

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ОТ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ДОНОРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ИНЖИНИРИНГА ТРАНСПЛАНТАТА

Балашов Д.Н., Масчан М.А., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Цель исследования — анализ результатов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от альтернативных доноров при первичных иммунодефицитных синдромах.

С 2012 по 2017 год в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева выполнено 110 ТГСК пациентам с ПИДС от альтернативных доноров (неродственных, $n = 85$; гаплоидентичных, $n = 25$). Во всех случаях использовались режимы кондиционирования с редуцированной токсичностью на основе тресульфана. В качестве базовой подготовки трансплантата использовалась TCRotP⁺/CD19⁺ деплеция с помощью иммуномагнитного метода.

Кумулятивная вероятность острой РТПХ составила 17% (95% ДИ 10-25) ($n = 18$), однако следует отметить, что в 16 из 18 случаев отмечалась острая РТПХ II стадии, с хорошим ответом на первую линию терапии; лишь у 2 пациентов была выявлена острая РТПХ III стадии. Реактивация цитомегаловирусной инфекции оставалась одной из серьезных проблем, с кумулятивной вероятностью реактивации 50% и частотой висцеральных инфекций 15,4%.

Режим кондиционирования у пациентов с синдромом Вискотта—Олдрича с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и плексиафора продемонстрировал полный контроль дисфункций трансплантата по сравнению с контрольной группой.

Темпы иммунологической реконституции при применении ТГСК на платформе TCRotP⁺/CD19⁺ деплеции не отличались по своей динамике от восстановления иммунного статуса после недеплезированной ТГСК с использованием нативных источников гемопоэтических стволовых клеток в исторической когорте. Вероятность общей выживаемости всей когорты пациентов с ПИДС составила 84% (95% ДИ 77-92). Различий в группах пациентов, трансплантированных от неродственного и гаплоидентичного донора, не было выявлено ни в одном из исследуемых параметров.

Адрес для переписки:

*Балашов Дмитрий Николаевич
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии имени Дмитрия
Рогачева»
117997, Россия, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 221-66-40.
E-mail: bala8@yandex.ru*

Address for correspondence:

*Balashov Dmitry N.
D. Rogachev National Medical Research Centre for
Pediatric Hematology, Oncology and Immunology
117997, Russian Federation, Moscow,
Samori Mashela str., 1
Phone: 7 (495) 221-66-40.
E-mail: bala8@yandex.ru*

Образец цитирования:

*Д.Н. Балашов, М.А. Масчан, А.Ю. Щербина,
А.Г. Румянцев «Трансплантация гемопоэтических
стволовых клеток пациентам с первичными
иммунодефицитами от альтернативного донора
с использованием новых технологий инжиниринга
трансплантата» // Российский иммунологический
журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 79-90.
doi: 10.46235/1028-7221-009-HSC
© Балашов Д.Н. и соавт., 2020*

For citation:

*D.N. Balashov, M.A. Maschan, A.Yu. Shcherbina,
A.G. Rumyantsev "Hematopoietic stem cell
transplantation in patients with primary immunodeficiency
from an alternative donor with use of new transplant
engineering technologies", Russian Journal of
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal,
2020, Vol. 23, no. 1, pp. 79-90.
doi: 10.46235/1028-7221-009-HSC
DOI: 10.46235/1028-7221-009-HSC*

Внедрение новых перспективных технологий ТГСК позволяет радикально изменить неблагоприятные исходы ПИДС и открывает новые горизонты для дальнейших исследований в области клеточной регуляции аутовоспалительных онкологических и инфекционных расстройств, приводящих к гибели больных ПИДС.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, TCRaP⁺/CD19⁺ деплеция, химеризм, гаплоидентичный донор

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DERIVED FROM AN ALTERNATIVE DONOR BY USING NEW TRANSPLANT ENGINEERING TECHNOLOGIES

Balashov D.N., Maschan M.A., Shcherbina A.Yu., Rumyantsev A.G.

*D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Moscow, Russian Federation*

Abstract. Analysis of the results of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) derived from alternative donors in patients with primary immunodeficiency syndromes. 110 HSCTs for patients with PIDs derived from alternative donors (unrelated, n = 85; haploidentical, n = 25) were performed at the Dmitry Rogachev National Medical Research Centre within 2012–2017 timeframe. In all cases, there were used conditioning regimes with reduced toxicity based on threosulfan TCRotP⁺/CD19⁺ depletion with immunomagnetic method were used as the basic cell transplant preparation. The cumulative probability of acute GVHD was 17% (95% CI 10–25) (n = 18); however, it should be noted that in 16 of 18 cases, an acute GVHD, stage II, was observed, showing a good response to the first line therapy; but acute GVHD, stage III, was documented only in 2 patients. Reactivation of cytomegalovirus infection remained one of the serious issues, with a cumulative probability of its reactivation reaching up to 50% and CMV visceral infection rate found in 15.4% cases. The conditioning regimen in patients with Wiskott-Aldrich syndrome by using granulocyte colony-stimulating factor and plerixafor demonstrated a full control over transplant dysfunction compared to control group.

Rate of immunological reconstitution upon inoculation of HSCT on the platform TCRotP⁺/CD19⁺ deletion did not differ in dynamics from that one after using undepleted HSCT together with native hematopoietic stem cell sources in a historical cohort. The overall survival probability for entire PID patient cohort was 84% (95% CI 77–92). No differences in patients transplanted from unrelated and haploidentical donors were revealed by assessing any of the studied parameters.

Introduction of new HSCT technologies allows us to dramatically minimize adverse outcomes of PIDs and opens new avenues for further research in cellular regulation of autoinflammatory oncological and infectious disorders resulting in lethal outcome in PID patients

Keywords: primary immunodeficiencies, hematopoietic stem cell transplantation, TCRaP⁺/CD19⁺ depletion, chimerism, haploidentical donor

Введение

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) — это группа гетерогенных заболеваний, вовлекающих механизмы врожденного и приобретенного иммунитета с дефектом развития или функции белков системы комплемента, фагоцитов, Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров. В основе патогенеза ПИДС лежат молекулярные дефекты генов, ответственных за экспрессию структурных и сигнальных белков компонентов иммунной

системы [14]. Учитывая гетерогенные фенотипы иммунодефицитов, на основании патогенетических механизмов реализации различных молекулярных дефектов в настоящее время выделяют девять групп ПИДС [21]:

1) иммунодефициты с вовлечением клеточного и гуморального иммунитета;

2) комбинированные иммунодефициты с ассоциированными синдромальными проявлениями;

3) преимущественно антительные дефициты;

- 4) заболевания с иммунной дисрегуляцией;
- 5) врожденные дефекты количества и/или функции фагоцитов;
- 6) дефекты врожденного иммунитета;
- 7) аутовоспалительные заболевания;
- 8) дефицит комплемента;
- 9) фенокопии ПИД, вызванные соматическими мутациями.

Несмотря на то что адекватная заместительная терапия внутривенными иммуноглобулинами (ВВИГ), профилактическая противомикробная и другая сопроводительная терапия значительно улучшают качество жизни пациентов с ПИДС, единственным широко доступным методом радикального излечения больных является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), которая используется для коррекции большинства иммунных дефектов [18].

Чаще всего кандидатами на проведение ТГСК являются пациенты с комбинированными дефектами иммунной системы.

Современная эра трансплантологии берет свое начало в 1968 году и именно пациенты с ПИДС были первыми реципиентами трансплантата [3, 10, 15]. Исторически лучшие результаты ТГСК отмечены при трансплантации от HLA-совместимых сиблингов, которые имеются лишь у небольшой части пациентов. Использование неродственных и гаплоидентичных родственных доноров всегда было ассоциировано с худшими исходами ввиду более высоких рисков целого ряда осложнений, таких как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ), а также инфекционные осложнения в связи с пролонгированным периодом иммунологической реконституции.

Именно поэтому на протяжении нескольких десятилетий подходы к проведению ТГСК от альтернативных доноров постоянно совершенствуются с акцентом на повышение их безопасности и эффективности.

РТПХ традиционно считается одной из наиболее существенных проблем ТГСК, а методы ее профилактики основаны на элиминации или подавлении активности донорских Т-лимфоцитов, что достигается с помощью лимфодеплетирующих фармпрепаратов или удалением лимфоцитов непосредственно из трансплантата с помощью иммуномагнитных методов CD34⁺ селекции или CD3⁺ деплеции. К сожалению, несмотря на то, что такая подготовка трансплантата достаточно эффективно предотвращает развитие РТПХ [25], она значительно повышает вероятность инфекций за счет полной элиминации из трансплантата иммунокомпетентных клеток и отсроченной иммунологической реконституции [2, 4].

Именно инфекционные осложнения, вызванные различными, преимущественно оппортунистическими, патогенами, являются одними из частых причин трансплантат-ассоциированной летальности у пациентов с ПИДС. В первую очередь речь идет о вирусных инфекциях, актуальность развития которых сохраняется на протяжении нескольких месяцев после трансплантации. На длительность периода иммунологической некомпетентности после ТГСК влияют такие факторы, как применение иммуноаблативных агентов при кондиционировании и в посттрансплантационном периоде, а также использование CD3⁺ деплеции или CD34⁺ селекции, нередко применяемых при ТГСК от гаплоидентичных и неродственных доноров.

И все же энтузиазм в отношении ТГСК от альтернативных доноров значительно возрос за последние годы. Платформой для этого стали совершенствующиеся технологии клеточного инжиниринга, позволяющие изменять клеточные характеристики трансплантата. В частности, значительный интерес обращен в сторону метода TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺ деплеции, позволяющего сохранить в трансплантате преимущественно Т-лимфоциты с фенотипом CD3⁺TCR $\gamma\delta$ ⁺ [23]. Одним из свойств данной клеточной фракции является способность активироваться HLA-независимым путем, то есть без инициации аллореактивного каскада, приводящего к развитию РТПХ [16, 17]. Таким образом, сохраняющиеся в клеточном продукте CD3⁺TCR $\gamma\delta$ ⁺ лимфоциты оказывают прямое цитотоксическое действие против различных инфекционных патогенов (в том числе вирусных, бактериальных, микобактериальных и других) [8]. Возможность эффективной профилактики РТПХ и хорошие шансы на иммунореконституцию стали веским аргументом для активного изучения роли этой технологии при проведении ТГСК от альтернативного донора у пациентов с ПИДС [6, 7, 24].

Совершенствующиеся подходы к проведению ТГСК у пациентов с ПИДС оставляют, тем не менее, ряд нерешенных вопросов, в частности касающихся тяжелых дисфункций трансплантата, нередко ассоциированных со смешанным клеточным химеризмом после ТГСК. В отличие от полного донорского химеризма после аллогенной трансплантации, подразумевающего полное замещение гемопоэза и иммунопоэза донорскими клетками, смешанным считают наличие у реципиента клеточных популяций как донорского, так и собственного происхождения. Для верификации проблемы применяются, как правило, молекулярно-генетические методы диагностики. Прогностические риски смешанного химеризма неоднозначны при различных но-

зологиях. Тем не менее в большинстве случаев необходимо учитывать, что контроль проблем, ассоциированных с основным заболеванием при смешанном химеризме, может оказаться недостаточным. Одной из наиболее гомогенных и многочисленных групп в нашем исследовании стали пациенты с синдромом Вискотта–Олдрича (СВО), где проблема смешанного химеризма была изучена, а также предпринят целый ряд мер, направленных на изучение возможностей управления ситуацией. Хорошо известно, что персистенция собственного пула клеток наряду с трансплантатом у пациента с СВО может стать причиной тяжелых и типичных для этого заболевания аутоиммунных осложнений, а также клинически значимой тромбоцитопении, что, безусловно, не может считаться успехом ТГСК [19]. Помимо отсутствия контроля основного заболевания, смешанный химеризм может стать предиктором отторжения трансплантата, частота которого, по данным Ochs и соавт. [20], при СВО составляет 10%.

Чаще всего в качестве одного из путей решения вопроса контроля смешанного химеризма используют увеличение миелоаблативного потенциала подготовительной терапии, что увеличивает вероятность эрадикации резидуального пула собственных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). К сожалению, эскалация интенсивности химиотерапии сверх стандартных высокоинтенсивных миелоаблативных режимов неминуемо влечет за собой увеличение частоты и тяжести жизнеугрожающих токсических осложнений и может приводить к значительному снижению качества жизни после перенесенной ТГСК. В качестве альтернативного варианта решения этого вопроса обсуждается возможность использования гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и плериксафора в кондиционировании с целью мобилизации ГСК в сосудистое русло и освобождения свободного пространства в строме костного мозга для более эффективного приживания донорских клеток. Роль плериксафора сводится к блокаде хемокинового рецептора CXCR4, расположенного на поверхности гемопоэтической стволовой клетки, который участвует в ее фиксации к строме костного мозга («хоуминг»-эффект). Идея применения плериксафора и Г-КСФ пациентам во время кондиционирования в настоящее время реализована в когорте пациентов с СВО, что коренным образом меняет отношение к проблеме химеризма. Однако данная технология требует более углубленного изучения для определения показаний к ее применению [1, 5].

В данной работе представлен опыт проведения ТГСК от неродственных совместимых и гаплоидентичных родственных доноров

у пациентов с ПИДС в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева за 6 лет работы.

Материалы и методы

С 2012 по 2017 год в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева выполнено 110 аллогенных ТГСК с $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ деплецией у пациентов с ПИДС (м:ж = 87:23 = 3,7:1). В представленный анализ не включались пациенты с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН) в связи со значимым отличием от других пациентов, обусловленным, как правило, тяжелым соматическим статусом на момент ТГСК (в первую очередь за счет инфекционных осложнений).

Диагноз «ПИДС» и его конкретный вариант были установлены на основании клинической картины, результатов иммунологических исследований в соответствии с критериями ESID (European Society for Immunodeficiency) [11] и в 48 случаях подтверждены генетически. Для генетической верификации диагноза пациентов использовали молекулярно-генетическое исследование ДНК методом ПЦР и прямого бидирекционного секвенирования по Сэнгеру (праймеры синтезировались в ЗАО «Евроген» (Россия), прибор GeneticAnalyzer 3500XL (США)). Структура диагнозов пациентов представлена на рисунке 1.

Медиана возраста пациентов на момент ТГСК — 3,7 года (0,5–17,6). Восемьдесят пять пациентов были трансплантированы от неродственных (62 пациента от полностью (10/10), 23 от парциально (21 от 9/10 и 2 от 8/10) HLA-совместимых доноров), 25 пациентов — от гаплоидентичных родственных доноров. Источником гемопоэтических стволовых клеток у всех пациентов являлась периферическая кровь после мобилизации $\text{CD}34^+$ клеток посредством рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

У 24 пациентов для кондиционирования использовался треоосульфат 42 (или 36) г/м² в сочетании с флударабином 150 мг/м². В 73 случаях применялись подготовительные режимы, содержащие треоосульфат 42 (или 36) г/м, флударабин 150 мг/м, а также дополнительный алкилирующий агент мельфалан 140 мг/м². Из 73 пациентов, получавших два алкилирующих препарата, у 16 пациентов (все пациенты с СВО) в режим кондиционирования были включены гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) в суммарной дозе 50 мкг/кг (за 5 дней) и плериксафор в дозе 720 мкг/кг (за 3 дня). Пациентам с синдромом Ниймеген проводилось кондиционирование с редуцированной интенсивностью, что обусловлено особенностями

ми заболевания — бусульфан 4 мг/кг, флударабин 150 мг/м², циклофосфамид 40 мг/кг.

Во всех случаях проводилась серотерапия с помощью препарата АТГАМ 90 мг/кг, Pharmacia & Upjohn Company (n = 10) или тимоглобулин 5 мг/кг Genzyme Europe B.V. (n = 100). Кроме того, все пациенты получили ритуксимаб 100 мг/м² на -1 день для профилактики посттрансплантационного лимфопролиферативного процесса.

В качестве базовой подготовки трансплантата использовалась TCRαβ⁺/CD19⁺ деплеция с помощью иммуномагнитного метода в соответствии с инструкциями производителя (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Германия).

Для посттрансплантационной профилактики РТПХ пациенты получили такролимус с -1 до +45 дня; в 25 случаях к такролимусу был добавлен короткий курс метотрексата в дозе 5 мг/м (дни +1, +3, +6). Десяти пациентам дополнительно в качестве профилактики РТПХ был назначен абатацепт 10 мг/м² в дни -1, +5, +14, +28.

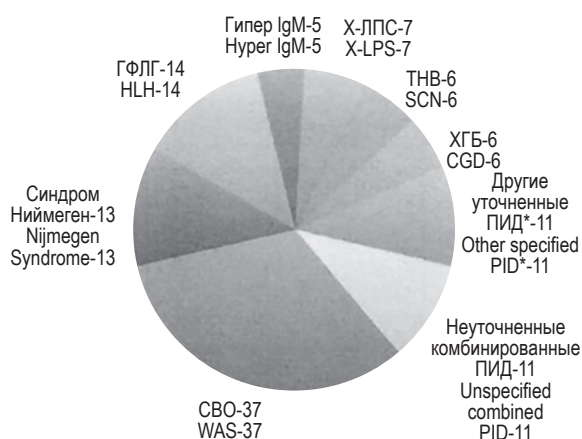


Рисунок 1. Варианты ПИДС у пациентов, которым выполнена ТГСК с TCRαβ⁺/CD19⁺ деплецией

Примечание. СВО — синдром Вискотта—Олдрича; ГФЛГ — гемафагоцитарный лимфогистиоцитоз; Гипер-IgM — гипер-IgM-синдром (дефицит CD40L); ТНВ — тяжелая врожденная нейтропения; ХГБ — хроническая гранулематозная болезнь; Х-ЛПС — X-сцепленный лимфопролиферативный синдром. * — другие уточненные ПИДС: IPEX-синдром — 3; синдром Мак-Кьюсика — 1; WHIM-синдром — 1; синдром Чедиака—Хигаши — 2; X-сцепленная агаммаглобулинемия — 1, синдром активации PIK3d — 2, дефицит STAT1 — 1.

Figure 1. PIDS types in patients, underwent HSCT with TCRαβ⁺/CD19⁺ depletion

Note. WAS, Wiskott—Aldrich syndrome; HLH, hemophagocytic lymphohistiocytosis; Hyper IgM, hyper-IgM syndrome (CD40L deficiency); SCN, severe congenital neutropenia; CGD, chronic granulomatous disease; X-LPS, X-linked lymphoproliferative syndrome. *, other specified PIDS: IPEX syndrome — 3; McCusick's syndrome — 1; WHIM-syndrome — 1; Chediak—Higashi syndrome — 2; X-linked agammaglobulinemia — 1, PIK3d activation syndrome — 2, STAT1 — 1 deficiency.

Статистическая обработка данных производилась в программе XLSTAT (Addinsoft, Франция). Точками, ограничивающими анализ, были даты отторжения/неприживания трансплантата или смерти пациентов и даты последнего наблюдения для живых пациентов с функционирующими трансплантатами. Вероятности общей и бессобытийной выживаемости оценивались методом Каплана—Мейера. При оценке бессобытийной выживаемости за событие принимались отторжение, неприживание трансплантата, смерть пациента. Оценка вероятностей развития РТПХ, вирусных реактиваций, ассоциированной с ТГСК смертности проводилась с помощью метода кумулятивной вероятности с учетом конкурирующих рисков (отторжение/неприживание трансплантата, смерть пациента) с указанием доверительного интервала (ДИ). Отторжением трансплантата считалось более 90% собственных клеток в периферической крови или костном мозге по данным исследования химеризма (методом ПЦР). Реактивацией ЦМВ инфекции считалась ЦМВ-виремия, зафиксированная методом ПЦР при обнаружении > 500 копий вируса в миллилитре крови.

Результаты

Медиана наблюдения составила 22 месяца после ТГСК. Приживание нейтрофильного ростка у 108 пациентов зафиксировано на 9-28-е сутки (медиана — 14 дней) от ТГСК, у двоих пациентов с тяжелой врожденной нейтропенией отмечалось первичное неприживание трансплантата. Медиана приживания тромбоцитов составила 13 дней (разброс 7-43).

Приживание мегакариоцитарного ростка, к сожалению, невозможно было оценить в 7 случаях, в 2 из которых было зарегистрировано первичное неприживание трансплантата, в 2 случаях — смерть на ранних сроках после ТГСК, 3 пациента не соответствовали критериям приживания тромбоцитов, однако имели полный донорский химеризм в CD34⁺ субпопуляции на +30 день.

Кумулятивная вероятность острой РТПХ составила 17% (95% ДИ 10-25) (n = 18), однако следует отметить, что в 16 из 18 случаев отмечалась острая РТПХ II стадии, с хорошим ответом на первую линию терапии; лишь у 2 пациентов была выявлена острая РТПХ III стадии, причем в обоих случаях подтверждено вирусное поражение органа-мишени (HHV6 и аденовирусная инфекция) по результатам анализа гистологических материалов, полученных при диагностической биопсии. IV стадии острой РТПХ выявлено не было ни в одном случае. При сравнительном статистическом анализе кумулятивной вероятности

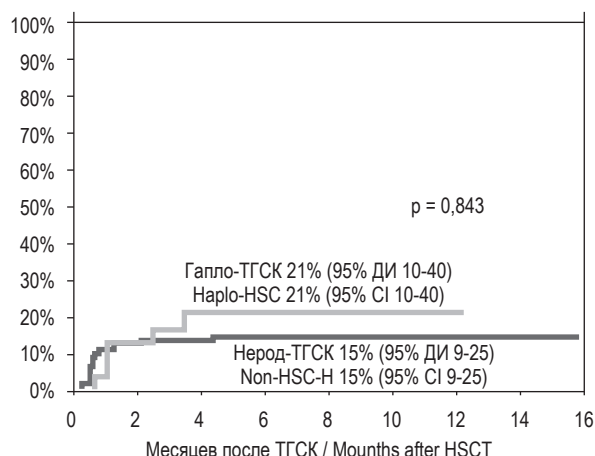


Рисунок 2. Кумулятивная вероятность развития острой РТПХ в группах пациентов, получивших трансплантат от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного (нерод-ТГСК) доноров

Figure 2. Cumulative probability of developing acute GVHD in groups of patients who received a transplant from haploidentical (haplo-HSC) and unrelated (non-HSC-H) donors

сти острой РТПХ, в группах пациентов, получивших трансплантат от HLA-совместимого неродственного и гаплоидентичного донора, статистически значимых различий выявлено не было (рис. 2). Вероятность хронической РТПХ составила 8% (95% ДИ 3-15).

Вирусные осложнения — одна из наиболее значимых проблем у пациентов после ТГСК с Т-клеточной деплецией. Кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции составила 50% (95% ДИ 41-61). У 16 пациентов (15,4%) верифицировано ЦМВ-заболевание:

ЦМВ-пневмония, хориоретинит, энцефалит (n = 1); ЦМВ пневмония (n = 2); ЦМВ хориоретинит (n = 13). Также зарегистрировано, что частота ЦМВ-реактивации была несколько выше у пациентов с комбинированными дефектами иммунитета, по сравнению с другими первичными иммунодефицитными синдромами, такими как дефекты фагоцитоза и иммунные дисрегуляции, а также не было выявлено статистических различий в частоте реактивации в группах, трансплантированных от гаплоидентичного и неродственного донора (рис. 3).

При сравнительной оценке недостаточности трансплантата отмечено, что при использовании кондиционирования с одним алкилирующим агентом кумулятивная вероятность первичного неприживания или отторжения была значительно выше (33% (8/24), 95% ДИ 19-59), по сравнению с результатами ТГСК с использованием 2 алкилирующих препаратов (10% (7/73), 95% ДИ 5-20) с высокой степенью значимости статистических различий (p = 0,01). Во всех случаях отторжение трансплантата было ассоциировано с верификацией смешанного химеризма.

При анализе ситуации с частотой встречаемости и прогностической значимостью смешанного химеризма данная проблема наиболее остро была обозначена в группе пациентов с СВО на промежуточном аналитическом этапе данного исследования. К 2016 году дисфункции трансплантата были выявлены у 7 из 18 пациентов, что в пяти случаях привело к отторжению трансплантата, а у двоих пациентов стало причиной тяжелой тромбоцитопении.

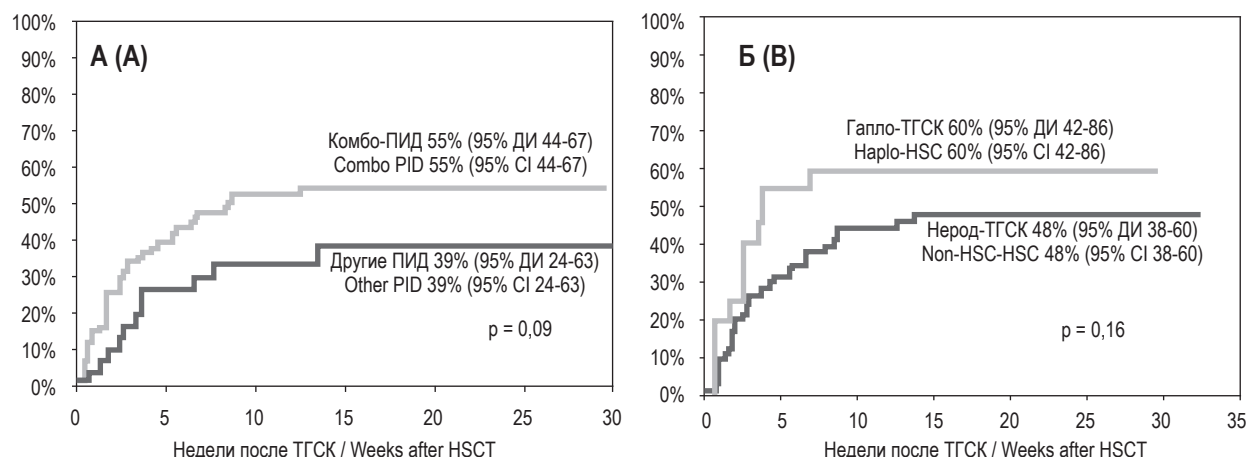


Рисунок 3. Кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции у пациентов с ПИДС после ТГСК

Примечание. А — частота реактивации ЦМВ у пациентов с комбинированными дефектами, по сравнению с другими ПИДС (иммунная дисрегуляция, дефекты фагоцитоза). Б — частота реактивации ЦМВ у пациентов, трансплантированных от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного доноров (нерод-ТГСК).

Figure 3. Cumulative probability of reactivation of CMV infection in patients with PIDS after HSCT

Note. A, frequency of CMV reactivation in patients with combined defects compared with other PIDS (immune dysregulation, defects of phagocytosis). B, frequency of CMV reactivation in patients transplanted from haploidentical (haplo-HSC) and unrelated donors (non-HSC-HSC).

пении, типичной для основного заболевания. Учитывая данную ситуацию, с мая 2016 года был использован новый режим подготовительной терапии с использованием Г-КСФ и плериксафора в качестве дополнительных агентов, что позволило полностью элиминировать вероятность смешанного химеризма и вторичных дисфункций трансплантата (рис. 4).

Темпы иммунологической реконституции при применении ТГСК на платформе $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ деплеции не отличались по своей динамике от восстановления иммунного статуса после недеплезированной ТГСК с использованием нативных источников гемопоэтических стволовых клеток. При более детальном анализе выяснено, что сроки восстановления фракции наивных Т-лимфоцитов также являются весьма обнадеживающими. У большинства пациентов к +120 дню после ТГСК регистрировалось значительное количество Т- и В-лимфоцитов, 500/мкл и 200/мкл соответственно. Интересное наблюдение относительно возможностей технологии $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ деплеции при гаплоидентичной ТГСК в отношении восстановления субпопуляции наивных Т-клеток было продемонстрировано на целой серии наблюдений, свидетельствующих о том, что уже через 4 месяца после ТГСК у пациента имеются хорошие шансы на восстановление адаптивного иммунологического ответа (рис. 5).

Вероятность общей выживаемости во всей исследуемой когорте пациентов с ПИДС составила 84% (95% ДИ 77-92), при этом не было получено статистически значимых различий по данному критерию у пациентов, трансплантированных от HLA-совместимого неродственного и гаплоидентичного родственного доноров (рис. 6).

Причиной летальных исходов после ТГСК являлись либо бактериальные и вирусные инфекционные осложнения ($n = 12$), либо рецидив опухоли у пациентов с синдромом Ниймеген ($n = 2$).

Обсуждение

Улучшение диагностических возможностей и знаний об особенностях течения ряда ПИДС на сегодняшний день обуславливает необходимость более частого применения аллогенной ТГСК как единственного куративного метода. При этом еще не так давно широкое применение ТГСК было нередко ограничено высокой токсичностью. Расширение возможностей по проведению менее токсичной подготовительной и адекватной сопроводительной терапии, а также совершенствование способов подготовки трансплантата в последние годы сделали этот метод лечения более безопасным

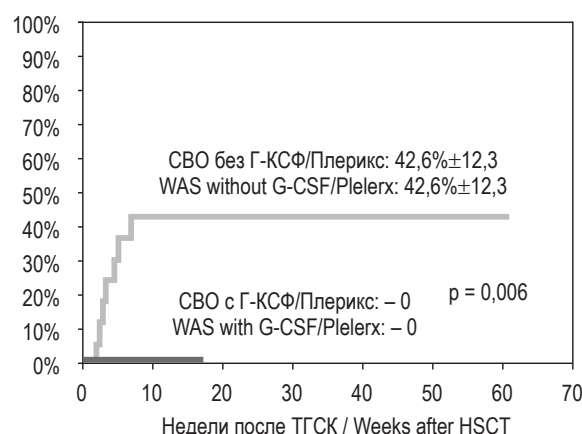


Рисунок 4. Вероятность дисфункций трансплантата у пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича, ассоциированных со смешанным химеризмом, получавших режим кондиционирования в сочетании с Г-КСФ и плериксафором, по сравнению с ранее полученными данными у пациентов, получавших стандартные режимы с интенсивной миело-/иммуноаблацией

Figure 4. Probability of transplant dysfunctions in patients with Wiskott–Aldrich syndrome associated with mixed chimerism, who received a conditioning regimen in combination with G-CSF and plelerxaphor, compared with previously obtained data in patients who received standard modes with intensive myeloid/immunoablation

и привели к улучшению выживаемости пациентов после ТГСК. Исторически наиболее эффективными являлись трансплантации от HLA-совместимых сиблингов. Многие годы применение трансплантатов от альтернативных доноров (неродственных и парциально совместимых) ограничивала высокая посттрансплантационная морбидность и летальность пациентов. Одной из наиболее серьезных проблем альтернативной ТГСК является высокий риск развития тяжелой РТПХ. Внедрение ряда технологий обработки трансплантата при ТГСК от гаплоидентичных доноров достаточно эффективно помогает контролировать эту проблему, однако зачастую приводит к задержке иммунологической реконституции пациентов, повышая тем самым риски инфекционных осложнений и смертность от них.

Однако применение $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ деплеции трансплантата при ПИДС уже продемонстрировало свою эффективность в отношении контроля острой и хронической РТПХ. РТПХ выше II стадии отмечена только у двух пациентов, причем в каждом из этих случаев были верифицированы дополнительные этиологические факторы поражения органов мишеней у пациентов, а именно инфекция HHV6 кожи у пациента с кожной формой острой РТПХ и аденовирусное по-

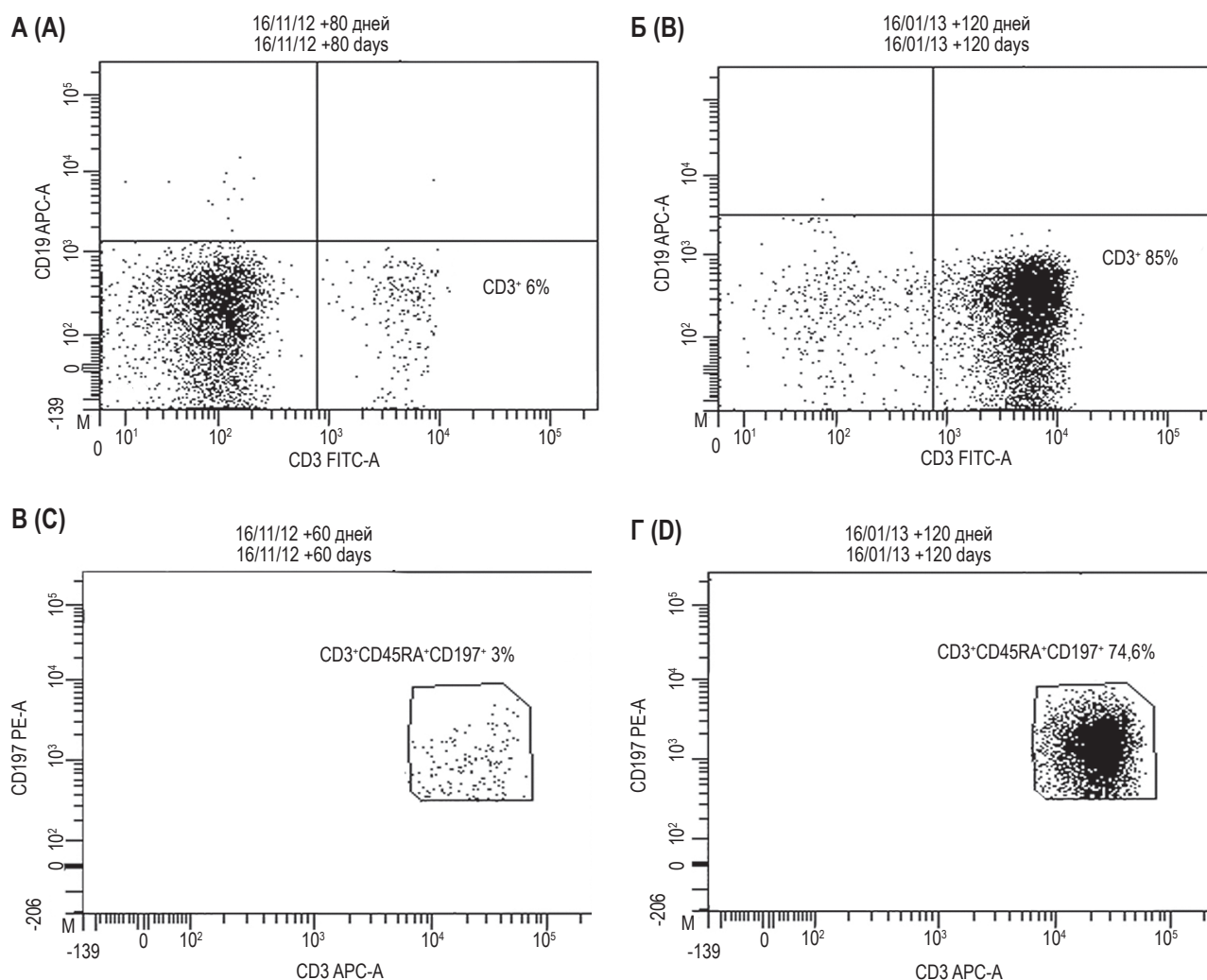


Рисунок 5. Результаты проточной цитометрии у пациента с ПИДС после ТГСК от гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺ деплецией трансплантата

Примечание. CD3⁺ клетки на +60 день (А) и 120 день (Б) после ТГСК; наивные Т-клетки на +60 день (В) и 120 день (Г) после ТГСК.

Figure 5. Results of flow ditometry in a patient with PID after HSCT from a haploidentical donor with TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺ graft depilation
Note. CD3⁺ cells at +60 day (A) and 120 day (B) after HSCT; naive T cells at +60 day (C) and 120 day (D) after HSCT.

ражение кишечника у ребенка с кишечными проявлениями РТПХ. Крайне важным результатом стало отсутствие различий в кумулятивной вероятности развития РТПХ при гаплоидентичной и совместимой неродственной ТГСК ($p = 0,843$). Значимой проблемой в данном исследовании стали вирусные инфекции после ТГСК. Несмотря на отсутствие статистических различий в частоте реактиваций ЦМВ при различных вариантах ПИДС, имеется прогрессивная тенденция в сторону увеличения данного показателя у пациентов с комбинированными дефектами иммунитета, что позволяет выделить их в отдельную группу риска. В целом частота ЦМВ-реактивации и висцеральных инфекций остается высокой,

что является аргументом для исследования новых подходов к их профилактике и лечению. В частности, активно изучаются методы терапии инфекционных, в первую очередь вирусных, осложнений клеточными продуктами, полученными в результате культивации или селекции клеток со специфическими узконаправленными функциональными характеристиками внутри отдельной субпопуляции. Клиническая эффективность и безопасность терапии вирус-специфическими Т-лимфоцитами и Т-лимфоцитами памяти (с фенотипом CD3⁺CD45RA⁻) активно исследуются [9, 12, 13, 22]. К сожалению, технические трудности и высокая стоимость заготовки унипотентных вирус-специфических клеток

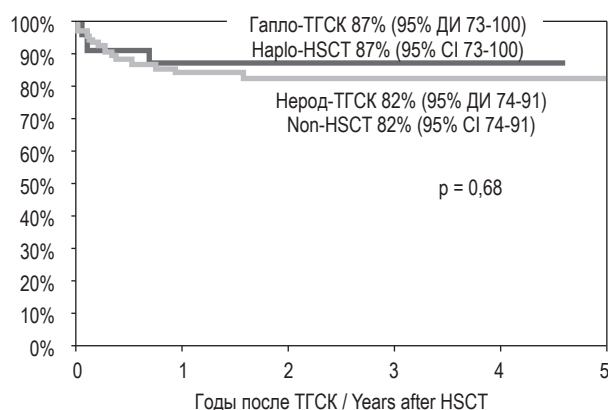


Рисунок 6. Общая выживаемость пациентов, трансплантированных от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного доноров (нерод-ТГСК)

Figure 6. Overall survival of patients transplanted from haploidentical (haplo-HSCT) and unrelated donors (non-HSCT)

ограничивает использование этой технологии. Однако использование клеточных продуктов с широким репертуаром патоген-специфической направленности ($CD3^+CD45RA^-$) вызывает значительный интерес у исследователей и клиницистов. Данная технология уже интегрирована в работу НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева в качестве клинического исследования и уже накоплен ряд клинических примеров ее эффективности, тем не менее объем данных пока не дает возможности статистической обработки полученных данных.

Чрезвычайно обнадеживающим результатом стало снижение частоты смешанного химеризма у пациентов с СВО после добавления в режим кондиционирования Г-КСФ и плексифора. Ценность данного результата определяется не только снижением риска функциональных нарушений трансплантата, а в первую очередь возможностью элиминировать иммунологически опосредованные способности остаточной реципиентской клеточной фракции и клинические признаки основного заболевания, типичные для данной нозологии. Технология использования таргетных препаратов, не обладающих цитотоксическими свойствами для освобождения пространства, доступного для приживания донорских клеток, имеет перспективы для дальнейших исследований. Нельзя исключить, что позднее будет поставлен вопрос о редукции интенсивности химиотерапевтической подготовки в этой когорте пациентов. Полученные результаты у пациентов с СВО являются также поводом для исследования метода при других заболеваниях, при которых сохраняется высокий риск иммунологического дефекта при перси-

стенции смешанного химеризма, однако перенос технологии на другую нозологию требует предварительной скрупулезной оценки.

Одним из наиболее важных результатов ТГСК при ПИДС в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева является отсутствие различий в выживаемости пациентов при гаплоидентичной и НЛА-совместимой неродственной трансплантации. В целом это отражает не только современные возможности, но и значительным образом влияет на такие факторы, как доступность донора, дополнительный шанс для выздоровления и улучшения качества жизни. Помимо такого аргумента, как почти 100-процентная доступность гаплоидентичного донора, появляется возможность проведения ТГСК в кратчайшие сроки после определения показаний к ТГСК конкретному пациенту, что чрезвычайно важно, так как даже при наличии подходящего неродственного донора в регистре, нередко уходит несколько месяцев на получение трансплантата. В действительности эта возможность позволяет многократно повысить вероятность удачного исхода у многих пациентов, в первую очередь с комбинированными дефектами.

Развитие технологии ТГСК от гаплоидентичного донора предоставляет возможность проведения трансплантации в клинических центрах, не имеющих авторизованного доступа в международный регистр. Не менее важным аргументом в пользу развития технологий гаплоидентичной ТГСК является также неотложная доступность такого донора для повторных донаций, нередко необходимых для посттрансплантационной клеточной терапии. Оценка фармакоэффективности технологии $TCRaP^+/CD19^+$ деpleции трансплантата может ответить на целый ряд вопросов, касающихся более глубокой интеграции ее в практическую деятельность. По данным van Sambeek и соавт. [26], несмотря на высокую стоимость расходных материалов, необходимых для проведения лабораторного этапа подготовки трансплантата, конечная стоимость процедуры позволяет удешевить трансплантацию за счет снижения иных расходов, связанных с ее реализацией.

Следует отметить, что когорта пациентов с ПИДС является уникальной с точки зрения репертуара их генетического, биологического и клинического разнообразия. Тем не менее для большинства из них именно ТГСК является единственным методом терапии, позволяющим рассчитывать на удачный исход заболевания. Изучение и внедрение эффективных технологий клеточного инжиниринга для ТГСК, демонстрируя положительные тенденции и результаты, безусловно, являются аргументами для дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Балашов Д.Н., Гутовская Е.И., Козловская С.Н., Радыгина С.А., Лаберко А.Л., Масчан А.А. Применение плериксафора и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в кондиционировании перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2017. Т. 16, № 3. С. 55-58. [Balashov D.N., Gutovskaya E.I., Kozlovskaya S.N., Radygina S.A., Laberko A.L., Maschan A.A. The use of plerixafor and g-CSF during conditioning for hematopoietic stem cell transplantation in a patient with Wiscott–Aldrich syndrome. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*, 2017, Vol. 16, no. 3, pp. 55-58. (In Russ.)]
2. Aversa F., Tabilio A., Velardi A., Cunningham I., Terenzi A., Falzetti F., Ruggeri L., Barbabietola G., Aristei C., Latini P., Reisner Y., Martelli M.F. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N. Engl. J. Med.*, 1998, Vol. 339, no. 17, 1186-1193.
3. Bach F., Albertini R., Joo P., Anderson J., Bortin M. Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott–Aldrich syndrome. *Lancet*, 1968, Vol. 292, no. 7583, pp. 1364-1366.
4. Bacigalupo A., Mordini N., Pitto A., Piaggio G., Podesta M., Benvenuto F., van Lint M.T., Valbonesi M., Lercari G., Carlier P., Lamparelli T., Gualandi F., Occhini D., Bregante S., Figari O., Soracco M., Vassallo F., de Stefan G. Transplantation of HLA-mismatched CD34⁺ selected cells in patients with advanced malignancies: severe immunodeficiency and related complications. *Br. J. Haematol.*, 1997, Vol. 98, no. 3, pp. 760-766.
5. Balashov D., Laberko A., Shcherbina A., Trakhtman P., Abramov D., Gutovskaya E., Kozlovskaya S., Shelikhova L., Novichkova G., Maschan M., Rumiantsev A., Maschan A. A Conditioning regimen with plerixafor is safe and improves the outcome of TCRaP⁺ and CD19⁺ cell-depleted stem cell transplantation in patients with Wiskott–Aldrich syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2018, Vol. 24, no. 7, pp. 1432-1440.
6. Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., Laberko A., Livshits A., Novichkova G., Maschan A. Single-center experience of unrelated and haploidentical stem cell transplantation with TCRaP and CD19 depletion in children with primary immunodeficiency syndromes. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2015, Vol. 21, no. 11, pp. 1955-1962.
7. Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., Pende D., Falco M., Handgretinger R., Moretta F., Lucarelli B., Brescia L.P., Li Pira G., Testi M., Cancrini C., Kabbara N., Carsetti R., Finocchi A., Moretta A., Moretta L., Locatelli F. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of $\alpha\beta^+$ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood*, 2014, Vol. 124, no. 5, pp. 822-826.
8. Bonneville M., O'Brien R.L., Born W.K. $\gamma\delta$ T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 7, pp. 467-478.
9. Brodzski N., Turkiewicz D., Toporski J., Truedsson L., Dykes J. Novel treatment of severe combined immunodeficiency utilizing ex-vivo T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation and CD45RA⁺ depleted donor lymphocyte infusions. *Orphanet J. Rare Dis.*, 2016, Vol. 11, 5. doi: 10.1186/s13023-016-0385-3.
10. de Koning J., van Bekkum D.W., Dicke K.A., Dooren L.J., van Rood J.J., Radi J. Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, 1969, Vol. 293, no. 7608, pp. 1223-1227.
11. European Society for Immunodeficiencies. Registry Working Party Diagnosis criteria. Available at: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>.
12. Feuchtinger T., Matthes-Martin S., Richard C., Lion T., Fuhrer M., Hamprecht K., Handgretinger R., Peters C., Schuster F.R., Beck R., Schumm M., Lofti R., Jahn G., Lang P. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.*, 2006, Vol. 134, no. 1, pp. 64-76.
13. Feuchtinger T., Opher K., Bethge W.A., Topp M.S., Schuster F.R., Weissinger E.M., Mohty M., Or R., Maschan M., Schumm M., Hamprecht K., Handgretinger R., Lang P., Einsele H. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*, 2010, Vol. 116, no. 20, pp. 4360-4367.
14. Fischer A. Human primary immunodeficiency diseases. *Immunity*, 2007, Vol. 27, no. 6, pp. 835-845.
15. Gatti R., Meuwissen H., Allen H., Hong R., Good R. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, 1968, Vol. 292, no. 7583, pp. 1366-1369.
16. Handgretinger R. Negative depletion of CD3⁺ and TcRa⁺ T cells. *Curr. Opin. Hematol.*, 2012, Vol. 19, no. 6, pp. 434-439.
17. Locatelli F., Bauquet A., Palumbo G., Moretta F., Bertaina A. Negative depletion of α/β^+ T cells and of CD19⁺ B lymphocytes: A novel frontier to optimize the effect of innate immunity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol. Lett.*, 2013, Vol. 155, no. 1-2, pp. 21-23.
18. Modell V., Gee B., Lewis D.B., Orange J.S., Roifman C.M., Routes J.M., Sorenson R.U., Notarangelo L.D., Modell F. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI) – diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunol. Res.*, 2011, Vol. 51, no. 1, pp. 61-70.

19. Moratto D., Guiliani S., Bonlim C., Mazzolari E., Fischer A., Ochs H.D., Cant A.J., Thrasher A.J., Cowan M.J., Albert M.H., Small T., Pai S.Y., Haddad E., Lisa A., Hambelton S., Slatter M., Cavazzana-Calvo M., Mahlaoui N., Picard C., Torgerson T.R., Burroughs L., Koliski A., Neto J.Z., Porta F., Qasim W., Veys P., Kavanau K., Hoenig M., Schulz A., Friedrich W., Notarangelo L.D. Long-term outcome and lineage-specific chimerism in 194 patients with Wiskott–Aldrich syndrome treated by hematopoietic cell transplantation in the period 1980–2009: an international collaborative study. *Blood*, 2011, Vol. 118, no. 6, pp. 1675–1684.
20. Ochs H.D., Filipovich A.H., Veys P., Cowan M.J., Kapoor N. Wiskott–Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2009, Vol. 15, no. 1, pp. 84–90.
21. Picard C., Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.-L., Chatila T., Conley M.E., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Holland S.M., Klein C., Nonoyama S., Ochs H.D., Oksenhendler E., Puck J.M., Sullivan K.E., Tang M.L., Franco J.L., Gaspar H.B. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J. Clin. Immunol.*, 2015, Vol. 35, no. 8, pp. 696–726.
22. Rooney C.M., Ng C.Y., Loftin S., Smith C., Li C., Krance R., Brenner M.K., Heslop H.E. Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr-virus-related lymphoproliferation. *Lancet Lond. Engl.*, 1995, Vol. 345, no. 8941, pp. 9–13.
23. Schumm M., Lang P., Bethge W., Faul C., Feuchtinger T., Pfeiffer M., Vogel W., Huppert V., Handgretinger R. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. *Cytotherapy*, 2013, Vol. 15, no. 10, pp. 1253–1258.
24. Shah R.M., Elfeky R., Nademi Z., Qasim W., Amrolia P., Chiesa R., Rao K., Lucchini G., Silva J.M.F., Worth A., Barge D., Ryan D., Conn J., Cant A.J., Skinner R., Abd Hamid I.J., Flood T., Abinun M., Hambleton S., Gennery A.R., Veys P., Slatter M. T-cell receptor $\alpha\beta^+$ and CD19⁺ cell-depleted haploidentical and mismatched hematopoietic stem cell transplantation in primary immune deficiency. *Allergy Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 141, no. 4, pp. 1417–1426.
25. Slatter M.A., Brigham K., Dickinson A.M., Harvey H.L., Barge D., Jackson A., Bown N., Flood T.J., Cant A.J., Abinun M., Gennery A.R. Long-term immune reconstitution after anti-CD52-treated or anti-CD34-treated hematopoietic stem cell transplantation for severe T-lymphocyte immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, no. 2, pp. 361–367.
26. van Sambeek B., Flattery M., Mitchell R., de Abreu Lourenco R. Comparing the cost of preparing matched unrelated donor and TCR $\alpha\beta^+$ /CD19⁺ depleted donor material for pediatric hematopoietic stem cell transplants in Australia. *Pediatr. Transplant.*, 2018, Vol. 22, no. 7, e13279. doi: 10.1111/petr.13279.

Авторы:

Балашов Д.Н. — д.м.н., профессор, заведующий отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 2 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Масчан М.А. — д.м.н., профессор, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Balashov D.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Hematopoietic Stem Cell Transplantation Department No. 2, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Maschan M.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, High School of Molecular and Experimental Medicine, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Щербина А.Ю. — д.м.н., профессор, заведующая отделением клинической иммунологии, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Румянцев А.Г. — д.м.н., профессор, президент ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Shcherbina A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Clinical Immunology Department, Deputy Director, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Rumyantsev A.G., PhD, MD (Medicine), Professor, President, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Поступила 17.03.2020
Отправлена на доработку 20.03.2020
Принята к печати 31.03.2020

Received 17.03.2020
Revision received 20.03.2020
Accepted 31.03.2020