

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 13.04.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

Безопасность и эффективность инфузий донорских лимфоцитов памяти после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток на платформе деплеции $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов у детей с острыми лейкозами

М.А. Дунайкина, Л.Н. Шелихова, Ж.Б. Шеховцова, С.Ю. Глушкова, Р.В. Николаев, С.Л. Благов, Р.Д. Хисматуллина, Д.Н. Балашов, Ю.В. Скворцова, Е.Е. Курникова, Д.Е. Першин, В.А. Зубаченко, Я.О. Музалевский, А.С. Казаченок, Е.Ю. Осипова, М.А. Масчан

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

Контактная информация:

Масчан Михаил Александрович,
д-р мед. наук, заместитель генерального
директора – директор Института
молекулярной и экспериментальной
медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: Michael.Maschan@fcocho-moscow.ru

Деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов предотвращает реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ), не нарушает приживление трансплантата и улучшает исходы трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от гаплоидентичных доноров. Инфузии Т-лимфоцитов памяти (CD45RA-деплементированных) способны переносить функциональный иммунитет к распространенным патогенам. В рандомизированном исследовании мы изучили безопасность и эффективность инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) памяти у детей с лейкозом после ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование включены 149 пациентов, 76 рандомизированы в группу ИДЛ, 73 – в контрольную группу. Доноры были гаплоидентичными родственными в 91% случаев. Миелоаблативное кондиционирование включало треоосульфам или тотальное облучение тела (TOT). Антитимоцитарный глобулин (АТГ) был исключен из состава кондиционирования, вместо него применяли комбинацию абатацепта и тоцилизумаба. Процессинг трансплантата включал TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплецию. Основными параметрами оценки были кумулятивный риск детекции ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) и кумулятивный риск РТПХ II–IV стадии. Дополнительными параметрами оценки являлись кумулятивный риск трансплантационной смертности, кумулятивный риск рецидива, общая и бессобытийная выживаемость, а также показатели восстановления иммунной системы. Группа исторического контроля была использована для сравнения основных исходов ТГСК при применении АТГ и альтернативной схемы иммуномодуляции (абатацепт и тоцилизумаб). Кумулятивный риск РТПХ II–IV стадии составил 14% в экспериментальной группе и 12% в контрольной группе ($p = 0,8$). Кумулятивный риск ЦМВ-виремии составил 45% в экспериментальной группе и 55% в контрольной группе ($p = 0,4$). В исследуемой когорте трансплантационная смертность, кумулятивный риск рецидива и общая выживаемость составили 2%, 25% и 80% соответственно без статистически достоверных различий между рукавами исследования. Выявлен тренд к увеличению доли пациентов, сформировавших иммунный ответ к ЦМВ на ранних сроках после ТГСК в экспериментальной группе. Замена АТГ на тоцилизумаб и абатацепт не сопровождалась повышением частоты РТПХ и недостаточности трансплантата и была ассоциирована с достоверным снижением трансплантационной смертности (2% против 13%, $p = 0,002$) и улучшением показателей восстановления иммунной системы на ранних сроках после ТГСК. Профилактические инфузии донорских лимфоцитов памяти безопасны и могут быть использованы для дальнейшей оптимизации результатов ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции.

Ключевые слова: реакция «трансплантат против хозяина», трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, инфузия донорских лимфоцитов

Дунайкина М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 12–28. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

The safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions after hematopoietic stem cell transplantation with $\alpha\beta$ T cell depletion platform in children with acute leukemia

M.A. Dunaykina, L.N. Shelikhova, Zh.B. Shekhovtsova, S.Yu. Glushkova, R.V. Nikolayev, S.L. Blagov, R.D. Khismatullina, D.N. Balashov, Yu.V. Skvortsova, E.E. Kurnikova, D.E. Pershin, V.A. Zubachenko, Ya.O. Muzalevsky, A.S. Kazachyonok, E.Yu. Osipova, M.A. Maschan

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

T-cell $\alpha\beta$ depletion prevents "graft-versus-host" disease (GVHD), does not impair engraftment, and improves the outcomes of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from a haploidentical donor. Memory T lymphocyte infusions (CD45RA-depleted) can transfer functional immunity to common pathogens to recipients. In a randomized study, we explored the safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions (DLI) in children with leukemia after HSCT with $\alpha\beta$ T cell depletion platform. 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 of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. A total of 149 patients were enrolled in the study; 76 patients were randomly assigned to the DLI group and 73 patients were allocated to the control group. Donors were haploidentical related in 91% of cases. The myeloablative conditioning regimen included treosulfan and total body irradiation. Anti-thymocyte globulin (ATG) was excluded from the conditioning regimen, instead, we used a combination of abatacept and tocilizumab. Graft processing involved TCR $\alpha\beta$ -/CD19-depletion. The main parameters of assessment included the cumulative risk of detection of cytomegalovirus (CMV) DNA and the cumulative risk of grade II-IV GVHD. The additional parameters of assessment were the cumulative risk of transplant-related mortality, the cumulative risk of relapse, the overall and event-free survival rates, and the parameters of immune recovery. A historical control group was used to compare the primary outcomes of HSCT with ATG and an alternative immunomodulatory regimen (abatacept and tocilizumab). The cumulative risk of grade II-IV GVHD was 14% in the experimental group and 12% in the control group ($p = 0.8$). The cumulative risk of CMV viremia was 45% and 55% in the experimental and control groups, respectively ($p = 0.4$). In the prospective cohort, the rates of transplant-related mortality, the cumulative risk of relapse, and the overall survival were 2%, 25%, and 80%, respectively, without statistical difference between the arms. In the experimental group, we noticed a tendency toward an increase in the proportion of patients who developed an immune response to CMV in the early post-HSCT period. The substitution of ATG with tocilizumab and abatacept was not accompanied by a higher incidence of GVHD or graft failure; it was associated with significantly lower transplant-related mortality rates (2% vs 13%, $p = 0.002$) and improved immune recovery in the early post-HSCT period. Prophylactic infusions of donor memory lymphocytes are safe and may be used for further improvement in the results of HSCT with $\alpha\beta$ T cell depletion platform.

Key words: "graft-versus-host" disease, hematopoietic stem cell transplantation, T cell $\alpha\beta$ depletion, donor lymphocyte infusion

Dunaykina M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 12–28.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

Деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов является новым методом обработки трансплантата, который все чаще используется в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у детей при ТГСК от гаплоидентичных и совместимых доноров [1–7]. Этот тип обработки трансплантата обеспечивает быстрое приживление, низкую частоту клинически значимой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и достаточную противоопухолевую активность. Несмотря на минимальную фармакологическую иммуносупрессию после приживления трансплантата, восстановление адаптивного иммунитета в течение первых месяцев после ТГСК задерживается и основано на олигоклональной экспансии небольшого количества клонов Т-клеток, перенесенных в составе первичного трансплантата [8]. Мы предложили использовать низкую дозу донорских лимфоцитов памяти (CD45RA-деплементированных) для улучшения восстановления патоген-специфического иммунитета после $\alpha\beta$ -Т-деплементированной ТГСК и показали, что эти инфузии безопасны и эффективно переносят функциональный и стойкий вирус-специфический иммунный ответ [9]. Из-за типичной кинетики ранней реактивации цитомегаловируса (ЦМВ) инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) памяти после приживления не способны предотвратить ЦМВ-виремию. Для непосредственного исследования безопасности и эффективности ИДЛ памяти мы инициировали

проспективное рандомизированное одноцентровое клиническое исследование и представляем в настоящей работе окончательный анализ основных конечных точек. Для оценки эффективности ИДЛ памяти в формате ко-инфузии с первичным трансплантатом мы разработали специальный протокол кондиционирования и профилактики РТПХ, отказались от использования поликлональной серотерапии антитимоцитарным глобулином (АТГ), который является стандартным компонентом большинства протоколов ТГСК с $\alpha\beta$ -Т-деплецией. Чрезвычайная вариабельность фармакокинетики АТГ в противном случае создала бы неравные условия для ограниченного количества перенесенных донорских Т-клеток памяти и исключила бы адекватную оценку основных конечных точек. Для целей этого исследования на основе нашего предыдущего опыта и опубликованных данных кроличий АТГ был заменен на комбинацию антагониста интерлейкина-6 (тоцилизумаб) и блокатора ко-стимуляторного взаимодействия CD28-CD80/86 (абатацепт) [10–12]. Мы представляем дополнительный анализ раннего восстановления иммунитета и ключевых клинических исходов в когорте проспективного исследования в сравнении с недавней исторической когортой пациентов, которые были трансплантированы со стандартным кроличьим АТГ в составе идентичного режима ТГСК.

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 23.03.2021

Accepted 13.04.2021

Correspondence:

Michael A. Maschan,
dr. med. sci., Deputy Director General –
Director of the Institute of Molecular
and Experimental Medicine, Dmitry
Rogachev National Medical Research
Center of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: Michael.Maschan@fccho-moscow.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение периода исследования, с сентября 2016 г. по август 2019 г., 174 ребенка с гематологическими злокачественными новообразованиями высокого риска и установленными показаниями к

ТГСК были проверены, 149 вошли в исследование на основе predetermined критериев включения. Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) высокого риска и острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) составили 85% показаний к ТГСК. Подробные характеристики когорты представлены в *таблице 1*. Режимы кондиционирования были интенсивными – на основе

Таблица 1

Характеристики когорты (пациенты, доноры, состав трансплантата, режимы кондиционирования, режимы профилактики РТПХ)

Table 1

The characteristics of the cohort (patients, donors, composition of the graft, conditioning regimens, GVHD prophylaxis)

Переменная Variable	ИДЛ+ (экспериментальная группа; n = 76) DLI+ (experimental group; n = 76)	ИДЛ- (контрольная группа; n = 73) DLI- (control group; n = 73)	p-критерий p-value	Проспективная когорта (АТГ-; n = 149) Prospective cohort (ATG-; n = 149)	Исторический контроль (АТГ+; n = 108) Historical control (ATG+; n = 108)	p-критерий p-value
1	2	3	4	5	6	7
Возраст пациентов, годы, медиана (диапазон) Patient age, years, median (range)	8,6 (0,5–18)	8,6 (0,7–18)	0,90	8,6 (0,5–18)	9,1 (0,4–21,4)	0,80
Пол пациентов, мужской:женский Patient gender, male:female	1,5:1	1,5:1	0,90	1,5:1	1,4:1	0,79
ЦМВ IgG пациентов перед ТГСК, n (%): Anti-CMV-IgG in the patients before HSCT, n (%):						
IgG+	57 (75)	56 (77)		113 (76)	78 (72)	
IgG-	17(22)	16 (22)	0,80	33 (22)	30 (28)	0,21
IgG неизвестен IgG unknown	2 (3)	1 (1)		3 (2)	0	
Диагноз Diagnosis						
Острый лейкоз, n (%) Acute leukemia, n (%)	71 (93)	65 (89)	0,34	136 (91)	99 (92)	0,90
ОМЛ CR, n (%) AML CR, n (%)	17 (22)	9 (12)	0,10	26 (17)	47 (44)	< 0,0001
ОМЛ AD, n (%) AML AD, n (%)	5 (6.5)	4 (5)	ns	9 (6)	9 (8)	0,48
ОЛЛ, n (%) ALL, n (%)	43(55)	48 (67)	0,14	91 (61)	40 (37)	0,00024
ОЛЛ МОБ+, n (%) ALL MRD+, n (%)	11 (26)	7 (15)	0,18	72 (78)	18 (67)*	0,19
ОЛЛ МОБ-, n (%) ALL MRD-, n (%)	32 (74)	41 (85)		19 (22)	9 (33)*	
ОЛЛ МОБ неизвестна, n (%) ALL MRD unknown, n (%)	0	0		0	13 (33)**	
Другие злокачественные заболевания#, n (%) Other malignancies#, n (%)	12 (16)	11 (15)	0,90	23 (15)	12 (8)	0,09
ТГСК 1, n (%) HSCT 1, n (%)	76 (100)	73 (100)	1,00	149 (100)	96 (89)	< 0,0001
Кондиционирование и профилактика РТПХ Conditioning and GVHD prophylaxis						
ТОТ, n (%) TBI, n (%)	36 (47)	48 (66)	0,024	84 (56)	27 (25)	< 0,0001
Тресоульфан, n (%) Treosulfan, n (%)	40 (53)	25 (34)	0,024	65 (44)	81 (75)	< 0,0001
ОЛЛ с ТОТ, n (%) ALL with TBI, n (%)	29 (38)	40 (55)	0,30	69 (46)	25 (23)	< 0,0001
Бортезомиб, n (%) Bortezomib, n (%)	71 (93)	64 (87)	0,30	135 (91)	100 (93)	0,66
Кроличий АТГ, n (%) Rabbit ATG, n (%)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	108 (100)	< 0,0001
Абатацепт и тоцилизумаб, n (%) Abatacept and tocilizumab, n (%)	76 (100)	73 (100)	1	149 (100)	0	< 0,0001
Доноры Donors						
Возраст, годы, медиана (диапазон) Age, years, median (range)	34 (7–52)	35 (17–51)	0,70	34 (7–52)	31 (2–55)	0,001
ЦМВ IgG+, n (%) CMV IgG+, n (%)	76 (100)	73(100)	1,00	149 (100)	95 (88)	< 0,0001
Гаплоидентичные, n (%) Haploidentical, n (%)	69 (91)	68 (93)	0,60	137 (92)	78 (72)	< 0,0001

1	2	3	4	5	6	7
Совместимые неродственные, n (%) Matched unrelated, n (%)	6 (8)	2 (3)	0,16	8 (5)	28 (26)	< 0,0001
Совместимые родственные, n (%) Matched related, n (%)	1 (1)	3 (4)	0,30	5 (3)	2 (2)	0,80
Трансплантат Graft						
CD34, × 10 ⁶ /кг CD34, × 10 ⁶ /kg	9 (4–14)	9 (4–15)	0,90	9 (4–15)	8 (3–17)	0,30
αβ-T-лимфоциты, × 10 ³ /кг αβ-T cells, × 10 ³ /kg	28 (0,9–361)	32 (2–103)	0,048	29 (0,9–361)	13,9 (0,2–264)	0,004
ИДЛ памяти после приживления DLI after engraftment	64 (84)	9 (12)	< 0,0001	73 (49)	75 (69)	0,001
Время наблюдения, годы, медиана (диапазон) Follow-up time, years, median (range)	2 (0,7–3,5)	1,9 (0,6–3,4)	0,15	2 (0,6–3,5)	4,6 (2,7–6,2)	< 0,0001

Примечание. * – % от пациентов с известной минимальной остаточной болезнью (МОБ); ** – % от пациентов с ОЛЛ; AD – active disease – отсутствие морфологической ремиссии на момент начала кондиционирования; # – неходжкинские лимфомы (n = 11), острый билинейный лейкоз (n = 7) (включен в группу острых лейкозов), миелодиспластический синдром (n = 1), хронический эозинофильный лейкоз (n = 1).
Notes. GVHD – “graft-versus-host” disease; * – % of all patients with MRD; ** – % of all patients with ALL; AML – acute myeloid leukemia; ALL – acute lymphoblastic leukemia; MRD – minimal residual disease; HSCt – hematopoietic stem cell transplantation; TBI – total body irradiation; ATG – antithymocyte globulin; CMV – cytomegalovirus; DLI – donor memory T lymphocyte infusion; AD – active disease – the lack of morphologic remission at the start of conditioning; # – non-Hodgkin lymphomas (n = 11), acute bilineal leukemia (n = 7) (included in the acute leukemia group), myelodysplastic syndrome (n = 1), chronic eosinophilic leukemia (n = 1).

фракционированного ТОТ в суммарной дозе 12 Гр (n = 84) или треосульфана в тотальной дозе 42 г/м² (n = 65). Пациенты получали также тиотепу в дозе 10 мг/кг и флударабин в дозе 150 мг/м². Стандартный кроличий АТГ был исключен из состава кондиционирования. Фармакологическая профилактика РТПХ включала тоцилизумаб внутривенно (в/в) в дозе 8 мг/кг (максимум 800 мг) в день –1, абатацепт в/в в дозе 10 мг/кг в дни –1, +7, +14 и +28 от ТГСК, бортезомиб в дозе 1,3 мг/м² в дни –5, –2, +2 и +5 и ритуксимаб в дозе 100 мг/м² в день –1. Среди 149 доноров 137 (92%) были представлены гаплоидентичными родителями и 12 – совместимыми неродственными или родственными донорами. Для подготовки трансплантата гемопоэтических стволовых клеток и донорских лимфоцитов памяти доноры были мобилизованы гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (и плериксафором в 49 случаях). Аферез мононуклеарной фракции периферической крови был выполнен с целевым сбором 10 × 10⁶ CD34⁺ клеток/кг массы тела реципиента. Продукт афереза был разделен на 2 части: 9/10 афереза была подвергнута иммуномагнитной деплеции αβ-T-клеток и CD19⁺ В-клеток; 1/10 афереза – иммуномагнитной деплеции CD45RA⁺ фракции. Гемопоэтический трансплантат был перелит реципиенту в день 0 и содержал медиану 9 (4–15) × 10⁶ CD34⁺-клеток/кг и 29 (9–361) × 10³ αβ-T-клеток/кг.

Рандомизация и распределение лечения

После включения в исследование больные были рандомизированы в 2 группы в соотношении 1:1 в соответствии с генератором случайных чисел, пациенты в экспериментальной группе получали ИДЛ памяти в день 0 в дозе 25 × 10³/кг по CD3 (CD45RO) и ежемесячные ИДЛ памяти в дни +30, +60, +90 и +120 в дозе 50 × 10³/кг CD3 (CD45RO) клеток/кг. Группа контроля получала стандартную поддерживающую

терапию. Пациентам с очень высоким риском рецидива или с плохим контролем оппортунистической инфекции разрешалось получать ИДЛ памяти после приживления трансплантата по усмотрению лечащего врача, независимо от рандомизации. Семьдесят шесть пациентов были рандомизированы в экспериментальный рукав и 73 – в контрольный рукав. Все пациенты в экспериментальной группе получили ИДЛ памяти на день 0, запланированные ИДЛ памяти после приживления были пропущены в 29 случаях, медианное число ИДЛ памяти составило 4 (1–5). В контрольной группе 9 пациентов получили ИДЛ памяти после приживления из-за высокой опухолевой массы перед ТГСК (n = 6) или плохого контроля инфекции (n = 3). Диаграмма consort представляет распределение пациентов в группах (рисунок 1А). Общий дизайн исследования отображен на рисунке 1Б.

Контроль вирусных инфекций осуществлялся на основе упреждающей стратегии, как описано ранее [9, 13]. ДНК ЦМВ, вируса Эпштейна–Барр (ЭБВ), вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) и аденовируса (АДВ) еженедельно отслеживались при помощи количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в плазме до 120-го дня. Обнаружение 500 копий генома ЦМВ в 1 мл было триггером для упреждающей терапии с помощью ганцикловира или фоскавира до 2 последовательных отрицательных тестов. При обнаружении ЦМВ-виремии все пациенты проходили систематическое офтальмологическое обследование с флуоресцеином для выявления признаков ретинита. При выявлении ЭБВ-виремии более 10 000 копий/мл в течение более 2 нед проводилась терапия ритуксимабом. АДВ лечили цидофовиrom при выявлении любого уровня ДНК данной инфекции в плазме или клинически манифестная АДВ-инфекция была подтверждена с помощью ПЦР или иммуногистохимического исследования в соответстви-

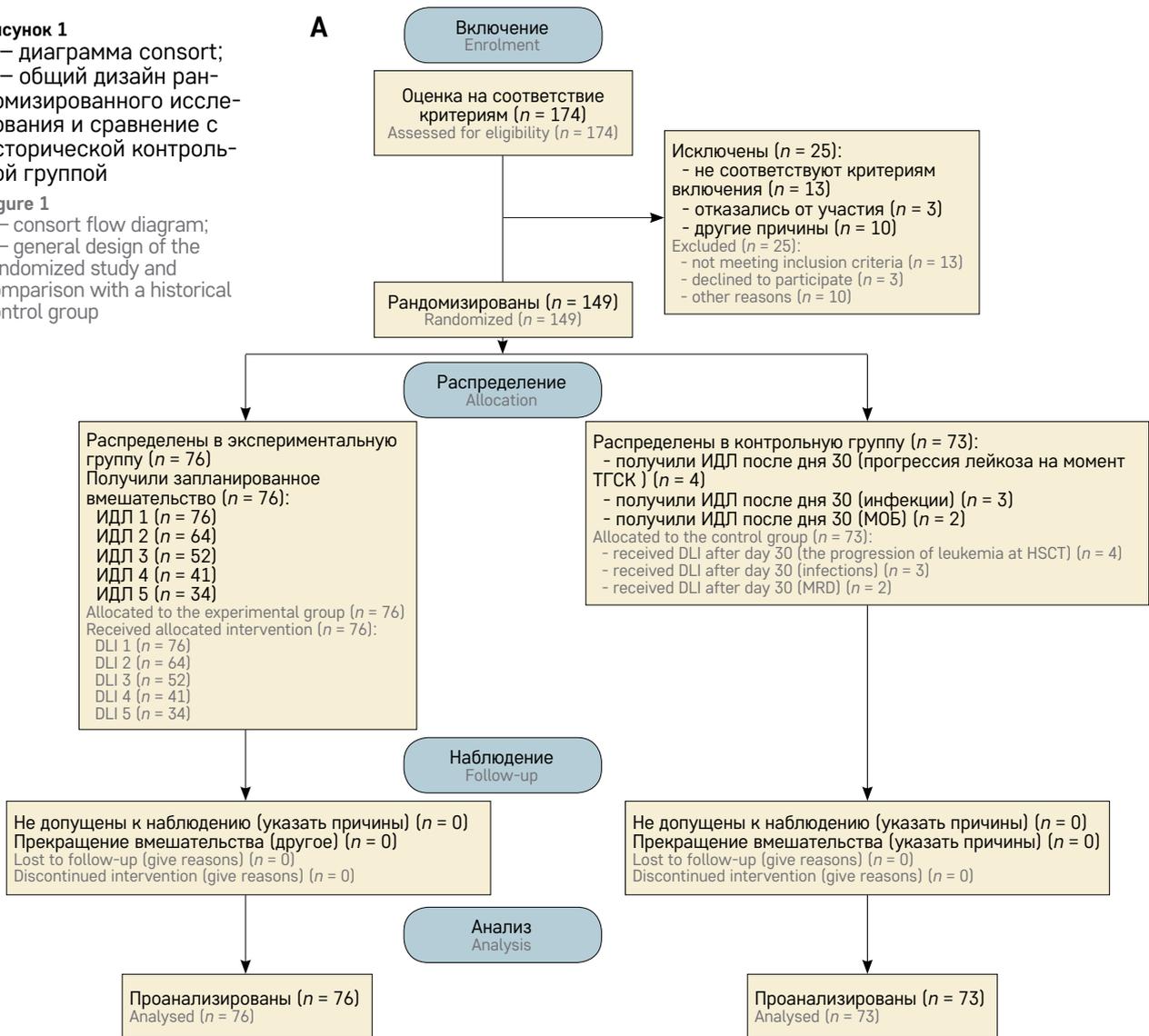
Рисунок 1

А – диаграмма consort;
Б – общий дизайн ран-
домизированного иссле-
дования и сравнение с
исторической контроль-
ной группой

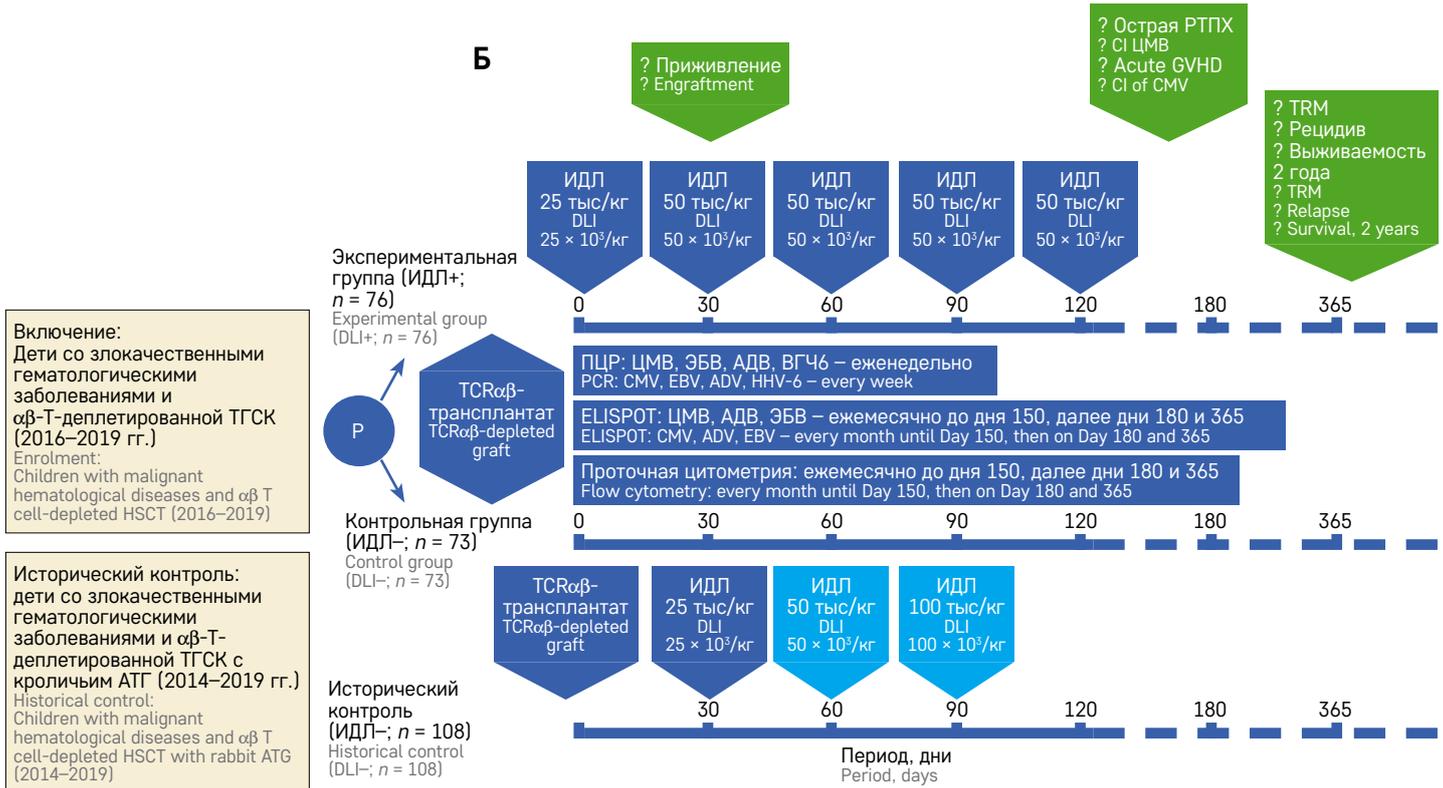
Figure 1

А – flow diagram;
Б – general design of the
randomized study and
comparison with a historical
control group

А



Б



ющем субстрате. Вирусная болезнь определялась как признаки или симптомы инфекции, подтвержденные методом ПЦР или иммуногистохимически в ткани субстрата. Мониторинг основных субпопуляций лимфоцитов проводился с помощью проточной цитометрии, а оценка патоген-специфичных иммунных реакций – методом ИФН- γ ELISPOT.

В качестве первичных конечных точек проспективного рандомизированного исследования были выбраны кумулятивный риск (CI) острой РТПХ II–IV стадии, классификация в соответствии с критериями Сизтла и CI ЦМВ-виремии, для обеих конечных точек время наблюдения ограничено днем +150 после ТГСК. Диагноз РТПХ был гистологически верифицирован и стадирован в соответствии со стандартными рекомендациями [14, 15]. В качестве вторичных конечных точек были выбраны: доля пациентов с восстановлением вирус-специфичного иммунитета (ЦМВ, АДВ и ЭБВ) на основании ежемесячного анализа методом ИФН- γ ELISPOT, общее количественное восстановление основных субпопуляций лимфоцитов, CI смертности, связанной с процедурой трансплантации (TRM), CI рецидива лейкемии, общая (OB) и бессобытийная (BCV) выживаемость. Анализ рандомизированной когорты был проведен в соответствии с принципом intent-to-treat.

Режим профилактики РТПХ, используемый в когорте проспективного исследования, значительно отличался от нашего предыдущего опыта с точки зрения применения поликлональной серотерапии. Исследование в когорте пациентов с рефрактерным ОМЛ показало, что замена АТГ на тоцилизумаб и абатацепт не ставит под угрозу приживание и контроль РТПХ среди получателей $\alpha\beta$ -Т-деплецированных трансплантатов. Для дальнейшего изучения последствий отказа от использования АТГ мы сравнили избранные ключевые исходы: острую РТПХ, TRM, CI рецидива и количественные показатели восстановления иммунной системы между проспективной когортой и группой исторического контроля. Группа исторического контроля была выбрана из проспективно собранной педиатрической базы данных ТГСК, выполненных в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, на основе следующих критериев: $\alpha\beta$ -Т-деплегция как метод обработки трансплантата, гемобластоз в качестве основного показания к ТГСК, использование кроличьего АТГ (Genzyme) в качестве серотерапии и отсутствие посттрансплантационной иммуносупрессивной терапии, за исключением препарата бортезомиб. Применяемые режимы кондиционирования и общая сопроводительная терапия были идентичны режимам в проспективной когорте. В группу исторического контроля были включены 108 пациентов, трансплантированных в период с января 2014 г. по июль 2017 г. Подробная характеристика группы исто-

рического контроля и сравнение основных характеристик между проспективной и исторической когортами обобщены в *таблице 1*.

Статистика

Рецидив, смерть от любой причины и неприживание считались событиями при оценке БСВ. U-тест Манна–Уитни, хи-квадрат и точный тест Фишера были использованы для группового сравнения и анализа таблиц сопряжения. TRM и CI рецидива рассматривались как конкурирующие риски, тест Fine–Gray был использован для сравнения групп. Выживаемость оценивалась тестом Каплана–Майера, тест log-rank был использован для сравнения групп. Для расчета выживаемости и CI живые пациенты были цензурированы на 28.04.2020, медиана наблюдения для выживших составила 2 года в проспективной когорте и 4 года в когорте исторического контроля. Для анализа был использован программный пакет XLSTAT (Addinsoft, Париж). Исследование поддержано решением ученого совета и одобрено локальным этическим комитетом и экспертной комиссией НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и зарегистрировано под номером NCT02942173 в clinicaltrials.gov.

Анализ эффекта был основан на принципе intent-to-treat (все участники, перенесшие рандомизацию, были включены). Расчет размера выборки был основан на альтернативной гипотезе (односторонней), что разница в кумулятивной частоте ЦМВ-реактивации между группами сравнения будет больше 25% при 80% мощности и 95% доверительном интервале (ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приживание

Один пациент в проспективной когорте умер до приживания. В 146 случаях было зарегистрировано первичное приживание, а медиана интервала до приживания нейтрофилов и тромбоцитов составила 11 (7–24) дней и 13 (10–33) дней соответственно. По одному случаю первичной недостаточности трансплантата было зарегистрировано в каждом рукаве исследования, оба пациента были успешно повторно трансплантированы. CI гемопоэтического приживания составил 98% (95% ДИ 96–100), со значениями 99% в экспериментальной группе и 97% в контроле. Случаев вторичной недостаточности трансплантата не было. Полный донорский химеризм был достигнут к дню +30 во всех случаях (*таблица 2*).

Реакция «трансплантат против хозяина»

Был диагностирован 21 случай острой РТПХ II–IV стадии: 11 случаев в экспериментальном рукаве и 10 – в контрольном. CI острой РТПХ II–IV стадии

Таблица 2
Одновариантный анализ основных исходов

Table 2
A univariate analysis of primary outcomes

Переменная Variable	Рукава проспективной когорты Arms of the prospective cohort					Проспективная группа против исторического контроля The prospective group versus the historical control				
	ИДЛ+ (экспериментальная группа; n = 76) DLI+ (experimental group; n = 76)		ИДЛ- (контрольная группа; n = 73) DLI- (control group; n = 73)		p-критерий p-value	Проспективная когорта (АТГ-; n = 149) Prospective cohort (ATG-; n = 149)		Историческая когорта (АТГ+; n = 108) Historical cohort (ATG+; n = 108)		p-критерий p-value
Кумулятивная вероятность Cumulative probability	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n		95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	
Приживление, день +30 Engraftment, day +30	99 (96–100)	75	97 (94–100)	71	0,18	98 (95–100)	146	98 (94–100)	103	0,50
Острая РТПХ, стадия II–IV, день +120 Acute GVHD, grade II–IV, day +120	14 (8–25)	11	12 (7–23)	10	0,72	13 (9–20)	21	16 (10–24)	17	0,23
Острая РТПХ, стадия III–IV, день +120 Acute GVHD, grade III–IV, day +120	8 (4–17)	6	4 (1–12)	4	0,33	6 (3–14)	10	4 (1–9)	4	0,40
хрРТПХ, 1 год cGVHD, 1 year	6 (2–16)	4	7 (3–16)	6	0,60	7 (5–14)	10	13 (8–21)	14	0,07
ЦМВ-виремия, день +120 CMV viremia, day +120	45 (35–57)	35	55 (45–67)	38	0,40	51 (42–58)	73	52 (43–62)	58	0,50
TRM, 2 года TRM, 2 years	3 (1–10)	2	1 (0–10)	1	0,60	2 (1–7)	3	13 (8–21)	14	0,002
Рецидив, 2 года Relapse, 2 years	26 (17–38)	21	25 (16–38)	18	0,70	26 (20–34)	39	19 (13–28)	22	0,20
БСВ, 2 года EFS, 2 years	69 (58–79)	24	72 (62–83)	19	0,50	71 (61–81)	43	67 (58–76)	38	0,39
ОВ, 2 года OS, 2 years	78 (69–88)	17	83 (74–92)	11	0,30	81 (73–87)	28	76 (68–84)	28	0,32

Notes. TRM – transplant-related mortality.

составил 13% (95% ДИ 9–20) в общей когорте (рисунки 2А), 14,5% (95% ДИ 8–25) – в экспериментальной группе и 12% (95% ДИ 7–23) – в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 2Б). CI острой РТПХ III–IV стадии составил 6% (95% ДИ 3–14) в общей когорте, 8% (95% ДИ 4–17) – в экспериментальной группе и 4% (95% ДИ 1–12) в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 2В). Острая РТПХ IV стадии была диагностирована в 1 случае. Хроническая РТПХ зафиксирована в 9 случаях: 4 в экспериментальном рукаве и 5 в контрольном. Кумулятивная вероятность хронической РТПХ составила 7% (95% ДИ 4–13) и не отличалась существенно между экспериментальной и контрольной группами, 6% (95% ДИ 2–16) и 7% (95% ДИ 3–16) соответственно (рисунки 2Г). Степень тяжести хронической РТПХ была легкой в 2 случаях, умеренной – в 5 и тяжелой – в 2 случаях, разницы между группами не наблюдалось. В общей сложности 26 (18%) пациентов получили системную иммуносупрессивную терапию для лечения РТПХ и 8 (5%) – иммуносупрессивную терапию на момент последнего наблюдения. Ни один из пациентов с II–IV стадией острой РТПХ или хронической РТПХ не умер от причин, не связанных с рецидивом лейкоза.

В группе исторического контроля CI острой РТПХ II–IV стадии составил 16% (95% ДИ 10–24), а CI острой

РТПХ III–IV стадии – 4% (95% ДИ 1–9), без значимых различий с проспективной когортой (рисунки 2Д, Е). Выявлен тренд к более высокой частоте хронической РТПХ в исторической контрольной группе, составившей 13% (95% ДИ 8–21) (рисунки 2Ж).

Вирусные инфекции

ЦМВ-виремия была обнаружена у 76 пациентов на медианном сроке 40 (5–202) дней после ТГСК. CI ЦМВ-виремии составил 50% (95% ДИ 42–58) в общей популяции со значениями 45% (95% ДИ 35–57) в экспериментальной группе и 55% (95% ДИ 45–67) в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 3А, Б). Медиана продолжительности ЦМВ-виремии составила 3 (диапазон 1–9) нед. Максимальная вирусная нагрузка составила 11 600 (диапазон 500–221 000) копий генома/мл. Медиана продолжительности противовирусной терапии для ЦМВ составила 32 (5–140) дня. ЦМВ-болезнь была диагностирована в 20 случаях: 13 (17%) в экспериментальной группе и 7 (10%) в контроле. Большинство случаев ЦМВ проявлялись как ЦМВ-ретинит. ЦМВ-пневмония или ЦМВ-колит развились у 15 пациентов. АДВ-виремия была обнаружена у 8 пациентов в среднем через 59 (27–92) дней после ТГСК. CI АДВ-виремии составил 5% (95% ДИ 3–10) для всей выборки, 8% (95% ДИ

Рисунок 2

РТПХ: А – острая, стадия II–IV, вся когорта; Б) острая, стадия II–IV, сравнение рукавов рандомизированного исследования; В – острая, стадия III–IV, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Г – хроническая, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Д – острая, стадия II–IV, проспективная когорта против исторической; Е – острая, стадия III–IV, проспективная когорта против исторической; Ж – хроническая, проспективная когорта против исторической

Figure 2
GVHD: А – acute, II–IV stage, the whole cohort; Б – acute, grade II–IV, comparison of the arms of the randomized study; В – acute, grade III–IV, comparison of the arms of the randomized study; Г – chronic, comparison of the arms of the randomized study; Д – chronic, grade II–IV, the prospective group versus the historical cohort; Е – acute, grade III–IV, the prospective group versus the historical cohort; Ж – chronic, the prospective group versus the historical cohort

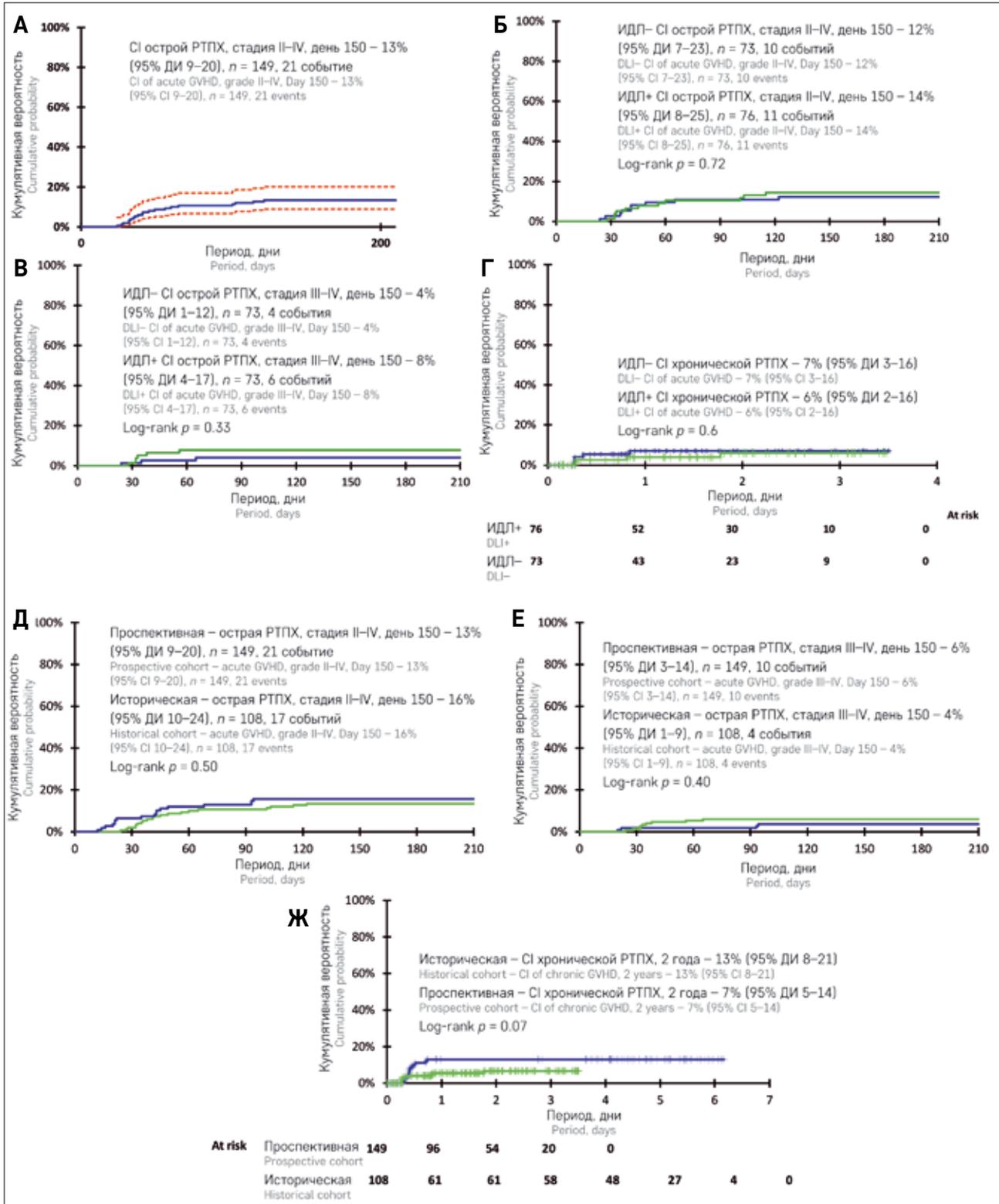
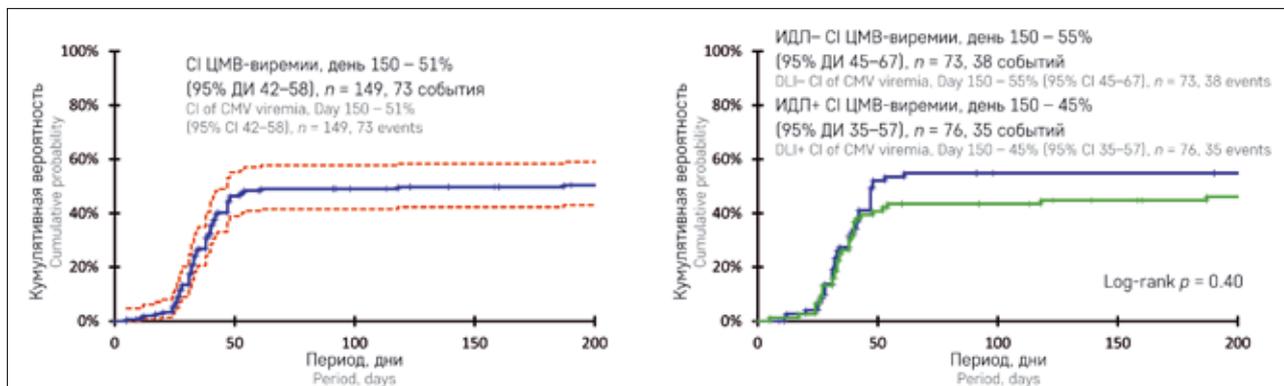


Рисунок 3

Кумулятивная вероятность ЦМВ-реактивации: А – во всей когорте; Б – сравнение рукавов рандомизированного исследования

Figure 3

Cumulative probability of CMV reactivation: A – in the whole cohort; B – comparison of the arms of the randomized study



4–17) в экспериментальной и 3% (95% ДИ 1–12) в контрольной группах ($p = n. s.$). АДВ-болезнь был диагностирована в 8 (5%) случаях: 6 (8%) в экспериментальной группе и 2 (3%) в контроле. АДВ-болезнь проявлялась как гастроэнтероколит. ЭБВ-виремия была обнаружена у 4 пациентов в среднем через 55 (10–124) дней после ТГСК. Совокупный риск ЭБВ-виремии составил 3% (95% ДИ 1–7) для всей выборки, 4% (95% ДИ 1–12) в экспериментальной группе и 1% (95% ДИ 1–10) в контроле ($p = n. s.$). Случаев ЭБВ-болезни зарегистрировано не было. ВГЧ-6-виремия была обнаружена у 7 пациентов в среднем через 36 (5–105) дней после ТГСК. Совокупный риск ВГЧ-6-виремии составил 5% (95% ДИ 2–10) для общей популяции, 4% (95% ДИ 1–12) в экспериментальной группе и 5% (95% ДИ 2–14) в контроле ($p = n. s.$). Болезнь ВГЧ-6 была диагностирована в 3 (2%) случаях, 1 – в экспериментальной группе и 2 – в контроле. Таким образом, существенной разницы между группами в отношении вирусных инфекций выявлено не было.

CI ЦМВ-виремии в историческом контроле составил 54% (95% ДИ 45–63), АДВ-виремии – 11% (95% ДИ 7–22). Случаев ЭБВ-виремии зарегистрировано не было. Следует отметить, что, несмотря на аналогичную частоту реактивации вирусных инфекций, их вклад в TRM оказался существенным в когорте исторического контроля, как описано ниже.

Общая и патоген-специфическая иммунорекогнитуция

Восстановление основных субпопуляций лимфоцитов происходило одинаково в группах сравнения во всех временных точках, как показано на рисунке 4А. Напротив, сравнение проспективной когорты и исторического контроля показало существенное улучшение восстановления Т-лимфоцитов, как $\alpha\beta$ - так и $\gamma\delta$ -типа, в дни +30 и +60 после ТГСК (рисунке 4Б, В).

Восстановление NK-клеток не отличалось ни между группами рандомизации, ни между проспективной и исторической когортами.

Восстановление вирус-специфического иммунного ответа оценивалось на основе доли пациентов с детектируемым вирус-специфическими Т-клеточным ответом, определяемым методом ИФН- γ ELISPOT. Результаты этого анализа выявили незначимые различия в доле пациентов с обнаруживаемым Т-клеточным ответом на ЦМВ в день +30, как показано на рисунке 5А.

Анализ подгруппы ЦМВ-серопозитивных реципиентов ($n = 110$) показал значительно улучшенное восстановление ЦМВ-специфических Т-клеток на 30-й день среди пациентов в экспериментальной группе (61% против 41%, $p = 0,03$) (рисунке 5Б). Примечательно, что в общей когорте восстановление ЦМВ-специфического иммунного ответа в этот ранний момент времени было тесно связано с ЦМВ-серопозитивностью реципиента до ТГСК (рисунке 5В). По сравнению с исторической когортой восстановление ЦМВ-специфического иммунного ответа было значительно улучшено в проспективной когорте (рисунке 5Г).

Смертность, связанная с трансплантацией, и рецидив лейкоза

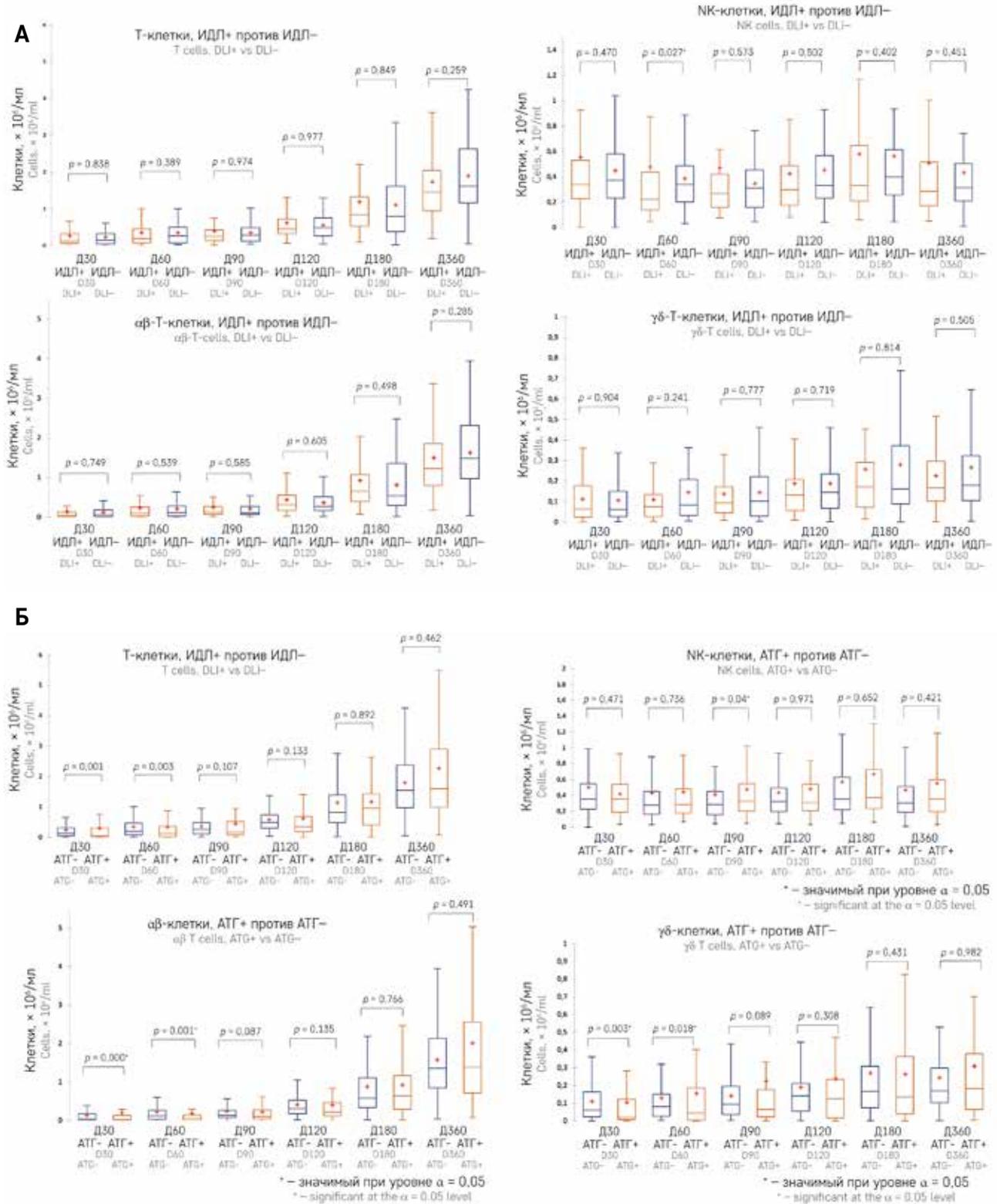
Три пациента из проспективной когорты исследования умерли из-за причин, не связанных с рецидивом злокачественного заболевания. Причины смерти включали сепсис до приживания ($n = 1$), АДВ-болезнь ($n = 1$) и сепсис *K. pneumoniae* у пациента с комбинированной ЦМВ (легкие, кишечник) и АДВ (кишка, печень) болезнью. CI TRM на сроке 2 года составил 2% (95% ДИ 1–6) в общей когорте, 2,6% (95% ДИ 1–10) в экспериментальной группе и 1,4% (95% ДИ 1–10) в контроле ($p = n. s.$) (рисунке 6А). Показатель TRM в когорте исторического контроля составил 13% (95% ДИ 8–21), что было значительно

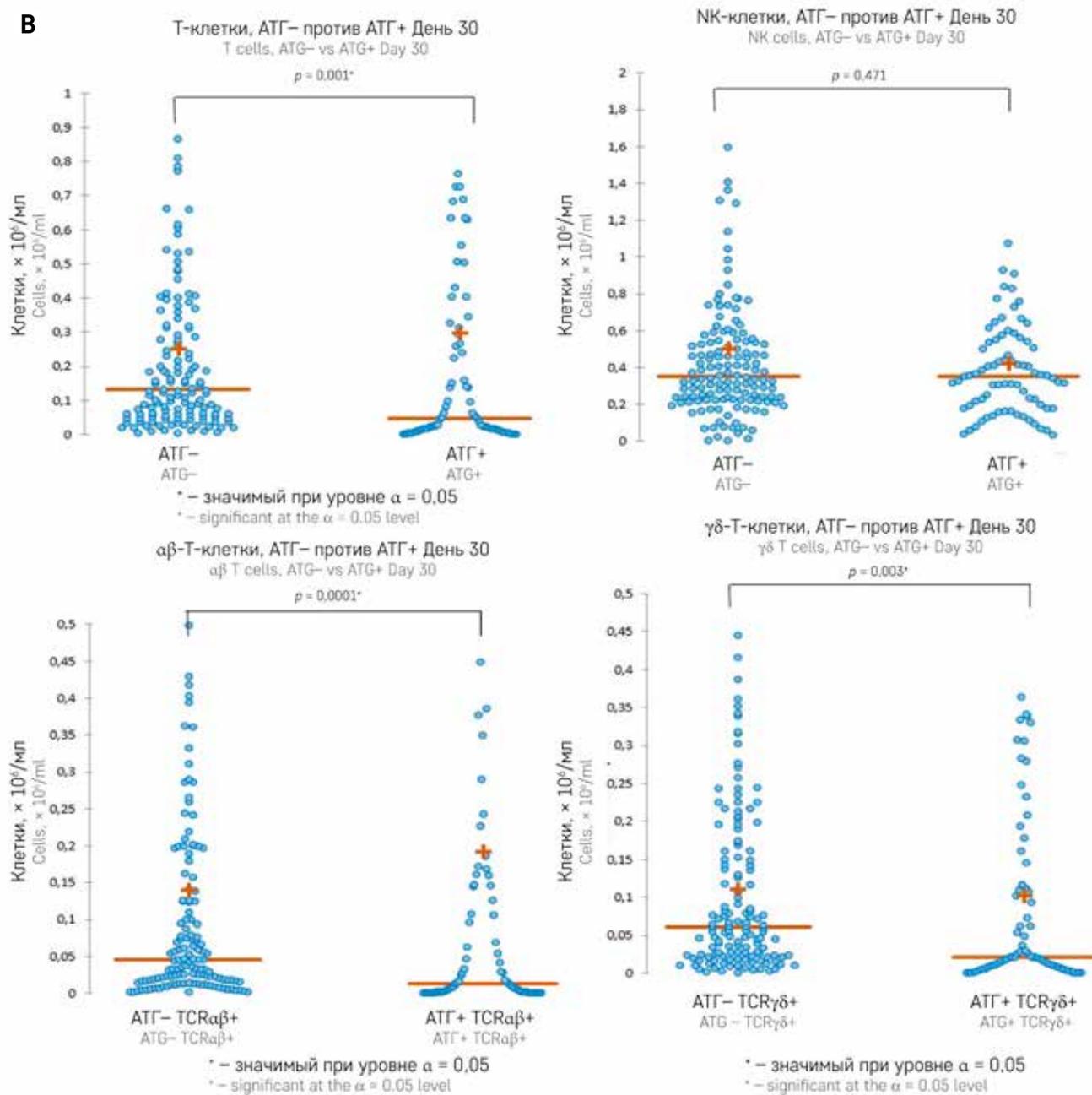
Рисунок 4

А – глобальная иммунорекогнитуция: восстановление общих Т-, NK-, αβ-Т- и γδ-Т-клеток, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Б – глобальная иммунорекогнитуция: восстановление Т-, NK-, αβ-Т- и γδ-Т-клеток, проспективная когорта против исторического контроля; В – ранняя иммунорекогнитуция: представлено абсолютное значение (× 10⁶ /мл) основных популяций лимфоцитов, горизонтальные линии представляют медиану, знак «+» – среднее значение

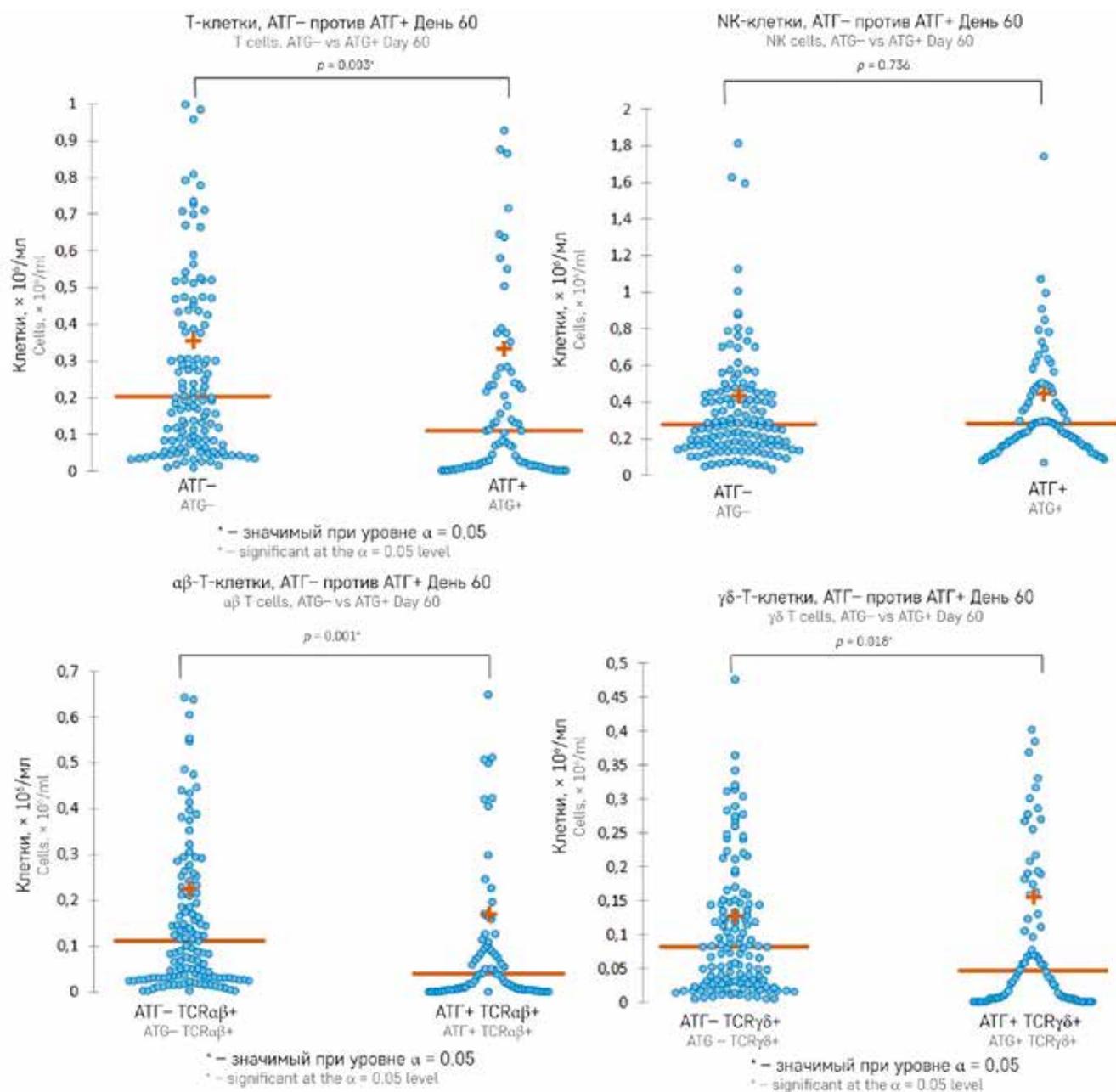
Figure 4

А – global immune reconstitution: recovery of total T cells, NK cells, αβ-T-cells and γδ-T-cells, comparison of the arms of the randomized study; Б – global immune reconstitution: recovery of total T cells, NK cells, αβ-T-cells and γδ-T-cells, the prospective cohort vs the historical control; В – early immune reconstitution: the figure shows the absolute value (× 10⁶ /ml) of the major lymphocyte populations, the horizontal lines represent the median, «+» represents the mean value





День 30 Day 30	Т-клетки T cells		НК-клетки NK cells		$\alpha\beta$ -Т-клетки $\alpha\beta$ T cells		$\gamma\delta$ -Т-клетки $\gamma\delta$ T cells	
	АТГ- АТГ-	АТГ+ АТГ+	АТГ- АТГ-	АТГ+ АТГ+	АТГ- АТГ-	АТГ+ АТГ+	АТГ- АТГ-	АТГ+ АТГ+
Критерий Манна-Уитни, p The Mann-Whitney test, p	0,001		0,47		0,0001		0,003	
n	149	108	149	108	149	108	149	108
Минимум Minimum	0,003	0,000	0,000	0,034	0,001	0,000	0,000	0,000
Максимум Maximum	1,699	7,719	5,720	3,515	1,563	7,488	0,556	1,061
1-й квартиль 1st quartile	0,058	0,013	0,228	0,189	0,017	0,001	0,023	0,008
Медиана Median	0,133	0,046	0,353	0,354	0,046	0,013	0,061	0,021
3-й квартиль 3rd quartile	0,330	0,315	0,547	0,542	0,171	0,130	0,164	0,123
Значение Value	0,251	0,297	0,504	0,421	0,139	0,192	0,110	0,103



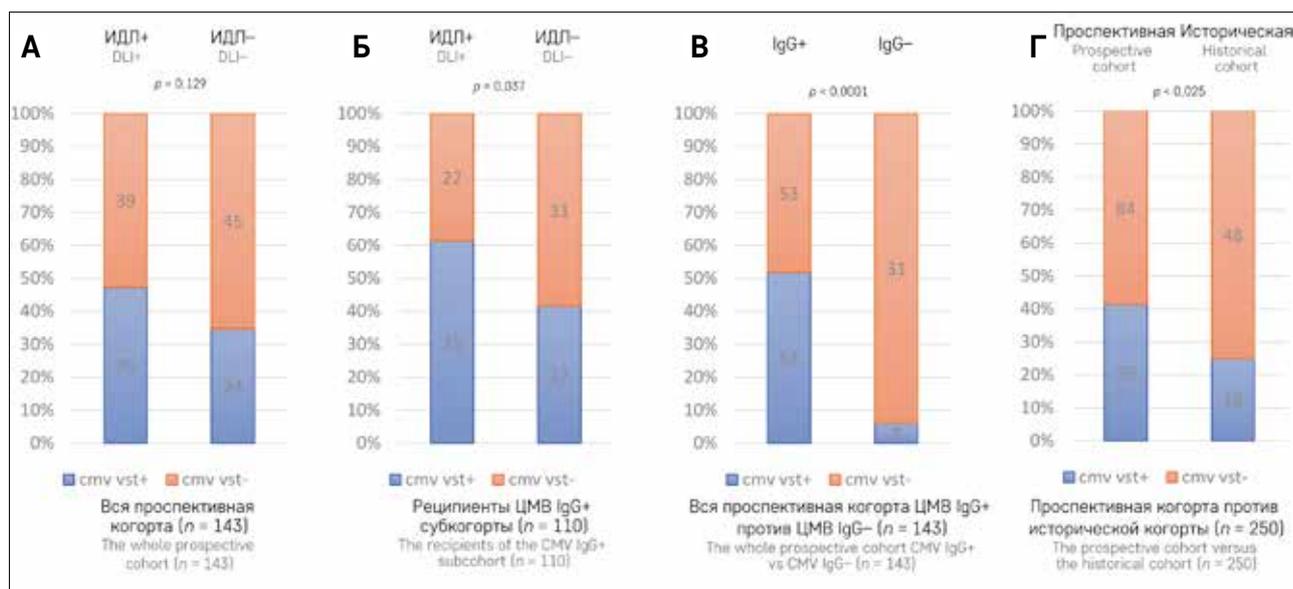
День 30 Day 30	T-клетки T cells		NK-клетки NK cells		$\alpha\beta$ -T-клетки $\alpha\beta$ T cells		$\gamma\delta$ -T-клетки $\gamma\delta$ T cells	
	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +
Критерий Манна–Уитни, p The Mann–Whitney test, p	0,003		0,736		0,001		0,018	
n	149	108	149	108	149	108	149	108
Минимум Minimum	0,009	0,000	0,031	0,068	0,002	0,000	0,004	0,000
Максимум Maximum	2,589	2,561	6,315	5,722	2,442	1,347	1,070	2,049
1-й квартиль 1st quartile	0,081	0,015	0,162	0,175	0,031	0,005	0,028	0,005
Медиана Median	0,203	0,111	0,276	0,282	0,113	0,041	0,082	0,046
3-й квартиль 3rd quartile	0,469	0,368	0,452	0,484	0,262	0,151	0,150	0,187
Значение Value	0,354	0,333	0,433	0,445	0,226	0,170	0,128	0,156

Рисунок 5

Восстановление патогенспецифичного иммунного ответа на день +30: А – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Б – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ в субкогорте ЦМВ-серопозитивных реципиентов, сравнение рукавов рандомизированного исследования; В – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ, ЦМВ-серопозитивная субкогорта против ЦМВ-серонегативной субкогорты; Г – группа исторического контроля против проспективной когорты

Figure 5

The recovery of pathogen-specific immune response on Day +30: A – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells, comparison of the arms of the randomized study; Б – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells in the subcohort of CMV-seropositive recipients, comparison of the arms of the randomized study; В – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells, the CMV-seropositive subcohort vs the CMV-seronegative subcohort; Г – the historical control versus the prospective cohort



выше, чем TRM в проспективном исследовании ($p = 0,02$) (рисунок 7А).

Рецидив злокачественного заболевания был зарегистрирован у 37 пациентов: у 20 в экспериментальной группе и у 17 в контроле, а медиана времени рецидива составила 7 мес (диапазон от 1 мес до 2 лет). CI рецидива через 2 года составил 25% (95% ДИ 19–34) среди общей когорты, 26% (95% ДИ 17–38) в экспериментальной группе и 25% (95% ДИ 16–38) в контроле ($p = n. s.$) (рисунок 6Б). Риск рецидива в исторической когорте составил 19% (95% ДИ 13–28), что незначительно ниже, чем в проспективной когорте ($p = 0,17$) (рисунок 7Б).

Бессобытийная и общая выживаемость

Сто шесть пациентов были живы и остаются в полной продолжительной ремиссии на момент последнего наблюдения: 52 в экспериментальной группе и 54 в контроле. Показатель БСВ на сроке 2 года составил 71% (95% ДИ 63–78) во всей выборке, 69% (95% ДИ 58–79) в экспериментальной группе и 72% (95% ДИ 62–83) в контроле ($p = n. s.$) (рисунок 6В).

Сто двадцать один пациент был жив на момент последнего наблюдения: 59 в экспериментальной группе и 62 в контроле. ОВ через 2 года составила 80% (95% ДИ 74–87) во всей выборке, 79% (95% ДИ

69–88) в экспериментальной группе и 83% (95% ДИ 74–93) в контрольной ($p = n. s.$). Показатель ОВ не отличался между основными группами, например ОМЛ и ОЛЛ, а также между группами сравнения (рисунок 6Г). Различия в БСВ и ОВ между проспективной когортой и группой исторического контроля не были статистически значимыми (рисунок 7В, Г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель рандомизированного исследования, представленного в настоящей статье, заключается в оценке безопасности и эффективности ИДЛ памяти среди реципиентов ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции в популяции детей с гематологическими злокачественными заболеваниями.

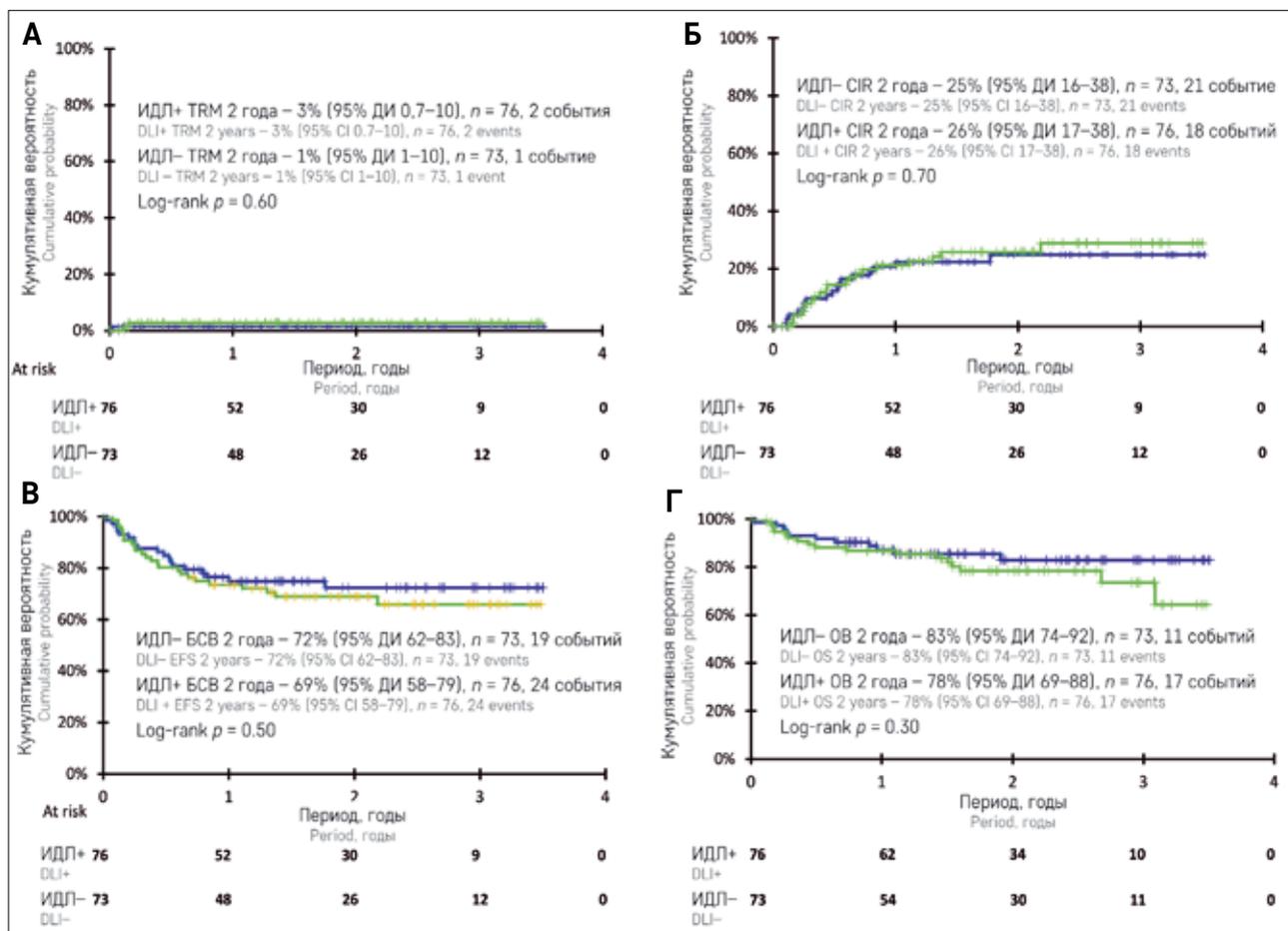
ИДЛ памяти выполнялись одновременно с первичным трансплантатом, а затем ежемесячно. Наш анализ показывает, что низкие дозы ИДЛ памяти являются безопасными, так как эти инфузии не увеличивают риск острой РТПХ, в том числе тяжелых форм, или хронической РТПХ и подтверждают наше предыдущее наблюдение о безопасности низкодозированных ИДЛ памяти после приживления. Эффективность воздействия оценивалась на основе способности ИДЛ памяти предотвращать реактивацию ЦМВ. Статистическая мощность иссле-

Рисунок 6

А – трансплантат-ассоциированная смертность, сравнение групп рандомизированного исследования; Б – кумулятивная вероятность рецидива, сравнение групп рандомизированного исследования; В – БСВ, сравнение групп рандомизированного исследования; Г – ОВ, сравнение групп рандомизированного исследования

Figure 6

А – transplant-related mortality, comparison of the arms of the randomized study; Б – cumulative probability of relapse, comparison of the arms of the randomized study; В – event-free survival (EFS), comparison of the arms of the randomized study; Г – overall survival (OS), comparison of the arms of the randomized study



дования не была достаточной, чтобы доказать, что ИДЛ памяти способны снижать риск реактивации ЦМВ и, таким образом, исследование не достигло одной из первичных конечных точек. Среди потенциальных причин этого мы предполагаем завышенную оценку (на основе нашего предыдущего опыта) CI ЦМВ-реактивации в контрольной группе и биологическое требование к взаимодействию с антигеном (репликация вируса) для стимуляции размножения вирус-специфических Т-лимфоцитов [9, 13]. Вторичные клинические точки, включая TRM, БСВ и ОВ, не отличались между изучаемыми группами сравнения. Примечательно, однако, что показатель TRM был исключительно низким (на уровне 2%) для всей когорты, хотя 90% доноров были гаплоидентичными и применялся интенсивный режим кондиционирования. Глобальное иммунное восстановление основных субпопуляций лимфоцитов не отличалось между изучаемыми группами сравнения. Интересно, что

ИДЛ памяти значительно улучшили долю пациентов с функциональным восстановлением вирус-специфического иммунного ответа на раннем сроке среди ЦМВ-серопозитивных больных. Это наблюдение подтверждает ключевую роль воздействия антигена в экспансии и персистенции вирус-специфических Т-клеток. Это наблюдение имеет важные последствия для дальнейшего развития профилактической адоптивной клеточной терапии вирусных инфекций, которая должна включать в себя либо широкий репертуар наивных Т-клеток, либо средство экспозиции к антигену, например некоторую форму вакцинации.

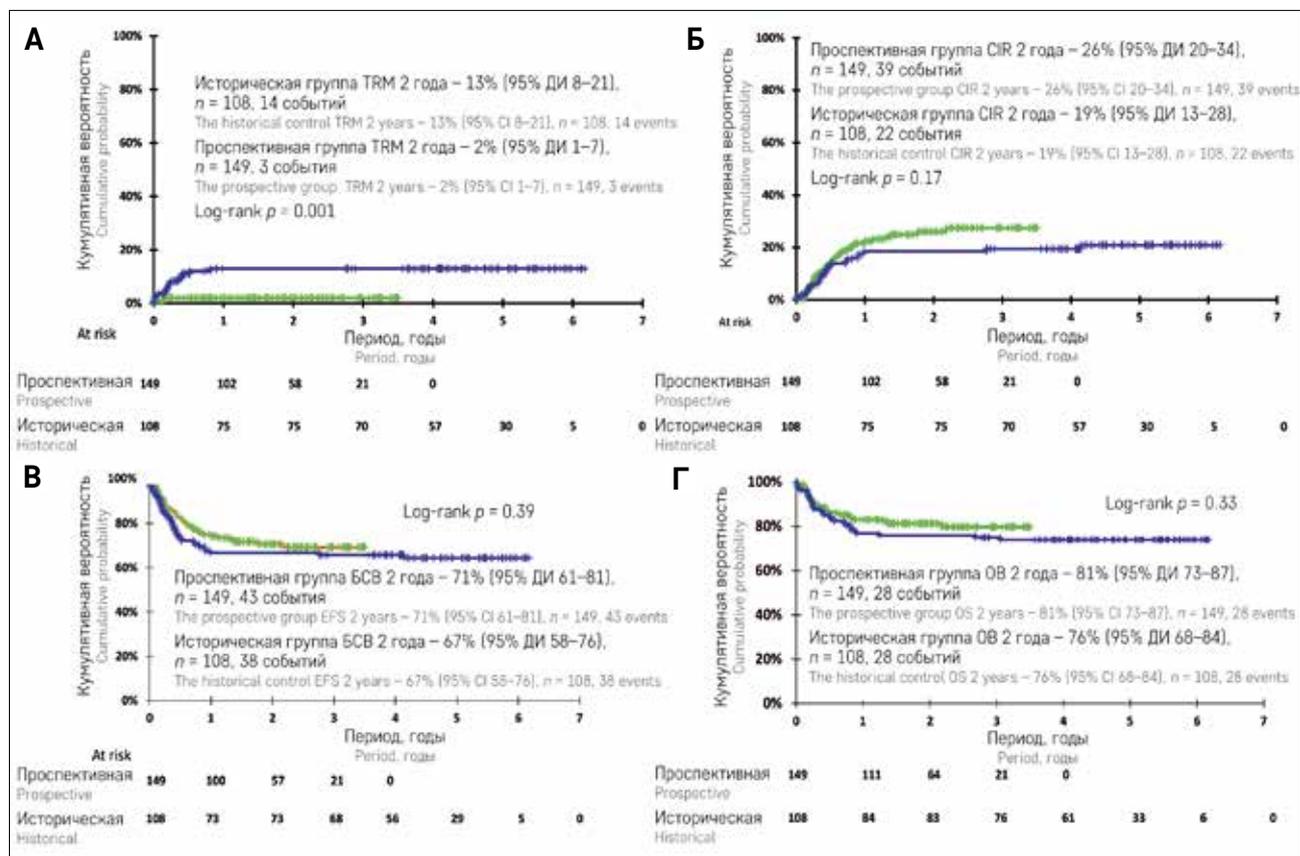
Одной из ключевых новых особенностей проспективного испытания был отказ от предтрансплантационной поликлональной серотерапии кроличьим АТГ. Большинство опубликованных работ об $\alpha\beta$ -Т-деплеции полагаются на препараты АТГ для обеспечения приживления и улучшения контроля РТПХ

Рисунок 7

А – трансплантат-ассоциированная смертность, историческая когорта против проспективной; Б – кумулятивная вероятность рецидива, историческая когорта против проспективной; В – БСВ, историческая когорта против проспективной; Г – ОВ, историческая когорта против проспективной

Figure 7

A – transplant-related mortality, the historical cohort vs the prospective cohort; Б – cumulative probability of relapse, the historical cohort vs the prospective cohort; В – EFS, the historical cohort vs the prospective cohort; Г – OS, the historical cohort vs the prospective cohort



[3, 4, 7]. Различные препараты АТГ, а также доза и сроки их применения могут привести к различным результатам. Проблема фармакокинетической изменчивости АТГ хорошо известна в области ТГСК и многочисленные сообщения указывают, что их чрезмерное воздействие после трансплантации может привести к задержке восстановления иммунитета и повышенному риску инфекций и TRM [16–20]. Мы предположили, что циркулирующий АТГ в течение первых недель после ТГСК будет блокировать активацию и распространение перенесенных донорских Т-клеток памяти и таким образом исключит возможность оценки первичной конечной точки эффективности. Сочетание блокады интерлейкина-6 и блокады ко-стимуляторного сигнала потенциально может предотвратить начало РТПХ без чрезмерной лимфодеплеции. Оба препарата, тоцилизумаб и абатацепт, как сообщается, могут улучшить контроль РТПХ в условиях Т-реплетированной ТГСК [11, 12]. Эта комбинация была также успешно применена нашей группой в условиях ТГСК с $\alpha\beta$ -деплецией при рефрактерном ОМЛ [10]. Настоящий анализ, в част-

ности сравнение проспективной когорты и группы исторического контроля, указывает, что кроличий АТГ действительно задерживает восстановление Т-клеток, в то время как в условиях замены АТГ на тоцилизумаб и абатацепт даже небольшие дозы Т-клеток, перенесенных в составе первичного трансплантата, равно как и ИДЛ памяти, получают возможность размножиться и функционировать надлежащим образом. Это находит свое отражение в повышении абсолютного содержания $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-клеток в дни +30 и +60 после ТГСК. Примечательно, что TRM, в основном связанная с вирусными инфекциями, значительно снизилась и достигла 2% в проспективной когорте – уровень, не достигавшийся ранее в условиях ТГСК от гаплоидентичных доноров. Это клинически значимое улучшение может быть связано с функционированием и экспансией антиген-специфических клонов $\alpha\beta$ -Т-клеток, а также $\gamma\delta$ -Т-клеток, которые обеспечивают защиту от инфекций и позволяют выиграть время для физиологического восстановления тимопоэза. Хотя отказ от АТГ уже был опробован в небольшом экспериментальном исследовании

довании, мы считаем, что нынешний анализ представляет новые и веские доказательства того, что в контексте интенсивного кондиционирования замена АТГ на таргетную иммуномодуляцию не ставит под угрозу приживление и обеспечивает достаточно хороший контроль над РТПХ.

Частота рецидива злокачественных новообразований не была снижена. Ни ИДЛ памяти, ни отказ от АТГ не оказали существенного влияния на данный ключевой показатель эффективности ТГСК. Это отчасти противоречит ожиданиям и существует несколько возможных объяснений. Неравномерное распределение показаний к ТГСК с преобладанием пациентов с ОМЛ в исторической когорте, которые потенциально более чувствительны к воздействию аллореактивности НК-клеток [21], является одним из потенциальных объяснений. Ограниченная аллореактивность Т-клеток памяти является еще одним возможным объяснением. Существует также возможность того, что у некоторых пациентов АТГ может оказывать прямой антилейкемический эффект, как это было предложено некоторыми исследователями, но не полностью поддерживается клиническими данными [22, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование низких доз ИДЛ памяти, начиная уже с дня 0 после ТГСК от гаплоидентичного донора, является безопасным. Такой подход может улучшить восстановление вирус-специфических Т-клеток, но не предотвращает ЦМВ-виремию. Мы предлагаем, что в отсутствие подавления иммунитета у большинства пациентов функциональность

ИДЛ памяти может быть дополнительно повышена с помощью рационально разработанного подхода к вакцинации. Мы показали, что замена АТГ таргетной иммуномодуляцией улучшила раннее восстановление Т-клеток и значительно снизила уровень TRM – результат первостепенной важности. На основе этих результатов может быть реализован полный противолейкемический потенциал гаплоидентичной ТГСК, и дальнейшие подходы должны быть направлены на предотвращение рецидива лейкемии в качестве ключевой нерешенной проблемы ТГСК среди детей со злокачественными признаками.

Благодарность

Авторы выражают благодарность благотворительному фонду «Подари жизнь» и фонду «Наука – детям» за постоянную поддержку исследований в области трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и клиническую помощь детям в отделении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Shelikhova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

Balashov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>

Skvortsova Y.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0566-053X>

Maschan M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 668–74.
- Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Yu., Shelikhova L., et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCRalpha and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (11): 1955–62.
- Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of $\alpha\beta^+$ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood* 2014; 124 (5): 822–6.
- Locatelli F., Merli P., Pagliara D., Li Pira G., Falco M., Pende D., et al. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after alphabeta T-cell and B-cell depletion. *Blood* 2017; 130 (5): 677–85.
- Im H.J., Koh K.N., Suh J.K., Lee S.W., Choi E.S., Jang S., et al. Refinement of treatment strategies in ex vivo T-cell-depleted haploidentical SCT for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(2): 225–31.
- Jacoby E., Varda-Bloom N., Goldstein G., Hutt D., Churi C., Vernitsky H., et al. Comparison of two cytoreductive regimens for alphabeta-T-cell-depleted haploidentical HSCT in pediatric malignancies: Improved engraftment and outcome with TBI-based regimen. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (2).
- Lang P., Feuchtinger T., Teltschik H.M., Schwinger W., Schlegel P., Pfeiffer M., et al. Improved immune recovery after transplantation of TCRalpha/CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 Suppl 2: S6–10.

8. Zvyagin I.V., Mamedov I.Z., Tatari-nova O.V., Komech E.A., Kurnikova E.E., Boyakova E.V., et al. Tracking T-cell immune reconstitution after TCRalpha-beta/CD19-depleted hematopoietic cells transplantation in children. *Leukemia* 2017; 31 (5): 1145–53.
9. Maschan M., Blagov S., Shelikhova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Starichkova J., et al. Low-dose donor memory T-cell infusion after TCR alpha/beta depleted unrelated and haploidentical transplantation: results of a pilot trial. *Bone Marrow Transplant* 2018;53(3):264–73.
10. Shelikhova L., Ilushina M., Shekhovtsova Z., Shasheleva D., Khismatullina R., Kurnikova E., et al. alphabeta T Cell-Depleted Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation without Antithymocyte Globulin in Children with Chemorefractory Acute Myelogenous Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25 (5): e179–82.
11. Kennedy G.A., Varelias A., Vuckovic S., Le Texier L., Gartlan K.H., Zhang P., et al. Addition of interleukin-6 inhibition with tocilizumab to standard graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic stem-cell transplantation: a phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (13): 1451–9.
12. Jaiswal S.R., Bhakuni P., Zaman S., Bansal S., Bharadwaj P., Bhargava S., et al. T cell costimulation blockade promotes transplantation tolerance in combination with sirolimus and post-transplantation cyclophosphamide for haploidentical transplantation in children with severe aplastic anemia. *Transpl Immunol* 2017; 43–44: 54–9.
13. Laberko A., Bogoyavlenskaya A., Shelikhova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Voronin K., et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23 (3): 483–90.
14. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., Socie G., Wingard J.R., Lee S.J., et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11 (12): 945–56.
15. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hovs J., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15 (6): 825–8.
16. Admiraal R., Lindemans C.A., van Kesteren C., Bierings M.B., Versluijs A.B., Nierkens S., et al. Excellent T-cell reconstitution and survival depend on low ATG exposure after pediatric cord blood transplantation. *Blood* 2016; 128 (23): 2734–41.
17. Admiraal R., Nierkens S., de Witte M.A., Petersen E.J., Fleurke G.-J., Verrest L., et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and survival outcomes in adult unrelated haemopoietic cell transplantation: a multicentre, retrospective, pharmacodynamic cohort analysis. *Lancet Haematol* 2017; 4 (4): e183–91.
18. Admiraal R., van Kesteren C., Jolvan der Zijde C.M., Lankester A.C., Bierings M.B., Egberts T.C.G., et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and CD4+ immune reconstitution in paediatric haemopoietic cell transplantation: a multicentre, retrospective pharmacodynamic cohort analysis. *Lancet Haematol* 2015; 2 (5): e194–203.
19. Lindemans C.A., Chiesa R., Amrolia P.J., Rao K., Nikolajeva O., de Wildt A., et al. Impact of thymoglobulin prior to pediatric unrelated umbilical cord blood transplantation on immune reconstitution and clinical outcome. *Blood* 2014; 123 (1): 126–32.
20. Scordo M., Bhatt V., Hilden P., Smith M., Thoren K., Cho C., et al. Standard Antithymocyte Globulin Dosing Results in Poorer Outcomes in Overexposed Patients after Ex Vivo CD34(+) Selected Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25 (8): 1526–35.
21. Grulich C., Ziegler C., Finke J. Rabbit anti T-lymphocyte globulin induces apoptosis in peripheral blood mononuclear cell compartments and leukemia cells, while hematopoietic stem cells are apoptosis resistant. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15 (2): 173–82.
22. Yang J., Cai Y., Jiang J.L., Wan L.P., Yan S.K., Wang C. Anti-thymocyte globulin could improve the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with highly aggressive T-cell tumors. *Blood Cancer J* 2015; 5: e332.