

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.04.2020
Принята к печати 08.05.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-38-45

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток с процессингом трансплантата TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплецией у детей с генетически обусловленными формами гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза

А.К. Кантулаева, Е.И. Гутовская, А.Л. Лаберко, С.А. Радыгина, С.Н. Козловская, А.М. Лившиц, Л.Н. Шелихова, Д.Н. Балашов, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В работе представлен опыт проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у пациентов с генетически обусловленными формами гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (ГФЛГ) в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 по 2019 г. В исследование были включены 36 пациентов с диагнозами семейный ГФЛГ ($n = 20$), X-сцепленный лимфопролиферативный синдром (X-ЛПС) 1-го типа ($n = 4$), X-ЛПС 2-го типа ($n = 9$), синдром Грисцелли 2-го типа ($n = 1$), синдром Чедиака–Хигаши ($n = 2$). У 9 пациентов режим кондиционирования включал треоосульфат в сочетании с флударабином, у 27 больных дополнительно использовались мелфалан или тиотепа. Все пациенты получали серотерапию. В 32 случаях использовался ритуксимаб накануне миелоинфузии для профилактики посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания. Посттрансплантационная профилактика реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) применялась у 29 пациентов. Для трансплантации использовались стволовые клетки от неродственного ($n = 23$), совместимого родственного ($n = 3$) и гаплоидентичного ($n = 10$) доноров после TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплеции. Кумулятивная частота тяжелых дисфункций (первичное неприживление/отторжение) трансплантата составила 0,11 (95% доверительный интервал (ДИ): 0,04–0,29). Случаи острой РТПХ были ограничены только I–II стадиями. Общая выживаемость составила 0,91 (95% ДИ: 0,82–1) без достоверных различий в группах в зависимости от типа донора ($p = 0,33$) и в группах с различными стратегиями кондиционирования ($p = 0,75$). ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплецией в сочетании с кондиционированием с редуцированной токсичностью является эффективной технологией с высоким профилем безопасности и открывает новые перспективы для пациентов с ГФЛГ.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, реакция «трансплантат против хозяина», TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплеция трансплантата

Кантулаева А.К. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (2): 38–45.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-38-45

Hematopoietic stem cell transplantation with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion for hemophagocytic lymphohistiocytosis

A.K. Kantulaeva, E.I. Gutovskaya, A.L. Laberko, S.A. Radygina, S.N. Kozlovskaya, A.M. Livshits, L.N. Shelikhova, D.N. Balashov, M.A. Maschan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. We present the outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion in patients with genetic hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology from 2012 to 2019. Thirty-six patients with various HLH: familial HLH ($n = 20$), X-linked lymphoproliferative disease (XLP) type 1 ($n = 4$), XLP type 2 ($n = 9$), Griscelli syndrome ($n = 1$), Chediak–Higashi syndrome ($n = 2$) received HSCT. Conditioning regimens were based on treosulfan in 9 patients, or on two alkylating agents: treosulfan with either melphalan, or thiotepa in 27 patients; all 36 patients received fludarabine and serotherapy. Thirty-two patients received rituximab 100 mg/m 2 the day before stem cell infusion. Post-HSCT "graft versus host" disease (GvHD) prophylaxis was used in 29 patients. As a graft source peripheral blood stem cells from matched unrelated ($n = 23$), matched related ($n = 3$) and haploidentical family ($n = 10$) donors after TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion were used. The cumulative incidence of primary and secondary graft failure in all patients was 0.11 (95% CI 0.04–0.29). The incidence of acute GvHD was limited to stage I–II. Overall survival was 0.91 (95% CI 0.82–1) without any significant differences in various donor groups ($p = 0.33$) as well as different conditioning regimens ($p = 0.75$). Allogeneic HSCT with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion after treosulfan-based conditioning is effective and safe technology for patients with genetic HLH.

Key words: primary immunodeficiency, hemophagocytic lymphohistiocytosis, hematopoietic stem cell transplantation, "graft versus host" disease, TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion

Kantulaeva A.K., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (2): 38–45.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-38-45

Контактная информация:

Кантулаева Айшат Кантулаевна,
лаборант-исследователь отдела
оптимизации лечения и профилактики
осложнений трансплантации
гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: aishatkantulaeva@gmail.com

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 21.04.2020

Accepted 08.05.2020

Correspondence:

Aishat K. Kantulaeva, Researcher,
Department of treatment optimization
and prophylaxis of Hematopoietic
Stem Cell Transplantation associated
complications, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology, Immunology
Ministry of Healthcare of Russian
Federation.
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: aishatkantulaeva@gmail.com

Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГФЛГ) – это заболевание, обусловленное неконтролируемой активацией иммунных клеток и ведущее к развитию полиорганной недостаточности.

Наиболее часто встречающиеся среди генетически обусловленных форм ГФЛГ – семейный ГФЛГ 1–5-го типов, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром (X-ЛПС) 1-го и 2-го типов, ГФЛГ с гипопигментацией (синдром Грисцелли, синдром Германски–Пудлака, синдром Чедиак–Хигаши). Также ГФЛГ является характерным для таких редких форм первичных иммунодефицитов (ПИД), как X-сцепленный иммунодефицит с дефектом магниевых каналов, вирусом Эпштейна–Барр (ЭБВ) и неоплазией, дефицит CD27, а также некоторых комбинированных ПИД (таблица 1) [1–3].

Патофизиология генетически обусловленного ГФЛГ связана с нарушением биогенеза цитолитических гранул НК-клетками и цитотоксическими Т-лимфоцитами, а также избыточной продукцией провоспалительных цитокинов и макрофагального колониестимулирующего фактора [4, 5]. Результатом является дисрегуляция иммунного ответа: недостаточная способность к воздействию на внутриклеточные организмы, избыточная продукция провоспалительных цитокинов, увеличение количества

Таблица 1
Генетически обусловленные формы ГФЛГ [1–3]

Table 1
Genetic forms of HLH [1–3]

ПИД PID	Хромосома Chromosome	Ген Gene	Функция гена Gene function	Белок Protein
Семейный ГФЛГ FHL subclasses				
Тип 1 Type 1	9q21.3-q22	Неизвестен Unknown	Неизвестен Unknown	Неизвестен Unknown
Тип 2 Type 2	10q21-22	<i>PFR1</i>	Индукция апоптоза Induction of apoptosis	Perforin
Тип 3 Type 3	17q25	<i>UNC13D</i>	Прайминг везикул Vesicle priming	Munc13-4
Тип 4 Type 4	6q24	<i>STX11</i>	Везикулярный транспорт Vesicle transport	Syntaxin11
Тип 5 Type 5	19p13.2-3	<i>STXBP2</i> (<i>UNC18B</i>)	Везикулярный транспорт Vesicle transport	Munc18-2
Другие ГФЛГ-ассоциированные генетически обусловленные заболевания Other HLH associated diseases				
Синдром Чедиак–Хигаши Chediak–Higashi syndrome	1q42.1-q42.2	<i>LYST</i>	Везикулярный транспорт Vesicle transport	Lyst
Синдром Грисцелли Griscelli syndrome	15q21	<i>RAB27A</i>	Везикулярный транспорт Vesicle transport	Rab27a
Синдром Германски–Пудлака Hermansky–Pudlak syndrome	5q14.1	<i>AP3B1</i>	Образование везикул, сортировка белков Vesicle synthesis and protein sorting	beta-A3P
X-ЛПС 1-го типа XLP, type 1	Xq25	<i>SH2D1A</i>	Сигнальная трансдукция и активация лимфоцитов Signal transduction and activation of lymphocytes	SAP
X-ЛПС 2-го типа XLP, type 2	Xq25	<i>BIRC4</i>	Различные сигнальные пути Various signaling pathways	XIAP
Дефицит CD27 CD27 deficiency	12p13.31	<i>CD27</i>	Ко-стимуляторная молекула лимфоцитов Costimulatory molecule that regulates T-cell	CD27
XMEN	Xq21.1	<i>MAGT1</i>	Активация Т-клеток T-cell activation	MAGT1
Другие первичные иммунодефициты Other primary immunodeficiency				

Примечание. XMEN – X-сцепленный иммунодефицит с дефектом магниевых каналов, ЭБВ-инфекцией и неоплазией.

Notes. HLH – hemophagocytic lymphohistiocytosis; PID – primary immunodeficiency; FHL – familial hemophagocytic lymphohistiocytosis; XLP – X-linked lymphoproliferative disorder; XMEN – X-linked immunodeficiency with magnesium defect, Epstein–Barr virus infection, and neoplasia.

паттерн-распознающих рецепторов на антигенпрезентирующих клетках и дальнейший фагоцитоз гемопоэтических клеток организма [6].

В 2004 г. Международной ассоциацией гистиоцитозов были предложены клинико-лабораторные критерии ГФЛГ [1]. Диагноз устанавливается при наличии генетически подтвержденной мутации и/или выявлении 5 из 8 критериев, представленных в таблице 2.

При отсутствии лечения около 90% пациентов с наследственными формами ГФЛГ умирают в течение первых месяцев от начала заболевания [7], но за последние 35 лет достигнуты большие успехи в терапии ГФЛГ. На сегодняшний день лечение пациентов с любой формой ГФЛГ направлено на снижение активности цитотоксических Т-лимфоцитов, макрофагов, ведущих провоспалительных цитокинов, устранение имеющихся триггеров [5].

Существующие специально разработанные протоколы (HLH-1994, HLH-2004), патогенетическая терапия (блокаторы IL-1a, IL-6, интерферон-гамма, селективные ингибиторы янус-киназ, моноклональные антитела против CD52, IL-18) позволяют лишь достичь ремиссии ГФЛГ. В свою очередь, единственным куративным методом лечения генетически обусловленного ГФЛГ, а также некоторых вторичных

Таблица 2
Клинико-лабораторные критерии ГФЛГ [1]

Table 2
Classification criteria for HLH [1]

№	Критерии ГФЛГ Criteria for HLH
1	Наличие генетически подтвержденного ГФЛГ Molecular diagnosis of HLH
2	Наличие 5 из 8 диагностических критериев: 5 out of 8 diagnostic criteria: <ol style="list-style-type: none"> 1. Лихорадка более 7 дней Fever more than 7 days 2. Гепатоспленомегалия Hepatosplenomegaly 3. Цитопения (поражение 2 ростков кроветворения и более) Cytopenia affecting >2 lineages 4. Гипертриглицеридемия и/или гипофибриногенемия Hypertriglyceridaemia and/or hypofibrinogenemia 5. Гиперферритинемия Hyperferritinemia 6. Гемофагоцитоз в костном мозге, селезенке, лимфатических узлах Hemophagocytosis in the bone marrow, spleen, and lymph nodes 7. Снижение или отсутствие активности НК-клеток Low or absent NK cell activity 8. Повышение sCD25 (рецептор к интерлейкину (IL)-2) в крови Increased soluble cluster of differentiation (CD) 25 i.e. soluble IL-2 receptor

форм данной патологии является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). По данным литературы, проведение ТГСК увеличивает 3-летнюю выживаемость с 0 до 50–100% [6].

Впервые успешное проведение ТГСК при ГФЛГ было описано А. Fisher и соавт. в 1986 г. [8]. По данным анализа протокола HLH-94, 3-летняя безрецидивная выживаемость констатирована у 70% детей, трансплантированных от HLA-идентичных доноров. При проведении гаплоидентичной трансплантации выживаемость составляла не более 50% [9].

Миелоаблативное кондиционирование на основе бусульфана в течение многих лет являлось стандартом для подготовки к ТГСК пациентов с ГФЛГ [8]. Однако использование подобных протоколов является причиной тяжелых жизнеугрожающих токсических осложнений [8, 10].

В 2006 г. впервые начали применяться режимы кондиционирования с 1 алкилирующим агентом [11]. Использование таких режимов позволяет снизить токсические эффекты кондиционирования (веноокклюзионная болезнь, тромботическая микроангиопатия и т. д.), но в то же время повышает риск развития первичного непрививления и отторжения трансплантата [12].

Подготовка трансплантата на основе иммуномагнитной деплеции TCR $\alpha\beta$ ⁺ и CD19⁺-лимфоцитов является относительно новой технологией. Процесс заключается в удалении из трансплантата CD3⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺-лимфоцитов – основных эффекторов развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [13] и сохранение CD3⁺TCR $\alpha\beta$ ⁻, НК- и миелоидных клеток, выполняющих иммунорегуляторную,

защитную (от внутриклеточных и внеклеточных патогенов) функции [14]. Дополнительная деплеция В-лимфоцитов значительно снижает риски развития ЭБВ-ассоциированных посттрансплантационных лимфопролиферативных заболеваний, являющихся частым осложнением ТГСК при применении методов Т-клеточной деплеции [15, 16].

TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплегия трансплантата у пациентов с ПИД позволяет эффективно предотвращать развитие РТПХ при использовании не только HLA-совместимых неродственных, но и гаплоидентичных родственных доноров, что особенно важно при необходимости проведения ТГСК в короткие сроки [17].

В данной работе представлен опыт проведения ТГСК на основе технологии TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплеции у 36 пациентов с генетически обусловленными формами ГФЛГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. С 2012 по 2019 г. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева аллогенная ТГСК с TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплецией трансплантата проведена 36 пациентам с различными формами генетически обусловленного ГФЛГ: семейный ГФЛГ ($n = 20$), Х-ЛПС 1-го ($n = 4$) и 2-го ($n = 9$) типов, синдром Грисцелли 2-го типа ($n = 1$), синдром Чедиака–Хигаши ($n = 2$) (рисунки 1). Медиана возраста пациентов на момент ТГСК составила 2,8 (0,5–17,5) года.

В 23 случаях использовался неродственный донор, у 3 пациентов – HLA-идентичный родственник донор, у 10 – гаплоидентичный донор. Во всех случаях источником гемопоэтических стволовых клеток была периферическая кровь после мобилизации CD34⁺-клеток с помощью рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора. Полученный продукт афереза подвергался процедуре деплеции TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-клеток с помощью иммуномагнитного метода в соответствии с инструкциями производителя (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Германия).

У 9 пациентов в составе подготовительной терапии (кондиционирование) перед ТГСК использовали тресульфат в дозе 36 или 42 г/м² и флударабин в дозе 150 мг/м², у 27 больных в качестве дополнительного алкилирующего агента были включены мелфалан 140 мг/м² ($n = 9$) или тиотепа 10 мг/кг ($n = 18$). Для серотерапии применялись кроличий антилимфоцитарный глобулин (АТГ) в дозе 5 мг/кг у 34 пациентов, лошадиный АТГ у 1 пациента и моноклональные антитела к CD52-антигену (алемтузумаб) в дозе 1 мг/кг у 1 больного. У 32 пациентов был исполь-

зован ритуксимаб на –1-й день в дозе 100 мг/м² в целях дополнительной профилактики посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания.

Для профилактики РТПХ в посттрансплантационном периоде у 27 больных применялись ингибиторы кальциневрина (такролимус, $n = 20$, циклоспорин А, $n = 4$, такролимус + циклоспорин А, $n = 3$), 2 пациента получали альтернативные режимы профилактики, 7 человек не получали иммуносупрессивной терапии (таблица 3).

Для констатации приживления трансплантата использовали критерии Европейского общества трансплантации крови и костного мозга [18]: для лейкоцитарного роста – 1-й день, когда уровень нейтрофилов более 500 кл/мкл в течение 3 последовательных дней, для тромбоцитарного роста – 1-й день, когда уровень тромбоцитов более 20 тыс/мкл без гемотрансфузионной терапии в течение 7 дней. За отторжение трансплантата принималось более 90% собственных клеток в периферической крови или костном мозге по данным исследования химеризма методом полимеразной цепной реакции. При стадировании РТПХ за основу взяты Seattle-критерии [19].

Реактивацией ЭБВ-инфекции или цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции считали виремию – обнаружение более 500 копий в 1 мл крови методом полимеразной цепной реакции.

Вероятность общей выживаемости (ОВ) оценена по методу Каплана–Майера. Оценка вероятности развития отторжения или неприживления трансплантата, развития РТПХ, вирусных инфекций проводилась методом кумулятивной вероятности с указанием 95% доверительного интервала (ДИ). Статистически значимыми считали различия между сравниваемыми параметрами при $p < 0,05$.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью программы XLSTAT 2015 (Addinsoft, Франция). Анализ ограничивался следующими событиями: дата последнего наблюдения живых пациентов с удовлетворительно функционирующим трансплантатом, дата отторжения или неприживления трансплантата, дата смерти пациента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Медиана наблюдения за пациентами составила 3,3 (0,1–6,8) года. У 33 пациентов было констатировано приживление лейкоцитарного роста на 9–20-е сутки после ТГСК (медиана 13 дней), тромбоцитарного роста – на 8–26-е сутки после ТГСК (медиана 13 дней). У 2 пациентов зафиксировано неприживление трансплантата (оба пациента с Х-ЛПС 2-го типа, получившие ТГСК от гаплоидентичного родственного донора) и 1 пациент умер на ранних

Рисунок 1

Варианты ПИД с ГФЛГ у пациентов, которым была выполнена ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19⁺-деплецией

Figure 1

Patients with various forms of genetic HLH (received hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19⁺ graft depletion

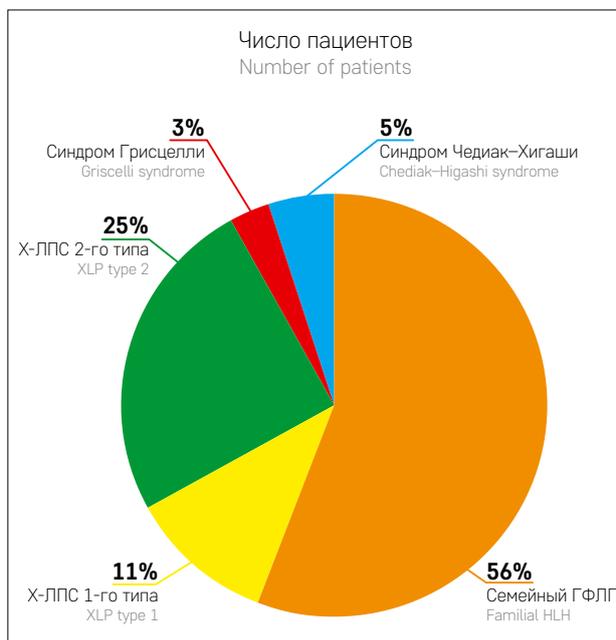


Таблица 3

Кондиционирование пациентов с ГФЛГ

Table 3

The conditioning regimens in patients with HLH

Режим кондиционирования (The conditioning regimens)	Число пациентов, n (Number of patients, n)
Треосульфат 36 или 42 мг/м ² + мелфалан 140 мг/м ² Treosulfan 36 or 42 g/m ² + Melphalan 140 mg/m ²	9
Треосульфат 36 или 42 мг/м ² + тиотепа 10 мг/кг Treosulfan 36 or 42 g/m ² + Thiotepa 10 mg/kg	18
Треосульфат 36 или 42 мг/м ² Treosulfan 36 or 42 g/m ²	9
Флударабин 150 мг/м ² Fludarabine 150 mg/m ²	36
Кроличий АТГ 5 мг/кг Rabbit ATG 5 mg/kg	34
Лошадиный АТГ 90 мг/кг Horse ATG 90 mg/kg	1
Алемтузумаб 1 мг/кг Alemtuzumab 1 mg/kg	1
Ритуксимаб 100 мг/м ² Rituximab 100 mg/m ²	32
Такролимус или циклоспорин А Tacrolimus or Cyclosporine A	27
Альтернативные режимы Alternative regimens	2
Без профилактики No prophylaxis	7

сроках (15-й день после ТГСК) до верификации приживления и возможности оценки функции трансплантата.

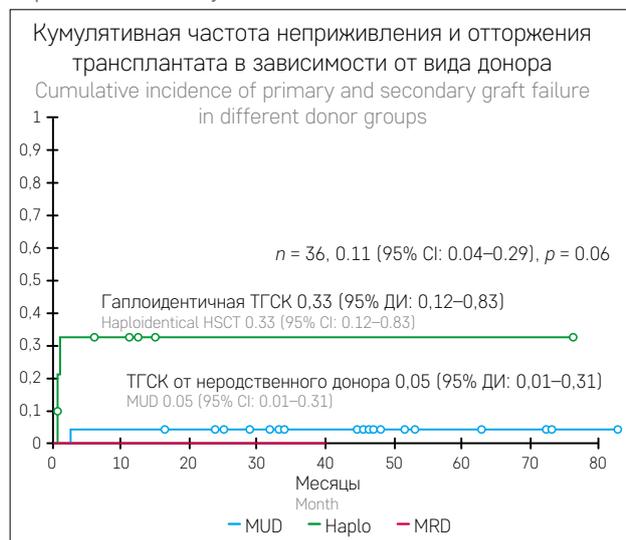
Кумулятивная вероятность первичного неприживления и отторжения трансплантата у 36 пациентов составила 0,11 (95% ДИ: 0,04–0,29), у пациентов после ТГСК от гаплоидентичных доноров –

Рисунок 2

Кумулятивная вероятность неприживления или отторжения трансплантата после ТГСК от неродственного ($n = 23$), родственного ($n = 3$) и гаплоидентичного родственного ($n = 10$) доноров

Figure 2

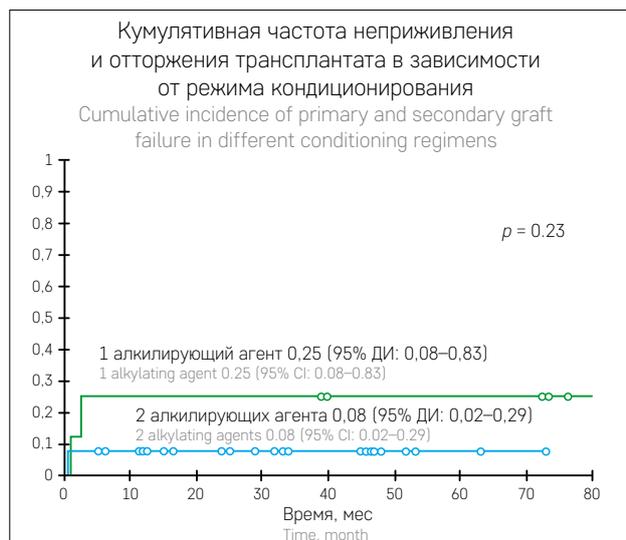
The cumulative incidence of primary and secondary graft failure after HSCT from matched unrelated donors (MUD; $n = 23$), matched related donor (MRD; $n = 3$), and haploidentical family ($n = 10$) donors

**Рисунок 3**

Кумулятивная вероятность первичного неприживления и отторжения трансплантата при использовании 1 (треосульфат, $n = 9$) и 2 (треосульфат + мелфалан/тиотепа, $n = 27$) алкилирующих агентов в кондиционировании

Figure 3

The cumulative incidence of primary and secondary graft failure after different conditioning regimens: two alkylating agents group (treosulfan + melphalan or thiotepa $n = 27$), one alkylating agent group (treosulfan, $n = 9$)



0,33 (95% ДИ: 0,12–0,83), после ТГСК от неродственных доноров – 0,05 (95% ДИ: 0,01–0,31), после ТГСК от полностью совместимых родственных доноров случаев отторжения и неприживления не зафиксировано, $p = 0,06$ (рисунок 2).

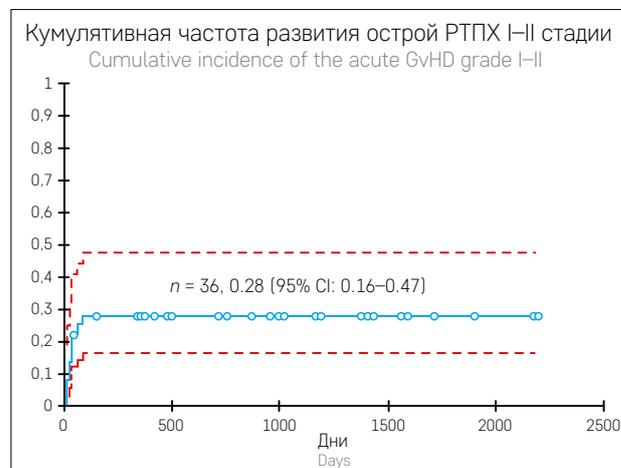
Частота неприживления или отторжения трансплантата при применении 2 алкилирующих агентов

Рисунок 4

Кумулятивная вероятность развития острой РТПХ I–II стадии у пациентов с ГФЛГ после ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплецией

Figure 4

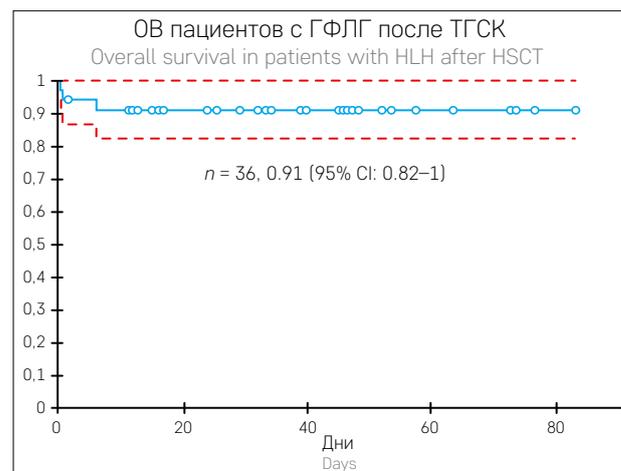
The cumulative incidence of acute “graft versus host” disease (GvHD) grade I–II in patients with HLH after HSCT with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion

**Рисунок 5**

ОВ пациентов с ГФЛГ после ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплецией

Figure 5

Overall survival in patients with HLH after HSCT with TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ graft depletion



составила 0,08 (95% ДИ: 0,02–0,29) против 0,25 (95% ДИ: 0,08–0,83) с 1 алкилирующим агентом $p = 0,23$ (рисунок 3).

Кумулятивная вероятность развития ЦМВ-вириемии составила 0,27 (95% ДИ 0,15–0,47), ЗБВ-вириемии – 0,06 (95% ДИ: 0,02–0,25).

Кумулятивная вероятность острой РТПХ I–II стадии составила 0,28 (95% ДИ: 0,16–0,47), у пациентов преимущественно отмечалось поражение кожи. РТПХ II стадии наблюдалась только у 2 (6%) пациентов, а случаев острой РТПХ III и IV стадии выявлено не было. Хроническая лимитированная РТПХ констатирована у 2 пациентов (рисунок 4).

ОВ среди всей группы пациентов достигла 0,91 (95% ДИ: 0,82–1) (рисунок 5). ОВ после ТГСК от

гаплоидентичного родственного донора составила 0,79 (95% ДИ: 0,52–1), после ТГСК от неродственного донора – 0,96 (95% ДИ: 0,87–1), а после ТГСК от совместимого родственного донора все пациенты живы, $p = 0,33$.

При применении в кондиционировании 2 алкилирующих агентов (треосульфат + тиотепа или мелфалан) ОВ составила 0,92 (95% ДИ: 0,82–1), у группы пациентов с 1 алкилирующим агентом (треосульфат) – 0,89 (95% ДИ: 0,68–1), $p = 0,75$.

Основной причиной смерти у всех 3 умерших пациентов являлась полиорганная недостаточность в результате инфекций, вызванных такими видами бактерий, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, на фоне гипофункции трансплантата. Два пациента умерли в раннем посттрансплантационном периоде (до +30-х суток после ТГСК) в связи с тяжелым инфекционным поражением на фоне аплазии кроветворения, 1 пациентка умерла через 6 мес после трансплантации вследствие инфекционных осложнений на фоне аплазии кроветворения, вызванной ЦМВ-инфекцией.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на наличие множества эффективных препаратов, позволяющих добиться ремиссии заболевания, единственным куративным методом для генетически обусловленного ГФЛГ является проведение аллогенной ТГСК.

Основными проблемами при проведении ТГСК у данной группы пациентов являются токсические осложнения, которые могут преобладать в зависимости от выбора кондиционирования, типа донора и подхода к процессингу трансплантата.

В нашем исследовании было оценено 36 пациентов с генетически обусловленными формами ГФЛГ, которым проведена аллогенная ТГСК с кондиционированием на основе треосульфата, а в качестве процессинга трансплантата выбрана TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплеция.

Приживление трансплантата констатировано у 92% пациентов, что соответствует результатам в нескольких других группах исследований, где данный показатель варьировал от 83 до 100% [20]. Медиана приживления лейкоцитарного ростка на +13-й день была аналогична исследованию A. Bertaina и соавт. [21] и лишь незначительно отличалась от результатов, опубликованных R. Shah [22], где медианой являлся +15-й день. Сроки приживления в данной когорте пациентов не отличались от сроков приживления во всей группе больных ПИД, трансплантированных в нашей клинике, что было опубликовано ранее в работе A. Laberko и соавт. [17].

Частоты развития РТПХ II–IV стадии и хронической РТПХ являются важными результатами оценки эффективности ТГСК. Применение TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ -деплеции в нашей работе значительно снизило риски РТПХ по сравнению с другими исследованиями, несмотря на большое число ТГСК от гаплоидентичных доноров. Частота РТПХ II стадии составила лишь 6% ($n = 2$), РТПХ III и IV стадии ни у одного пациента не зарегистрирована, а хроническая РТПХ выявлена у 2 больных. В работе C. Messina и соавт. [23] риск развития РТПХ > II стадии составил более 30%, в исследовании K. Vaker и соавт. [24] этот показатель превышал 40%. Применение посттрансплантационной схемы профилактики РТПХ не влияло на частоту ее возникновения, что коррелирует с данными, опубликованными ранее [17, 21].

Миелоаблативное кондиционирование на основе бусульфана долгое время считалось стандартом у пациентов с ГФЛГ. Снижение выживаемости пациентов, как правило, ассоциировалось с тяжелыми токсическими эффектами такого подхода. В работе R. Marsh и соавт. [25] впервые описано использование кондиционирования со сниженной интенсивностью у 26 пациентов на основе мелфалана – выживаемость возросла до 92%, но оцененная в дальнейшем бессобытийная выживаемость не превышала 70%, а среди пациентов с Х-ЛПС 2-го типа ОВ составила лишь 57%.

В нашем исследовании применялось кондиционирование на основе треосульфата, в некоторых случаях в сочетании со вторым алкилирующим препаратом. ОВ в исследуемой группе составила 91%, причем в группах с 1 и 2 алкиляторами эти результаты были схожи – 89% и 92% соответственно. В то же время частота первичного неприживления или отторжения трансплантата при использовании 1 алкилирующего агента (треосульфата) оказалась выше – 8% против 25%.

Высокая эффективность аналогичного подхода описана в работе K. Lehmberg и соавт. [26]. В исследование включены 19 пациентов, медиана наблюдения составила 16 мес, ОВ составила 100%, но у 2 (12,5%) из 16 больных констатировано отторжение трансплантата, у 6 – значительное снижение общего химеризма, в связи с чем использовались дополнительные технологии (в том числе инфузии донорских лимфоцитов) для восстановления функции трансплантата.

При сравнении с результатами протокола HLH-94 в исследовании H. Trottestam и соавт. [9] получены схожие данные о более высоком уровне ОВ при ТГСК от HLA-совместимого родственного (74%) и HLA-совместимого неродственного (76%) доноров в отличие

от частично совместимого родственного (61%) и гаплоидентичного родственного (43%) доноров [27]. Применение TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^-$ -деплеции по результатам проведенного нами анализа позволило увеличить ОВ во всех группах, а в случае ТГСК от гаплоидентичного родственного донора – почти в 2 раза (43% против 79%).

Трансплантационная смертность в нашей группе составила 8,3% ($n = 3$), что значительно ниже по сравнению с ранее опубликованными данными, где этот показатель достигал 50% [1, 9–11, 24]. Все 3 летальных исхода ассоциированы с инфекционными осложнениями.

По результатам нашего исследования при TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^-$ -деплеции вероятность реактивации ЦМВ не превышала 27%. В исследовании, опубликованном R. Rowe и соавт. [28], в качестве *in vivo* деплеции использовался алемтузумаб и частота реактивации достигала 42%. ЦМВ-виремия при применении алемтузумаба в кондиционировании у пациентов с ГФЛГ в исследовании R. Marsh и соавт. достигла 32% [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые технологии, увеличивающие безопасность кондиционирования, а также современные методы подготовки трансплантата, безусловно, способствуют улучшению выживаемости пациентов после ТГСК. Одной из наиболее серьезных проблем аллогенной ТГСК является высокий риск трансплантационной смертности и развития тяжелой РТПХ. Внедрение технологии TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^-$ -деплеции трансплантата достаточно эффективно помогает контролировать эти проблемы, в том числе у пациентов с различными формами ГФЛГ.

Первичное неприживление и отторжение трансплантата в нашем исследовании остается не до конца решенным вопросом, в первую очередь для пациентов с Х-ЛПС 2-го типа, трансплантируемых от гаплоидентичных родственных доноров.

Одной из наиболее значимых проблем в нашем исследовании являются вирусные осложнения. Высокая частота ЦМВ является аргументом для отработки новых методов ее профилактики и лечения после ТГСК. В настоящее время активно исследуются технологии использования клеточных препаратов, полученных с помощью культивации или селекции Т-клеток со специфическими узконаправленными патогенспецифическими характеристиками [29–31].

Эффективность и безопасность ТГСК при ГФЛГ на платформе иммуномагнитной TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^-$ -деплеции от альтернативных, в том числе гаплоидентичных, доноров открывает новые перспективы для пациентов. Важным аргументом в пользу развития технологий гаплоидентичной ТГСК является неотложная доступность такого донора для повторных донаций, нередко необходимых для посттрансплантационной клеточной терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Kantulaeva A.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5962-1264>
Balashov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>
Gutovskaya E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3800-8927>
Kozlovskaya S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1754-1220>
Radygina S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7696-1153>
Laberko A.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2354-2588>
Livshits A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8545-0507>
Shelikhova L.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Литература

- Henter J.I., Horne A., Aricó M., Egeler R.M., Filipovich A.H., Imashuku S., et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48 (2): 124–31. DOI: 10.1002/pbc.21039
- Janka G.E., Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes – an update. *Blood Rev* 2014; 28 (4): 135–42. DOI: 10.1016/j.blre.2014.03.002
- Ehl S., de Saint Basile G. Chapter 20 – Genetic Diseases Predisposing to HLH. Sullivan K.E., Stiehm E.R., eds. *Stiehm's Immune Deficiencies*, Academic Press; 2014: 437–60.
- George M.R. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: review of etiologies and management. *J Blood Med* 2014; 5: 69–86.
- Janka G.E., Lehmborg K. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: pathogenesis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013; 2013: 605–11.
- Rosado F.G., Kim A.S. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol* 2013; 139 (6): 713–27.
- Fischer A., Cerf-Bensussan N., Blanche S., Le Deist F., Bremard-Oury C., Leverger G., et al. Allogeneic bone marrow transplantation for erythrophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr* 1986; 108 (2): 267–70.

- DOI: 10.1016/s0022-3476(86)81002-2
8. Méresse V., Hartmann O., Vassal G., Benhamou E., Valteau-Couanet D., Brugieres L., Lemerle J., et al. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease after high-dose busulfan-containing regimens followed by autologous bone marrow transplantation: a study in 136 children. *Bone Marrow Transplant* 1992; 10 (2): 135–41.
 9. Trottestam H., Horne A., Aricò M., Egeler R.M., Filipovich A.H., Gadner H., et al. Chemoimmunotherapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis: long-term results of the HLH-94 treatment protocol. *Blood* 2011; 118 (7): 4577–84. DOI: 10.1182/blood-2011-06-356261
 10. Ouachée-Chardin M., Elie C., de Saint Basile G., LeDeist F., Mahlaoui N., Picard C., et al. Hematopoietic stem cell transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis: a single-center report of 48 patients. *Pediatrics* 2006; 117 (4): e743–50. DOI: 10.1542/peds.2005-1789
 11. Cooper N., Rao K., Gilmour K., Hadad L., Adams S., Cale C. et al. Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2006; 107 (3): 1233–6. DOI: 10.1182/blood-2005-05-1819
 12. Allen C.E., Marsh R., Shenoy S., Eapen M., Pulsipher M.A.; Reduced-intensity conditioning for hematopoietic cell transplant for HLH and primary immune deficiencies. *Blood* 2018; 132 (13): 1438–51.
 13. Handgretinger R., Zugmaier G., Henze G., Kreyenberg H., Lang P., von Stackelberg A. Complete remission after blinatumomab-induced donor T-cell activation in three pediatric patients with post-transplant relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2011; 25 (1): 181–4.
 14. Vantourout P., Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of $\gamma\delta$ T cells to immunology. *Nat Rev Immunol* 2013; 13 (2): 88–100.
 15. Lynch B.A., Vasef M.A., Comito M., Gilman A.L., Lee N., Ritchie J., et al. Effect of *in vivo* lymphocyte-depleting strategies on development of lymphoproliferative disorders in children post allogeneic bone marrow transplantation *Bone Marrow Transplant* 2003; 32 (5): 527–33. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704159
 16. Lang P., Teltschik H.M., Feuchtinger T., Müller I., Pfeiffer M., Schumm M., et al. Transplantation of CD3/CD19 depleted allografts from haploidentical family donors in paediatric leukaemia. *Br J Haematol* 2014; 165 (5): 688–98.
 17. Laberko A., Sultanova E., Maschan M., Maschan A., Balashov D. Mismatched related vs matched unrelated donors in TCR $\alpha\beta$ /CD19-depleted HSCT for primary immunodeficiencies. *Blood* 2019; 134 (20): 1755–63.
 18. Carreras E., Dufour C., Mohty M., Kröger N., eds. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019.
 19. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., Thomas E.D. 1994 consensus conference on AGvHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 825–8.
 20. Cooper N., Rao K., Gilmour K., Hadad L., Adams S., Cale C., et al. Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2006; 107 (3): 1233–6. DOI: 10.1182/blood-2005-05-1819
 21. Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., et al. HLA haploidentical stem cell transplantation after removal of alpha beta 1 T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood* 2014; 124: 822–6.
 22. Shah R.M., Elfeky R., Nademi Z., Qasim W., Amroliya P., Chiesa R., et al. T-cell receptor $\alpha\beta$ (+) and CD19(+) cell-depleted haploidentical and mismatched hematopoietic stem cell transplantation in primary immune deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141 (4): 1417–26.e1.
 23. Messina C., Zecca M., Fagioli F., Rovelli A., Prete A., Locatelli F. Outcomes of Children with Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Given Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Italy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24 (6): 1223–31.
 24. Baker K.S., Filipovich A.H., Gross T.G., Grossman W.J., Hale G.A., Hayashi R.J., et al. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42 (3): 175–80. DOI: 10.1038/bmt.2008.133
 25. Marsh R.A., Allen C.E., McClain K.L., Weinstein J.L., Kanter J., Skiles J., Jordan M.B. Salvage therapy of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis with alemtuzumab. *Pediatric Blood Cancer* 2012; 60 (1): 101–9.
 26. Lehmborg K., Albert M.H., Beier R., Schulz A., Stachel D., Woessmann W., et al. Treosulfan-based conditioning regimen for children and adolescents with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica* 2014; 99 (1): 180–4.
 27. Henter J.I., Samuelsson-Horne A., Arico M., Egeler R.M., Elinder G., Filipovich A.H., et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation. *Blood* 2002; 100 (7): 2367–73. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0172
 28. Rowe R.G., Guo D., Lee M., Margossian S., London W.B., Lehmann L. Cytomegalovirus Infection in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors for Primary Infection and Cases of Recurrent and Late Infection at a Single Center. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (7): 1275–83.
 29. Богоявленская А.А., Лаберко А.Л., Шелихова Л.Н. Герпесвирусные инфекции у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с TCR $\alpha\beta$ и CD19 деплецией: факторы риска и прогноз. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017; 16 (1): 10–21.
 30. Балашов Д.Н., Трахтман П.Е., Скоробогатова Е.В., Скворцова Ю.В., Шпилицына И.П., Масчан А.А. Факторы риска цитомегаловирусной инфекции у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Онкогематология* 2010; 4: 20–6.
 31. Благов С.Л., Шелихова Л.Н., Балашов Д.Н. Применение профилактических инфузий CD45RA-деплементированных донорских лимфоцитов у пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток с TCR $\alpha\beta$ - и CD19-деплецией по поводу заболеваний незлокачественной природы. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (3): 9–21.