, the Met variant is associated with higher NKG2D receptor signaling, resulting in not only more efficient NK cell cytotoxicity but also with faster NKG2D downregulation on NK and T cells (Isernhagen et al. 2015). The impact of MICA Met129Val polymorphism was described in many studies, indicating the protective effects of the Met allele and describing the Val variant (and especially the Val/Val genotype) as a risk factor (Ouni et al. 2017; Zingoni et al. 2018; Ouni et al. 2020). The other significant factor is *MICA* Met129Val compatibility between the recipient and the donor. It was reported that in unrelated transplantations, a MICA Met129Val mismatch is a risk factor for acute graft-versus-host disease (aGvHD) (Parmar et al. 2009; Fuerst et al. 2016). MICB polymorphisms are less studied. It was reported that in acute myeloid leukemia patients receiving HSCT, the MICB-58 (Lys58Glu) polymorphism had a negative effect on relapse-free survival (Machuldova et al. 2021). The *MICB* rs1051788 polymorphism was associated with reduced risk of primary graft dysfunction after lung transplantation (Aguilar et al. 2024). The impact of MICB polymorphisms was also investigated in different diseases, e.g., leukemia, dengue fever, rheumatoid arthritis, or systemic lupus erythematosus (Yu et al. 2017; Baek et al. 2018; Wang et al. 2019; Faridah et al. 2023).

2. Materials and Methods

2.1. Study population

For this study, 232 allogeneic HSCT recipients from five Polish transplantation centers and their 124 donors were enrolled. Recipients were 18- to 73-years-old with the median age of 50. There were 135 males and 97 females. Patients approved for HSCT were diagnosed with various hematological disorders, including blood cancers. The most common type of donor was matched sibling. Myeloablative conditioning was applied to 53.88% of all the recipients. After transplantation, the most common complications were aGvHD and CMV infection (39.22% and 38.79%, respectively). Detailed characteristics of patients can be seen in Table 1. The study complied with the Declaration of Helsinki and was approved

Table 1. Patients' characteristics

N = 232	
Age (years, median, range)	50, 18–73
Sex (M/F)	135 (58.19%)/97 (41.81%)
Type of donor	
MSD	107 (46.12%)
MUD	54 (23.28%)
Haploidentical	53 (22.84%)
MMSD	17 (7.33%)
Diagnosis	
AML	92 (39.66%)
ALL	29 (14.50%)
MDS	25 (12.50%)
NHL	18 (9%)
MPN	17 (8.50%)
HL	10 (5%)
PCM	8 (4%)
Other	33 (16.50%)
Conditioning	
RIC/MAC/NMA	104 (44.83%)/125 (53.88%)/3 (1.29%)
Post-transplant complications	
aGvHD (I–IV)	91 (39.22%)
aGvHD (II–IV)	48 (20.69%)
cGvHD	46 (19.83%)
cGvHD de novo/progression of aGvHD to cGvHD/after aGvHD remission	17 (36.96%)/8 (17.39%)/20 (43.48%)
CMV	90 (38.79%)
Relapse	31 (13.36%)
Death	30 (12.93%)
No complications ^a	83 (35.78%)

^aRecipients without GvHD and CMV infection.

aGvHD, acute graft-versus-host disease; cGvHD, chronic graft-versus-host disease; CMV, cytomegalovirus; GvHD; graft-versus-host disease; MMSD, mismatched sibling donor; MPN, myeloproliferative neoplasm; MSD, matched sibling donor; MUD, matched unrelated donor; PCM, plasma cell myeloma; RIC, reduced intensity conditioning; MAC, myeloablative conditioning.

by the Wrocław Medical University Ethics Committee (identification code KB-561/2019).

2.2. Samples

Peripheral blood of HSCT recipients and donors was collected on ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes before transplantation. Genomic DNA extraction was performed by a column method using the NucleoSpin Blood kit (MACHEREY-NAGEL, Germany), according to the manufacturer's protocol. Briefly, 200 mL of whole blood was used. Isolated DNA was stored at –20°C for genetic studies. Serum

was isolated directly after blood collection and stored at -80°C for further use.

2.3. SNP genotyping

Two SNPs associated with the *MICB* gene were selected. An SNP resulting in an amino acid change at position 48 (Lys/Glu), rs1065075, is localized in exon 2, which encodes the alpha1 region of the MICB protein. Another SNP, rs3828903, is an intronic variant, localized between the leader sequence and the alpha1 region of MICB. Both polymorphisms were selected based on the on-line SNP Function Prediction tool (Xu and Taylor 2009), and the frequency of the minor allele was higher than 0.30 in the European populations. The SNPs were determined using LightSNiP (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany) assays, and real-time PCR was performed on the LightCycler 480 II instrument (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland).

2.4. Serum sMICB concentration

The serum level of sMICB was determined using the Luminex Discovery Assay premixed kit (R&D Systems, bio-technie, Minneapolis, Minnesota, USA) according to the manufacturer's protocol. In total, serum from 82 HSCT recipients that represents the patients having and lacking various post-transplant complications (aged 20–73 years, 28.57% diagnosed with chronic graft-versus-host disease (cGvHD), 36.59% diagnosed with aGvHD, and 43.90% diagnosed with CMV) collected 30 days after transplantation was used. For each experiment, a series of three-fold diluted standards was prepared to create the standard curve. All samples were prepared in two-fold dilution and measured in duplicates in

a Luminex 200 instrument (Luminex Corp., Austin, Texas, USA). The median fluorescence intensity was calculated using the xPonent 4.2 software (Diasorin, Saluggia, Italy).

2.5. Statistical analysis

The Fisher exact test and the Mann–Whitney U test were used for the statistical analysis of the obtained results. The concentration of serum sMICB was calculated as a mean value with standard deviation (SD). For data visualization and calculations, GraphPad Prism (Dotmatics, Boston, Massachusetts, USA) was used. Multivariate logistic regression analysis was performed using the RStudio software (v. 2022.12.0, posit, Boston, Massachusetts) to determine the risk factors for post-transplant CMV infection. In this analysis, we used a number of factors (recipients' age, donor–recipient HLA compatibility, donors' and recipients' CMV IgG sero-status, donors' sex and the occurrence of *MICB* rs1065075 *G* allele) to point out those that are of major significance. P value at 0.05 was considered as statistically significant.

3. Results

3.1. Donor MICB polymorphisms and the risk of cGvHD incidence

The SNPs genotyping revealed that the presence of the donor *MICB* rs1065075 *G* allele was less common among patients who had developed cGvHD after HSCT. This genetic variant was detected in 34.62% of the donors whose recipients developed cGvHD and in 58.59% of the donors of the remaining recipients ($p = 0.046$, Figure 1a). Similarly, the donor *MICB* rs3828903 *G* allele was less prevalent among patients who

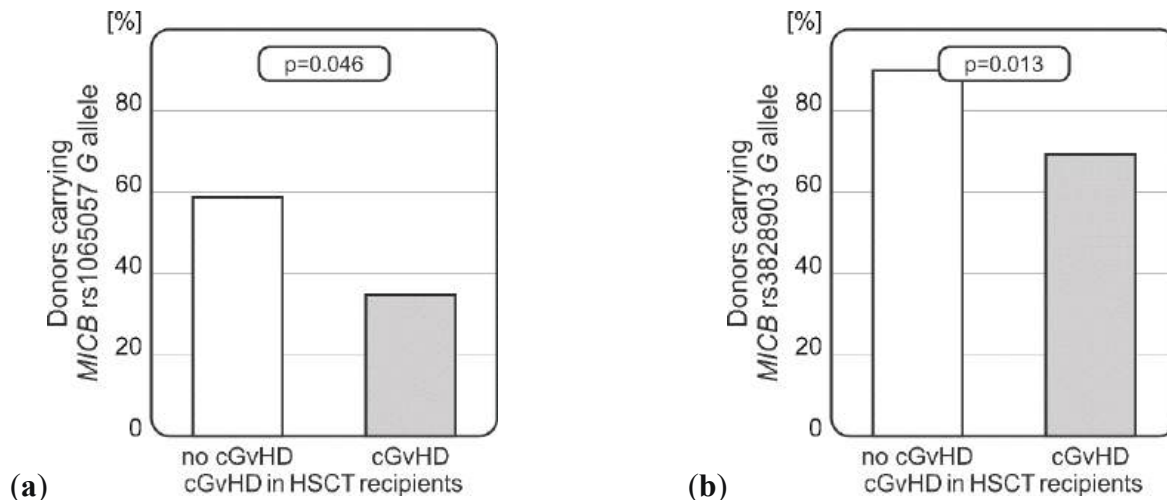


Fig 1. *MICB* genetic variants and development of cGvHD. (a) Donor rs1065075 *G* allele was less common among patients who developed cGvHD. (b) Donor rs3828903 *G* allele was more prevalent among recipients lacking cGvHD post-transplantation. cGvHD, chronic graft-versus-host disease; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation.

developed cGvHD when compared to patients free of that disease (69.23% vs. 89.90%, $p = 0.013$, Figure 1b).

These relationships were also apparent when the patients who developed cGvHD *de novo*, as progression of aGvHD or after remission of aGvHD was considered separately in relation to the donor *MICB* rs1065057 genotype. However, they did not reach statistical significance. As compared to patients without cGvHD symptoms transplanted from donors carrying the *MICB* rs1065075 G allele (58.9%), there were 50.00% of the patients with *de novo* cGvHD and 33.33% with cGvHD after aGvHD remission received HSC from donors with the *MICB* rs1065075 G allele. None of the patients who developed cGvHD as a progression from aGvHD were transplanted from the *MICB* rs1065075 G positive donor.

3.2. *MICB* polymorphism and risk of CMV infection

CMV infection was detected in 38.79% (90/232) of the HSCT recipients after transplantation. It was observed that the presence of the *MICB* rs1065075 G allele in either the donor or recipient may be associated with a decreased risk of infection. This genetic variant was detected among 41.57% of the recipients who developed CMV infection after HSCT (Figure 2a). Similarly, the donor *MICB* rs1065075 G allele was more commonly detected among patients who did not develop CMV infection (Figure 2b). This favorable role of the *MICB* rs1065075 G variant was confirmed in a multivariate analysis. Multivariate logistic regression analysis showed that the recipient IgG status constitutes an independent risk factor for CMV infection, while the HLA compatibility and presence of the *MICB* rs1065057 G allele in recipients significantly protect

from CMV infection ($p = 0.0142$ and $p = 0.0238$, respectively; Table 2).

3.3. Serum sMICB concentrations

Concentration of sMICB was measured in serum collected 30 days after HSCT. The mean level of serum sMICB was 78.79 pg/mL in all samples. Recipients with CMV infection after HSCT were characterized as having an increased level of serum sMICB when compared to recipients without post-transplant CMV infection. The mean value of sMICB was 67.13 pg/mL in individuals without CMV infection and 96.85 pg/mL in recipients diagnosed with CMV infection ($p = 0.0386$; Figure 3a). The sMICB serum concentration was also found to be associated with cGvHD incidence. Recipients who developed cGvHD characterized with increased sMICB levels when compared with patients without cGvHD (62.47 pg/mL in recipients without cGvHD vs. 116.2 pg/mL in recipients with cGvHD, $p = 0.0008$; Figure 3b). Detailed results of serum sMICB concentration measurements are shown in Table 3.

3.4. Serum sMICB concentration in relation to *MICB* polymorphisms

The sMICB level in the recipients' serum seems to be associated with the *MICB* genetic variants (Table 4). *MICB* rs1065057 GG carriers were observed to have the lowest sMICB levels. Homozygous patients with *MICB* rs1065057 GG genotype had decreased sMICB concentration compared with both the AG heterozygous ($p = 0.0215$) and AA homozygous patients ($p = 0.0155$; Figure 4a). A similar association,

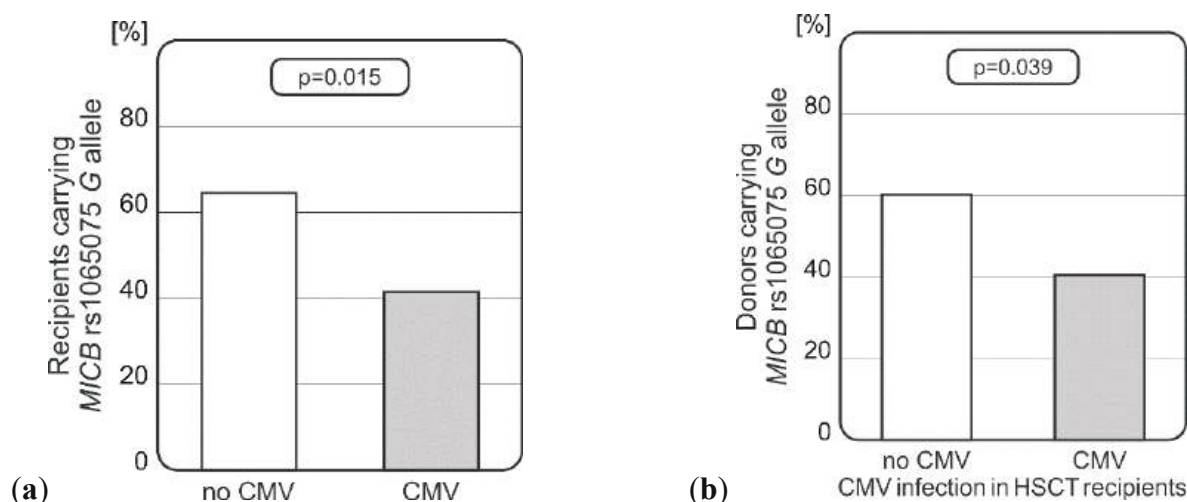


Fig 2. Associations between the *MICB* genotype and the risk of CMV infection development. (a) CMV infection was less frequent in recipients carrying the rs1065075 G allele. (b) Lower incidence of CMV infection in patients transplanted from donors with rs1065075 G allele. CMV, cytomegalovirus; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation.

although not statistically significant, was observed for *MICB* rs3828903 polymorphism. Recipients carrying the *GG* genotype had lower sMICB concentration when compared with the *A* allele carriers (63.49 pg/mL vs. 90.45 pg/mL, $p = 0.0730$; Figure 4b).

4. Discussion

In our present study, HSCT recipients and donors were genotyped for two *MICB* SNPs (rs1065075; *G* to *A* substitution resulting in Lys48Glu amino acid exchange and rs3828903; *G* to *A* nucleotide substitution within intronic sequence). In addition, serum sMICB levels were determined in patients' sera 30 days after transplantation. Our findings showed significant associations between the *MICB* polymorphisms and sMICB serum levels and risk for development of CMV infection or cGvHD.

Table 2. Results of the multivariate analysis for CMV risk factors

Variables	P value	OR	95% CI
Age	0.5988	0.9937	0.9702–1.0176
D/R HLA compatibility	0.0142	0.4276	0.2144–0.8385
Recipient CMV IgG status	<0.0001	16.2592	4.8663–76.9165
Donor CMV IgG status	0.1884	0.5834	0.2570–1.2944
Donor sex	0.1606	1.6562	0.8250–3.3949
<i>MICB</i> rs1065057 <i>G</i> allele	0.0238	0.4701	0.2417–0.8988

CI, confidence interval; CMV, cytomegalovirus; D, donor; HLA compatibility, HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1 match at a high resolution level; OR, odds ratio; R, recipient.

The *MICA* molecule is the most polymorphic of all non-classical HLA and HLA-like molecules, whereas *MICB* is characterized by more limited genetic variability. Its polymorphic variants were reported to have an impact on relapse-free survival or mortality in HSCT recipients, dengue severity, and immunosurveillance in oral squamous cell carcinoma (Ivanova et al. 2021; Machuldova et al. 2021; Faridah et al. 2023; Petersdorf et al. 2023). An interesting *MICB* polymorphism is the Ile/Met amino acid exchange at position 98. Carapito et al. (2020) reported that the donor/recipient mismatch for Ile98Met was associated with an increased risk of developing severe aGvHD grades II–IV or cGvHD. Here we focused on two other SNPs, not previously investigated in the context of HSCT, to study their potential associations with the risk of post-transplant complications. Both SNPs chosen for this study might be related to the ligand–receptor interactions and are located in a similar region of the *MICB* gene. The rs1065057 polymorphism (exon 2) is localized within the region responsible for encoding of the $\alpha 1$ domain of *MICB* protein, which is exposed to the corresponding NKG2D receptor. The other polymorphism (rs3828903) is localized in intron 1, which is placed between the leader sequence and exon 1.

Our results on the genetic distribution of two *MICB* polymorphisms revealed that in both rs1065057 (Lys48Glu) and rs3828903 (intronic substitution) SNPs, the *G* allele plays a favorable role as it was associated with a decreased incidence of cGvHD development after HSCT. Additionally, we showed that the presence of the *MICB* rs1065075 *G* allele in recipients and donors may play a protective role against CMV infection after HSCT. The effect of recipient genotype

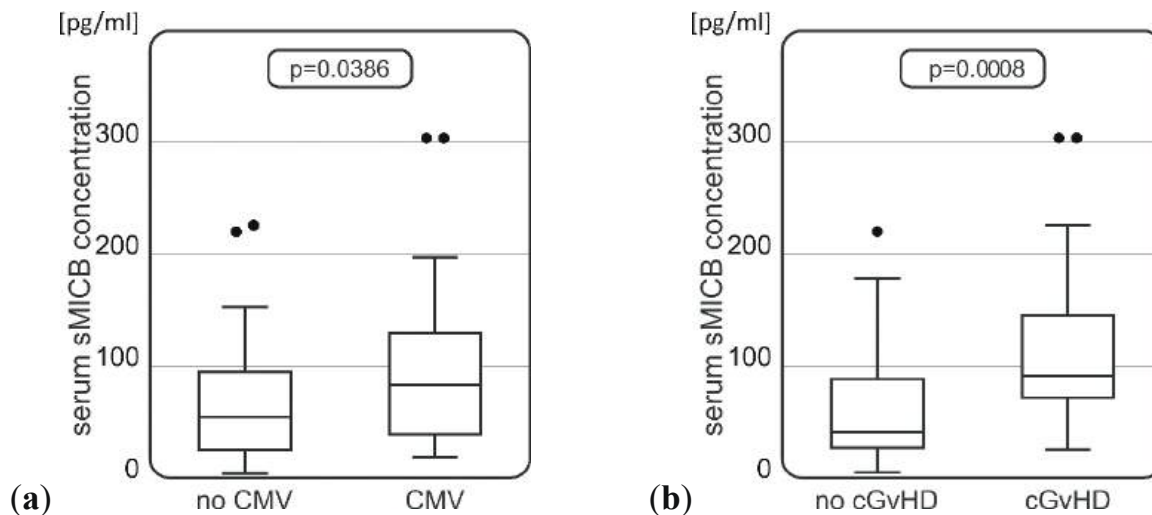


Fig 3. Serum sMICB levels in recipients diagnosed with various post-transplant complications. (a) Increased sMICB concentration in recipients with CMV infection. (b) Higher sMICB level in patients who developed chronic form of GvHD. cGvHD, chronic graft-versus-host disease; CMV, cytomegalovirus; GvHD, graft-versus-host-disease; sMICB, soluble MICB.

was confirmed in a multivariate analyses together with HLA compatibility and lack of pre-transplant anti-CMV IgG antibodies as protective factors.

Both MICA and MICB molecules can be shed in their soluble forms from the cell surface, indicating immune evasion and escape from detection by NK cells (Chitadze et al. 2013; Suresh 2016). Being one of the most characteristic tumor immune escape mechanisms, shedding of these two molecules is possible due to metalloproteinases (ADAMs and

MMPs families) and disintegrins (Zocchi et al. 2015). When expressed on the surface of target cells, MICA and MICB serve as ligands for NKG2D activating receptor, allowing their recognition by NK cells. Blocking this ligand–receptor interaction compromises cytotoxic properties of the NK cells. Increased levels of soluble NK cell ligands (sMICA, sMICB, and sULBPs) had been associated with poor prognosis in cancer patients (Groh et al. 2002; Doubrovina et al. 2003; Wu et al. 2004; Holdenrieder et al. 2006a; Nuckel et al. 2010; Vela-Ojeda et al. 2021). Interestingly, the MICB molecule can be found in its soluble form in the tumor microenvironment but is not expressed directly on the surface of tumor cells (Raffaghello et al. 2004; Holdenrieder et al. 2006b; Boutet et al. 2009; Kaidun et al. 2023). NKG2D ligands are overexpressed during CMV infection, which helps with the recognition and clearance of the infected cells. It was reported that the human CMV-encoded UL16 protein binds specifically to MICB, competing with NKG2D. This leads to decreased binding to the activating receptor and, as a result, decreased NK cell activity (Spree et al. 2006).

In accordance with these observations, we detected higher sMICB serum concentrations in patients who developed CMV after HSCT. Moreover, increased sMICB serum levels were found in patients who suffered from cGvHD. This is a novel observation that has not been previously described. Furthermore, our study has also revealed associations between the MICB polymorphism and sMICB concentrations in patients' sera. Patients homozygous for rs1065057 AA and rs3828903 AA were characterized with higher sMICB levels compared to recipients carrying at least one G allele, further confirming the protective role of those genetic variants. Since soluble forms of non-classical HLA and HLA-like molecules

Table 3. Serum sMICB concentrations in HSCT recipients

	No CMV (pg/mL)	CMV [pg/mL]	No cGvHD (pg/mL)	cGvHD (pg/mL)
Mean	67.13	96.85	62.47	116.2
SD	54.23	72.04	49.88	77.03
Std. Error	8.47	12.18	6.73	15.72
25–75% percentile	25.38–94.86	39.42–129.8	26.53–88.25	71.60–145.2
95% CI	50.01–84.25	72.10–121.6	48.98–75.95	83.69–148.7

cGvHD, chronic graft-versus-host disease; CI, confidence interval; CMV, cytomegalovirus; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; SD, standard deviation; sMICB, soluble MICB.

Table 4. Mean serum sMICB concentrations of patients with various MICB genotypes

Variant	MICB SNP	
	rs1065057	rs3828903
AA	91.47 pg/mL	90.45 pg/mL
AG	74.95 pg/mL	90.48 pg/mL
GG	39.78 pg/mL	63.49 pg/mL

sMICB, soluble MICB; SNP, single nucleotide polymorphism.

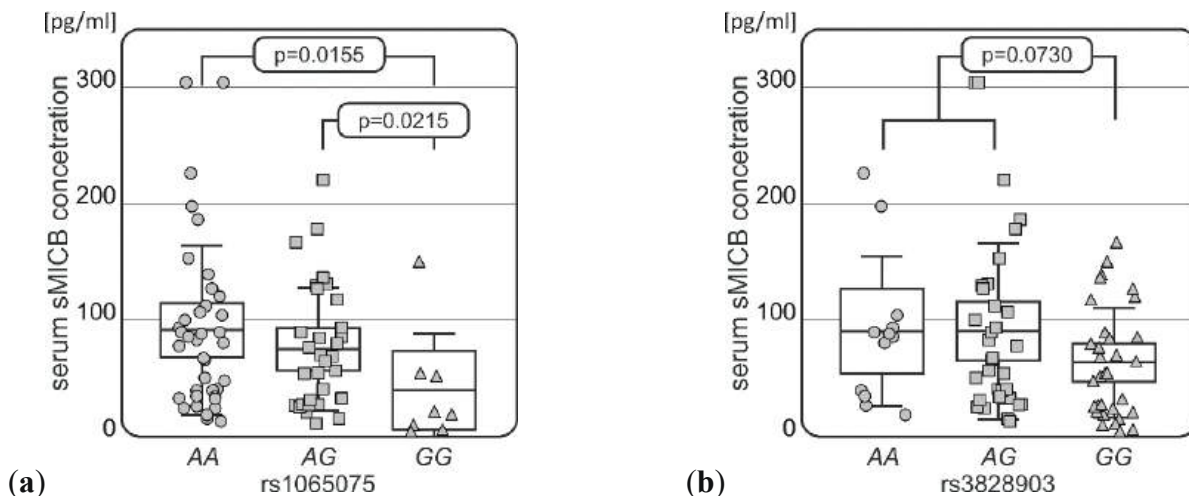


Fig 4. Relationships between serum sMICB and two MICB SNPs. (a) Lower sMICB level in serum samples of MICB rs1065057 GG homozygous patients. (b) Differences in sMICB concentration between recipients carrying various MICB rs3828903 genotypes. sMICB, soluble MICB; SNPs, single nucleotide polymorphism.

may serve as decoy ligands for NK cell receptors, blocking cytotoxic properties, their increased levels are considered as a negative factor for disease development and worse outcome (Salih et al. 2006; Ribeiro et al. 2016; Siemaszko et al. 2021). Results obtained in this study support these findings. Nevertheless, it should be noted that the number of tested samples is relatively small and a study on a larger cohort could be needed to confirm our findings. Furthermore, the biological material was not available for some of the donors, limiting our observations of the immunogenetic donor–recipient associations.

Taken together, in the present study, we showed significant associations of the *MICB* genetic variants and sMICB serum levels with the development of post-transplant complications in recipients undergoing allogeneic HSCT. We found that the increased serum sMICB concentration is a negative factor for CMV infection and cGvHD development. We showed that both donor and recipient *MICB* variants could be potential prognostic markers of CMV and cGvHD. Our results indicate the emerging role of MICB molecule in the context of HSCT outcome.

References

- Aguilar OA, Qualls AE, Gonzalez-Hinojosa MDR et al (2024) MICB genomic variant is associated with NKG2D-mediated acute lung injury and death. *Am J Respir Crit Care Med* 209:70–82. <https://doi.org/10.1164/rccm.202303-0472OC>
- Baek IC, Shin DH, Choi EJ et al (2018) Association of MICA and MICB polymorphisms with the susceptibility of leukemia in Korean patients. *Blood Cancer J* 8:58. <https://doi.org/10.1038/s41408-018-0092-5>
- Blunt MD, Khakoo SI (2023) Harnessing natural killer cell effector function against cancer. *Immunother Adv* 4:ltad031. <https://doi.org/10.1093/immadv/ltad031>
- Bogunia-Kubik K, Łacina P (2021) Non-KIR NK cell receptors: Role in transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells. *Int J Immunogenet* 48:157–171. <https://doi.org/10.1111/iji.12523>
- Boutet P, Agüera-González S, Atkinson S et al (2009) Cutting edge: The metalloproteinase ADAM17/TNF- α -converting enzyme regulates proteolytic shedding of the MHC Class I-related chain B protein. *J Immunol* 182:49–53. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.1.49>
- Carapito R, Aouadi I, Pichot A et al (2020) 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* 55:1367–1378. <https://doi.org/10.1038/s41409-020-0886-5>
- Chitadze G, Bhat J, Lettau M et al (2013) Generation of soluble NKG2D ligands: Proteolytic cleavage, exosome secretion and functional implications. *Scand J Immunol* 78:120–129. <https://doi.org/10.1111/sji.12072>
- Doubrovina ES, Doubrovin MM, Vider E et al (2003) Evasion from NK cell immunity by MHC class I chain-related molecules expressing colon adenocarcinoma. *J Immunol* 171:6891–6899. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.12.6891>
- Eberhardt KA, Jung V, Knops E et al (2023) CMV-IgG pre-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and the risk for CMV reactivation and mortality. *Bone Marrow Transplant* 58:639–646. <https://doi.org/10.1038/s41409-023-01944-2>
- Faridah IN, Dania H, Maliza R et al (2023) Genetic association studies of MICB and PLCE1 with severity of dengue in Indonesian and Taiwanese populations. *Diagnostics* 13:3365. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13213365>
- Farzad F, Yaghoubi N, Jabbari-Azad F et al (2022) Prognostic value of serum MICA levels as a marker of severity in COVID-19 patients. *Immunol Invest* 51:1856–1866. <https://doi.org/10.1080/08820139.2022.2069035>
- Fuerst D, Neuchel C, Niederwieser D et al (2016) Matching for the MICA-129 polymorphism is beneficial in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 128:3169–3176. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-716357>
- González-Cruz C, Repiso T, Ferrándiz-Pulido C et al (2023) Risk factors and clinical characteristics of acute and chronic cutaneous graft-versus-host disease in pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Dermatol* 40:1077–1080. <https://doi.org/10.1111/pde.15447>

Conflict of Interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Author Contributions

JS performed genotyping studies and statistical analyses, drafted and finalized the manuscript; MD performed the assessment of the sMICB concentration in serum samples; AC, AS, MSK, WF, IS, BNA, PS, MB, AT, GWB, SG, and TW provided patients' clinical samples and clinical data; KBK conceived and designed the study, analyzed the data, drafted and finalized the manuscript and secured funding. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by the grant from the National Science Centre (Poland): 2018/31/B/NZ2/03065.

- Goulding J, Yeh WI, Hancock B et al (2023) A chimeric antigen receptor uniquely recognizing MICA/B stress proteins provides an effective approach to target solid tumors. *Med* 4:457–477.e8. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2023.04.004>
- Groh V, Wu J, Yee C et al (2002) Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature* 419:734–738. <https://doi.org/10.1038/nature01112>
- Holdenrieder S, Stieber P, Peterfi A et al (2006a) Soluble MICA in malignant diseases. *Int J Cancer* 118:684–687. <https://doi.org/10.1002/ijc.21382>
- Holdenrieder S, Stieber P, Peterfi A et al (2006b) Soluble MICB in malignant diseases: Analysis of diagnostic significance and correlation with soluble MICA. *Cancer Immunol Immunother* 55:1584–1589. <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0167-1>
- Holtick U, Quignot N, Kapso-Kapnang R et al (2024) Clinical and economic burden associated with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation in Germany. *Transplant Proc* 56:191–200. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2023.11.032>
- Isernhagen A, Malzahn D, Viktorova E et al (2015) The MICA-129 dimorphism affects NKG2D signaling and outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *EMBO Mol Med* 7:1480–1502. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505246>
- Ivanova M, Al Hadra B, Yordanov S et al (2021) Associations of high-resolution-typing-defined MICA and MICB polymorphisms, and the levels of soluble MICA and MICB with oral squamous cell carcinoma in Bulgarian patients. *J Oral Pathol Med* 50:758–765. <https://doi.org/10.1111/jop.13185>
- Kaidun P, Holzmayer SJ, Greiner SM et al (2023) Targeting NKG2DL with bispecific NKG2D-CD16 and NKG2D-CD3 fusion proteins on triple-negative breast cancer. *Int J Mol Sci* 24:13156. <https://doi.org/10.3390/ijms241713156>
- Kshersagar J, Damle MN, Bedge P et al (2022) Downregulation of MICA/B tumor surface expressions and augmented soluble MICA serum levels correlate with disease stage in breast cancer. *Breast Dis* 41:471–480. <https://doi.org/10.3233/BD-220023>
- Machuldova A, Houdova L, Kratochvilova K et al (2021) Single-nucleotide polymorphisms in MICA and MICB genes could play a role in the outcome in AML patients after HSCT. *J Clin Med* 10:4636. <https://doi.org/10.3390/jcm10204636>
- Nagai K, Tawara T, Usui J et al (2022) Levels of soluble NKG2D ligands and cancer history in patients starting hemodialysis. *Front Nephrol* 2:875207. <https://doi.org/10.3389/fneph.2022.875207>
- Nuckel H, Switala M, Sellmann L et al (2010) The prognostic significance of soluble NKG2D ligands in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 24:1152–1159. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.74>
- Onyeaghala G, Nelson HH, Thyagarajan B et al (2017) Soluble MICA is elevated in pancreatic cancer: Results from a population based case-control study. *Mol Carcinog* 56:2158–2164. <https://doi.org/10.1002/mc.22667>
- Ouni N, Ben Chaaben A, Ayari F et al (2020) MICA-129 Met/Val polymorphism could be a genetic biomarker for familial breast cancer in the Tunisian population. *Int J Immunogenet* 47:406–413. <https://doi.org/10.1111/iji.12480>
- Ouni N, Ben Chaaben A, Kablouti G et al (2017) MICA-129Met/Val polymorphism is associated with early-onset breast cancer risk. *Immunol Invest* 46:603–614. <https://doi.org/10.1080/08820139.2017.1336175>
- Parmar S, Del Lima M, Zou Y et al (2009) 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* 114:2884–2887. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-223172>
- Passweg JR, Baldomero H, Ciceri F et al (2023) Hematopoietic cell transplantation and cellular therapies in Europe 2021. The second year of the SARS-CoV-2 pandemic. A report from the EBMT Activity Survey. *Bone Marrow Transplant* 58:647–658. <https://doi.org/10.1038/s41409-023-01943-3>
- Patil S, Schwarzer T (2009) Natural killer cells – new understanding of basic biology may lead to more effective allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Intern Med J* 39:639–647. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2009.02024.x>
- Petersdorf EW, McKallor C, Malkki M et al (2023) Role of NKG2D ligands and receptor in haploidentical related donor hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv* 7:2888–2896. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022008922>
- Peterson EE, Barry KC (2021) The natural killer-dendritic cell immune axis in anti-cancer immunity and immunotherapy. *Front Immunol* 11:621254. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.621254>
- Prokopeva AE, Emene CC, Gomzikova MO (2023) Antitumor immunity: Role of NK cells and extracellular vesicles in cancer immunotherapy. *Curr Issues Mol Biol* 46:140–152. <https://doi.org/10.3390/cimb46010011>
- Raffaghella L, Prigione I, Airolidi I et al (2004) Downregulation and/or release of NKG2D ligands as immune evasion strategy of human neuroblastoma. *Neoplasia* 6:558–568. <https://doi.org/10.1593/neo.04316>
- Ribeiro CH, Kramm K, Gálvez-Jirón F et al (2016) Clinical significance of tumor expression of major histocompatibility complex class I-related chains A and B (MICA/B) in gastric cancer patients. *Oncol Rep* 35:1309–1317. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4510>
- Salih HR, Goehlsdorf D, Steinle A (2006) Release of MICB molecules by tumor cells: Mechanism and soluble MICB in sera of cancer patients. *Hum Immunol* 67:188–195. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2006.02.008>
- Sánchez-Cerrillo I, Calzada-Fraile D, Triguero-Martínez A et al (2023) MICA/b-dependent activation of natural killer cells by CD64⁺ inflammatory type 2 dendritic cells contributes to autoimmunity. *EMBO J* 42:e113714. <https://doi.org/10.15252/embj.2023113714>
- Siemaszko J, Marzec-Przyszlak A, Bogunia-Kubik K (2021) NKG2D natural killer cell receptor—a short description and potential clinical applications. *Cells* 10:1420. <https://doi.org/10.3390/cells10061420>
- Siemaszko J, Marzec-Przyszlak A, Bogunia-Kubik K (2023) Activating NKG2C receptor: Functional characteristics and

- current strategies in clinical applications. *Arch Immunol Ther Exp* 71:9. <https://doi.org/10.1007/s00005-023-00674-z>
- Spreu J, Stehle T, Steinle A (2006) Human cytomegalovirus-encoded UL16 discriminates MIC molecules by their $\alpha 2$ domains. *J Immunol* 177:3143–3149. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.5.3143>
- Sulaiman NY, Anuar NA, Arshad N et al (2024) CMV infection post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in a resource limited country. *Indian J Hematol Blood Transfus* 40:97–102. <https://doi.org/10.1007/s12288-023-01655-0>
- Suresh PK (2016) Membrane-bound versus soluble major histocompatibility complex Class I-related chain A and major histocompatibility complex Class I-related chain B differential expression: Mechanisms of tumor eradication versus evasion and current drug development strategies. *J Cancer Res Ther* 12:1224–1233. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.176169>
- Vela-Ojeda J, Perez-Retiguin FDC, Olivas-Bejarano AC et al (2021) Clinical relevance of NKT cells and soluble MIC-A in Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 62:801–809. <https://doi.org/10.1080/10428194.2020.1852473>
- Wang CM, Tan KP, Jan Wu YJ et al (2021) MICA*019 allele and soluble MICA as biomarkers for ankylosing spondylitis in Taiwanese. *J Pers Med* 11:564. <https://doi.org/10.3390/jpm11060564>
- Wang LP, Niu H, Xia YF et al (2015) Prognostic significance of serum sMICA levels in non-small cell lung cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 19:2226–2230
- Wang Y, Li S, Chen C et al (2019) MICB*002 and MICB*014 protect against rheumatoid arthritis, whereas MICA*009 and MICA*A6 are associated with rheumatoid arthritis in a Hainan Han Chinese population. *Int J Rheum Dis* 22:90–95. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13302>
- Wu JD, Higgins LM, Steinle A et al (2004) Prevalent expression of the immunostimulatory MHC class I chain-related molecule is counteracted by shedding in prostate cancer. *J Clin Invest* 114: 560–568. <https://doi.org/10.1172/JCI22206>
- Xu Z, Taylor JA (2009) SNPinfo: Integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res* 37(Web Server issue):W600–5. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp290>
- Yu P, Zhu Q, Chen C et al (2017) Association between major histocompatibility complex Class I chain-related gene polymorphisms and susceptibility of systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 354:430–435. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2017.06.003>
- Zingoni A, Vulpis E, Cecere F et al (2018) MICA-129 dimorphism and soluble MICA are associated with the progression of multiple myeloma. *Front Immunol* 9:926. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00926>
- Zocchi MR, Camodeca C, Nuti E et al (2015) ADAM10 new selective inhibitors reduce NKG2D ligand release sensitizing Hodgkin lymphoma cells to NKG2D-mediated killing. *Oncoimmunology* 5:e1123367. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1123367>

Publikacja nr 3

Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation.
Human Immunology - praca przyjęta do druku

Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation

Jagoda Siemaszko^a, Piotr Łacina^a, Donata Szymczak^b, Agnieszka Szeremet^b, Maciej Majcherek^b, Anna Czyż^b, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka^c, Wojciech Fidyk^c, Iwona Solarska^d, Barbara Nasiłowska-Adamska^d, Patrycja Skowrońska^e, Maria Bieniaszewska^f, Agnieszka Tomaszewska^g, Grzegorz W. Basak^g, Sebastian Giebel^c, Tomasz Wróbel^b and Katarzyna Bogunia-Kubik^{a*}

^aLaboratory of Clinical Immunogenetics and Pharmacogenetics, Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

^bDepartment of Hematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

^cDepartment of Bone Marrow Transplantation and Hematology-Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice, Poland

^dInstitute of Hematology and Blood Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

^eCell and Tissue Bank, University Medical Center in Gdansk, Gdansk, Poland

^fDepartment of Hematology and Transplantology, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

^gDepartment of Hematology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

*corresponding author; e-mail address: katarzyna.bogunia-kubik@hirsfeld.pl

Abstract

Despite new treatment strategies, graft-versus-host disease (GvHD) remains a formidable complication after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). This study aimed to investigate the impact of polymorphisms and expression of MICA and NKG2D receptor on the development of GvHD in allogeneic HSCT recipients. Soluble MICA (sMICA) concentration was measured in serum collected 30 days after transplantation and the genetic variability of *MICA* and *NKG2D* genes was evaluated. The frequency of NKG2D+ NK cells was determined by flow cytometry before and (21, 30, 60 and 90 days) after transplantation. Recipients with acute GvHD grades II-IV carried the *NKG2D* rs1049174 C allele more frequently than controls or patients with no or mild disease. Patients with chronic GvHD had higher frequency of NKG2D expressing NK cells posttransplant, reflecting increased activity of their NK cells. Although no direct relationship between *MICA* SNPs and GvHD were observed, the presence of *MICA* rs1051792 GG genotype correlated with elevated sMICA levels and increased serum level of sMICA was associated with higher risk of chronic GvHD. Our findings suggest that sMICA concentration may serve as a potential biomarker for chronic GvHD and emphasize the impact of genetic variability of NKG2D and its surface expression on the HSCT outcome.

Keywords: NK cells, MICA, NKG2D, HSCT, GvHD

Abbreviations: hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), graft-versus-host disease (GvHD), Natural killer (NK), Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), MSD – matched sibling donor, MUD – matched unrelated donor, MMUD – mismatched unrelated donor, MAC – myeloablative conditioning,

RIC – reduced intensity conditioning, NMA – non- myeloablative conditioning, M – male, F – female, R – recipient, D – donor, AML - acute myeloid leukemia, ALL - acute lymphoblastic leukemia, MDS - myelodysplastic syndrome, MPN - myeloproliferative neoplasms , PCM - plasma cell myeloma, NHL - Non-Hodgkin lymphomas, HL - Hodgkin lymphomas, CSA - Cyclosporine A, PTCy - posttransplantation cyclophosphamide, MTX – methotrexate, MMF - mycophenolate mofetil, CMV - cytomegalovirus, EBV - Epstein-Barr virus.

Introduction

Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) is a medical procedure in which hematopoietic stem cells, being the precursors to all blood cells, are transplanted from a donor to a recipient [1]. It is used to treat certain types of blood cancers as well as some non-malignant disorders like severe aplastic anaemia or diseases affecting the blood and immune system [2]. The success of allogeneic transplantation largely depends on the histocompatibility between the donor and the HSCT recipient that significantly decreases the risk of graft failure [3]. However, there are still some factors affecting the HSCT outcome, such as graft-versus-host disease (GvHD) manifestation or patients' survival [4]. Hence the importance of identifying new biomarkers that have potential impact on the development of posttransplant complications is critical, therefore identification of novel biomarker candidates could lead to more personalized treatment approaches and better risk stratification [5].

Natural killer (NK) cells are a unique component of human immune system having the properties of both innate and adaptive immunity. Reconstitution of NK cells occurs the earliest and is the most rapid of all lymphocytes, especially during the first three months after haematopoietic stem cell transplantation, which was also observed and confirmed in *in vitro* studies [6,7,8]. Additionally, it has been proved that the reconstituting NK cells are of donor origin [9]. Although HSCT is a life-saving form of treatment, it still can lead to development of posttransplant complications, with graft-versus-host disease being one of the most common [10]. GvHD can occur in an acute (aGvHD) or chronic (cGvHD) form and their pathomechanisms are somewhat different. Typically, aGvHD is manifested earlier after HSCT and affects mostly skin, gut or liver, while cGvHD can cause multi-organ failure and is usually established later [11,12,13]. NK cells possess a dual role in the context of graft-versus-host disease development. The NK cell GvHD-promoting effect is mostly caused by production of IFN- γ and TNF- α , which are major pro-inflammatory factors. Conversely, NK cells can also cause lysis of alloreactive T cells, responsible for GvHD, leading to its suppression [9, 14,15,16].

Functioning of the NK cells is driven by a wide set of activating and inhibitory receptors, localized on their surface, which are responsible for recognition of the target cells. One of the most important NK cell receptors is activating NKG2D, belonging to the C-type lectin-like NKG2 receptor family. It is expressed on the surface of NK and some subsets of T cells e.g. $\gamma\delta$ T cells. Its presence is associated with the activation of NK cells, which leads to release of cytokines and granzymes responsible for destruction of target cells [17]. The non-classical MHC class I chain-related A and B (MICA/MICB) molecules both act as ligands for this receptor, monitoring its functionality [18]. MICA can be expressed by a variety of cells (e.g. epithelial cells, endothelial cells or fibroblasts) but is usually upregulated in stressed cells as a response to infection, heat shock or malignant transformation. Thanks to this mechanism, the MICA-expressing cells are prone to immune surveillance and play a vital role in activating and regulating NK cells [19,20,21,22]. MICA is considered to be the most polymorphic of all non-classical class I MHC molecules with over 100 reported alleles (making it possible to encode over 100 protein variants) [23]. Most of *MICA* polymorphisms are located within the $\alpha 2$ and $\alpha 3$ domains, with the $\alpha 2$ domain being responsible for binding the NKG2D receptor [16]. When in its membrane-bound form, the MICA protein operates like a functional ligand for the NKG2D receptor, enhancing

cytotoxic properties of NK cells [17]. However, MICA can also appear in a soluble form (sMICA) in an extracellular environment. Such soluble forms can be released by cancer cells and act as decoys for NKG2D, preventing the receptor binding with its target cell and downregulating the NK cells functionality [24,25]. Clinical studies showed that elevated serum sMICA concentration can be associated with cancer (such as breast cancer or cervical cancer), poor survival or severity of viral infection (SARS-CoV-2) [26,27,28,29].

Due to its highly polymorphic nature, the Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) of the MICA encoding gene are the focus of many studies [23, 30,31,32]. The most notable MICA SNP is rs1051792, resulting in an amino acid substitution at position 129 (Met/Val) [33]. The MICA 129-Val variant, associated with lower NKG2D binding affinity and, as a result, reduced immune surveillance, is associated with increased risk of breast cancer. On the other hand, the 129-Met variant, linked with stronger NKG2D binding, is correlated with increased immune response, resulting in development of some autoimmune diseases [34,35,36]. In the transplantation setting, the 129-Met allele was related with increased overall survival and lower risk of acute [37] or chronic [38] graft-versus-host disease (GvHD) development [reviewed in 39].

NKG2D SNPs have also been widely studied in various clinical situations, for example, rheumatic diseases and many types of cancer, including hematological malignancies [16, 40,41]. The most significant one seems to be a 3' UTR SNP *NKG2D* rs1049174, described to be located within a potential micro-RNA binding site [42,43,44,45]. This SNP is localized in the eighth exon and results in a C (LNK1) / G (HNK1) nucleotide substitution. The HNK1 haplotype, represented by G allele, is associated with high NK cell activity and was described as a protective factor in other studies [46].

In this present study we aimed to investigate the role of genetic variability and expression of NKG2D receptor and its ligand, the MICA molecule, in the context of the development of posttransplant complications in adult recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. For this purpose, four SNPs were assessed in patients and their donors, and NKG2D surface expression and sMICA serum concentration were measured after transplantation.

Materials and Methods

Patients' demographics

In this study, 293 adult allogeneic haematopoietic stem cell transplantation recipients were included. Additionally, samples from 128 donors were also gathered. The samples of HSCT recipients and their donors are of Polish origin and were collected by five Polish transplantation centres. All recipients were approved for HSCT procedure according to the European Society for Blood and Marrow Transplantation criteria and the exclusion criteria were as follows: age below 18 years old; Karnofsky index below 80% and high Haematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index. The median recipient age in the analysed study group was 51 years. 58.36% of recipients were male. The most common types of donors were sibling (MSD, 40.27%) and unrelated (MUD, 32.42%). Detailed information and patients characteristics are presented below (**Table 1**). The study was approved by the Wroclaw Medical University Ethics Committee (identification code: KB-561/2019) and conducted in compliance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all participants prior to their inclusion in the study.

Table 1. Demographic data of the patients.

HSCT recipients	N=293 (100%)
Age (y/o)	19-73 (median=51)
M/F	171/122 (58.36/41.64 %)
Type of donor	
MSD/ MUD/haploidentical/MMUD	118/95/64/16 (40.27/32.42/21.84/8.87 %)
Conditioning	
MAC/RIC/NMA	151/138/3 (51.54/47.1/1.02 %)
Donor/Recipient sex	
M to M	128 (43.69 %)
F to F	48 (16.38 %)
M to F	71 (24.23 %)
F to M	42 (14.33 %)
Diagnosis	
AML	117 (39.93 %)
ALL	36 (12.29 %)
MDS	30 (10.24 %)
MPN	29 (9.9 %)
PCM	10 (3.41 %)
NHL	31 (10.58 %)
HL	14 (4.78 %)
Other	26 (8.87 %)
GvHD prophylaxis	
CSA+MTX	189 (64.51 %)
PTCy+TAC+MMF	52 (17.75 %)
CSA+MMF	8 (2.73 %)
TAC+MTX	3 (1.02 %)
TAC+MMF	3 (1.02 %)
Other	38 (12.97 %)
Posttransplant complications	
aGvHD (with grades)	
0-I	232 (79.18 %)
II-IV	61 (20.82 %)
cGvHD	61 (20.82 %)
CMV infection	105 (35.84 %)
EBV infection	24 (8.19 %)
Relapse	48 (16.38 %)
Death	51 (17.41 %)

MSD – matched sibling donor, MUD – matched unrelated donor, MMUD – mismatched unrelated donor, MAC – myeloablative conditioning, RIC – reduced intensity conditioning, NMA – non- myeloablative conditioning, M – male, F – female, R – recipient, D – donor, AML - acute myeloid leukemia, ALL - acute lymphoblastic leukemia, MDS - myelodysplastic syndrome, MPN - myeloproliferative neoplasms, PCM - plasma cell myeloma, NHL - Non-Hodgkin lymphomas, HL - Hodgkin lymphomas, CSA+MTX - Cyclosporine A + methotrexate, PTCy+TAC+MMF - posttransplantation cyclophosphamide + tacrolimus + mycophenolate mofetil, CSA+MMF - Cyclosporine A + mycophenolate mofetil, TAC+MTX - tacrolimus + methotrexate, TAC+MMF – tacrolimus + mycophenolate mofetil, CMV - cytomegalovirus, EBV - Epstein-Barr virus.

DNA isolation

DNA was isolated from whole blood collected before transplantation on ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes from 293 HSCT recipients and 128 donors. Isolation was performed by a standard column method using commercially available NucleoSpin Blood kit (MACHEREY-NAGEL, Germany), according to the manufacturer's protocol. Briefly, 200 mL of whole blood was transferred onto the column and the lysis was performed. Next, samples were incubated in 70°C, followed by a series of washes. After the final elution, DNA samples were stored in -20°C for further use.

Single nucleotide polymorphisms genotyping

For the analysis of distribution of genetic variants of *MICA* and *NKG2D*, four SNPs were selected. Genotyping was performed by real-time PCR using Light SNiP assays (TibMOLBIOL, Germany) according to the manufacturer's protocol. Before experiments all reagents and DNA samples were brought to room temperature. The reaction mix for PCRs contained PCR-grade water, FastStart DNA Master HybProbe (Roche, Switzerland), MgCl₂ and Reagent Mix with LighSNiP for each specific polymorphism. Reactions were performed in LightCycler 480 II (Roche, Switzerland) instrument. Detailed information on selected SNPs can be seen in the table below (**Table 2**). For all experiments the negative control was included for the validation of the obtained results. Genotyping was performed on the whole group of recipients (N=293) and donors (N=128), including individuals used for serum sMICA concentration and cytometry analyses.

Table 2. Detailed SNP's characterization.

Gene	SNP ID	SNP location	Effect
NKG2D	rs1049174	exon 8 encoding ligand-binding ectodomain	G>C substitution associated with activity levels of NK cells; G allele and C allele haplotypes are associated with high (HNK1) and low (LNK1) activity, respectively
	rs1154831	intron, a potential transcription factor binding site	possible impact on NKG2D expression
MICA	rs1051792	exon 3	G>A substitution resulting in Val129Met amino acid exchange affecting the binding affinity of NKG2D
	rs1063635	exon 8, 3'UTR, a potential miRNA binding site	G>A substitution resulting in Gln274Arg amino acid exchange with a possible role in regulation of the MICA gene expression

Serum sMICA concentration

Serum was isolated from freshly collected whole blood at two time points (30 and 90 days) after HSCT and stored in -80°C. To determine serum concentration of soluble form of the MICA molecule the Luminex assay was performed using the Luminex Discovery Assay premixed kits (R&D Systems, biotechnne, USA), as described before [47]. Briefly, a series of 3-fold diluted Standard was used for each experiment. Samples were diluted in a Calibrator Diluent (provided by manufacturer) to create 2-fold dilutions. All samples were measured in duplicates using the Luminex 200 instrument (Luminex Corp., USA). A total number of analysed samples was 278 (158 samples collected at day +30 and 120 samples at day +90 after transplantation). The changes in serum sMICA concentration between two time-points were measured using samples from the same individuals. All samples and reagents were brought to

room temperature before performing the experiments. The xPonent 4.2 software was used to calculate the median fluorescence intensity (MFI) of all samples.

Surface expression of NKG2D receptor

The surface expression of NKG2D receptor on the NK cells was determined by flow cytometry. Peripheral blood of 47 HSCT recipients was collected on EDTA tubes (Becton Dickinson and Company; BD, USA) in five time points; before transplantation and 21, 30, 60 and 90 days after transplantation. The evaluation of nucleated cells was carried out on an 8-color FACS Canto II flow cytometer (BD). The following antibodies were used for NK cells surface staining: CD94 FITC, CD57 PE, NKG2C (CD159c) PerCP-Cy5.5, CD56 PC-7, NKG2D (CD314) APC, CD3 APC-H7, NKG2A (CD159a) V450, CD16 V500 (BD). The gating strategy included discrimination of doublets and debris, evaluating the lymphocytes and their subpopulations defined as CD3+ T cells and NK cells, as previously described [48]. For the purpose of this study that aimed to assess the NKG2D expression on NK cells the gating strategy showed in Figure 1 was employed. The NKG2D+ NK cells were gated based on the surface expression of CD314 marker (see below).

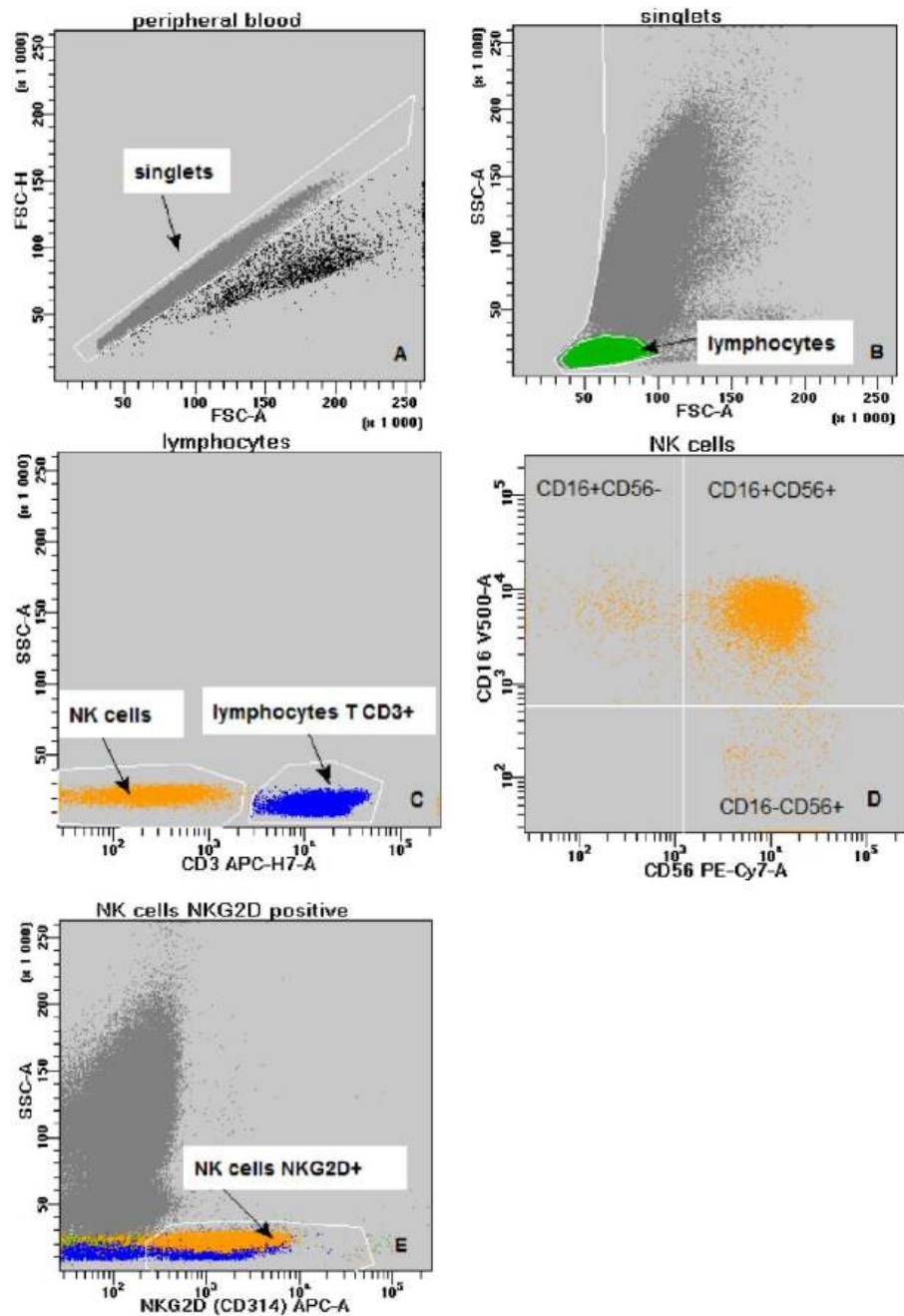


Fig. 1. The gating strategy A - E: grey - singlets; green - lymphocytes; blue - lymphocytes T CD3+; orange - NK cells. **A** - discrimination of doublets (FSC-A vs. FSC-H); **B** - discrimination of debris and lymphocytes gating; (FSC-A vs. SSC-A); **C** - lymphocyte subpopulations: lymphocytes T CD3+ (blue) and NK cells (orange) - (CD3 vs. SSC-A); **D** - NK cells (CD56 vs. CD16); **E** - NK cells NKG2D positive (NKG2D vs. SSC-A).

Statistical analysis

Frequencies of allelic distribution in the studied groups were tested for the Hardy–Weinberg equilibrium. For comparison of serum sMICA concentration data, the Mann–Whitney test for nonparametric data was performed. Data from the flow cytometry experiments were analysed by the

BD FACSDiva software v8.0.0 (BD Biosciences, USA). The differences in genetic distribution of MICA and NKG2D SNPs were compared using Fisher's exact test with two-tailed *p* value. *P* value at <0.05 was considered statistically significant. Data visualisation and all calculations were performed using the RStudio v.4.2 and GraphPad Prism v.10.0 (Dotmatics) software. For multivariate analysis the logistic regression model was used.

Results

Genetic distribution of MICA and NKG2D variants

Genotyping for two *MICA* and two *NKG2D* SNPs was performed on DNA samples from HSCT recipients and their donors. Distributions of genetic variants were similar in both analysed groups. Additionally, the results of recipients' genotyping were compared with genetic distribution of unrelated healthy individuals of Polish origin (**Table 4**). The unrelated healthy individuals (N=234) were volunteers from the Regional Centre of Transfusion Medicine and Blood Bank in Wrocław, Poland.

Table 4. Distribution of *MICA* and *NKG2D* genetic variants.

SNP	Recipients N=293	Donors N=128	Controls N=234*
<i>MICA</i> rs1051792			
GG (<i>Val/Val</i>)	123 (41.98%)	53 (41.41%)	102 (43.60%)
GA	134 (45.73%)	59 (46.09%)	111 (47.40%)
AA (<i>Met/Met</i>)	36 (12.29%)	16 (12.50%)	21 (8.97%)
<i>MICA</i> rs1063635			
AA	75 (25.6%)	36 (28.12%)	na
AG	149 (50.85%)	66 (51.56%)	na
GG	69 (23.55%)	26 (20.32%)	na
<i>NKG2D</i> rs1049174			
GG (<i>HNK1/HNK1</i>)	136 (46.42%)	58 (45.31%)	118 (50.40%)
GC	128 (43.69%)	56 (43.75%)	84 (35.90%)
CC (<i>LNK1/LNK1</i>)	29 (9.8%)	14 (10.94%)	32 (13.70%)
<i>NKG2D</i> rs1154831			
CC	192 (65.53%)	82 (64.06%)	158 (67.50%)
CA	85 (29.01%)	42 (32.81%)	70 (29.90%)
AA	16 (5.46%)	4 (3.13%)	6 (2.56%)

* unrelated healthy Poles [35]

Results of genotyping were then related to the clinical data available for the study group.

We did not observe any significant relationship between differences in Donor/Recipient *MICA* genetic distributions of any investigated SNPs and the risk of the development of acute or chronic GvHD, viral infections, disease relapse or survival. However, our analyses revealed that the *NKG2D* rs1049174 C (*LNK1*) allele was present more frequently among recipients with grade II-IV aGvHD as compared to patients who did not develop aGvHD or presented with mild grade I disease (66.67% vs 50.66%, *p*=0.0294, OR=1.96 with 95% CI from 0.28 to 9.93) (**Fig. 2**) and healthy controls (66.67% vs 49.60%, *p*=0.0204, OR=2.04 with 95% CI from 0.27 to 18.99).

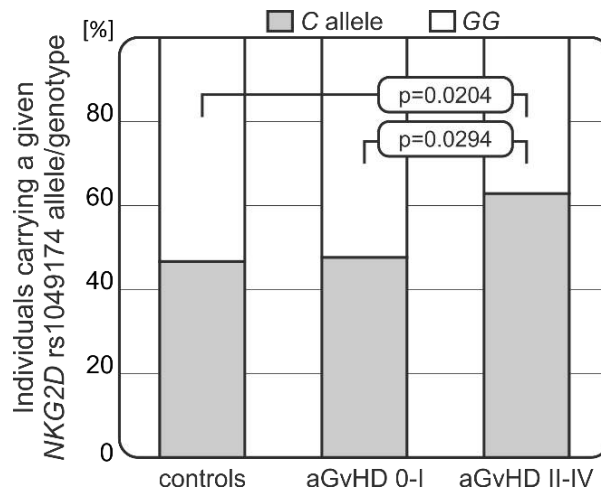


Fig. 2. Effect of *NKG2D* rs1049174 SNP on aGvHD. Recipients with more severe aGvHD grades II-IV carried C allele more frequently than recipients with no or with mild grade I aGvHD ($p=0.0294$) or when compared to the healthy controls ($p=0.0204$).

The *NKG2D* rs1049174 SNP did not affect risks of development other posttransplant complications, including survival. However, distribution of the genetic variants of other *NKG2D* polymorphism, the rs1154831 SNP, indicated its potential role in recipients survival as none of the recipients with fatal outcome of HSCT carried the AA homozygous genotype. This finding did not reach the statistical significance ($p=0.0664$) but a trend in the impact of *NKG2D* rs1154831 polymorphism on the survival was observed.

Serum sMICA concentration

Next, we checked whether the serum sMICA levels differed between patients having and lacking acute and chronic GvHD and thus whether sMICA concentration can be used as a prognostic marker of their development. For this purpose, we measured sMICA concentration in 158 available samples collected 30 days after transplantation (Detailed patients characteristics is given in Supplementary Table 3). Subsequently we compared the results obtained for recipients lacking acute GvHD ($n=95$) and those presenting with any aGvHD grade ($n=63$). We observed a trend in relationship between lower sMICA levels and aGvHD manifestation (54.19 vs 74.26 pg/mL, $p=0.0872$, **Fig. 3A**). Next, we compared results of recipients without any symptoms of cGvHD ($N=114$) and those diagnosed with cGvHD ($N=42$). Recipients who did not develop cGvHD characterized with significantly decreased sMICA concentration when compared to individuals later diagnosed with cGvHD (54.50 vs 86.79 pg/mL, $p=0.0034$, **Fig. 3B**). Subsequently, we constructed a logistic regression model that included, alongside sMICA concentration, recipient age, previous aGvHD manifestation, GvHD prophylaxis and donor-recipient gender relation (female to male transplantation). It confirmed that high sMICA serum concentration is an independent marker for cGvHD ($p=0.0017$, OR=3.45, 95% CI 1.62 - 7.72).

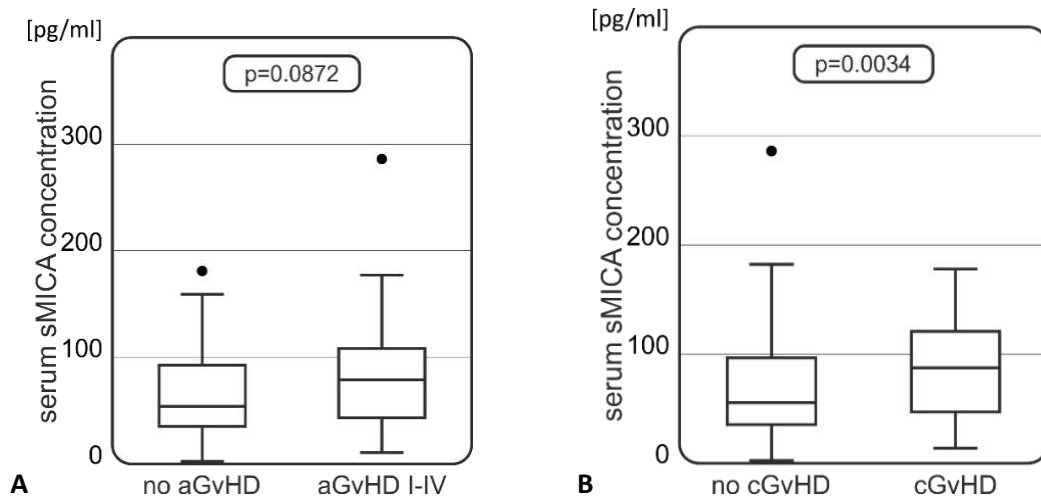


Fig. 3. Serum sMICA concentration in relation to graft-versus-host disease development. **A** - Higher serum sMICA concentration is observed in recipients with more severe acute GvHD grades II-IV. **B** – Recipients who were diagnosed with chronic GvHD were characterized by increased serum sMICA at day +30 after transplantation than those without its symptoms.

To evaluate time-dependent changes of sMICA levels, we used samples from 120 recipients collected 30 and 90 days after transplantation. We found that serum concentration of sMICA was increasing with time after transplantation. Comparison between two time points after HSCT showed that at day +30 after transplantation the median value of serum sMICA was 64.76 pg/mL, while at day +90 it was 80.46 pg/mL ($p=0.0694$).

Additionally, in samples collected 90 days after transplantation, we observed some interesting although not statistically significant differences in serum sMICA levels in recipients who developed chronic GvHD in relation to the type of the diagnosis. Recipients who developed cGvHD after remission of aGvHD characterized with the highest sMICA concentration among all patients with cGvHD (median sMICA = 106.10 pg/mL) while patients who were diagnosed with cGvHD *de novo* had the lowest serum sMICA levels (median sMICA = 63.35 pg/mL), although this relationship was not statistically significant ($p=0.1584$). Median sMICA levels for recipients with GvHD overlap syndrome equaled 85.52 pg/mL.

Serum sMICA concentration in relation to donor/recipient MICA rs1051792 genotype

Interestingly, we observed a significant relationship between *MICA* rs1051792 Met129Val polymorphism and sMICA concentration at day +30 after transplantation. The median value of serum sMICA was the lowest among recipients with *MICA* rs1051792 AA homozygous donors (N=11, 39.17 pg/mL), while the highest concentration was measured in recipients with GG homozygous donors (N=46, 72.39 pg/mL) (**Fig. 4A**). Similar observations were made in the context of recipients' genetic variants. Here we noted that the highest serum sMICA concentration was linked with the recipients' GG genotype (**Fig. 4B**).

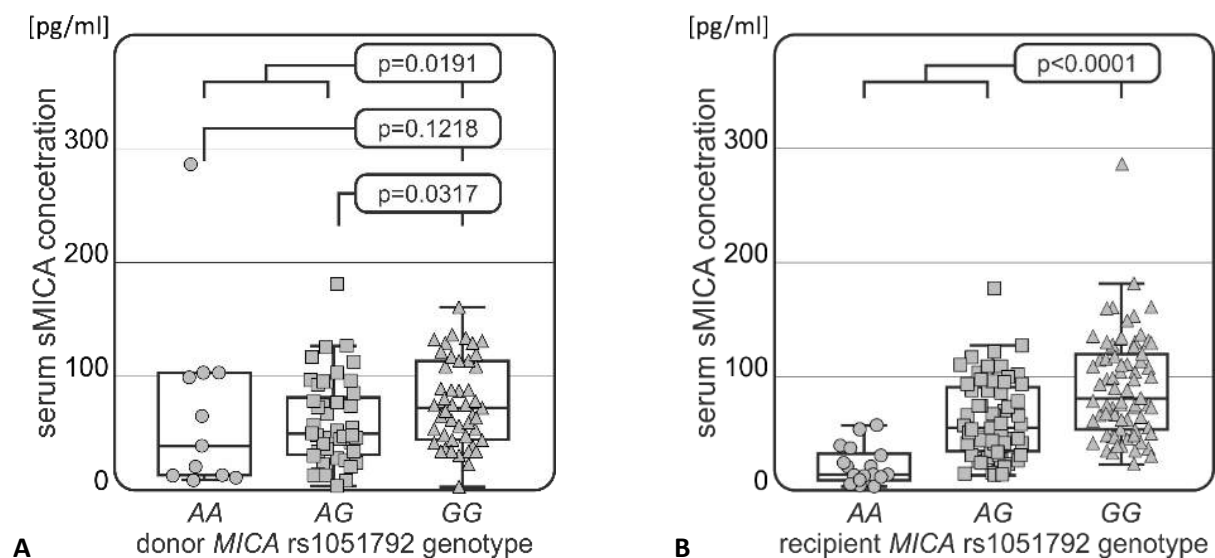


Fig. 4. Relationships between serum sMICA concentration and *MICA* rs1051792 genotypes. **A** – The highest sMICA levels were detected in recipients whose donors were GG homozygotes. **B** – Similarly, recipients with GG genotype characterized with increased sMICA concentration, when compared with other genetic variants.

Expression of NKG2D receptor on NK cells

Surface expression of NKG2D receptor was determined by flow cytometry of the whole population of NK cells in 47 HSCT recipients in various time points after transplantation (detailed patients characteristics is presented in Supplementary Table 3). The results showed that the frequencies of NK cells expressing NKG2D receptor were similar in patients independently of the presence or absence of grade II-IV acute GvHD complications, with only a slight difference at day +60 (**Fig. 5A**). However, we observed that the percentage of NKG2D+ NK cells was increased among recipients who were diagnosed with chronic GvHD, which is especially noticeable at day +60 and +90 after transplantation, suggesting increased NK cell activity among those patients ($p=0.0854$ and $p=0.0136$, respectively) (**Fig. 5B**).

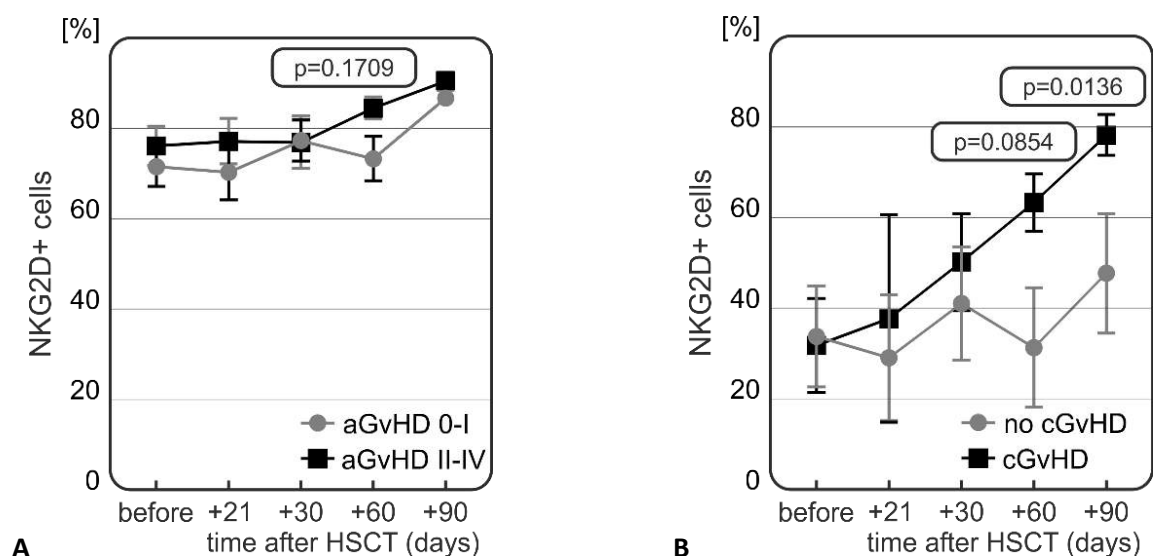


Fig. 5. Changes in surface expression of NKG2D receptor on NK cells in HSCT recipients with acute and chronic GvHD. **A** – Comparison of NKG2D+ NK cell frequency between recipients diagnosed with no aGvHD or with grade I aGvHD versus those with aGvHD grades II-IV. **B** - Comparison of NKG2D+ NK cell frequency between recipients with and without cGvHD manifestation.

Serum sMICA concentration and surface expression of NKG2D receptor

To assess the potential impact of sMICA level on NKG2D expression, the surface expression of NKG2D receptor on NK cells was compared with serum sMICA concentration at day +30 after transplantation. Among the 47 recipients subject to flow cytometry analysis of NKG2D surface expression on NK cells, median serum sMICA concentration was 60 pg/mL 30 days after transplantation, while at day +90 it equalled 77 pg/mL. At day +30, recipients with sMICA value higher than the median characterized with a decreased percentage of NK cells expressing NKG2D receptor, as compared with recipients with sMICA serum concentration below the median value ($p=0.0562$) (**Fig. 6**). We did not observe a similar relationship between frequency of NKG2D+ NK cells and sMICA concentration measured in other time points.

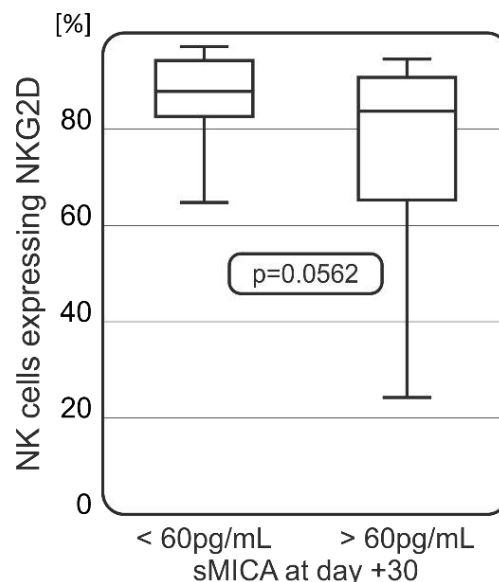


Fig. 6. Relationships between serum sMICA concentration and surface expression of NKG2D receptor by NK cells. Comparison between frequency of NKG2D+ NK cells measured at day +30 after transplantation and serum sMICA level measured at the same time point.

Discussion

High sMICA levels can lead to downregulation of the NKG2D receptor to prevent overactivation of immune cells and potential tissue damage [49]. Conversely, when serum sMICA concentrations are low, this downregulation is alleviated, leading to an increased expression of the NKG2D receptor on immune cells [50,51,52], which was confirmed by our observations. Soluble MICA can bind to NKG2D as a decoy and block its interaction with membrane-bound MICA, which is usually expressed on stressed cells, including tumour cells [24]. High levels of sMICA can lead to receptor desensitization and reduced immune cell activation. When sMICA levels decrease, there is less competition for NKG2D binding, allowing more NKG2D receptors to engage with membrane-bound MICA, resulting in enhanced immune activation and increased receptor expression. The increased expression of NKG2D in the context of low sMICA levels enhances the ability of NK cells and T cells to recognize and kill

stressed or transformed cells, such as tumour cells. This mechanism is part of the body's natural immune surveillance system, where lower sMICA levels contribute to a more vigilant and responsive immune environment [26,53,54].

This negative role of increased serum sMICA concentrations was observed in our present study. Recipients who were diagnosed with cGvHD had significantly higher sMICA level at day +30 after transplantation in comparison to individuals without this complication. This suggests a potential prognostic significance of sMICA serum concentration and confirms results of an earlier study, which described a link between sMICA and cGvHD cumulative incidence [38]. However, we did not observe any associations between serum sMICA concentration and other posttransplant complications (data not shown). Interestingly, we found serum sMICA to be associated with certain *MICA* genetic variants. While, most of sMICA expression would be derived from recipient cells (e.g. epithelial cells), sMICA could also be produced by donor-derived blood cells [33,55]. Accordingly, we observed that high sMICA levels after transplantation were associated with the presence of *MICA* rs1051792 GG genotype in the recipient, as well as in the transplant donor. A similar relationship between sMICA concentration and *MICA* rs1051792 genotype was previously reported by our group regarding rheumatoid arthritis [56] and psoriatic arthritis patients [57]. We also observed that serum sMICA concentration differs between recipients diagnosed with chronic GvHD based on the type of the disease; recipients with cGvHD developed *de novo* characterized with the lowest value of sMICA in their sera (median sMICA = 63.35 pg/mL) when compared to recipients with cGvHD developed after remission of aGvHD (median sMICA = 106.10 pg/mL) or with overlap cGvHD (median sMICA = 85.52 pg/mL). However this was not statistically significant, and is at odds with the results of our multivariate analysis, which showed that sMICA concentration predicted cGvHD development independently of factors such as pre-existing aGvHD history – a similar relation has been observed in an earlier study by Boukouaci et al [38]. A proposed explanation for this phenomenon is that individuals with aGvHD diagnosed before cGvHD manifestation are exposed to alloreactive T cells earlier than those with cGvHD developed *de novo*, hence the increase of sMICA level.

As for the results of genetic studies, we observed that recipients who were diagnosed with more severe acute GvHD grades II-IV more frequently carried the *NKG2D* rs1049174 C allele, which is associated with lower NK cell activity. This genetic variant can be linked not only to reduced NK cell cytotoxicity (compared to the G allele) but also to impaired immune surveillance, resulting in inefficient elimination of T cells, contributing to the development of GvHD. Thus, the presence of rs1049174 C allele might be considered as a prognostic marker for the acute GvHD development in HSCT recipients. We also showed that the other *NKG2D* polymorphism, rs1154831, could be associated with survival. The AA homozygous genotype was not detected in any of the recipients with fatal outcome of HSCT during the observation period of 3 years. Although this finding did not reach the statistical significance and only a trend was noted ($p=0.0664$, data not shown), we made a similar observation regarding the impact of *NKG2D* rs1154831 SNP in earlier study on a paediatric cohort of HSCT recipients [58]. Additionally, we also observed that *MICA* rs1051792 A allele was associated with better one-year overall survival in recipients, although this observation was not statistically significant (data not shown).

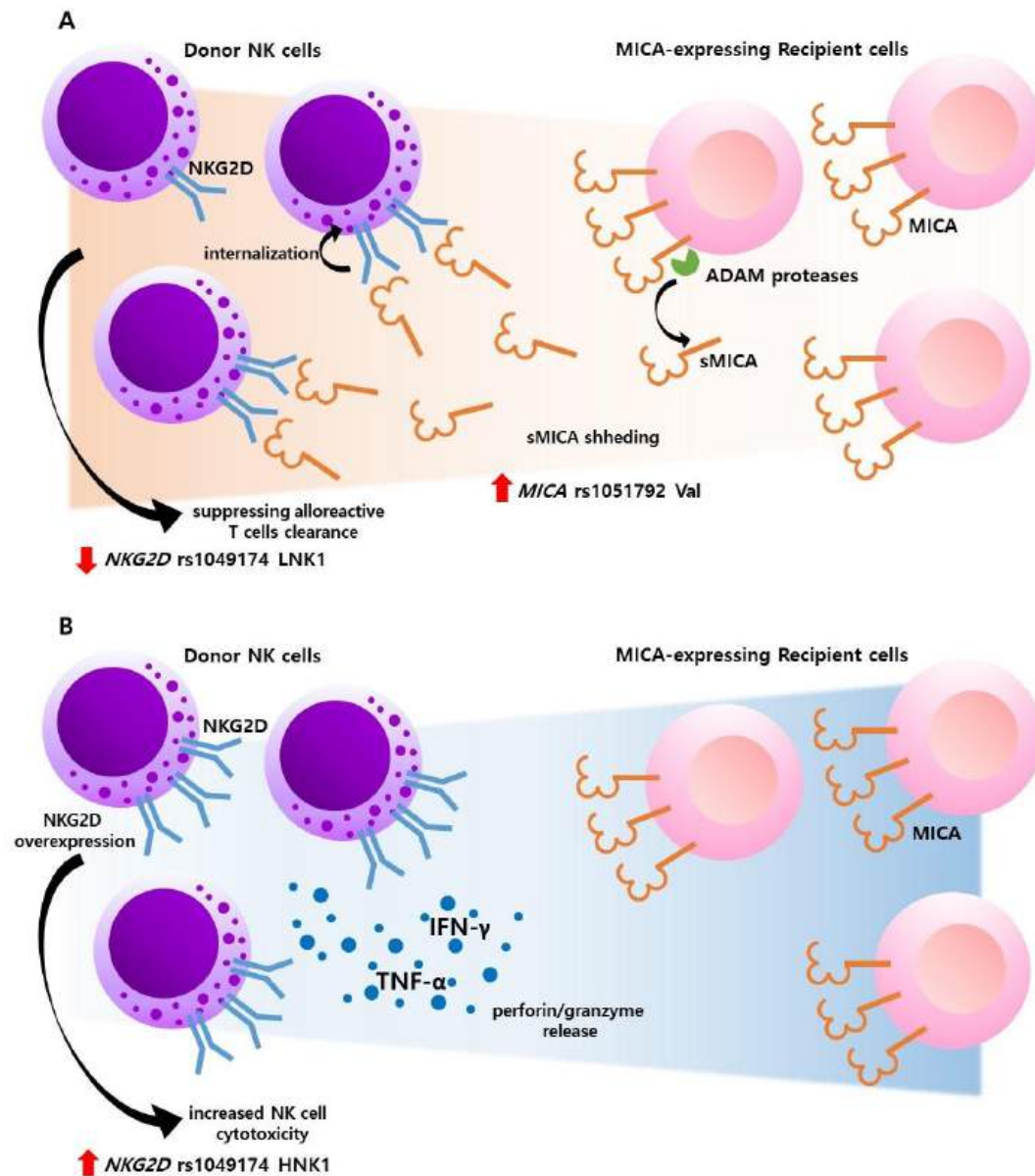


Fig. 7. Graphical representation of the relationship between serum sMICA and NKG2D+ NK cell levels. **A** - when recipient MICA-expressing cells shed sMICA at high levels, NK cell activity through NKG2D receptor is impaired, which leads to suppression of alloreactive T cell clearance, increasing the risk of GvHD incidence. This effect is even stronger when *MICA* rs1051792 Val and *NKG2D* 1049174 LNK1 variants are presented. **B** - NKG2D overexpression, and therefore increased NK cell cytotoxicity, related to the *NKG2D* 1049174 HNK1 haplotype, can also contribute to a higher risk of GvHD development.

The surface expression of the NKG2D activating receptor is another factor critical for correct NK cells functionality, although it is a double-edged sword. On the one hand, high frequencies of NKG2D+ NK cells have been associated with anti-tumour activity [59] and improved viral clearance [60,61] but on the other hand, overexpression of NKG2D can be connected with increased autoimmunity and, as a result, with increased risk of GvHD effect [62,63], which was observed by our group. Recipients with diagnosed chronic form of GvHD were characterized by increased percentage of NKG2D+ NK cells at

day +60 and +90 after transplantation ($p=0.0854$ and $p=0.0136$, respectively) in comparison to patients who did not develop chronic GvHD symptoms. These results suggest elevated NK cell cytotoxicity in individuals with chronic GvHD manifestation. The relationship between NKG2D surface expression and serum sMICA levels is another interesting topic. We compared the frequency of NKG2D+ NK cells at day +30 after transplantation with the concentration of serum sMICA at the same time point. Individuals with sMICA levels below the median value (which in our case was 60 pg/mL) had increased frequency of NKG2D+ NK cells as compared to individuals with higher sMICA concentration ($p=0.0562$). Similar observations were made in the context of leukaemia [64] and pancreatic cancer [65] patients but, to the best of our knowledge, there is no study describing such a relationship in allogeneic HSCT recipients.

In summary, our present study focused on the possible relationships between serum sMICA concentration and posttransplant GvHD development. We observed that HSCT recipients who developed acute or chronic GvHD characterized with elevated serum sMICA levels compared to individuals without GvHD. Measurement of the frequency of NKG2D+ NK cells, determined by flow cytometry, revealed that the surface expression of NKG2D activating receptor was also higher among recipients diagnosed with acute or chronic GvHD. Additionally, we showed that the *NKG2D* rs1049174 C genetic variant, which is associated with LNK1 haplotype and impaired NK cell activity, is more prevalent among individuals diagnosed with more severe acute GvHD grades II-IV. Furthermore, we compared the presence of the analysed *MICA* genotypes with the serum sMICA levels and found that *MICA* rs1051792 GG homozygosity was correlated with higher sMICA concentration.

In conclusion, serum sMICA expression at day +30 after HSCT, as well as *NKG2D* genetic variability could potentially be used as prognostic biomarkers of GvHD. The elevated frequency of NKG2D+ NK cells in recipients who were diagnosed with acute or chronic GvHD and the more common presence of *NKG2D* rs1049174 C allele in recipients with more severe acute GvHD show the dual role of NKG2D receptor. Further studies on larger cohorts could provide a stronger evidence for these conclusions. Our findings shed some new light on the MICA/NKG2D axis and its importance in the context of graft-versus-host disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation.

Conflict of Interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Author Contributions

JS performed the assessment of sMICA concentration in serum samples, genotyping studies and data analyses, drafted, edited and finalized the manuscript; PŁ contributed to data analyses, edited and finalized the manuscript; DS performed the flow cytometry experiments; AC, AS, MSK, WF, IS, BNA, PS, MB, AT, GWB, SG, TW provided patients' clinical samples and clinical data; KBK conceived and designed the study, analysed the data, drafted, edited and finalised the manuscript and secured funding. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by the grant from the National Science Centre (Poland): 2018/31/B/NZ2/03065.

References

1. Granot, N., & Storb, R. (2020). History of hematopoietic cell transplantation: challenges and progress. *Haematologica*, 105(12), 2716–2729. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.245688>
2. Limerick, E., & Fitzhugh, C. (2019). Choice of Donor Source and Conditioning Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Sickle Cell Disease. *Journal of clinical medicine*, 8(11), 1997. <https://doi.org/10.3390/jcm8111997>
3. Mangum, D. S., & Caywood, E. (2022). A clinician's guide to HLA matching in allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Human immunology*, 83(10), 687–694. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2022.03.002>
4. Iacobescu, M., Pop, C., Uifălean, A., Mogoșan, C., Cenariu, D., Zdrenghia, M., Tănase, A., Berghthorsson, J. T., Greiff, V., Cenariu, M., Iuga, C. A., Tomuleasa, C., & Tătaru, D. (2024). Unlocking protein-based biomarker potential for graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplants. *Frontiers in immunology*, 15, 1327035. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1327035>
5. Chen, S., & Zeiser, R. (2020). Novel Biomarkers for Outcome After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Frontiers in immunology*, 11, 1854. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01854>
6. Ogonek, J., Kralj Juric, M., Ghimire, S., Varanasi, P. R., Holler, E., Greinix, H., & Weissinger, E. (2016). Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front. immunol.*, 7, 507. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00507>
7. Storek, J., Geddes, M., Khan, F., Huard, B., Helg, C., Chalandon, Y., Passweg, J., & Roosnek, E. (2008). Reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation in humans. *Semin Immunopathol*, 30(4), 425–437. <https://doi.org/10.1007/s00281-008-0132-5>
8. Pfeiffer, M. M., Feuchtinger, T., Teltschik, H. M., Schumm, M., Müller, I., Handgretinger, R., & Lang, P. (2010). Reconstitution of natural killer cell receptors influences natural killer activity and relapse rate after haploidentical transplantation of T- and B-cell depleted grafts in children. *Haematologica*, 95(8), 1381–1388. <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.021121>
9. Simonetta, F., Alvarez, M., & Negrin, R. S. (2017). Natural Killer Cells in Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Front. immunol.*, 8, 465. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00465>
10. Hooker, D. S., Grabe-Heyne, K., Henne, C., Bader, P., Toumi, M., & Furniss, S. J. (2021). Improved Therapeutic Approaches are Needed to Manage Graft-versus-Host Disease. *Clin. Drug Investig.*, 41(11), 929–939. <https://doi.org/10.1007/s40261-021-01087-6>
11. Penack, O., Marchetti, M., Aljurf, M., Arat, M., Bonifazi, F., Duarte, R. F., Giebel, S., Greinix, H., Hazenberg, M. D., Kröger, N., Mielke, S., Mohty, M., Nagler, A., Passweg, J., Patriarca, F., Ruutu, T., Schoemans, H., Solano, C., Vrhovac, R., Wolff, D., ... Peric, Z. (2024). Prophylaxis and management of graft-versus-host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *The Lancet. Haematology*, 11(2), e147–e159. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(23\)00342-3](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(23)00342-3)
12. Jamy, O., Zeiser, R., & Chen, Y. B. (2023). Novel developments in the prophylaxis and treatment of acute GVHD. *Blood*, 142(12), 1037–1046. <https://doi.org/10.1182/blood.2023020073>
13. Baumrin, E., Loren, A. W., Falk, S. J., Mays, J. W., & Cowen, E. W. (2024). Chronic graft-versus-host disease. Part I: Epidemiology, pathogenesis, and clinical manifestations. *J Am Acad Dermatol*, 90(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2022.12.024>
14. Gail, L. M., Schell, K. J., Łacina, P., Strobl, J., Bolton, S. J., Steinbakk Ulriksen, E., Bogunia-Kubik, K., Greinix, H., Crossland, R. E., Inngjerdingen, M., & Stry, G. (2023). Complex interactions of cellular players in chronic Graft-versus-Host Disease. *Front. immunol*, 14, 1199422. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1199422>

15. Zafarani, A., Taghavi-Farahabadi, M., Razizadeh, M.H. et al. The Role of NK Cells and Their Exosomes in Graft Versus Host Disease and Graft Versus Leukemia. *Stem Cell Rev and Rep*, 19, 26–45 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10449-2>
16. Machuldova, A., Holubova, M., Caputo, V. S., Cedikova, M., Jindra, P., Houdova, L., & Pitule, P. (2021). Role of Polymorphisms of NKG2D Receptor and Its Ligands in Acute Myeloid Leukemia and Human Stem Cell Transplantation. *Front. immunol*, 12, 651751. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.651751>
17. Siemaszko, J., Marzec-Przyszlak, A., & Bogunia-Kubik, K. (2021). NKG2D Natural Killer Cell Receptor-A Short Description and Potential Clinical Applications. *Cells*, 10(6), 1420. <https://doi.org/10.3390/cells10061420>
18. Fuertes, M. B., Domaica, C. I., & Zwirner, N. W. (2021). Leveraging NKG2D Ligands in Immuno-Oncology. *Front. immunol*, 12, 713158. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.713158>
19. Liu, Z., Wang, H., Liu, H., Ding, K., Shen, H., Zhao, X., & Fu, R. (2024). Targeting NKG2D/NKG2DL axis in multiple myeloma therapy. *Cytokine & Growth Factor Rev*, 76, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2024.02.001>
20. Wang, D., Dou, L., Sui, L., Xue, Y., & Xu, S. (2024). Natural killer cells in cancer immunotherapy. *Med Comm*, 5(7), e626. <https://doi.org/10.1002/mco2.626>
21. Fernández-Torres, J., Zamudio-Cuevas, Y., Ruiz-Dávila, X., López-Macay, A., & Martínez-Flores, K. (2024). MICA and NLRP3 gene polymorphisms interact synergistically affecting the risk of ankylosing spondylitis. *Immunol Res*, 72(1), 119–127. <https://doi.org/10.1007/s12026-023-09419-8>
22. Lopez-Montañó, M., Jimenez-Ortega, L., Cruz-Hernandez, T. R., Hernandez-Chavez, V. G., Montiel-Cervantes, L. A., Reyes-Maldonado, E., & Vela-Ojeda, J. (2023). Significant increase in MIC-A and MIC-B and soluble MIC-A and MIC-B in canine lymphomas. *Vet. immunol. immunopathol*, 264, 110647. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110647>
23. Toledo-Stuardo, K., Ribeiro, C. H., Canals, A., Morales, M., Gárate, V., Rodríguez-Siza, J., Tello, S., Bustamante, M., Armisen, R., Matthies, D. J., Zapata-Torres, G., González-Hormazabal, P., & Molina, M. C. (2021). Major Histocompatibility Complex Class I-Related Chain A (MICA) Allelic Variants Associate With Susceptibility and Prognosis of Gastric Cancer. *Front. immunol*, 12, 645528. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.645528>
24. Luo, Q., Luo, W., Zhu, Q., Huang, H., Peng, H., Liu, R., Xie, M., Li, S., Li, M., Hu, X., & Zou, Y. (2020). Tumor-Derived Soluble MICA Obstructs the NKG2D Pathway to Restrain NK Cytotoxicity. *Aging dis*, 11(1), 118–128. <https://doi.org/10.14336/AD.2019.1017>
25. Ashiru, O., Boutet, P., Fernández-Messina, L., Agüera-González, S., Skepper, J. N., Valés-Gómez, M., & Reyburn, H. T. (2010). Natural killer cell cytotoxicity is suppressed by exposure to the human NKG2D ligand MICA*008 that is shed by tumor cells in exosomes. *Cancer Res*, 70(2), 481–489. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1688>
26. Seller, A., Tegeler, C. M., Mauermann, J., Schreiber, T., Hagelstein, I., Liebel, K., Koch, A., Heitmann, J. S., Greiner, S. M., Hayn, C., Dannehl, D., Engler, T., Hartkopf, A. D., Hahn, M., Brucker, S. Y., Salih, H. R., & Märklin, M. (2024). Soluble NKG2DLs Are Elevated in Breast Cancer Patients and Associate with Disease Outcome. *Int. J. Mol. Sci*, 25(7), 4126. <https://doi.org/10.3390/ijms25074126>
27. Arreygue-Garcia, N. A., Daneri-Navarro, A., del Toro-Arreola, A., Cid-Arregui, A., Gonzalez-Ramella, O., Jave-Suarez, L. F., Aguilar-Lemarroy, A., Troyo-Sanroman, R., Bravo-Cuellar, A., Delgado-Rizo, V., Garcia-Iglesias, T., Hernandez-Flores, G., & Del Toro-Arreola, S. (2008). Augmented serum level of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) protein and reduced NKG2D expression on NK and T cells in patients with cervical cancer and precursor lesions. *BMC cancer*, 8, 16. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-16>
28. Samuels, S., Ferns, D. M., Meijer, D., van Straalen, J. P., Buist, M. R., Zijlmans, H. J., Kenter, G. G., & Jordanova, E. S. (2015). High levels of soluble MICA are significantly related to increased disease-free and

disease-specific survival in patients with cervical adenocarcinoma. *Tissue antigens*, 85(6), 476–483. <https://doi.org/10.1111/tan.12562>

29. Farzad, F., Yaghoubi, N., Jabbari-Azad, F., Mahmoudi, M., & Mohammadi, M. (2022). Prognostic Value of Serum MICA Levels as a Marker of Severity in COVID-19 Patients. *Immunol Invest*, 51(6), 1856–1866. <https://doi.org/10.1080/08820139.2022.2069035>

30. Klussmeier, A., Massalski, C., Putke, K., Schäfer, G., Sauter, J., Schefzyk, D., Pruschke, J., Hofmann, J., Fürst, D., Carapito, R., Bahram, S., Schmidt, A. H., & Lange, V. (2020). High-Throughput MICA/B Genotyping of Over Two Million Samples: Workflow and Allele Frequencies. *Front Immunol*, 11, 314. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00314>

31. Petersdorf, E. W., McKallor, C., Malkki, M., He, M., Spellman, S. R., Hsu, K. C., Strong, R. K., Gooley, T., & Stevenson, P. (2023). Role of NKG2D ligands and receptor in haploidentical related donor hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv*, 7(12), 2888–2896. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022008922>

32. Martin, P. J., Levine, D. M., Storer, B. E., Nelson, S. C., Dong, X., & Hansen, J. A. (2020). Recipient and donor genetic variants associated with mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv*, 4(14), 3224–3233. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001927>

33. Baranwal, A. K., & Mehra, N. K. (2017). Major Histocompatibility Complex Class I Chain-Related A (MICA) Molecules: Relevance in Solid Organ Transplantation. *Front Immunol*, 8, 182. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00182>

34. Ouni, N., Ben Chaaben, A., Ayari, F., Douik, H., Guizani, I., Benammar-Elgaaied, A., Guemira, F., & Tamouza, R. (2020). MICA-129 Met/Val polymorphism could be a genetic biomarker for Familial Breast Cancer in the Tunisian population. *Int. J. Immunogenet*, 47(5), 406–413. <https://doi.org/10.1111/iji.12480>

35. Wielńska, J., Bugaj, B., Świerkot, J., Kolossa, K., Iwaszko, M., Jeka, S., & Bogunia-Kubik, K. (2024). Association of MICA and NKG2D genetic variants with disease susceptibility and outcome of anti-TNF therapy in patients with axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 10.55563/clinexprheumatol/15346i. Advance online publication. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/15346i>

36. Isernhagen, A., Malzahn, D., Bickeböller, H., & Dressel, R. (2016). Impact of the MICA-129Met/Val Dimorphism on NKG2D-Mediated Biological Functions and Disease Risks. *Front Immunol*, 7, 588. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00588>

37. Isernhagen, A., Malzahn, D., Viktorova, E., Elsner, L., Monecke, S., von Bonin, F., Kilisch, M., Wermuth, J. M., Walther, N., Balavarca, Y., Stahl-Hennig, C., Engelke, M., Walter, L., Bickeböller, H., Kube, D., Wulf, G., & Dressel, R. (2015). The MICA-129 dimorphism affects NKG2D signaling and outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *EMBO Mol Med*, 7(11), 1480–1502. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505246>

38. Boukouaci, W., Busson, M., Peffault de Latour, R., Rocha, V., Suberbielle, C., Bengoufa, D., Dulphy, N., Haas, P., Scieux, C., Amroun, H., Gluckman, E., Krishnamoorthy, R., Toubert, A., Charron, D., Socié, G., & Tamouza, R. (2009). MICA-129 genotype, soluble MICA, and anti-MICA antibodies as biomarkers of chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 114(25), 5216–5224. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-217430>

39. Bogunia-Kubik, K., & Łacina, P. (2021). Non-KIR NK cell receptors: Role in transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells. *Int. J. Immunogenet*, 48(2), 157–171. <https://doi.org/10.1111/iji.12523>

40. Wadsworth, C. A., Dixon, P. H., Taylor-Robinson, S., Kim, J. U., Zabron, A. A., Wong, J. H., Chapman, M. H., McKay, S. C., Spalding, D. R., Wasan, H. S., Pereira, S. P., Thomas, H. C., Whittaker, J. C., Williamson, C., & Khan, S. A. (2019). Polymorphisms in Natural Killer Cell Receptor Protein 2D (NKG2D) as a Risk Factor for Cholangiocarcinoma. *J Clin Exp Hepatol*, 9(2), 171–175. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.06.521>

41. Rohn, H., Tomoya Michita, R., Schwich, E., Dolff, S., Gäckler, A., Trilling, M., Le-Trilling, V. T. K., Wilde, B., Korth, J., Heinemann, F. M., Horn, P. A., Kribben, A., Witzke, O., & Rebmann, V. (2018). The Donor Major Histocompatibility Complex Class I Chain-Related Molecule A Allele rs2596538 G Predicts Cytomegalovirus Viremia in Kidney Transplant Recipients. *Front Immunol*, 9, 917. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00917>

42. Viet, N. H., Trung, N. Q., Dong, L. T., Trung, L. Q., & Espinoza, J. L. (2021). Genetic variants in NKG2D axis and susceptibility to Epstein-Barr virus-induced nasopharyngeal carcinoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 147(3), 713–723. <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03475-5>
43. Abdian Asl, A., Vaziri Nezamdoust, F., Fesahat, F., Astani, A., Barati, M., Raei, P., & Asadi-Saghandi, A. (2021). Association between rs1049174 NKG2D gene polymorphism and idiopathic recurrent spontaneous abortion in Iranian women: a case-control study. *Journal of obstetrics and gynaecology : Obstet Gynecol*, 41(5), 774–778. <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1798906>
44. Iwaszko, M., Świerkot, J., Kolossa, K., Jeka, S., Wiland, P., & Bogunia-Kubik, K. (2018). Influence of NKG2D Genetic Variants on Response to Anti-TNF Agents in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Genes*, 9(2), 64. <https://doi.org/10.3390/genes9020064>
45. Espinoza, J. L., Nguyen, V. H., Ichimura, H., Pham, T. T., Nguyen, C. H., Pham, T. V., Elbadry, M. I., Yoshioka, K., Tanaka, J., Trung, L. Q., Takami, A., & Nakao, S. (2016). A functional polymorphism in the NKG2D gene modulates NK-cell cytotoxicity and is associated with susceptibility to Human Papilloma Virus-related cancers. *Sci Rep.*, 6, 39231. <https://doi.org/10.1038/srep39231>
46. Cox, S. T., Patterson, W., Duggleby, R., Jones, O. J. R., Madrigal, J. A., Querol, S., Salvador, F. R., Mata, M. J. H., Volt, F., Gluckman, É., Szydło, R., Danby, R. D., & Hernandez, D. (2024). Impact of donor NKG2D and MICA gene polymorphism on clinical outcomes of adult and paediatric allogeneic cord blood transplantation for malignant diseases. *Eur. J. Haematol.*, 113(1), 32–43. <https://doi.org/10.1111/ejh.14202>
47. Siemaszko, J., Dratwa, M., Szeremet, A., Majcherek, M., Czyż, A., Sobczyk-Kruszelnicka, M., Fidyk, W., Solarska, I., Nasiłowska-Adamska, B., Skowrońska, P., Bieniaszewska, M., Tomaszewska, A., Basak, G. W., Giebel, S., Wróbel, T., & Bogunia-Kubik, K. (2024). MICB Genetic Variants and Its Protein Soluble Level Are Associated with the Risk of Chronic GvHD and CMV Infection after Allogeneic HSCT. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 72(1), 10.2478/aite-2024-0012. <https://doi.org/10.2478/aite-2024-0012>
48. Siemaszko, J., Łacina, P., Szymczak, D., Szeremet, A., Majcherek, M., Czyż, A., Sobczyk-Kruszelnicka, M., Fidyk, W., Solarska, I., Nasiłowska-Adamska, B., Skowrońska, P., Bieniaszewska, M., Tomaszewska, A., Basak, G. W., Giebel, S., Wróbel, T., & Bogunia-Kubik, K. (2023). Significance of HLA-E and its two NKG2 receptors in development of complications after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. *Front Immunol*, 14, 1227897. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1227897>
49. Marin, M. L. C., Rached, M. R., Monteiro, S. M., Kalil, J., Abrao, M. S., & Coelho, V. (2024). Soluble MICA in endometriosis pathophysiology: Impairs NK cell degranulation and effector functions. *Am. J. Reprod. Immunol.* (New York, N.Y. : 1989), 91(3), e13830. <https://doi.org/10.1111/aji.13830>
50. Wang, C. M., Tan, K. P., Wu, Y. J., Zheng, J. W., Wu, J., & Chen, J. Y. (2024). Functional MICA Variants Are Differentially Associated with Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 25(5), 3036. <https://doi.org/10.3390/ijms25053036>
51. Kshersagar, J., Damle, M. N., Bedge, P., Jagdale, R., Tardalkar, K., Jadhav, D., Jagadale, S., Toro, Y., Sharma, R., & Joshi, M. G. (2022). Downregulation of MICA/B tumor surface expressions and augmented soluble MICA serum levels correlate with disease stage in breast cancer. *Breast Dis*, 41(1), 471–480. <https://doi.org/10.3233/BD-220023>
52. Ivanova, M., Al Hadra, B., Yordanov, S., Lesichkova, S., Stoyanov, H., Shivarov, V., & Deliverska, E. (2021). Associations of high-resolution-typing-defined MICA and MICB polymorphisms, and the levels of soluble MICA and MICB with Oral Squamous Cell Carcinoma in Bulgarian patients. *J Oral Pathol Med*, 50(8), 758–765. <https://doi.org/10.1111/jop.13185>
53. Roshani, R., Boroujerdnia, M. G., Talaiezhadeh, A. H., & Khodadadi, A. (2016). Assessment of changes in expression and presentation of NKG2D under influence of MICA serum factor in different stages of breast cancer. *Tumour Biol*, 37(5), 6953–6962. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4584-7>
54. Zingoni, A., Vulpis, E., Cecere, F., Amendola, M. G., Fuerst, D., Saribekyan, T., Achour, A., Sandalova, T., Nardone, I., Peri, A., Soriani, A., Fionda, C., Mariggiò, E., Petrucci, M. T., Ricciardi, M. R., Mytilineos, J., Cippitelli,

- M., Cerboni, C., & Santoni, A. (2018). MICA-129 Dimorphism and Soluble MICA Are Associated With the Progression of Multiple Myeloma. *Front Immunol*, 9, 926. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00926>
55. Campbell, A. R., Duggan, M. C., Suarez-Kelly, L. P., Bhawe, N., Opheim, K. S., McMichael, E. L., Trikha, P., Parihar, R., Luedke, E., Lewis, A., Yung, B., Lee, R., Raulet, D., Tridandapani, S., Groh, V., Yu, L., Yildiz, V., Byrd, J. C., Caligiuri, M. A., & Carson, W. E., 3rd (2017). MICA-Expressing Monocytes Enhance Natural Killer Cell Fc Receptor-Mediated Antitumor Functions. *Cancer Immunol. Res.*, 5(9), 778–789. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0005>
56. Iwaszko, M., Świerkot, J., Dratwa, M., Wysoczańska, B., Korman, L., Bugaj, B., Kolossa, K., Jeka, S., Wiland, P., & Bogunia-Kubik, K. (2020). Association of MICA-129Met/Val polymorphism with clinical outcome of anti-TNF therapy and MICA serum levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J*, 20(6), 760–769. <https://doi.org/10.1038/s41397-020-0164-3>
57. Sokolik R, Dratwa M, Wielińska J, Iwaszko M, Chaszczewska-Markowska M, Wiland P, Bogunia-Kubik K. Association of MICA polymorphism and serum levels with predisposition to psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2019;78:1860.
58. Siemaszko, J., Ussowicz, M., Rybka, B., Ryczan-Krawczyk, R., Kałwak, K., & Bogunia-Kubik, K. (2023). The impact of NKG2A and NKG2D receptors and HLA-E and MICA ligands polymorphisms on post-transplant complications after paediatric allogeneic HSCT: a single-centre experience. *Front Genet*, 14, 1186123. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1186123>
59. Saito, H., Osaki, T. & Ikeguchi, M. (2012). Decreased NKG2D expression on NK cells correlates with impaired NK cell function in patients with gastric cancer, *J Gastric Cancer*, 15, 27–33. <https://doi.org/10.1007/s10120-011-0059-8>
60. Fernández-Soto, D., García-Jiménez, Á. F., Casasnovas, J. M., Valés-Gómez, M., & Reyburn, H. T. (2024). Elevated levels of cell-free NKG2D-ligands modulate NKG2D surface expression and compromise NK cell function in severe COVID-19 disease. *Front Immunol*, 15, 1273942. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1273942>
61. Khaleafi, R., Zeleznjak, J., Cordela, S., Drucker, S., Rovis, T. L., Jonjic, S., & Bar-On, Y. (2023). Reovirus infection of tumor cells reduces the expression of NKG2D ligands, leading to impaired NK-cell cytotoxicity and functionality. *Front Immunol*, 14, 1231782. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1231782>
62. Karimi, M. A., Bryson, J. L., Richman, L. P., Fesnak, A. D., Lechner, T. M., Satake, A., Vonderheide, R. H., Raulet, D. H., Reshef, R., & Kambayashi, T. (2015). NKG2D expression by CD8+ T cells contributes to GVHD and GVT effects in a murine model of allogeneic HSCT. *Blood*, 125(23), 3655–3663. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-629006>
63. Carapito, R., Aouadi, I., Ilias, W., & Bahram, S. (2017). Natural Killer Group 2, Member D/NKG2D Ligands in Hematopoietic Cell Transplantation. *Front Immunol*, 8, 368. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00368>
64. Hilpert, J., Grosse-Hovest, L., Grünebach, F., Buechele, C., Nuebling, T., Raum, T., Steinle, A., & Salih, H. R. (2012). Comprehensive analysis of NKG2D ligand expression and release in leukemia: implications for NKG2D-mediated NK cell responses. *J Immun* (Baltimore, Md. : 1950), 189(3), 1360–1371. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200796>
65. Chen, J., Xu, H., & Zhu, X. X. (2015). Abnormal expression levels of sMICA and NKG2D are correlated with poor prognosis in pancreatic cancer. *Ther Clin Risk Manag*, 12, 11–18. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S96869>

Supplementary materials

Table 1. Detailed genotyping results of the recipient group with incidence of development of post-transplant complications.

<i>MICA</i> rs1051792	aGvHD 0-I	aGvHD II-IV		No cGvHD	cGvHD		No CMV	CMV	
<i>CC</i>	27	8		29	6		26	9	
<i>CG/GG</i>	200	52	p=0.8245	199	53	P=0.6633	160	92	p=0.2587
<i>CC/CG</i>	132	35		133	34		109	58	
<i>GG</i>	95	25	p=1	95	25	p=1	77	43	p=0.9005
<i>MICA</i> rs1063635									
<i>CC</i>	57	14		57	14		50	21	
<i>CG/GG</i>	169	46	p=0.8670	170	45	P=0.8676	136	79	p=0.3160
<i>CC/CG</i>	172	46		175	43		140	78	
<i>GG</i>	54	14	p=1	52	16	p=0.6069	46	22	p=0.6635
<i>NKG2D</i> rs1049174									
<i>CC</i>	20	9		25	4		17	12	
<i>CG/GG</i>	207	51	p=0.2258	203	55	P=0.4689	169	89	P=0.5391
<i>CC/CG</i>	115	40		124	31		104	51	
<i>GG</i>	112	20	p=0.0294	104	28	p=0.8837	82	50	p=0.3883
<i>NKG2D</i> rs1154831									
<i>AA</i>	11	4		11	4		7	8	
<i>AC/CC</i>	216	56	p=0.9999	217	55	P=0.7436	179	93	p=0.1654
<i>AA/AC</i>	75	23		82	16		58	40	
<i>CC</i>	152	37	p=0.4478	146	43	p=0.2210	128	61	p=0.1545

Table 2. Detailed genotyping results of the donor group with incidence of development of post-transplant complications by recipients.

MICA rs1051792	aGvHD 0-I	aGvHD II-IV		No cGvHD	cGvHD		No CMV	CMV	
CC	16	3		4	15		13	6	
CG/GG	110	29	p=0.7665	35	104	P=0.7851	91	48	p=1
CC/CG	74	17		22	69		63	28	
GG	52	15	p=0.6892	17	50	p=1	41	26	p=0.3126
MICA rs1063635									
CC	32	9		11	30		27	14	
CG/GG	95	25	p=1	27	93	P=0.6704	78	42	p=1
CC/CG	96	29		28	97		83	42	
GG	31	5	p=0.2574	10	26	p=0.5097	22	14	p=0.6917
NKG2D rs1049174									
CC	13	4		4	13		13	4	
CG/GG	113	28	p=0.7509	35	106	P=1	91	50	p=0.4226
CC/CG	71	16		21	66		57	30	
GG	55	16	p=0.5549	18	53	p=1	47	24	p=1
NKG2D rs1154831									
AA	5	4		2	3		3	2	
AC/CC	121	28	p=0.0829	37	116	P=0.5976	101	52	p=1
AA/AC	41	10		10	41		35	16	
CC	85	22	p=1	29	78	p=0.3320	69	38	p=0.7203

Table 3. Detailed characteristics of patients subjected to flow cytometry and sMICA concentration studies.

	Recipients used for cytometry studies	Recipients used for serum sMICA concentration analysis
	N=47	N=158
Age (y/o)	19-71 (median=50)	19-73 (median=51)
M/F	34/13 (72.34/27.66 %)	99/59 (62.66/37.34 %)
Type of donor		
MSD/ MUD/haploidentical/MMUD	6/30/11 (12.77/63.83/23.40 %)	74/44/30/7 (46.83/27.85/18.99/4.43 %)
Conditioning		
MAC/RIC/NMA	25/22/0 (53.19/46.81/0 %)	81/75/2 (51.27/47.47/1.27 %)
Donor/Recipient sex		
M to M	23 (48.94 %)	72 (45.57 %)
F to F	2 (4.26 %)	24 (15.19 %)
M to F	6 (12.77 %)	29 (18.35 %)
F to M	5 (10.64 %)	26 (16.46 %)
Diagnosis		
AML	21 (44.68 %)	65 (41.14 %)
ALL	7 (14.89 %)	18 (11.39 %)
MDS	6 (12.77 %)	17 (10.76 %)
MPN	3 (6.38 %)	11 (6.96 %)
PCM	0 (0 %)	5 (3.16 %)
NHL	3 (6.38 %)	15 (9.49 %)
HL	1 (2.13 %)	3 (1.9 %)
Other	6 (12.77 %)	24 (15.19 %)
GvHD prophylaxis		
CSA+MTX	37 (78.72 %)	110 (69.62 %)
PTCy+TAC+MMF	10 (21.28 %)	32 (20.25 %)
CSA+MMF	0 (0 %)	4 (2.53 %)
TAC+MTX	0 (0 %)	1 (0.63 %)
TAC+MMF	0 (0 %)	2 (1.27 %)
Other	0 (0 %)	9 (5.7 %)
Post-transplant complications		
aGvHD (with grades %)		
0-I	33 (70.21 %)	120 (75.95 %)
II-IV	14 (29.79 %)	35 (22.15 %)
cGvHD	15 (31.91 %)	42 (26.58 %)
CMV infection	17 (36.17 %)	61 (38.61 %)
EBV infection	6 (12.77 %)	16 (10.13 %)
Relapse	13 (27.66 %)	30 (18.99 %)
Death	10 (21.28 %)	20 (12.66 %)

MSD – matched sibling donor, MUD – matched unrelated donor, MMUD – mismatched unrelated donor, MAC – myeloablative conditioning, RIC – reduced intensity conditioning, NMA – non- myeloablative conditioning, M – male, F – female, R – recipient, D – donor, AML - acute myeloid leukemia, ALL - acute lymphoblastic leukemia, MDS - myelodysplastic syndrome, MPN - myeloproliferative neoplasms , PCM - plasma cell myeloma, NHL - Non-Hodgkin lymphomas, HL - Hodgkin lymphomas, CSA+MTX - Cyclosporine A + methotrexate, PTCy+TAC+MMF - post-transplantation cyclophosphamide + tacrolimus + mycophenolate mofetil, CSA+MMF - Cyclosporine A + mycophenolate mofetil, TAC+MTX - tacrolimus + methotrexate, TAC+MMF – tacrolimus + mycophenolate mofetil, CMV - cytomegalovirus, EBV - Epstein-Barr virus.

Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications



Activating NKG2C Receptor: Functional Characteristics and Current Strategies in Clinical Applications

Jagoda Siemaszko¹ · Aleksandra Marzec-Przyslak^{2,3} · Katarzyna Bogunia-Kubik¹

Received: 16 November 2022 / Accepted: 1 February 2023 / Published online: 10 March 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

The interest in NK cells and their cytotoxic activity against tumour, infected or transformed cells continuously increases as they become a new efficient and off-the-shelf agents in immunotherapies. Their actions are balanced by a wide set of activating and inhibitory receptors, recognizing their complementary ligands on target cells. One of the most studied receptors is the activating CD94/NKG2C molecule, which is a member of the C-type lectin-like family. This review is intended to summarise latest research findings on the clinical relevance of NKG2C receptor and to examine its contribution to current and potential therapeutic strategies. It outlines functional characteristics and molecular features of CD94/NKG2C, its interactions with HLA-E molecule and presented antigens, pointing out a key role of this receptor in immunosurveillance, especially in the human cytomegalovirus infection. Additionally, the authors attempt to shed some light on receptor's unique interaction with its ligand which is shared with another receptor (CD94/NKG2A) with rather opposite properties.

Keywords NKG2C · NK cell receptors · NK cells · HLA-E

NKG2C: An Activating Receptor of NK Cells

Natural killer (NK) cells, also known as large granular lymphocytes, constitute a subgroup of recently discovered innate lymphoid cells (ILCs), and together with the ILC1 subpopulation are responsible for type 1 immunity functions, e.g. natural cytotoxicity. Originally considered as components only of the innate immunity, the NK cells have also developed characteristics restrained for adaptive immunity (Pende et al. 2019; Vivier et al. 2011, 2018). The NK cells functions are regulated and properly balanced by a wide set of activating and inhibitory receptors (Quatrini et al. 2021). Among the

activating receptors, the CD94/NKG2C remains to belong to the ones of considerable influence on NK functioning. The CD94/NKG2C is a heterodimeric receptor, consisted of two type II proteins and is a member of the C-type lectin-like family. Similar to the other activating NKG2 receptors, the NKG2C has a negatively charged residue (either a lysine or an arginine) in its transmembrane domain. Activation signal is transduced through the DAP-12 adaptor molecule, which contains immunoreceptor tyrosine-based activation motifs. The ligand for CD94/NKG2C is a non-classical HLA-E molecule of major histocompatibility (MHC) class I proteins. Its recognition is crucial for triggering the NK cell cytotoxicity and cytokine production (Glienke et al. 1998; Lanier et al. 1998; Miyashita et al. 2004). NK cell receptors can also be found on some T cells, such as CD8⁺ T lymphocytes, which express NKG2 receptors of activating (NKG2C, NKG2D) and inhibiting (NKG2A) properties (Patel et al. 2013). The CD94/NKG2C receptor may even operate like an alternative pathway to the T cell receptor in subset of NKG2C⁺ CD8⁺ T cells, triggering proliferation and effector functions of those cells (Gumá et al. 2005).

The CD94/NKG2C receptor is encoded by the 6 kbp length *NKG2C* gene, also referred as *KLRC2*, located within the NK complex on chromosome 12p12.3–13.2 (Fig. 1). It consists of six exons and five introns. Protein product

✉ Katarzyna Bogunia-Kubik
katarzyna.bogunia-kubik@hirszfeld.pl

¹ Laboratory of Clinical Immunogenetics and Pharmacogenetics, Hirszfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

² Department of Biosensors and Processing of Biomedical Signals, Faculty of Biomedical Engineering, Silesian University of Technology, Zabrze, Poland

³ Department of Biomedical Engineering, Faculty of Electrical Engineering and Communication, Brno University of Technology, Brno, Czech Republic

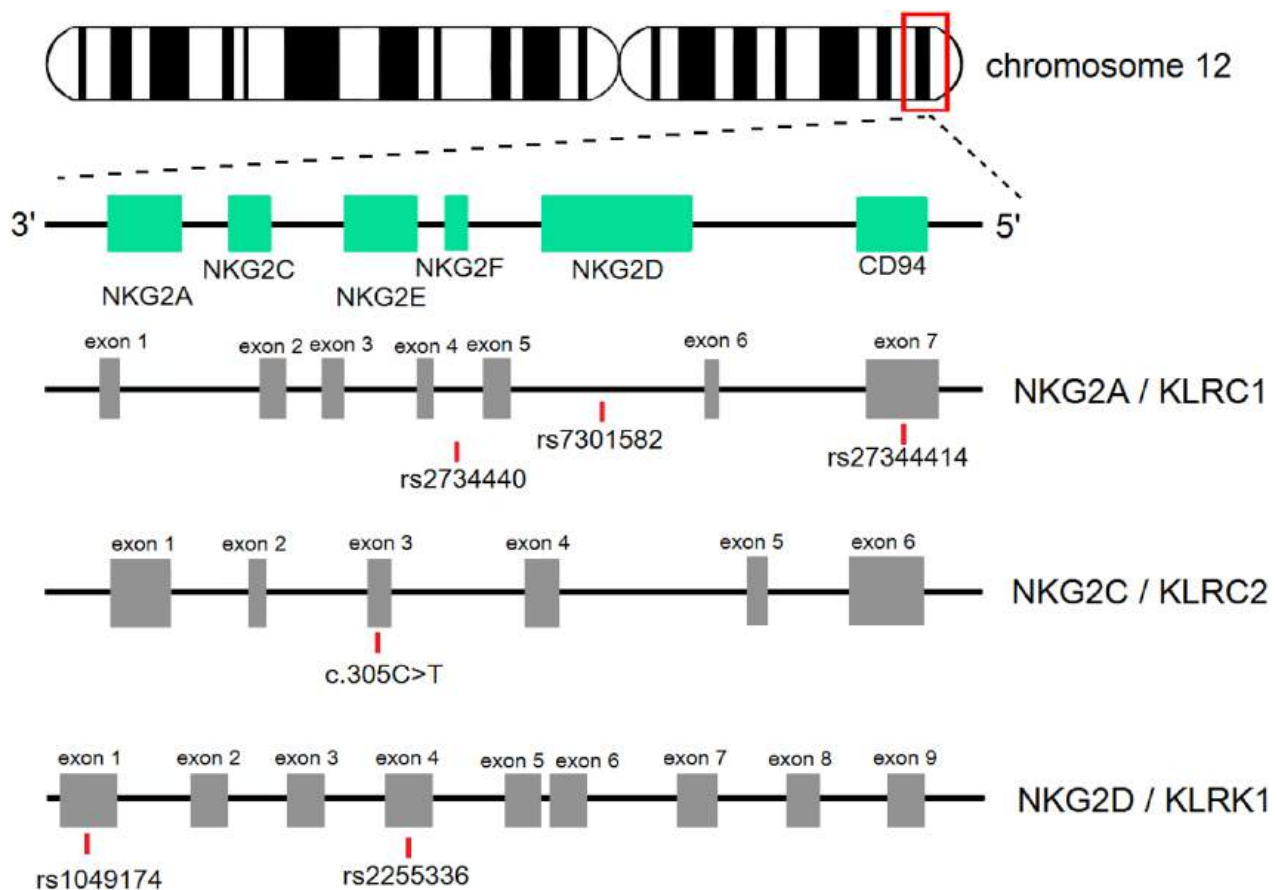


Fig. 1 Genomic organization of the CD94/NKG2 region on chromosome 12. In the natural killer gene complex, the genes encoding for NKG2A, NKG2C, NKG2E, NKG2F and NKG2D receptors as well as

for the CD94 molecule, are located on the short arm of chromosome. The most important single-nucleotide polymorphisms of major receptors are detailed

has 231 amino acids in length and a molecular mass of 26,159 Da. The two homologous proteins of NKG2C are NKG2E and alternatively spliced NKG2H. Both *NKG2C* and *NKG2E* genes are highly identical (92.1%) at the genomic level, have duplicated 255-bp length DNA containing a second version of exon III (termed IIIB). The differences in gene sequence were found at the 3' end of *NKG2E*, resulting in additional *Alu* amino acid. The 3' region of *NKG2-A*, *-E* and *-F* receptor, rich in *Alu* repeats, is known as coding for the extracellular domain of the NKG2 receptors and may affect ligand specificity (Glienne et al. 1998). It is known that *Alu* sequences occur with a frequency of approximately one element per 4 kb in the human genome, and could cause abrogation of transcriptional activity (Brostjan et al. 2000).

It has been assumed that the NKG2 family is rather non-polymorphic although some variabilities in genomic sequences have been described. In our previous report on NKG2D (Siemaszko et al. 2021) we provided a comprehensive summary of the clinically associated genetic variations of its gene. As for the *NKG2C* gene, two single-nucleotide polymorphisms (SNPs): rs10587111 and rs10588530

have been identified recently in a set of genetic mutations occurred at higher frequency in patients infected with influenza A (H7N9) (Chen et al. 2016). There are three reported alleles of *NKG2C*. Two of them, named, respectively, *01 and *02 by Shum et al. (2002), were found in individuals of different ethnicities. They differ in two single-nucleotide non-synonymous polymorphisms (c.5G>A, Ser2Asn, and c.305C>T, Ser102Phe). The first one affects the cytoplasmic tail, while the second one is located in the stem connecting the transmembrane region with the ligand-binding domain. Third novel *03 allele, encoding asparagine 2, like *NKG2C**02 and serine 102, like *NKG2C**01, was recently discovered in two unrelated Caucasoids (Asenjo et al. 2021).

One of the most characteristic features of the *NKG2C* is its genomic mutation resulting in deletion of a ~16-kb region encompassing the gene, first observed in a Japanese population (Hikami et al. 2003; Miyashita et al. 2004). The evidence for *NKG2C* deletion was found due to the polymorphism screening (Hikami et al. 2003) and the breakpoint was detected within the 292-bp region 1.5–1.8 kb telomeric from the 3' untranslated region of the *NKG2A*.

Deletion haplotype comes with a unique set of nucleotides around the breakpoint with several *Alu* repeats presented. Although the *NKG2C* deletion breakpoint is not located in the *Alu* sequence, the *Alu* repeats are usually involved in gene recombinations (Miyashita et al. 2004). The *NKG2C* gene homozygous ~ 16 kb deletion is distributed with frequency not exceeding 5% of studied populations (Hikami et al. 2003; Li et al. 2015; López-Botet et al. 2014; Miyashita et al. 2004; Moraru et al. 2012; Muntasell et al. 2013; Thomas et al. 2012; Toson et al. 2022). However, studies on West African populations from Gambia and Guinea-Bissau revealed that *NKG2C* deletion homozygosity occurred with almost 14% frequency (Goncalves et al. 2016; Goodier et al. 2014). This indicates that the *NKG2C* gene is not essential for survival and reproduction. Its deletion may be compensated possibly by the *NKG2E* gene (Hikami et al. 2003; Miyashita et al. 2004). The consequence of *NKG2C* deletion has been investigated in many studies, reviewed in the next paragraphs. The *NKG2C* wild-type (*wt*) allele has a protective effect for human cytomegalovirus (HCMV) viremia and the deletion (*del*) variant was associated with higher risk of HCMV viremia and disease development (Rangel-Ramírez et al. 2014). The high frequency of viremia and HCMV-disease was also observed after lung transplantation in patients with *del/del* homozygous genotype (Goodier et al. 2014; Vietzen et al. 2018). It was reported that patients carrying *del/del* genotype lacked *NKG2C* expression, while in *wt/del* heterozygotes the expression was intermediate (Muntasell et al. 2013). Furthermore, as reported by Muntasell et al. (2013), in *NKG2C wt/wt* HCMV⁺ individuals the receptor's expression affects the *NKG2C*^{bright} NK cells by increasing their number. The *NKG2C* genotype also modulates HCMV-induced expansion of *NKG2C*⁺ cells. HCMV-seropositive *NKG2C wt/wt* children and adults express higher numbers of *NKG2C*^{bright} cells than hemizygous *NKG2C wt/del* subjects. Moreover, the quantitative differences in surface expression of *NKG2C* as well as in the response to receptor engagement were also noticed (López-Botet et al. 2014).

Significance of Interaction Between HLA-E Molecule and its NKG2A and NKG2C Receptors

Being a member of class Ib non-classical human leukocyte antigens (HLA) molecules, HLA-E is expressed constitutively on B and T lymphocytes, NK cells, monocytes, trophoblasts, and also in tumour cells (Coupel et al. 2007). The *HLA-E*-encoding gene is located in chromosome 6. It is well known that *HLA-E* is not as polymorphic as the other HLA molecules and it has just two dominant alleles (*01:01 and *01:03) distributed with almost identical frequencies (Iwaszko and Bogunia-Kubik 2011). HLA-E maintains a

specific and unique role in modulating immune response: it can interact either with the activating CD94/NKG2C or the inhibitory CD94/NKG2A receptor. Structural studies have revealed that both human inhibitory NKG2A and activating NKG2C receptors possess sequences identical in over 75%, however, inhibitory CD94/NKG2A receptor binds to the HLA-E with approximately six-times higher affinity than CD94/NKG2C (Dissociation constant, KDs ranging from 0.7 µM to ~20 µM for NKG2A and KDs ranging from ~4 µM to >0.1 mM for NKG2C) (Kaiser et al. 2005; Valés-Gómez et al. 1999). Variations in the residues forming part of heterodimer interface (165–168 in NKG2C and 167–170 in NKG2A) were found to be responsible for this affinity disparity (Kaiser et al. 2008). Both CD94/NKG2A and CD94/NKG2C bind to the HLA-E α1/α2 domain by recognizing different, but partially overlapping HLA-E epitopes (Wada et al. 2004). A study investigating the effect of HLA-E, expressed by target cells, on a NKG2A⁺ and NKG2C⁺/NKG2A⁻ NK cell subsets, revealed that basal levels of HLA-E activate NKG2A⁺ cells without impact on activation of NKG2C⁺ NK cells (Kaiser et al. 2005; Valés-Gómez et al. 1999). Additionally, the relationship between NKG2C copy number and the NK-cell compartment was not dependent on the HLA-E dimorphism (Muntasell et al. 2013). Though NKG2A and NKG2C receptors are not simultaneously expressed on peripheral CD56^{dim} NK cells, however, almost all decidual CD56^{bright} NK cells and peripheral CD56^{bright} NK cells with active NKG2C simultaneously expressed NKG2A and inhibitory receptor prevails (Kusumi et al. 2006; Sáez-Borderías et al. 2009).

Summarizing the above, HLA-E upholds the balance of NK cell reactivity, following the principle that if both receptors compete in binding to a specific HLA-E molecule, the inhibitory receptor is the preferable one (Lauterbach et al. 2015). The favoured binding to inhibiting CD94/NKG2A is a crucial feature of monitoring the MHC class I expression on normal cells (Joyce and Sun 2011).

Under normal conditions, HLA-E presents conserved peptides derived from HLA-I leader sequences (Fig. 2A). HCMV, like other viruses, evolved a strategy to avoid NK cell killing in HLA I class down-regulated conditions. Virus protein gpUL40 delivers a peptide that mimics leader sequences and binds efficiently to HLA-E molecule inducing its expression (Prod'homme et al. 2012; Tomasec et al. 2000; Ulbrecht et al. 2000). Sequencing of viral UL40 DNA from HCMV isolates provided data about heterogeneity in the repertoire of UL40 peptides (Hammer et al. 2018; Heatley et al. 2013). Mutations in UL40 have an impact on NK cell activation, and remain under host immunological pressure. Most frequently occurring strains expressed VMAPRTLIL, VMAPRTLLL and VMAPRTLVL sequences. The HLA-E/VMAPRTLIL complex is recognized by both NKG2A and NKG2C, however, binding affinity for NKG2C is six-fold

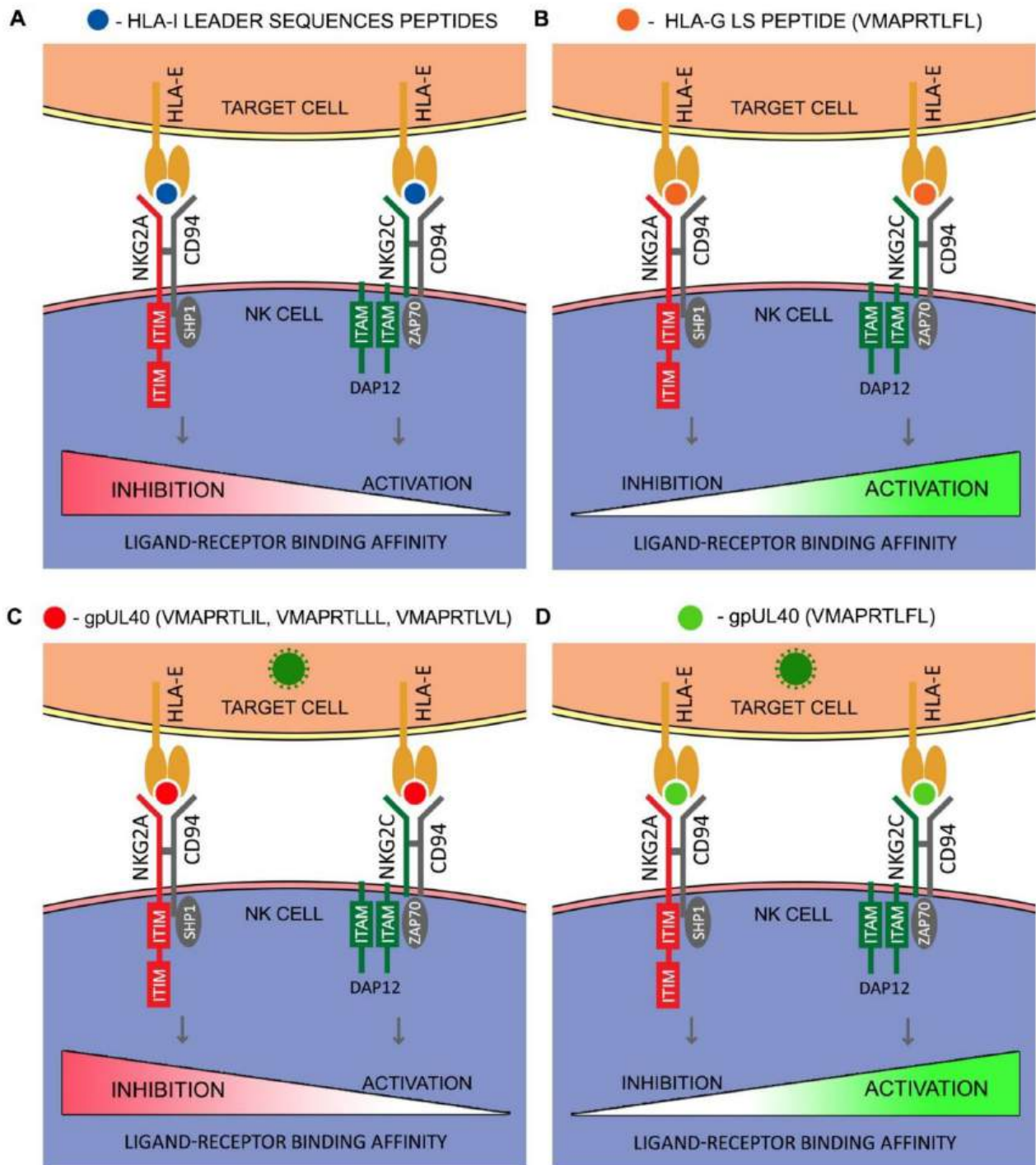


Fig. 2 Impact of the peptide presented by HLA-E on balance between NKG2C and NKG2A contradictory signals. Under normal conditions, with basal levels of HLA-E, the NKG2A/CD94 complex is activated by a broad set of peptides derived from the HLA-I leader sequences. This represents a monitoring mechanism for controlling MHC class I expression on normal cells (A). When HLA-E is loaded with VMAPRTLFL peptide from the HLA-G leader sequence, the binding affinity of such complex is higher for the activating CD94/NKG2C than for the CD94/NKG2A. Activation signal might cause

internalization and degradation of the receptor, preventing excessive NK cell reactivity (B). During HCMV infection, HLA-E presents peptides derived from viral gpUL40 which mimic HLA I leader sequences and induce HLA-E expression. Most frequently occurring strains expressed VMAPRTLIL, VMAPRTLIL and VMAPRTLVL with higher affinity for NKG2A, avoiding therefore NK cell attack (C). VMAPRTLFL peptide from rare HCMV strain is identical to HLA-G peptide and is sufficient for inducing effector functions in NKG2C⁺ NK cells without co-stimulatory signals (D)

lower than for NKG2A (Heatley et al. 2013). In vitro analysis revealed a gradient in activating properties of UL40 peptides on a subset of NKG2C⁺ NK cells (Hammer et al. 2018). The most frequently occurred peptides have low affinity for NKG2C, while the rare VMAPRTLFL peptide (identical to HLA-G derived signal peptide) is sufficient for inducing effector functions in NKG2C⁺ NK cells without co-stimulatory signals like interleukin (IL)-12 and IL-18. Viral infections also hamper transporter associated with antigen processing (TAP)-mediated peptide transport. HLA-E can be, therefore, loaded with broad set of unusual peptides with binding motif similar to that of HLA-A*02:01 (Lampen et al. 2013), up to 15 amino acids in length (Hò et al. 2020).

More detailed research have demonstrated further impact of the peptide presented by HLA-E on the balance between NKG2C and NKG2A contradictory signals. The CD94/NKG2A complex has a wide range of interacting peptides resulting in inhibition of NK cells (Lauterbach et al. 2015). In contrast, CD94/NKG2C is regulated by HLA-E loaded with restricted peptide repertoire (Fig. 2B). One of best studied is the nonameric peptide (VMAPRTLFL) derived from the signal sequence of HLA-G. Other peptides that have higher binding affinity for NKG2C than for NKG2A, but to a lesser extent are: HLA-B27 leader peptide (Prašnikar et al. 2021), A80 (VMPPTLL), B13 (VTAPRTLL) (Lauterbach et al. 2015), B7 (VMAPRTVLL), B58 (VTAPRTVLL), Cw3 (VMAPRTLIL), Cw4 (VMEPRTLIL), Cw7 (VMAPRALLL) (Valés-Gómez et al. 1999). However, the in vitro studies showed that HLA-B2705 and HLA-Cw0702 proteins cannot be considered as efficient (Llano et al. 1998; Navarro et al. 1999). UL40 induces surface expression not only of the HLA-E, but also of the gpUL18, a HCMV-encoded HLA-I homologue (Prod'homme et al. 2012). This protein is capable of forming complexes with β_2 -microglobulin (Browne et al. 1990) and endogenous peptides (Fahnestock et al. 1995), including UL40-derived sequences. The surface plasmon resonance-binding studies demonstrated that the gpUL18 weakly binds to the CD94/NKG2C but shows no interaction with CD94/NKG2A receptor in vitro (Kaiser et al. 2008). This finding highlighted a potential role of the CD94/NKG2 receptors in direct responses to the virally encoded proteins, like HCMV gpUL18.

HLA-E presenting HLA-G nonamer binds to the NKG2 receptors with the highest affinity of any others combination tested (Kaiser et al. 2005, 2008; Lauterbach et al. 2015; Llano et al. 1998; Valés-Gómez et al. 1999). The HLA-G-derived HLA-E ligand appears to interact preferentially with the activating CD94/NKG2C receptor (Heatley et al. 2013; Llano et al. 1998). HLA-G is expressed in immune-privileged tissues and in virally (e.g. HCMV) infected cells (Onno et al. 2000; Yan et al. 2009), and, as report by Hò et al. (2020), it is recognized by the NKG2A, as well as

ILT2 and KIR2DL4. It plays an important role in pregnancy, transplantations and malignancies (Hò et al. 2020), locally inducing immunological tolerance. The HLA-G level increases when exposed to cytokines (such as interferon (IFN)- γ , IL-10 or transforming growth factor- β), hypoxia or heat stress (Jasinski-Bergner et al. 2022). On the other hand, interaction of HLA-G with NKG2C might cause internalization and degradation of the receptor (Lauterbach et al. 2015). This downregulating mechanism might be another one that prevents excessive NK cell reactivity.

Peptides with activating potential on NK cells should cause a destabilization CD94/NKG2C heterodimer with simultaneous NKG2C and DAP12 communication adjustment (Prašnikar et al. 2021). Molecular dynamics studies revealed that the influential peptide maintains a unique hydrogen bonding network among receptor-ligand “lock and key”-like complex, appropriate for NK cell activation (Prašnikar et al. 2021). Recently, it has been shown that the peptide derived from the non-structural protein 13 of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) prevents binding of HLA-E to NKG2A inhibitory receptor, leading target cell to be more susceptible to NK cell attack (Hammer et al. 2022). Therefore, high frequencies of NKG2A⁺ NK cells are found in patients diagnosed with coronavirus disease 2019 (COVID-19), which limits replication of SARS-CoV-2 in lung epithelial cells in vitro. Partially similar mechanism occurs when HLA-E presents peptides derived from hsp60. However, such complex interferes with binding with either NKG2A or NKG2C, making itself unrecognizable to both receptors. This indicates that NKG2 receptors are peptide selective (Michaëlsson et al. 2002).

NKG2C in Viral Infections

Human Cytomegalovirus

The NKG2C receptor is well known for its role in many viral infections, especially in HCMV infection. An in vitro study conducted on peripheral blood lymphocytes cocultured with HCMV-infected fibroblasts resulting in expansion of NKG2C⁺ NK cells was the very first evidence of expansion of these cells in response to HCMV infection (Gumá et al. 2006a). This effect was confirmed in many subsequent reports (Gumá et al. 2004; Heatley et al. 2013; Hendricks et al. 2014; López-Botet et al. 2014; Lopez-Vergès et al. 2011; Muntasell et al. 2013), highlighting the critical role of NKG2C in HCMV infection, but from the other side uncovered the impact of HCMV on NK cell subsets composition.

NKG2C⁺ NK cells belong to separated NK cell cluster named adaptive NK cells. Transcriptomic profile of adaptive NK cells derived from bone marrow revealed that not every

adaptive NK cell has high NKG2C expression (Yang et al. 2019). When compared to the conventional NK cell subsets, adaptive NK cells displayed a very distinct profile marked by upregulation of *NKG2C*, *CD3E*, *PATL2* transcription, downregulation of *CD7*, *KLRB1* and *FCER1G*, low NKp30, CD161, NKG2A surface expression (Rückert et al. 2022). In HCMV⁺ individuals, adaptive NK cells are characterized by reduction in the expression of *FCER1G*, *ZBTB16*, *SYK*, and *EAT-2* compared to other NK subsets (Schlums et al. 2015). Differences in *FCER1G*, *ZBTB16* expression were found between NKG2C⁺ and NKG2C⁻ NK cells subset of HCMV-seropositive patients (Rückert et al. 2022). Epigenetic characteristics of adaptive NK cells depict unique chromatin remodelling within the NKG2 region, which results in *NKG2C* upregulation and *NKG2A* downregulation. Analysis of cis-regulatory elements revealed that adaptive NK cells exhibit increased activity of AP1 motifs, which encode transcription factors involved in defining inflammatory memory in different immune cell types (Larsen et al. 2021).

While the expansion of NKG2C⁺ NK cells in the condition of CMV infection seems to be well proven, little is known about the mechanism behind this phenomenon (Fig. 3). There are some examples supporting the idea of NKG2C/CD94 being directly involved in NK cell expansion. In a presence of blocking anti-CD94 monoantibodies, the stimulation of HCMV⁺ donor peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) with virus-infected fibroblasts

promoted expansion of NKG2C⁺ NK cells and the NKG2C deletion also has influence on this effect (López-Botet et al. 2014). Furthermore, the engagement of proinflammatory IL-12 produced by CD14⁺ monocytes has been regarded as a potential motor agent in NKG2C⁺ NK cells expansion (Rölle et al. 2014). Despite the fact that some clinical observations indirectly suggest that NKG2C⁺ cells contribute to control HCMV replication in vivo, their in vitro response to HCMV-infected cells appears unexpectedly modest and there is no evidence for a triggering role of NKG2C in this system. On the other hand, recent results support that NKG2C^{bright} NK cells are potent effectors of antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC), and that HCMV-specific antibodies specifically trigger cytotoxicity and cytokine production against infected cells. Remarkably, little information is available regarding the involvement of ADCC in the immune response to HCMV (López-Botet et al. 2014). As they become more mature, the NK cells express more CD57, known as their maturation marker, which is associated with increased cytokine production and ADCC properties (Lopez-Vergès et al. 2010). The CD57⁺NKG2C⁺ NK adaptive cell subset characterises with endurance and resistance to apoptosis. These features correlate with transcriptional changes and epigenetic remodelling, e.g. demethylation of noncoding sequence 1 in the *IFN-γ* gene locus (Tarantino et al. 2021). The presence of HCMV alters the expression of the CD94/NKG2 receptors. It has been proved that HCMV-seropositive

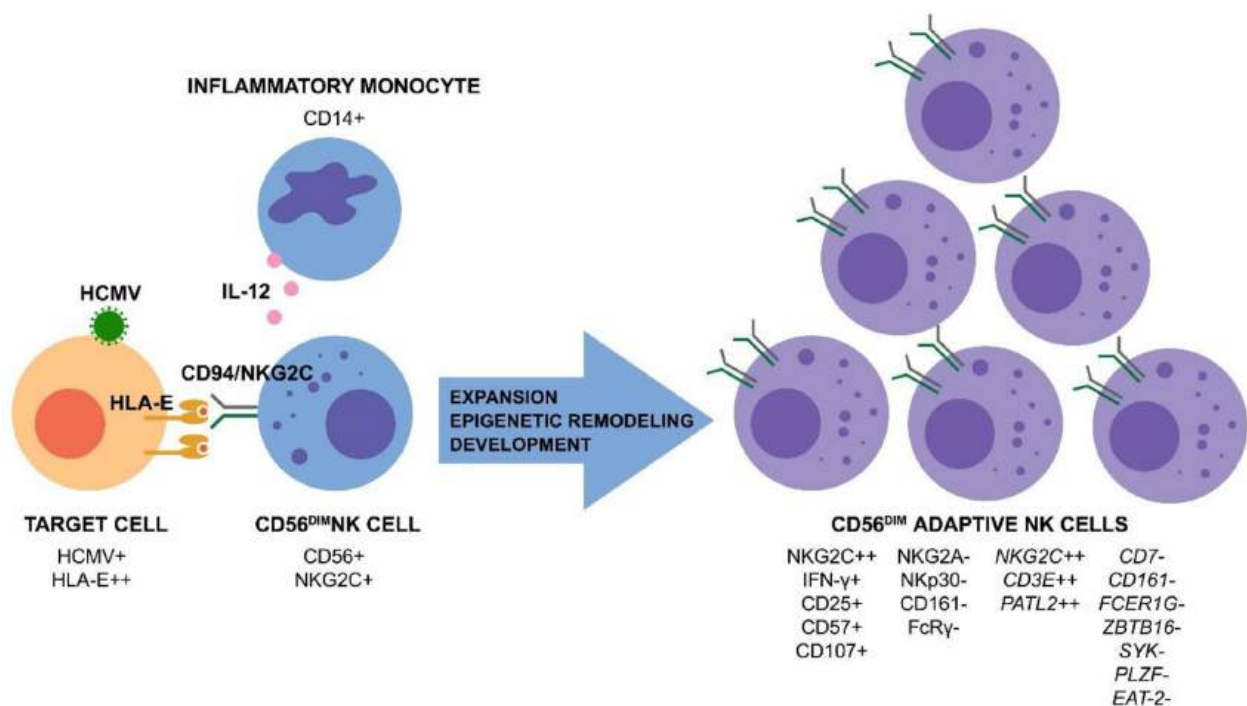


Fig. 3 Expansion of adaptive CD56^{dim} NKG2C⁺ NK cells driven by HCMV infection. As a subset of adaptive NK cells, the NKG2C⁺ NK cells display distinct expression profiles when compared to conventional NK clusters

adults and children characterise with increased number of NKG2C⁺ cells (Béziat et al. 2013; Heatley et al. 2013; Monsiváis-Urenda et al. 2010). Acute CMV infection promotes high NKG2C⁺ NK cells proliferation, often called NKG2C^(hi) NK cells, which eventually leads them to acquire CD57. Such a unique NKG2C^(hi) CD57⁺ NK cell subset may be responsible for a specific NK cell memory (Lopez-Vergès et al. 2011). Interestingly, these cells were found to respond specifically to HCMV, but not to Epstein-Barr virus (EBV) infection (Hendricks et al. 2014). NK cells are believed to control the viral infection in the absence of T cells. The NKG2C⁺ lymphocytosis in a patient suffering from acute HCMV infection coincided with a significant reduction of viremia, when the T cells were absent (Kuijpers et al. 2008). The HCMV seropositivity status increases the numbers of both NKG2C⁺ NK and T cells (Muntasell et al. 2013). The NKG2C⁺ NK cells may also regulate the CMV-specific CD8 T cells, which express the HLA-E ligand. In the CMV seropositive individuals, the expansion of CMV-specific CD8 T cells is negatively regulated upon cell activation (Grutza et al. 2020). An in vitro study confirmed that, interestingly, in HCMV-infected monocyte-derived dendritic cells cultures, the endogenous IL-12 secretion affected the NKG2A expression in NKG2C⁺ cells and, therefore, it may be responsible for modulation of the response against HCMV-infected cells. This effect is beneficial for the virus, as the induced expression of CD94/NKG2A strengthens the viral immune evasion mechanisms (Sáez-Borderías et al. 2009). Lack of FcεRγ (FcRγ) expression is another adaptive NK cells marker in response to HCMV. The NKG2C^{bright} and FcRγ[−] NK cell population was found in HCMV⁺ subjects. Moreover, the loss of FcRγ was accumulated within the NKG2C^{bright} NK cell subset in the *NKG2C wt/wt* individuals, and the NKG2C[−]FcRγ[−] cell population was more frequent in *NKG2C wt/del* and *NKG2C del/del* individuals (Muntasell et al. 2016).

Controversially, the recent data suggest that individuals who lack expression of NKG2C show an undisturbed immune response to HCMV infection and the NK cell maturation is not altered by the absence of CD94/NKG2C receptor. This suggests that there are some alternative pathways, which provide similar NK cells activity in case of lacking this receptor (Toson et al. 2022). Besides that, many reports reviewed in the next chapters highlight the key role of the HCMV-induced NKG2C⁺ NK cell expansion observed in other viral infections and inflammatory conditions.

Hepatitis B and Hepatitis C Virus

The expansion of NKG2C⁺ NK cells in chronic hepatitis patients is associated with an underlying HCMV infection, pointing out the key role of this pathogen in the NK cell activity (Béziat et al. 2012; Malone et al. 2017).

Interestingly, there are phenotypic and functional differences in the NK cell repertoire in chronic hepatitis B virus (HBV) infection versus hepatitis C virus (HCV). In case of the HCV infection, the proportion of activated, but more dysfunctional NK cells was higher compared to the HBV-infected individuals. On the other hand, expression of CD94/NKG2C was higher in HBV-infected when compared to HCV-infected and healthy individuals. Additionally, number of circulating NK cells was also lower in HBV and HCV-infected than in control (Oliviero et al. 2009). The NKG2C⁺ NK cell levels can be considered as a prognostic marker of HBV improved treatment responses. The pegylated interferon (PEG-IFN)-α and entecavir are well-known antiviral drugs for HBV treatment. The clinical study conducted on patients suffering from chronic HBV showed that PEG-IFN-α responders have a significantly higher expression of NKG2C⁺ NK cells than non-responders, which suggests the reconditioning and activation of innate immune response during IFN treatment (Yan et al. 2015).

Human Immunodeficiency Virus

The presence of largely controversial reports obscures understanding the role of CD94/NKG2C receptor in HIV susceptibility, infection and progression. The presence of at least one *NKG2C del* variant was previously indicated as a risk factor of HIV infection (Thomas et al. 2012). The *NKG2C wt/wt* and *HLA-E*01:01/*01:01* genotypes were found to be involved in faster and more effective recognition of HIV-infected cells and were found less frequently in long-term non-progressors as well as in HIV-infected patients when compared to controls. Recently published results specify that the *NKG2C del/del* genotype is associated with HIV susceptibility, but only in people living with HIV and not in controls unexposed to HIV or HIV-exposed seronegative subjects (Alsulami et al. 2021; Guzmán-Fulgencio et al. 2013). Unexpectedly, findings from the latest study on HIV-infected Brazilians have questioned any impact of NKG2C genotype on HIV susceptibility (Toson et al. 2022). No association of *NKG2C* deletion with HIV-1 susceptibility or influence on clinical features was observed in the evaluated cohort. The *NKG2C* copy number did not correlate with HIV viral load (Alsulami et al. 2021). Therefore, more genetic studies on larger populations are necessary to better understand this phenomenon.

Unlike other NK cell receptors, the expression of CD94/NKG2C and its ligands is upregulated in HIV patients, thus, the NKG2C may be involved in regulating the infection progress. Many studies indicate that changes in NK receptors repertoire in HIV-1 positive patients are derived from an underlying HCMV coinfection. Advanced stages of HIV-1 disease in patients coinfecting with HCMV are characterized by downregulation of CD94/NKG2A and

increased expression of CD94/NKG2C (Brunetta et al. 2010; Gumá et al. 2006b; Zhou et al. 2015). This reversed NKG2A/NKG2C ratio is unique for NK cells, but not for CD8⁺ NKG2C⁺ T cells (Zeddou et al. 2007). In a Hispanic case study, high level of memory-like NKG2C⁺ NK cells was associated with the control of HIV-1 viral replication (Climent et al. 2023). However, the high level of NKG2C⁺ NK cells increases the risk of Kaposi sarcoma in patients with HIV-1 infection (Goodier et al. 2007). In summary, the current knowledge of NKG2C⁺ NK cells at mucosal genital/anal sites is still limited, and the NK receptor profile of circulating NK cells may differ from the tissue-resident NK which interact with HIV-infected cells (Alsulami et al. 2021).

SARS-CoV-2 and COVID-19

There are studies conducted on COVID-19 patients (Jaiswal et al. 2022a; Vietzen et al. 2021a) indicating that *NKG2C* deletion is a risk factor for more severe disease outcome. One of those studies showed that both *HLA-E*01:01* and *NKG2C del* variants are more frequently present in hospitalized Austrian COVID-19 patients, and both genotypes are independent risk factors for severe COVID-19 (Vietzen et al. 2021a).

The CD94/NKG2C expression may also be related to the severity of infection. Increased number of circulating NKG2C⁺ NK cells observed in patients suffering from severe COVID-19 was independent of HCMV reactivation and did not correlate with serum levels of anti-CMV IgG. Authors identified upregulated HLA-E in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid of COVID-19 patients, and suggested, therefore, a receptor-ligand-driven expansion of adaptive NK cells (Maucourant et al. 2020). Interestingly, even after clearance of SARS-CoV-2, patients with lower recovery of NKG2C⁺ adaptive NK cells were characterized by HCMV reactivation and increased mortality (Jaiswal et al. 2022a). Interesting results were obtained in a study on *Mycobacterium w* (Mw), which is used as an immunomodulator in India. The prophylaxis with Mw used in HCMV-seropositive high-risk cohort resulted in six-fold reduction in incidence of symptomatic COVID-19 over a 6-month period. In a response to Mw, the number of NKG2C⁺ adaptive NK cells increased between 30 and 60 days following treatment. Moreover, the lower baseline of NKG2C⁺ NK cells predisposed to the disease (Jaiswal et al. 2022b). These findings suggest that a higher number of NKG2C⁺ cells is beneficial and provides a protective effect in SARS-CoV-2 infection, whereas a decreased number of these cells, together with the *NKG2C del* variant, weakens it. Interestingly, the NK cell subsets differ in mammalian target of rapamycin activity. Study on rapamycin treatment showed that the percentage of

mature NKG2A⁻CD16⁺ CD57⁺ cells significantly increased during treatment and that the level of FcRγ was lower in all NK cell subsets (Shemesh et al. 2022).

Other Viral Infections

The *NKG2C* deletion did not seem to influence the clinical course of herpetic (herpes simplex type 1 virus) (Moraru et al. 2012), and papillomavirus infection (Vilchez et al. 2013), but predispose to the development of nephropathia epidemica in severe Puumala orthohantavirus cases (Vietzen et al. 2021b). No expansions of circulating NKG2C⁺ NK cells have been observed in studies of patients with recurrent genital herpes simplex virus type 2 infections (Björkström et al. 2011b), likewise in EBV infection in adults (Hendricks et al. 2014). HCMV⁺ EBV⁺ coinfecting children had significantly higher proportions of peripheral-blood NKG2C⁺ NK cells than HCMV⁺ EBV⁻ children. These results provide further evidence that the expansion of NKG2C⁺ NK cells is a consequence of CMV-driven immune maturation (Saghafian-Hedengren et al. 2013). NKG2C⁺ NK cell increased expansion was observed in HCMV coinfection with other acute and chronic viral infections: Hantavirus (Björkström et al. 2011a), Chikungunya (Petitdemange et al. 2011), dengue virus-2 (Petitdemange et al. 2016). But on the contrary, results from the latest study on Puumala orthohantavirus indicate that NKG2C⁺ NK cell proliferation and effector functions during virus infections can be also induced independent of prior HCMV infection, for example by the cellular stress response (Vietzen et al. 2021b).

Pregnancy and Related Complications Affected by NKG2C

Uterine NK cells, accumulated during early pregnancy at the maternal–fetal interface, are engaged in placenta-tion, angiogenesis and regulation of trophoblast invasion (Hanna et al. 2006). It is believed that their dysfunction is a major factor in pathological pregnancies, including pre-eclampsia. The expression of both CD94/NKG2A and CD94/NKG2C receptors is increased on peripheral NK cells from women diagnosed with pre-eclampsia. It might be explained by the scenario in which NK cells try to balance the proper inhibitory/activating receptors' expression during ongoing systemic inflammation, characterized by high levels of IL-12 and IL-15 (Bachmayer et al. 2009). In accordance, another study revealed expansion of NKG2C⁺ NK cells in pre-eclampsia women. Furthermore, both CD56⁻ and CD56⁺ cell subsets were characterized with increased expression of NKG2A receptor. Women suffering from severe pre-eclampsia had an increased percentage of

CD56^{bright} NKG2C⁺ NK cells (Bueno-Sánchez et al. 2013). The role of *NKG2C* deletion in pre-eclampsia susceptibility has been excluded in a Brazilian cohort study (Kaminski et al. 2019).

Although the HCMV causes the majority of intrauterine viral infections, in the first trimester of pregnancy the congenital infection rate is considered to be low. The first trimester is usually the time when the uterus is infiltrated by decidual NK (dNK) cells, which are propitious for placentation. When exposed to HCMV, these dNK cells, normally responsible for chemokines and cytokines production, become cytotoxic for infected autologous decidual fibroblasts. The dNK cells may be involved in controlling the HCMV intrauterine infection and in limiting the viral spreading into fetal tissues. Over 80% of these dNK cells become NKG2C⁺ NK cells (Siewiera et al. 2013). Simultaneously, only a minor decrease of NKG2A⁺ cells was observed. An interesting observation was made in relation to multiple pregnancies. Repeated pregnancies are often related to improved placentation, possibly provided by pregnancy trained decidual NK cells. These cells, involved in vascular remodelling and angiogenesis, are characterized by high expression of NKG2C receptor in HCMV-seropositive women (Gamliel et al. 2018). This observation may lead to question, whether the HCMV serostatus is involved in this NK cells augmentation. Study on endometrium samples from HCMV-seropositive and HCMV-seronegative women showed that endometrial NK cells have an increased pregnancy-induced *LILRB1* expression on NKG2C⁺ cells in HCMV-seropositive women. The HCMV serostatus may be, therefore, involved in the induction of pregnancy-induced memory endometrial NK cells, providing effective placentation (Feyaerts et al. 2019).

The NK cell receptors' distribution is also altered by the postnatal symptomatic HCMV infection in preterm infants, which is characterized by an early increase of total NK cells, as well as NKG2C⁺ and KIR⁺ NK cell subsets with a simultaneous decrease of the cells expressing CD94/NKG2A receptor (Noyola et al. 2015). Furthermore, in children who had symptomatic congenital HCMV infection, the increased number of NKG2C⁺ NK cells, and lower number of NKG2A⁺ NK cells was found when compared to asymptomatic or non-infected individuals. What is more interesting, this NKG2C⁺ cell increase was associated with *NKG2C* *wt* genetic variant, and the *wt/wt* homozygotes had a higher number of circulating NKG2C⁺ cells than heterozygotes (Noyola et al. 2012).

Clinical Outcome of Allogeneic Transplantation of Hematopoietic Stem Cells and NKG2C

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a curative treatment for patients whose bone marrow or immune system is damaged or defective. The commonly used clinical practice in allogeneic setting is donor and recipient HLA-typing and determination of the relationship between various alleles and HSCT outcome. Studies show that the relationship between NK cell receptors and their ligands may play a crucial role in the prediction of HSCT outcome (Bogunia-Kubik and Łacina 2021; Isernhagen et al. 2015; Tsamadou et al. 2017, 2019; Yu et al. 2022). The reactivation of HCMV infection remains to be one of the most common post-transplant complications. It is especially threatening to immunodeficient and immunosuppressed patients (López-Botet et al. 2014). NK cells are the first lymphoid subset that can be detected in recipients' peripheral blood after HSC or cord blood transplantations, however, differences between NK cell development patterns may occur. Patients who experienced the reactivation of HCMV infection after cord blood transplantation characterized with a more rapid NK cell maturation, and expression of NKG2C⁺ NK cells was increased in comparison to patients without reactivation (Della Chiesa et al. 2012).

Interestingly, the early reactivation of HCMV infection is related with lower risk of relapse in acute myeloid leukaemia (AML) patients, unleashing the graft-versus-leukaemia properties. This therapeutic effect was observed similarly in patients diagnosed with chronic myeloid leukaemia, under Dasatinib treatment, where the expansion of NK cells is related to HCMV reactivation (López-Botet et al. 2014). Reduced risk of leukaemia relapse may also be associated with expansion of CD56^{dim}CD57⁺NKG2C⁺ NK cells. HSCT recipients treated with reduced-intensity conditioning, who developed HCMV reactivation, were characterized with low relapse rate and better disease-free survival when compared to recipients typed as HCMV-seronegative, suggesting the major role of adaptive NK cell in response to infection (Cichocki et al. 2016; Muñoz-Cobo et al. 2014). Development of HCMV replication after allogeneic HSCT was proven to be a strong and independent predictor of a reduced leukemic relapse risk, and increased long-term survival in early and advanced stages of AML (Elmaagacli et al. 2011).

Besides the altered expression, the CDD94/NKG2C phenotype is also a major factor in the development of post-transplant complications. The *NKG2C del* variant in cord blood transplant recipients increases the risk of HCMV reactivation. In recipients without HCMV reactivation, the wild-type variant was dominant (Mehta et al. 2016). *NKG2C wt/wt* homozygosity was beneficial to the reconstitution and

anti-HCMV function of adaptive NKG2C⁺ NK cells. By promoting the quantitative and qualitative reconstitution of adaptive NKG2C⁺ NK cells, donor *NKG2C wt/wt* homozygosity contributes to the clearance of HCMV infection after haploidentical allogeneic HSCT. Thus, considering HCMV infection risk in haploidentical HSCT, *NKG2C* wild-type homozygous donors may be preferable for hematopoietic transplantation (Yu et al. 2022). The donor's *NKG2C* copy number may be also used as a prediction tool for reactivation of HCMV in double umbilical cord blood transplantation. In recipients receiving two grafts, whose donors carried the deletion variant, risk of reactivation was significantly higher and the reactivation usually occurs within first 3 months after transplantation (Cao et al. 2018).

In HCMV-positive HSCT recipients, the upregulation of NKG2C receptor was observed despite the serostatus of their donors. However, there was a relationship between the HCMV donor status and functionality of NKG2C⁺ NK cells, suggesting that cells transplanted from seropositive donors were more reactive in response to HCMV reactivation, thanks to their previous exposure to HCMV antigens. This indicates the possibility of NKG2C⁺ memory-like NK cells being transplantable (Foley et al. 2012b). In recipients undergoing allogeneic HSCT, reactivation of HCMV infection may induce a graft-versus-leukaemia effect as the donor-derived NK cells eliminate residual leukemic cells. The infection results in increased expression of activating CD8⁺ T cells and NK cells ligands (Foley et al. 2012a). Children undergoing allogeneic HSCT who are diagnosed with acute leukaemia were characterized with reduced risk of relapse and extremely high relapse free survival when both recipient and donor was HCMV-seropositive before transplantation (Behrendt et al. 2009). In contrast to the T cells, NK cells are proven to mediate limited graft-versus-host reactions which gives an opportunity to use a ligand–receptor mismatch between recipients' residual tumour cells and the NK cell-repleted grafts (Picardi et al. 2015).

A graft-versus-host disease (GvHD) is another common post-transplant complication. In compliance with the natural NK cell maturation, expression of the CD94/NKG2A continuously decreases, whereas expression of CD94/NKG2C increases. A simultaneous increase in NKG2A⁺ and decrease in NKG2C⁺ subsets of CD56^{dim} NK cells was observed in recipients diagnosed with chronic GvHD and in patients with EBV reactivation. A reverse effect occurred in patients without chronic GvHD (Jaiswal et al. 2020; Kordeas et al. 2016). The EBV infection promotes the expression of NKG2A⁺ cells, in contrast to HCMV infection (Hendricks et al. 2014). It has been recently shown that the number of NKG2A⁺ NK^{dim} cells increased with simultaneous decrease of NKG2C⁺ NK^{dim} cells in patients with EBV reactivation and incidence of chronic GvHD after HSCT (Jaiswal et al. 2020). Such alterations in NK cell subsets may

increase the risk of chronic GvHD occurrence among HSCT recipients. The activating NKG2C and NKG2D receptors may overcome the impact of highly expressed NKG2A providing a beneficial role in monitoring infections in immunosuppressed patients. Both NKG2 activating receptors were simultaneously upregulated in HSCT recipients 30 and 90 days after transplantation (Picardi et al. 2015). An intriguing case study suggested that the HCMV reactivation may increase the number of NK cells expressing NKG2C receptor. It was observed that in a female recipient of umbilical cord blood transplantation the NKG2C⁺ NK cells constituted one-third of the total lymphocytes for 22 months, after the reactivation of HCMV infection (Muta et al. 2018).

NKG2C in Organ Transplantation

The HCMV infection and reactivation is a significant clinical problem in lung transplantation, observed in approximately 50% of recipients. Controversially, it was proposed that the increased number of NKG2C expressing NK cells did not provide protection from HCMV reactivation, but increased a risk of viremia. A high proportion of these cells coincided with actively replicating HCMV in lung allograft. Level of the BAL NKG2C⁺ NK cells increased compared to peripheral NKG2C⁺ NK cells, suggests that the CMV infection may drive local changes in the phenotype as well as recruitment of those cells to the transplanted tissue (Harpur et al. 2019). Another study highlights that NKG2C⁺ NK cells prevailed in BAL fluid and were more mature than NKG2C[−] NK cells. However, in comparison to PBMC NKG2C⁺ NK cells, the BAL NKG2C⁺ NK cells were less mature and proliferative. These findings imply the potential role of the CD94/NKG2C receptor and NKG2C⁺ as biomarkers of HCMV allograft replication and immune activation (Calabrese et al. 2019). In immunosuppressed kidney transplant recipients, highly prone to severe post-transplant complications, the increased level of NKG2C⁺ NK cells before transplantation lowers risk of HCMV reactivation, especially in wild-type homozygous patients (López-Botet et al. 2017). In renal transplantation, recipients with *NKG2C wt/wt* genotype were characterized with higher carotid intimal media thickness and lower humoral and T cell responses to HCMV, comparing to *wt/del* heterozygotes. This implies that the NKG2C gene deletion, manifested as decreased receptor expression, improved the cardiovascular health of recipients (Waters et al. 2017). Additionally, the pre-transplant NKG2C⁺ NK cells level was associated with post-transplant HCMV viremia. In recipients with high number of NKG2C⁺ NK cells before transplantation, the risk of post-transplant viremia was lower. Thus, it is possible that adaptive NK cells might provide a protection against reactivation of HCMV infection (Redondo-Pachón et al. 2017). From a practical standpoint, monitoring

basal and post-transplant levels of adaptive NK cells may provide biomarkers to evaluate the control of HCMV, with viable implications in the clinical management of the viral infection.

Role of NKG2C in Autoimmune and Other Diseases

Given that CD94/NKG2C is an activating receptor that increase NK cytotoxicity, secretion of proinflammatory cytokines, recruitment of macrophages and other inflammatory cells, it is reasonable to investigate the impact of CD94/NKG2C in autoimmune diseases. The proper control and balance between activating and inhibiting signals seems to be pivotal in autoimmunity development. Experiments conducted on murine models showed, that dysfunction in NK activation (e.g. *NKG2C* deletion) may lead to inability to eliminate autoreactive T cells.

Rheumatoid Diseases

In rheumatoid arthritis (RA), NK and T cells are responsible for cytotoxicity and cytokine production. NK and T cell activating receptors, including NKG2C, may play an important role in the pathogenesis of this disease. Synovial NK cells characteristic is similar to peripheral blood NK cells, but they express higher number of activation markers. However, considering only the NKG2C expression level, there are no significant differences between synovial and peripheral blood NK cells obtained from patients with chronic joint inflammation, suffered from arthritis of the knee (de Matos et al. 2007). Lower number of NK cells expressing CD94/NKG2C when compared to cells expressing NKG2A was observed in ankylosing spondylitis (Cauli et al. 2018). In autoimmune diseases, the number of specific peripheral lymphocytes, the $\gamma\delta$ T cells, is frequently increased (Paul et al. 2015). Detailed expression analysis showed that the NKG2C receptor was more frequently expressed on $\gamma\delta 1$ T than on $\gamma\delta 2$ T cells in RA patients (Iwaszko et al., submitted). No significant association was observed between homozygous *NKG2C* deletion and RA and systemic lupus erythematosus in Dutch and Japanese patients (Hikami et al. 2003). Conversely, one of the SNPs, the *NKG2C* c.305C>T (Ser102Phe) was shown to be associated with risk of RA in Korean population study (Park et al. 2008). *NKG2C* c.305*T allele was associated with Behcet's disease evidencing ocular lesions and Behcet's disease with arthritis (Seo et al. 2007).

Psoriasis

To explain the possible association between CD94/NKG2C and HLA-E in psoriasis, two models have been proposed.

First, the *NKG2C* deletion together with *HLA-E*01:01* genotype is responsible for inhibition of NK cells ability to regulate the autoreactive T cells, which are predisposing to this disease. The *NKG2C del/del* genotype was found to be a risk factor in psoriasis susceptibility, which stays in line with the hypothesised model (Zeng et al. 2013). The other explanation considers the impact of *HLA-E*01:03* genetic variant. The **01:03* allele alters the presentation of the psoriasis-inducing self-determinant by HLA-C, which provides the protection against psoriasis. This protection can also be provided by the high number of NKG2C⁺ NK cells. Cells expressing this receptor may be able to recognize and then kill autoreactive T cells, however, psoriasis patients characterise with overall decreased number of NKG2C⁺ NK cells, in favour to NKG2A⁺ NK cells. This results in limited regulatory functions of the NK cells which leads to unregulated autoreactivation of T cells (Batista et al. 2013; Patel et al. 2013).

Other Autoimmune Diseases

The CD94/NKG2C might be considered as a marker for NK reprogramming in autoinflammatory disorders. In celiac disease, intraepithelial cytotoxic T lymphocytes (CTLs) undergo genetic reprogramming that results in acquiring NK cytolytic functions, such as expressing C94/NKG2C receptor. The NKG2C expression by celiac intraepithelial CTLs appeared to be a marker for a general NK reprogramming (Meresse et al. 2006). Patients suffering from multiple sclerosis (MS) display HLA-E⁺ oligodendrocytes and NKG2C⁺CD4⁺ T cells, therefore, targeting the CD94/NKG2C receptor may be considered in future development of MS therapies (Zaguia et al. 2013).

Other Various Disorders

According to some reports, HCMV-driven NKG2C⁺ NK cell expansion may be a potential predictor for the development of high-risk carotid atherosclerotic plaques (Martínez-Rodríguez et al. 2013). This strands in line with the assumptions that infections may be involved in immunopathology of atherosclerosis. HCMV replicates and remains latent in the endothelial cells, which are constantly exposed to circulating NK cells, triggering NKG2C⁺ NK cell degranulation ex vivo (Djaoud et al. 2016).

Increased proportion of NKG2C⁺ NK cells was also observed in patients suffered from chronic obstructive pulmonary disease (Pascual-Guardia et al. 2020), autism spectrum disorders (Bennabi et al. 2019), schizophrenia and bipolar disorder (Tarantino et al. 2021). The common thread of these findings is lack of association between NKG2C expression level and HCMV status in patients. Despite the limited number of studies, it emphasizes the need to

investigate thoroughly the mechanisms of NKG2C⁺ NK cell expansion.

Current Strategies of NKG2C Clinical Applications in Immunotherapies Against Cancer and Virus-Infected Cells

Increasing activity of the CD94/NKG2C receptor remains to be one of the major directions towards enhancing the expansion of adaptive NK cells. Inhibition of CD94/NKG2A expression is an essential element for the expansion of NKG2C⁺ NK cells with more cytolytic activity (Zuo and Zhao 2021). It was also suggested that inhibition of glycogen synthase kinase-3 promotes the expansion of adaptive NK cells. Their expansion increased the survival in a model of ovarian cancer. Clinical trials conducted on different types of cancers combined with monoclonal antibody therapy are currently in progress (Cichocki et al. 2017).

Activating CD94/NKG2C receptor may be used in NK cell immunotherapy for various tumours. It has been reported by Marin et al. (2003) that haematological malignancies and tumour cell lines characterise with higher expression of HLA-E. Moreover, the latent HCMV infection causes an increase of NKG2C-dependent NK cell cytotoxicity in vitro, which was more effective against target cell lines in HCMV-seropositive donors than in HCMV-seronegative donors (Bigley et al. 2016). Such latent HCMV infection results in accumulation of NKG2C⁺ NK cells, which is a beneficial effect and provides efficient NK cell cytotoxicity against tumour cells. These findings were recently confirmed in vivo in COVID-19 patients (Guo et al. 2022). A NKG2C⁺CD122^{low} cells were identified as memory-like NK cells positively correlated with disease severity and accumulated with age. Their presence depends on patients' CMV serostatus. This cell subset possesses an expression profile characteristic for adaptive NK cells: upregulation of *NKG2C* and down-regulation of *PLZF*, *FCER1G*, *EAT-2*, *SYK*. In vitro IFN- α stimulation in peripheral blood samples led to increased IFN- γ and CD107a levels in elderly patients compared to young individuals.

The HCMV serostatus also has an impact on development of de novo tumours in patients after orthotopic liver transplantation. In HCMV-positive patients the expansion of NKG2C⁺ NK cells is disturbed and the production of intracellular tumour necrosis factor- α is increased. In contrast, immature NK cells with high expression of CD94/NKG2A inhibiting receptor and undisturbed production of IFN- γ were detected in patients diagnosed with genitourinary

tumours (Achour et al. 2014). In patients diagnosed with myeloid leukaemia, who have exhausted immunity and naturally lack NKG2C⁺ NK cells, the NKG2C “engager” has the potential to generate a strong antitumor response against acute myeloid leukaemia blasts. Such killer engager provides more efficient NK cell cytotoxicity, however, the frequency of NKG2C⁺ NK cells need to be high to accomplish this effect. Use of the CD94/NKG2C will also result in enhanced NK cell responses in comparison to CD16 (Chiu et al. 2021). The cytotoxic profile of NKG2C⁺ NK cells was upregulated against glioblastoma multiforme cells and altering these cells by the HLA-E*spG feeder cells only enhanced this effect (Murad et al. 2022). It was noted that in glioblastoma cell line modified with HLA-E*spG, the NKG2C⁺ NK cells showed significantly increased cytotoxicity towards them, compared to the parental cells.

A chronic adaptive NK cells stimulation through CD94/NKG2C receptor enhanced proliferation and activation of CD3⁺CD56^{dim}CD57⁺NKG2C⁺ NK cells with simultaneously increasing expression of the checkpoint inhibitory receptors namely, lymphocyte activation gene-3 and programmed death receptor 1. These stimulated NK cells were dysfunctional towards tumour cells. This proves that NK cells, similarly to CD8⁺ T cells, show exhaustion when exposed to a chronic activation (Merino et al. 2019).

NK cells are known for interacting with adaptive immune cells directly and indirectly, thus they may be used as indicators of adaptive immunity. The NK cell receptors, including CD94/NKG2C molecule may be crucial in this process. A novel role of the NKG2C as a biomarker in predicting the response to influenza vaccination was suggested in a study conducted on healthy volunteers (Riese et al. 2020). Increased CD56^{dim}CD16⁺NKG2C⁺ NK cells frequency was observed in the group of vaccine responders when compared to the group of low responders. Furthermore, the relationship between NKG2C⁺ NK cells and outcome of the vaccination was independent of the patients HCMV serostatus. The CD94/NKG2C receptor acquisition might be used as a marker to distinguish potential low responders from vaccine responders, and promotes efficacious adaptive responses post-vaccination. An interesting approach has been made in studies on HIV vaccine (Gyurova et al. 2020). The non-neutralizing antibodies is a new strategy in vaccine development. The engagement of Fc-binding receptors on NK cells induces release of cytolytic cell compartments and results in death of infected cell. Such cytolytic functions of NK cell together with antibody producing B cells may have a very powerful impact on virus replication. Major areas of the CD94/NKG2C clinical applications are summarised in Fig. 4.

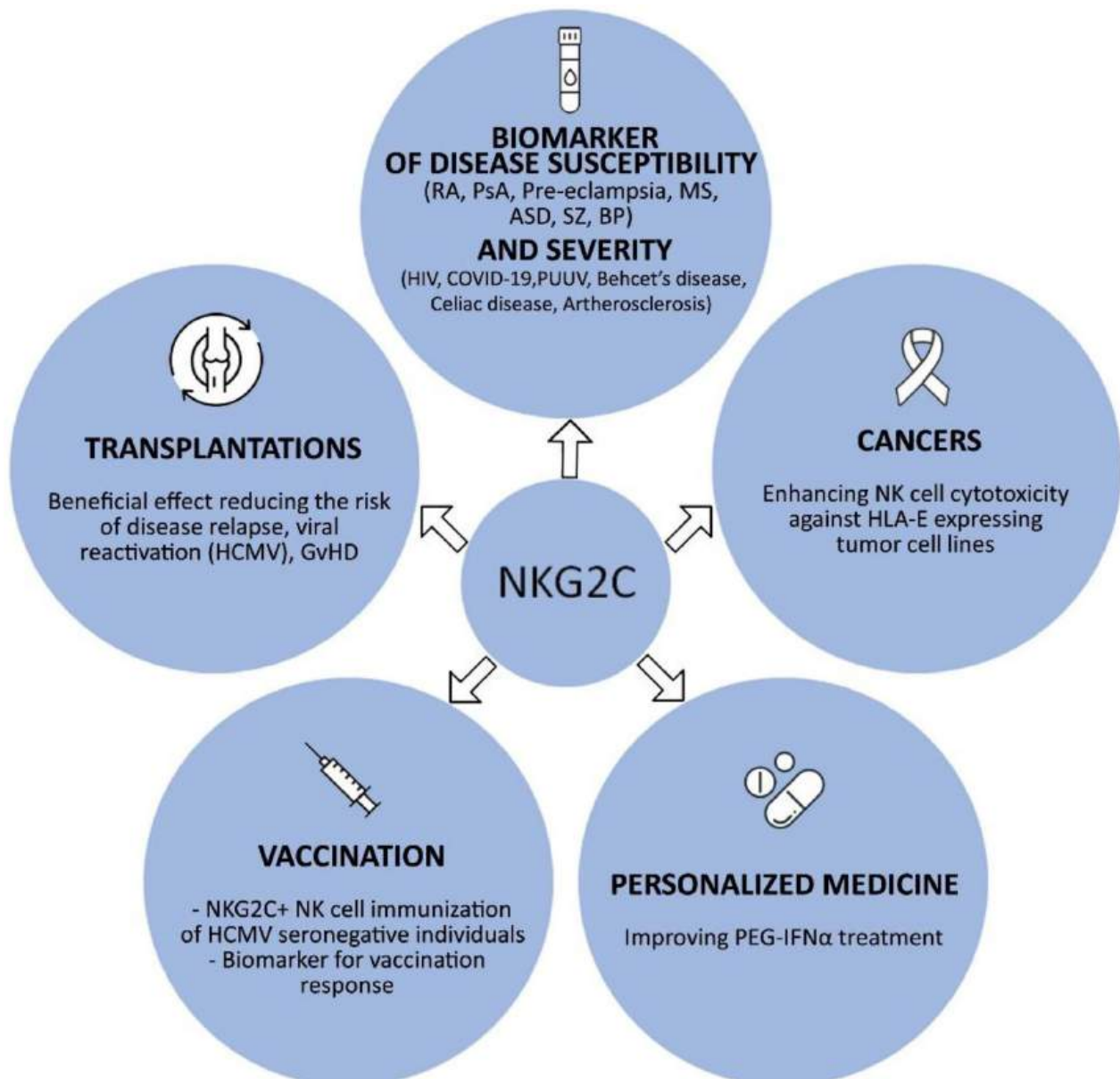


Fig. 4 Therapeutic and clinical applications of NKG2C-activating receptor

Conclusions and Further Perspectives

In this review, we investigated biological functions and potential clinical applications of one of the major NK cell receptors, the activating C94/NKG2C molecule. Belonging to the NKG2 receptor family, the CD94/NKG2C remains to be one of the most studied because of its remarkable ability to bind with MHC class I HLA-E molecule, which is a shared ligand for both activating CD94/NKG2C and inhibiting CD94/NKG2A receptors. One of the most common mutations of this receptor results in deletion of its encoding gene, which is not life-threatening but impacting on viral infection, autoimmune diseases, pregnancy, HSCT outcome.

In response to exposure to the HCMV viral particles, the expansion of NKG2C⁺ NK cells is increased but detailed mechanism behind this phenomenon remains still not well understood. Thanks to the latest studies, today, we know that these adaptive NK cells undergo phenotypic remodeling (including epigenetic remodelling), acquiring valuable properties for clinical applications. Memory-like NKG2C⁺ NK cells are transplantable, have increased longevity, accumulate with age, possess augmented cytokine release and antibody-dependent cellular cytotoxicity, which all undoubtedly make them inestimable tool for the immunotherapy. The need for further more in-depth research investigating biology of NKG2C⁺ NK cells is warranted.

Funding This work was supported by the project No. 2018/31/B/NZ2/03065 from the National Science Centre (Poland).

Declarations

Conflict of Interest The authors declare no conflicts of interest related to this work.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Achour A, Baychelier F, Besson C et al (2014) Expansion of CMV-mediated NKG2C+ NK cells associates with the development of specific de novo malignancies in liver-transplanted patients. *J Immunol* 192:503–511. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301951>
- Alsulami K, Bolastig N, Dupuy FP et al (2021) Influence of NKG2C genotypes on HIV susceptibility and viral load set point. *J Virol* 95:e0041721. <https://doi.org/10.1128/JVI.00417-21>
- Asenjo J, Muntasell A, López-Botet M et al (2021) Complete genomic characterization of a new KLRC2 allele, NKG2C*03. *HLA* 98:259–261. <https://doi.org/10.1111/tan.14231>
- Bachmayer N, Sohlberg E, Sundström Y et al (2009) Women with pre-eclampsia have an altered NKG2A and NKG2C receptor expression on peripheral blood natural killer cells. *Am J Reprod Immunol* 62:147–157. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00724.x>
- Batista MD, Ho EL, Kuebler PJ et al (2013) Skewed distribution of natural killer cells in psoriasis skin lesions. *Exp Dermatol* 22:64–66. <https://doi.org/10.1111/exd.12060>
- Behrendt CE, Rosenthal J, Bolotin E et al (2009) Donor and recipient CMV serostatus and outcome of pediatric allogeneic HSCT for acute leukemia in the era of CMV-preemptive therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 15:54–60. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.10.023>
- Bennabi M, Tarantino N, Gaman A et al (2019) Persistence of dysfunctional natural killer cells in adults with high-functioning autism spectrum disorders: stigma/consequence of unresolved early infectious events? *Mol Autism* 10:22. <https://doi.org/10.1186/s13229-019-0269-1>
- Béziat V, Dalgard O, Asselah T et al (2012) CMV drives clonal expansion of NKG2C+ NK cells expressing self-specific KIRs in chronic hepatitis patients. *Eur J Immunol* 42:447–457. <https://doi.org/10.1002/eji.201141826>
- Béziat V, Liu LL, Malmberg JA et al (2013) NK cell responses to cytomegalovirus infection lead to stable imprints in the human KIR repertoire and involve activating KIRs. *Blood* 121:2678–2688. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-10-459545>
- Bigley AB, Rezvani K, Shah N et al (2016) Latent cytomegalovirus infection enhances anti-tumour cytotoxicity through accumulation of NKG2C+ NK cells in healthy humans. *Clin Exp Immunol* 185:239–251. <https://doi.org/10.1111/cei.12785>
- Björkström NK, Lindgren T, Stoltz M et al (2011a) Rapid expansion and long-term persistence of elevated NK cell numbers in humans infected with hantavirus. *J Exp Med* 208:13–21. <https://doi.org/10.1084/jem.20100762>
- Björkström NK, Svensson A, Malmberg KJ et al (2011b) Characterization of natural killer cell phenotype and function during recurrent human HSV-2 infection. *PLoS ONE* 6:e27664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027664>
- Bogunia-Kubik K, Łacina P (2021) Non-KIR NK cell receptors: role in transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells. *Int J Immunogenet* 48:157–171. <https://doi.org/10.1111/iji.12523>
- Brostjan C, Sobanov Y, Glienke J et al (2000) The NKG2 natural killer cell receptor family: comparative analysis of promoter sequences. *Genes Immun* 1:504–508. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363715>
- Browne H, Smith G, Beck S et al (1990) A complex between the MHC class I homologue encoded by human cytomegalovirus and beta 2 microglobulin. *Nature* 347:770–772. <https://doi.org/10.1038/347770a0>
- Brunetta E, Fogli M, Varchetta S et al (2010) Chronic HIV-1 viremia reverses NKG2A/NKG2C ratio on natural killer cells in patients with human cytomegalovirus co-infection. *AIDS* 24:27–34. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283328d1f>
- Bueno-Sánchez JC, Agudelo-Jaramillo B, Escobar-Aguilera LF et al (2013) Cytokine production by non-stimulated peripheral blood NK cells and lymphocytes in early-onset severe pre-eclampsia without HELLP. *J Reprod Immunol* 97:223–231. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.11.007>
- Calabrese DR, Chong T, Wang A et al (2019) NKG2C natural killer cells in bronchoalveolar lavage are associated with cytomegalovirus viremia and poor outcomes in lung allograft recipients. *Transplantation* 103:493–501. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002450>
- Cao K, Marin D, Sekine T et al (2018) Donor NKG2C copy number: an independent predictor for cmv reactivation after double cord blood transplantation. *Front Immunol* 9:2444. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02444>
- Cauli A, Dessole G, Piga M et al (2018) Expression analysis of HLA-E and NKG2A and NKG2C receptors points at a role for natural killer function in ankylosing spondylitis. *RMD Open* 4:e000597. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2017-000597>
- Chen C, Wang M, Zhu Z et al (2016) Multiple gene mutations identified in patients infected with influenza A (H7N9) virus. *Sci Rep* 6:25614. <https://doi.org/10.1038/srep25614>
- Chiu E, Felices M, Cichocki F et al (2021) Anti-NKG2C/IL-15/anti-CD33 killer engager directs primary and iPSC-derived NKG2C+ NK cells to target myeloid leukemia. *Mol Ther* 29:3410–3421. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.06.018>
- Cichocki F, Cooley S, Davis Z et al (2016) CD56dimCD57+NKG2C+ NK cell expansion is associated with reduced leukemia relapse after reduced intensity HCT. *Leukemia* 30:456–463. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.260>
- Cichocki F, Valamehr B, Bjordahl R et al (2017) GSK3 inhibition drives maturation of NK cells and enhances their antitumor activity. *Cancer Res* 77:5664–5675. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-0799>
- Climent N, Ambrosioni J, González T et al (2023) Immunological and virological findings in a patient with exceptional post-treatment control: a case report. *Lancet HIV* 10:e42–e51. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(22\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(22)00302-2)
- Coupel S, Moreau A, Hamidou M et al (2007) Expression and release of soluble HLA-E is an immunoregulatory feature of endothelial cell activation. *Blood* 109:2806–2814. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-06-030213>

- de Matos CT, Berg L, Michaëlsson J et al (2007) Activating and inhibitory receptors on synovial fluid natural killer cells of arthritis patients: role of CD94/NKG2A in control of cytokine secretion. *Immunology* 122:291–301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02638.x>
- Della Chiesa M, Falco M, Podestà M et al (2012) Phenotypic and functional heterogeneity of human NK cells developing after umbilical cord blood transplantation: a role for human cytomegalovirus? *Blood* 119:399–410. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-372003>
- Djaoud Z, Riou R, Gavlovsky PJ et al (2016) Cytomegalovirus-infected primary endothelial cells trigger NKG2C+ natural killer cells. *J Innate Immun* 8:374–385. <https://doi.org/10.1159/000445320>
- Elmaagacli AH, Steckel NK, Koldehoff M et al (2011) Early human cytomegalovirus replication after transplantation is associated with a decreased relapse risk: evidence for a putative virus-versus-leukemia effect in acute myeloid leukemia patients. *Blood* 118:1402–1412. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-304121>
- Fahnestock ML, Johnson JL, Feldman RM et al (1995) The MHC class I homolog encoded by human cytomegalovirus binds endogenous peptides. *Immunity* 3:583–590. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90129-9](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90129-9)
- Feyaerts D, van der Meer A, Joosten I et al (2019) Selective expansion and CMV-dependency in pregnancy trained human endometrial NK cells. *Cell Mol Immunol* 16:410–411. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0193-x>
- Foley B, Cooley S, Verneris MR et al (2012a) Cytomegalovirus reactivation after allogeneic transplantation promotes a lasting increase in educated NKG2C+ natural killer cells with potent function. *Blood* 119:2665–2674. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-386995>
- Foley B, Cooley S, Verneris MR et al (2012b) Human cytomegalovirus (CMV)-induced memory-like NKG2C(+) NK cells are transplantable and expand in vivo in response to recipient CMV antigen. *J Immunol* 189:5082–5088. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201964>
- Gamliel M, Goldman-Wohl D, Isaacson B et al (2018) Trained memory of human uterine NK cells enhances their function in subsequent pregnancies. *Immunity* 48:951–962.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.03.030>
- Glienke J, Sobanov Y, Brostjan C et al (1998) The genomic organization of NKG2C, E, F, and D receptor genes in the human natural killer gene complex. *Immunogenetics* 48:163–173. <https://doi.org/10.1007/s002510050420>
- Goncalves A, Makalo P, Joof H et al (2016) Differential frequency of NKG2C/KLRC2 deletion in distinct African populations and susceptibility to trachoma: a new method for imputation of KLRC2 genotypes from SNP genotyping data. *Hum Genet* 135:939–951. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1694-2>
- Goodier MR, Mela CM, Steel A et al (2007) NKG2C+ NK cells are enriched in AIDS patients with advanced-stage Kaposi's sarcoma. *J Virol* 81:430–433. <https://doi.org/10.1128/JVI.01567-06>
- Goodier MR, White MJ, Darboe A et al (2014) Rapid NK cell differentiation in a population with near-universal human cytomegalovirus infection is attenuated by NKG2C deletions. *Blood* 124:2213–2222. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-576124>
- Grutza R, Moskorz W, Senff T et al (2020) NKG2Cpos NK cells regulate the expansion of cytomegalovirus-specific CD8 T cells. *J Immunol* 204:2910–2917. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901281>
- Gumá M, Angulo A, Vilches C et al (2004) Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood* 104:3664–3671. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-05-2058>
- Gumá M, Busch LK, Salazar-Fontana LI et al (2005) The CD94/NKG2C killer lectin-like receptor constitutes an alternative activation pathway for a subset of CD8+ T cells. *Eur J Immunol* 35:2071–2080. <https://doi.org/10.1002/eji.200425843>
- Gumá M, Budt M, Sáez A et al (2006a) Expansion of CD94/NKG2C+ NK cells in response to human cytomegalovirus-infected fibroblasts. *Blood* 107:3624–3631. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-09-3682>
- Gumá M, Cabrera C, Erkizia I et al (2006b) Human cytomegalovirus infection is associated with increased proportions of NK cells that express the CD94/NKG2C receptor in aviremic HIV-1-positive patients. *J Infect Dis* 194:38–41. <https://doi.org/10.1086/504719>
- Guo C, Wu M, Huang B et al (2022) Single-cell transcriptomics reveal a unique memory-like NK cell subset that accumulates with ageing and correlates with disease severity in COVID-19. *Genome Med* 14:46. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01049-3>
- Guzmán-Fulgencio M, Berenguer J, Rallón N et al (2013) HLA-E variants are associated with sustained virological response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients on hepatitis C virus therapy. *AIDS* 27:1231–1238. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835f5b9c>
- Gyurova IE, Ali A, Waggoner SN (2020) Natural killer cell regulation of B cell responses in the context of viral infection. *Viral Immunol* 33:334–341. <https://doi.org/10.1089/vim.2019.0129>
- Hammer Q, Rückert T, Borst E et al (2018) Peptide-specific recognition of human cytomegalovirus strains controls adaptive natural killer cells. *Nat Immunol* 19:453–463. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0082-6>
- Hammer Q, Dunst J, Christ W et al (2022) SARS-CoV-2 Nsp13 encodes for an HLA-E-stabilizing peptide that abrogates inhibition of NKG2A-expressing NK cells. *Cell Rep* 38:110503. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110503>
- Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y et al (2006) Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med* 12:1065–1074. <https://doi.org/10.1038/nm1452>
- Harpur CM, Stankovic S, Kanagarajah A et al (2019) Enrichment of cytomegalovirus-induced NKG2C+ natural killer cells in the lung allograft. *Transplantation* 103:1689–1699. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002545>
- Heatley SL, Pietra G, Lin J et al (2013) Polymorphism in human cytomegalovirus UL40 impacts on recognition of human leukocyte antigen-E (HLA-E) by natural killer cells. *J Biol Chem* 288:8679–8690. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.409672>
- Hendricks DW, Balfour HH Jr, Dunmire SK et al (2014) Cutting edge: NKG2C(hi)CD57+ NK cells respond specifically to acute infection with cytomegalovirus and not Epstein-Barr virus. *J Immunol* 192:4492–4496. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303211>
- Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T et al (2003) Variations of human killer cell lectin-like receptors: common occurrence of NKG2-C deletion in the general population. *Genes Immun* 4:160–167. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363940>
- Hò GT, Celik AA, Huyton T et al (2020) NKG2A/CD94 is a new immune receptor for HLA-G and distinguishes amino acid differences in the HLA-G heavy chain. *Int J Mol Sci* 21:4362. <https://doi.org/10.3390/ijms21124362>
- Isernhagen A, Malzahn D, Viktorova E et al (2015) The MICA-129 dimorphism affects NKG2D signaling and outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *EMBO Mol Med* 7:1480–1502. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505246>
- Iwaszko M, Bogunia-Kubik K (2011) Clinical significance of the HLA-E and CD94/NKG2 interaction. *Arch Immunol Ther Exp* 59:353–367. <https://doi.org/10.1007/s00005-011-0137-y>

- Jaiswal SR, Bhakuni P, Bhagwati G et al (2020) Alterations in NKG2A and NKG2C subsets of natural killer cells following Epstein-Barr virus reactivation in CTLA4Ig-based haploidentical transplantation is associated with increased chronic graft-versus-host disease. *Transplantation* 104:e23–e30. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002941>
- Jaiswal SR, Arunachalam J, Bhardwaj A et al (2022a) Impact of adaptive natural killer cells, KLRC2 genotype and cytomegalovirus reactivation on late mortality in patients with severe COVID-19 lung disease. *Clin Transl Immunology* 11:e1359. <https://doi.org/10.1002/cti2.1359>
- Jaiswal SR, Arunachalam J, Saifullah A et al (2022b) Impact of an immune modulator mycobacterium-w on adaptive natural killer cells and protection against COVID-19. *Front Immunol* 13:887230. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.887230>
- Jasinski-Bergner S, Schmiedel D, Mandelboim O et al (2022) Role of HLA-G in viral infections. *Front Immunol* 13:826074. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.826074>
- Joyce MG, Sun PD (2011) The structural basis of ligand recognition by natural killer cell receptors. *J Biomed Biotechnol* 2011:203628. <https://doi.org/10.1155/2011/203628>
- Kaiser BK, Barahmand-Pour F, Paulsene W et al (2005) Interactions between NKG2x immunoreceptors and HLA-E ligands display overlapping affinities and thermodynamics. *J Immunol* 174:2878–2884. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.5.2878>
- Kaiser BK, Pizarro JC, Kerns J et al (2008) Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:6696–6701. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802736105>
- Kaminski VL, Ellwanger JH, Sandrim V et al (2019) Influence of NKG2C gene deletion and CCR5Δ32 in pre-eclampsia-approaching the effect of innate immune gene variants in pregnancy. *Int J Immunogenet* 46:82–87. <https://doi.org/10.1111/iji.12416>
- Kordelas L, Steckel NK, Horn PA et al (2016) The activating NKG2C receptor is significantly reduced in NK cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with severe graft-versus-host disease. *Int J Mol Sci* 17:1797. <https://doi.org/10.3390/ijms17111797>
- Kuijpers TW, Baars PA, Dantin C et al (2008) Human NK cells can control CMV infection in the absence of T cells. *Blood* 112:914–915. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-157354>
- Kusumi M, Yamashita T, Fujii T et al (2006) Expression patterns of lectin-like natural killer receptors, inhibitory CD94/NKG2A, and activating CD94/NKG2C on decidual CD56bright natural killer cells differ from those on peripheral CD56dim natural killer cells. *J Reprod Immunol* 70:33–42. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2005.12.008>
- Lampen MH, Hassan C, Sluijter M et al (2013) Alternative peptide repertoire of HLA-E reveals a binding motif that is strikingly similar to HLA-A2. *Mol Immunol* 53:126–131. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2012.07.009>
- Lanier LL, Corliss B, Wu J et al (1998) Association of DAP12 with activating CD94/NKG2C NK cell receptors. *Immunity* 8:693–701. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80574-9](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80574-9)
- Larsen SB, Cowley CJ, Sajjath SM et al (2021) Establishment, maintenance, and recall of inflammatory memory. *Cell Stem Cell* 28:1758–1774.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.07.001>
- Lauterbach N, Wieten L, Popeijus HE et al (2015) HLA-E regulates NKG2C+ natural killer cell function through presentation of a restricted peptide repertoire. *Hum Immunol* 76:578–586. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2015.09.003>
- Li L, Tian W, Wang W et al (2015) NKG2C copy number variations in five distinct populations in mainland China and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Hum Immunol* 76:90–94. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2015.01.022>
- Llano M, Lee N, Navarro F et al (1998) HLA-E-bound peptides influence recognition by inhibitory and triggering CD94/NKG2 receptors: preferential response to an HLA-G-derived nonamer. *Eur J Immunol* 28:2854–2863. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199809\)28:09%3c2854::AID-IMMU2854%3e3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199809)28:09%3c2854::AID-IMMU2854%3e3.0.CO;2-W)
- López-Botet M, Muntasell A, Vilches C (2014) The CD94/NKG2C+ NK-cell subset on the edge of innate and adaptive immunity to human cytomegalovirus infection. *Semin Immunol* 26:145–151. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.03.002>
- López-Botet M, Vilches C, Redondo-Pachón D et al (2017) Dual role of natural killer cells on graft rejection and control of cytomegalovirus infection in renal transplantation. *Front Immunol* 8:166. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00166>
- Lopez-Vergès S, Milush JM, Pandey S et al (2010) CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16+ NK-cell subset. *Blood* 116:3865–3874. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-04-282301>
- Lopez-Vergès S, Milush JM, Schwartz BS et al (2011) Expansion of a unique CD57+NKG2Chi natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:14725–14732. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110900108>
- Malone D, Lunemann S, Hengst J et al (2017) Cytomegalovirus-driven adaptive-like natural killer cell expansions are unaffected by concurrent chronic hepatitis virus infections. *Front Immunol* 8:525. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00525>
- Marín R, Ruiz-Cabello F, Pedrinaci S et al (2003) Analysis of HLA-E expression in human tumors. *Immunogenetics* 54:767–775. <https://doi.org/10.1007/s00251-002-0526-9>
- Martínez-Rodríguez JE, Munné-Collado J, Rasal R et al (2013) Expansion of the NKG2C+ natural killer-cell subset is associated with high-risk carotid atherosclerotic plaques in seropositive patients for human cytomegalovirus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33:2653–2659. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.302163>
- Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A et al (2020) Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Sci Immunol* 5:eabd832. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd6832>
- Mehta RS, Shpall EJ, Rezvani K (2016) Cord blood as a source of natural killer cells. *Front Med* 2:93. <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00093>
- Meresse B, Curran SA, Ciszewski C et al (2006) Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in celiac disease. *J Exp Med* 203:1343–1355. <https://doi.org/10.1084/jem.20060028>
- Merino A, Zhang B, Dougherty P et al (2019) Chronic stimulation drives human NK cell dysfunction and epigenetic reprogramming. *J Clin Invest* 129:3770–3785. <https://doi.org/10.1172/JCI125916>
- Michaëlsson J, Teixeira de Matos C, Achour A et al (2002) A signal peptide derived from hsp60 binds HLA-E and interferes with CD94/NKG2A recognition. *J Exp Med* 196:1403–1414. <https://doi.org/10.1084/jem.20020797>
- Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K et al (2004) Molecular genetic analyses of human NKG2C (KLRC2) gene deletion. *Int Immunol* 16:163–168. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxh013>
- Monsiváis-Urenda A, Noyola-Cherpitel D, Hernández-Salinas A et al (2010) Influence of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire in children. *Eur J Immunol* 40:1418–1427. <https://doi.org/10.1002/eji.200939898>
- Moraru M, Cisneros E, Gómez-Lozano N et al (2012) Host genetic factors in susceptibility to herpes simplex type 1 virus infection: contribution of polymorphic genes at the interface of innate and adaptive immunity. *J Immunol* 188:4412–4420. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103434>
- Muñoz-Cobo B, Giménez E, Solano C et al (2014) An evaluation of the role of NKG2C+ natural killer cells in protection from cytomegalovirus DNAemia early following allogeneic stem cell transplantation. *J Med Virol* 86:806–811. <https://doi.org/10.1002/jmv.23742>

- Muntasell A, López-Montañés M, Vera A et al (2013) NKG2C zygosity influences CD94/NKG2C receptor function and the NK-cell compartment redistribution in response to human cytomegalovirus. *Eur J Immunol* 43:3268–3278. <https://doi.org/10.1002/eji.201343773>
- Muntasell A, Pupuleku A, Cisneros E et al (2016) Relationship of nkg2c copy number with the distribution of distinct cytomegalovirus-induced adaptive NK cell subsets. *J Immunol* 196:3818–3827. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502438>
- Murad S, Michen S, Becker A et al (2022) NKG2C+ NK cells for immunotherapy of glioblastoma multiforme. *Int J Mol Sci* 23:5857. <https://doi.org/10.3390/ijms23105857>
- Muta T, Yoshihiro T, Jinnouchi F et al (2018) Expansion of NKG2C-expressing natural killer cells after umbilical cord blood transplantation in a patient with peripheral T-cell lymphoma with cytotoxic molecules. *Intern Med* 57:861–866. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.9437-17>
- Navarro F, Llano M, Bellón T et al (1999) The ILT2(LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur J Immunol* 29:277–283. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199901\)29:01%3c277::AID-IMMU277%3e3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199901)29:01%3c277::AID-IMMU277%3e3.0.CO;2-4)
- Noyola DE, Fortuny C, Muntasell A et al (2012) Influence of congenital human cytomegalovirus infection and the NKG2C genotype on NK-cell subset distribution in children. *Eur J Immunol* 42:3256–3266. <https://doi.org/10.1002/eji.201242752>
- Noyola DE, Alarcón A, Noguera-Julian A et al (2015) Dynamics of the NK-cell subset redistribution induced by cytomegalovirus infection in preterm infants. *Hum Immunol* 76:118–123. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2015.01.017>
- Oliviero B, Varchetta S, Paudice E et al (2009) Natural killer cell functional dichotomy in chronic hepatitis B and chronic hepatitis C virus infections. *Gastroenterology* 137:1151–1160.e11607. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.047>
- Onno M, Pangault C, Le Fric G et al (2000) Modulation of HLA-G antigens expression by human cytomegalovirus: specific induction in activated macrophages harboring human cytomegalovirus infection. *J Immunol* 164:6426–6434. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6426>
- Park KS, Park JH, Song YW (2008) Inhibitory NKG2A and activating NKG2D and NKG2C natural killer cell receptor genes: susceptibility for rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 72:342–346. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01110.x>
- Pascual-Guardia S, Ataya M, Ramírez-Martínez I et al (2020) Adaptive NKG2C+ natural killer cells are related to exacerbations and nutritional abnormalities in COPD patients. *Respir Res* 21:63. <https://doi.org/10.1186/s12931-020-1323-4>
- Patel F, Marusina AI, Duong C et al (2013) NKG2C, HLA-E and their association with psoriasis. *Exp Dermatol* 22:797–799. <https://doi.org/10.1111/exd.12280>
- Paul S, Shilpi LG (2015) Role of gamma-delta ($\gamma\delta$) T cells in autoimmunity. *J Leukoc Biol* 97:259–271. <https://doi.org/10.1189/jlbb.3RU0914-443R>
- Pende D, Falco M, Vitale M et al (2019) Killer Ig-like receptors (KIRs): their role in NK cell modulation and developments leading to their clinical exploitation. *Front Immunol* 10:1179. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01179>
- Petitdemange C, Becquart P, Wauquier N et al (2011) Unconventional repertoire profile is imprinted during acute chikungunya infection for natural killer cells polarization toward cytotoxicity. *PLoS Pathog* 7:e1002268. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002268>
- Petitdemange C, Wauquier N, Devilliers H et al (2016) Longitudinal analysis of natural killer cells in dengue virus-infected patients in comparison to chikungunya and chikungunya/dengue virus-infected patients. *PLoS Negl Tropical Dis* 10:e0004499. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004499>
- Picardi A, Mengarelli A, Marino M et al (2015) Up-regulation of activating and inhibitory NKG2 receptors in allogeneic and autologous hematopoietic stem cell grafts. *J Exp Clin Cancer Res* 34:98. <https://doi.org/10.1186/s13046-015-0213-y>
- Prašnikar E, Perdih A, Borišek J (2021) Nonameric peptide orchestrates signal transduction in the activating HLA-E/NKG2C/CD94 immune complex as revealed by all-atom simulations. *Int J Mol Sci* 22:6670. <https://doi.org/10.3390/ijms22136670>
- Prod'homme V, Tomasec P, Cunningham C et al (2012) Human cytomegalovirus UL40 signal peptide regulates cell surface expression of the NK cell ligands HLA-E and gpUL18. *J Immunol* 188:2794–2804. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102068>
- Quatrini L, Della Chiesa M, Sivori S et al (2021) Human NK cells, their receptors and function. *Eur J Immunol* 51:1566–1579. <https://doi.org/10.1002/eji.202049028>
- Rangel-Ramírez VV, García-Sepulveda CA, Escalante-Padrón F et al (2014) NKG2C gene deletion in the Mexican population and lack of association to respiratory viral infections. *Int J Immunogenet* 41:126–130. <https://doi.org/10.1111/iji.12104>
- Redondo-Pachón D, Crespo M, Yélamos J et al (2017) Adaptive NKG2C+ NK cell response and the risk of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *J Immunol* 198:94–101. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601236>
- Riese P, Trittel S, Pathirana RD et al (2020) Responsiveness to influenza vaccination correlates with NKG2C-expression on NK cells. *Vaccines* 8:281. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020281>
- Rölle A, Pollmann J, Ewen EM et al (2014) IL-12-producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion. *J Clin Invest* 124:5305–5316. <https://doi.org/10.1172/JCI77440>
- Rückert T, Lareau CA, Mashreghi MF et al (2022) Clonal expansion and epigenetic inheritance of long-lasting NK cell memory. *Nat Immunol* 23:1551–1563. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01327-7>
- Sáez-Borderías A, Romo N, Magri G et al (2009) IL-12-dependent inducible expression of the CD94/NKG2A inhibitory receptor regulates CD94/NKG2C+ NK cell function. *J Immunol* 182:829–836. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.2.829>
- Saghafian-Hedengren S, Sohlberg E, Theorell J et al (2013) Epstein-Barr virus coinfection in children boosts cytomegalovirus-induced differentiation of natural killer cells. *J Virol* 87:13446–13455. <https://doi.org/10.1128/JVI.02382-13>
- Schlums H, Cichocki F, Tesi B et al (2015) Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Immunity* 42:443–456. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.02.008>
- Seo J, Park JS, Nam JH et al (2007) Association of CD94/NKG2A, CD94/NKG2C, and its ligand HLA-E polymorphisms with Behcet's disease. *Tissue Antigens* 70:307–313. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2007.00907.x>
- Shemesh A, Su Y, Calabrese DR et al (2022) Diminished cell proliferation promotes natural killer cell adaptive-like phenotype by limiting FcεRIγ expression. *J Exp Med* 219:e20220551. <https://doi.org/10.1084/jem.20220551>
- Shum BP, Flodin LR, Muir DG et al (2002) Conservation and variation in human and common chimpanzee CD94 and NKG2 genes. *J Immunol* 168:240–252. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.1.240>
- Siemaszko J, Marzec-Przyszlak A, Bogunia-Kubik K (2021) NKG2D natural killer cell receptor—a short description and potential clinical applications. *Cells* 10:1420. <https://doi.org/10.3390/cells10061420>
- Siewiera J, El Costa H, Tabiasco J et al (2013) Human cytomegalovirus infection elicits new decidual natural killer cell effector

- functions. *PLoS Pathog* 9:e1003257. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003257>
- Tarantino N, Leboyer M, Bouleau A et al (2021) Natural killer cells in first-episode psychosis: an innate immune signature? *Mol Psychiatry* 26:5297–5306. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-01008-7>
- Thomas R, Low HZ, Kniesch K et al (2012) NKG2C deletion is a risk factor of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 28:844–851. <https://doi.org/10.1089/AID.2011.0253>
- Tomasec P, Braud VM, Rickards C et al (2000) Surface expression of HLA-E, an inhibitor of natural killer cells, enhanced by human cytomegalovirus gpUL40. *Science* 287:1031. <https://doi.org/10.1126/science.287.5455.1031>
- Toson B, Michita RT, Matte M et al (2022) Assessment of NKG2C copy number variation in HIV-1 infection susceptibility, and considerations about the potential role of lacking receptors and virus infection. *J Hum Genet* 67:475–479. <https://doi.org/10.1038/s10038-022-01029-w>
- Tsamadou C, Fürst D, Vucinic V et al (2017) Human leukocyte antigen-E mismatch is associated with better hematopoietic stem cell transplantation outcome in acute leukemia patients. *Haematologica* 102:1947–1955. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.169805>
- Tsamadou C, Fürst D, Wang T et al (2019) Donor HLA-E status associates with disease-free survival and transplant-related mortality after non in vivo T cell-depleted HSCT for acute leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 25:2357–2365. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.08.007>
- Ulbrecht M, Martinozzi S, Grzeschik M et al (2000) Cutting edge: the human cytomegalovirus UL40 gene product contains a ligand for HLA-E and prevents NK cell-mediated lysis. *J Immunol* 164:5019–5022. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.10.5019>
- Valés-Gómez M, Reyburn HT, Erskine RA et al (1999) Kinetics and peptide dependency of the binding of the inhibitory NK receptor CD94/NKG2-A and the activating receptor CD94/NKG2-C to HLA-E. *EMBO J* 18:4250–4260. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.15.4250>
- Vietzen H, Pollak K, Honsig C et al (2018) NKG2C deletion is a risk factor for human cytomegalovirus viremia and disease after lung transplantation. *J Infect Dis* 217:802–806. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix608>
- Vietzen H, Zoufaly A, Traugott M et al (2021a) Deletion of the NKG2C receptor encoding KLRC2 gene and HLA-E variants are risk factors for severe COVID-19. *Genet Med* 23:963–967. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01077-7>
- Vietzen H, Hartenberger S, Aberle SW et al (2021b) Dissection of the NKG2C NK cell response against *Puumala orthohantavirus*. *PLoS Negl Trop Dis* 15:e0010006. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010006>
- Vilchez JR, Torres-Moreno D, Martínez-Senac MM et al (2013) Evaluation of the association of NKG2C copy number variations with susceptibility to human papillomavirus-induced cervical lesions. *Hum Immunol* 74:1352–1356. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.07.006>
- Vivier E, Raulet DH, Moretta A et al (2011) Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science* 331:44–49. <https://doi.org/10.1126/science.1198687>
- Vivier E, Artis D, Colonna M et al (2018) Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell* 174:1054–1066. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.017>
- Wada H, Matsumoto N, Maenaka K et al (2004) The inhibitory NK cell receptor CD94/NKG2A and the activating receptor CD94/NKG2C bind the top of HLA-E through mostly shared but partly distinct sets of HLA-E residues. *Eur J Immunol* 34:81–90. <https://doi.org/10.1002/eji.200324432>
- Waters S, Lee S, Affandi JS et al (2017) The effect of genetic variants affecting NK cell function on cardiovascular health and the burden of CMV. *Hum Immunol* 78:747–751. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.10.003>
- Yan WH, Lin A, Chen BG et al (2009) Induction of both membrane-bound and soluble HLA-G expression in active human cytomegalovirus infection. *J Infect Dis* 200:820–826. <https://doi.org/10.1086/604733>
- Yan W, Wu D, Wang X et al (2015) Upregulation of NKG2C+ natural killer cells, TLR-2 expression on monocytes and downregulation of regulatory T-cells influence PEG-IFN treatment efficacy in entecavir-suppressed patients with CHB. *Antiviral Ther* 20:591–602. <https://doi.org/10.3851/IMP2953>
- Yang C, Siebert JR, Burns R et al (2019) Heterogeneity of human bone marrow and blood natural killer cells defined by single-cell transcriptome. *Nat Commun* 10:3931. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11947-7>
- Yu XX, Shang QN, Liu XF et al (2022) Donor NKG2C homozygosity contributes to CMV clearance after haploidentical transplantation. *JCI Insight* 7:e149120. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.149120>
- Zaguia F, Saikali P, Ludwin S et al (2013) Cytotoxic NKG2C+ CD4 T cells target oligodendrocytes in multiple sclerosis. *J Immunol* 190:2510–2518. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202725>
- Zeddou M, Rahmouni S, Vandamme A et al (2007) Downregulation of CD94/NKG2A inhibitory receptors on CD8+ T cells in HIV infection is more pronounced in subjects with detected viral load than in their aviraemic counterparts. *Retrovirology* 4:72. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-72>
- Zeng X, Chen H, Gupta R et al (2013) Deletion of the activating NKG2C receptor and a functional polymorphism in its ligand HLA-E in psoriasis susceptibility. *Exp Dermatol* 22:679–681. <https://doi.org/10.1111/exd.12233>
- Zhou J, Amran FS, Kramski M et al (2015) An NK cell population lacking FcRγ is expanded in chronically infected HIV patients. *J Immunol* 194:4688–4697. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402448>
- Zuo W, Zhao X (2021) Natural killer cells play an important role in virus infection control: antiviral mechanism, subset expansion and clinical application. *Clin Immunol* 227:108727. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108727>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

