

Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children with acute myeloid leukemia: evolution of method and our data

N.N. Subbotina, I.S. Dolgoplov, A.V. Popa, V.K. Boyarshinov, R.I. Pimenov, and G.L. Mentkevich

ABSTRACT

This article presents the results of haploidentical stem cell transplantation in children with prognostically unfavorable AML. The study group included 18 pts at the age of 1–18. The disease status at the transplantation time was as follows: high risk AML in first remission ($n = 4$, 22 %), more than two remissions ($n = 7$, 39 %), no remission ($n = 4$, 22 %), or secondary AML in remission ($n = 3$, 17 %). All patients received reduced-intensity conditioning regimen followed by HSCT from haploidentical donors. Hematologic recovery occurred in 17 out of 18 pts in a mean time of 11 days and 12 days for WBC and platelets, respectively. One patient with no remission at the time of transplantation died from leukemia progression and infection with no signs of hematologic recovery. The regimen toxicity was mild and manageable. Acute GVHD of I/II and III degree occurred in 88 % and 6 % of pts, respectively. Chronic GVHD occurred in 85 % of pts, having been quite severe in one pt. The causes of death were infection ($n = 2$, 11 %) or disease relapse/progression ($n = 5$, 28 %). Eleven pts (61 %) are still alive and disease-free. EFS is 57.5 % with a mean follow-up of 84 (1–144) months. TRM is 13.3 % with a mean follow-up of 124 months.

Keywords: pediatric acute myeloid leukemia, unfavorable prognosis, haploidentical hematopoietic stem cell transplantation.

Accepted: February 18, 2014

Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, RAMS

115478, Kashirskoye shosse, d. 24, Moscow, Russian Federation

N.N. Subbotina, PhD, Senior scientific worker, Department of pediatric bone marrow transplantation

I.S. Dolgoplov, DSci, Leading scientific worker, Department of pediatric bone marrow transplantation

A.V. Popa, DSci, Head of department of chemotherapy of hemoblastosis

V.K. Boyarshinov, PhD, Doctor of Department of pediatric bone marrow transplantation

R.I. Pimenov, Doctor of Department of pediatric bone marrow transplantation

G.L. Mentkevich, DSci, Head of Department of pediatric bone marrow transplantation

Address correspondence to:

N.N. Subbotina

115478, Kashirskoye shosse, d. 24, Moscow, Russian Federation

Tel.: +7 (499) 3244508, e-mail: natik-23@yandex.ru

Гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей с острыми миелоидными лейкозами: эволюция метода и собственные данные

Н.Н. Субботина, И.С. Долгополов, А.В. Попа, В.К. Бояришинов, Р.И. Пименов, Г.Л. Менткевич

РЕФЕРАТ

В настоящей работе представлены результаты проведения гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (гаплоТГСК) детям с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) крайне неблагоприятного прогноза. В исследование включено 18 пациентов в возрасте от 1 года до 18 лет. Статус заболевания на момент трансплантации: ОМЛ высокого риска в первой ремиссии ($n = 4$, 22 %), более двух ремиссий ($n = 7$, 39 %), не в ремиссии ($n = 4$, 22 %), вторичный ОМЛ в ремиссии ($n = 3$, 17 %). Всем пациентам был проведен немиелоаблативный режим кондиционирования с последующей гаплоТГСК от родственных доноров. За счет донорского материала показатели крови восстановились у 17 из 18 пациентов: лейкоциты — в среднем на 11-й день, тромбоциты — на 12-й. От прогрессирования заболевания и инфекции без признаков восстановления кровотока умерла 1 больная из группы «не в ремиссии на момент гаплоТГСК». Токсические проявления режима были незначительными. Острая реакция «трансплантат против хозяина» I–II степени отмечена у 88 % пациентов, III степени — у 6 %. Проявления хронической реакции «трансплантат против хозяина» наблюдались у 85 % реципиентов, у 1 больной — в тяжелой форме. Причины смертности: инфекция ($n = 2$, 11 %), рецидив/прогрессирование опухоли ($n = 5$, 28 %). Остаются под наблюдением без признаков заболевания 11 (61 %) пациентов. При среднем сроке наблюдения 84 мес. (диапазон 1–144 мес.) бессобытийная выживаемость равна 57,5 %. Трансплантационная летальность составила 13,3 % при среднем сроке наблюдения 124 мес.

Ключевые слова:

острые миелоидные лейкозы у детей, неблагоприятный прогноз, гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Принято в печать: 18 февраля 2014 г.

ВВЕДЕНИЕ

Интенсификация режимов химиотерапии и разработка протоколов сопроводительного лечения кардинально изменили прогноз у пациентов с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) за последние 20 лет. По различным данным, 5-летняя безрецидивная выживаемость детей, страдающих ОМЛ, повысилась с практически нулевой отметки до 50–70 % [1–3]. Однако в силу биологических особенностей некоторых вариантов

ОМЛ значительная часть пациентов (до 45 % в детской популяции) остается рефрактерной к проводимой терапии или развиваются рецидивы [4, 5]. Прогноз у этих пациентов крайне неблагоприятный: при стандартной химиотерапии повторную ремиссию удается получить в 56–76 % случаев. Однако показатели отдаленной (5-летней) безрецидивной выживаемости не превышают 23–43 % [4, 6]. В настоящее время принято считать, что аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых

НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва
115478, Каширское шоссе, д. 24, Москва, Российская Федерация

клеток (ТГСК) от геноидентичного сиблинга дает таким пациентам максимальные шансы на выздоровление [7, 8]. В мире лишь у 30 % пациентов имеется полностью HLA-совместимый сиблинг. В России, ввиду малочисленности семей, вероятность найти подходящего донора среди братьев и сестер еще меньше. Альтернативным источником гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для трансплантации в подобных ситуациях может быть костный мозг неродственных доноров, пуповинная кровь, а также частично совместимые, как правило, гаплоидентичные родители пациентов. В двух первых случаях необходимо провести HLA-типирование высокого разрешения, что позволяет найти максимально подходящий донорский материал, однако требует времени и существенных финансовых затрат на поиск, активацию донора и доставку материала. Поскольку от каждого из родителей пациент наследует по гаплотипу, в проведении HLA-типирования высокого разрешения ребенка и родителя, как правило, нет необходимости. Высокая мотивация и близость родственного донора позволяют в случае необходимости организовать ТГСК уже в течение 2 нед. Это избавляет от проведения дополнительных курсов химиотерапии пациенту, что делается зачастую вынужденно, пока ведется поиск донора в регистре.

Из-за уникального клеточного состава пуповинной крови ее использование для ТГСК приобрело особый интерес в 80-е годы прошлого века и оформилось в отдельное быстро развивающееся направление трансплантационной деятельности [9–14]. Однако образцы пуповинной крови очень часто приходится объединять для пересадки одному пациенту из-за низкой клеточности материала. В особенности это относится к реципиентам старшего возраста [15–19].

Таким образом, каждый из вариантов, безусловно, имеет свои недостатки и преимущества. В настоящее время не существует общепринятых рекомендаций по выбору альтернативного источника гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для трансплантации пациентам, не имеющим совместимого родственного донора, и выбор остается за трансплантационным центром [7].

Основной концепцией работы отделения трансплантации костного мозга НИИ ДОГ ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН с 1994 г. стало проведение гаплоТГСК от родственных доноров (преимущественно родителей) детям с крайне неблагоприятными формами злокачественных заболеваний. Данное решение основывалось на появлявшихся в то время в мире работах по успешному проведению подобных трансплантаций [20–22]. Главным преимуществом метода, определившим наш выбор на тот период времени, было ожидание реализации эффекта трансплантата против опухоли при неполной совместимости донора и реципиента, а также возможность выполнения трансплантации пациентам в кратчайший срок.

ЧАСТИЧНО СОВМЕСТИМАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ. ИСТОРИЯ МЕТОДА

Интересными для ретроспективного анализа оказались этапы развития гаплоидентичной трансплантации в мире в сравнении с собственными представлениями. Развитие тяжелой острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) у пациентов после гаплоТГСК в ранних

исследованиях послужило толчком для разработки методик деплеции зрелых лимфоцитов из трансплантата [23, 24]. Однако избыточное удаление Т-клеток привело к существенному повышению (практически до 50 %) частоты отторжения донорских ГСК [25]. Исследования на животных показали, что данную проблему можно пытаться решить несколькими способами: интенсификацией режимов кондиционирования, Т-деплецией с помощью антител *in vivo* или увеличением количества пересаживаемых ГСК [26–29]. После внедрения в клинику методики селекции CD34+ F. Aversa и соавт. и его последователям удалось добиться высокой частоты приживления донорских ГСК и низкого уровня острой РТПХ [30–32]. Однако проведенный несколько позже Европейской группой по трансплантации костного мозга (European Blood and Marrow Transplant Group, EBMT) опрос трансплантационных центров показал, что при проведении селекции CD34+ смертность пациентов от осложнений трансплантации приблизилась к 50 %: реципиенты умирали от различных инфекционных осложнений на фоне замедленного восстановления иммунитета после трансплантации [33, 34].

Следующим этапом развития частично совместимой трансплантации стала разработка методик обработки материала, при которых восстановление иммунитета не столь длительное. В 2004 г. популярность приобрела методика негативной селекции (CD3/19-деплеции) трансплантата, т. е. одновременной деплеции Т- и В-лимфоцитов. Иммуномагнитный метод позволял сокращать уровень зрелых Т-лимфоцитов в материале на 3,5–4 порядка (для сравнения: при селекции CD34+ — на 4,5–5 порядков). Самое важное, что при этом в трансплантате сохранялись НК-клетки, дендритные клетки, предшественники миелоцитов и др. [35, 36]. В наиболее ранних исследованиях, проведенных в клинике Святого Иуды в США с использованием CD3/19-деплеции при гаплоТГСК у детей, уровень трансплантационной летальности удалось снизить до 16–20 % [37, 38]. Опираясь на данную работу, группа из Тюбингена попыталась дополнительно уменьшить частоту трансплантационных осложнений путем снижения интенсивности режима кондиционирования. Поначалу результаты оказались весьма обнадеживающими. По данным исследования, опубликованного в 2007 г., из 38 взрослых пациентов от осложнений трансплантации умерла всего 1 больная (2,6 %) [39]. Однако при анализе последней публикации тех же авторов в 2012 г. видно, что в группе из 61 взрослого пациента показатель трансплантационной летальности оказался существенно выше и составил 23 % к 100-му дню и 46 % к 2-м годам наблюдения [40]. Результаты подобных трансплантаций у детей представлены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, проведение CD3/19-деплеции при гаплоТГСК с использованием режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью позволило добиться уменьшения трансплантационной летальности до 10–30 % и улучшения показателей выживаемости у детей с ремиссией лейкоза на момент выполнения трансплантации до 47,6–68 %.

Несмотря на улучшение результатов частично совместимых ТГСК после отказа от использования для пересадки только клеток CD34+, существует проблема медленного восстановления иммунитета у пациентов после Т-клеточной деплеции [45–47].

Таблица 1. Результаты частично совместимых аллогенных трансплантаций костного мозга с использованием Т-деплеции и режимов кондиционирования сниженной интенсивности у детей

Исследование	Заболевание, n	Метод очистки трансплантата	Трансплантационная летальность (срок наблюдения)	Выживаемость
P. Vader и соавт. (Германия) [41]	Всего: 59 ОЛЛ: 15 ОМЛ: 14 МДС: 2 Солидные опухоли: 18 Доброкачественные опухоли: 10	CD3/19-деплеция	10,7 % (3 года)	3-летняя БСВ для лейкозов 68 % для достигших ремиссии 0 % для не достигших ремиссии
G. Dufort и соавт. (Уругвай) [42]	Всего: 16 ОЛЛ: 4 ОМЛ: 5 ХМЛ: 3 ЮММЛ: 1 АФ: 3	CD3-деплеция	23,5 %* (1,5 года)	ОВ 47,6 % для лейкозов при среднем сроке наблюдения 31 мес.
J. Palma и соавт. (Чили) [43]	Всего: 10 ОЛЛ: 6 ОМЛ: 4	CD3-деплеция	10 % (1,5 года)	1-летняя БСВ 60 %
M. Gonzalez-Vincent и соавт. (Испания) [44]	Всего: 21 ОЛЛ: 12 ОМЛ: 9	CD3/19-деплеция	30 % (1 год)	2-летняя БСВ 40,7 %

* При исключении 3 пациентов с АФ трансплантационная летальность составила 28,6 %.

АФ — анемия Фанкони; БСВ — бессобытийная выживаемость; МДС — миелодиспластический синдром; ОВ — общая выживаемость; ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз; ОМЛ — острый миелоидный лейкоз; ХМЛ — хронический миелоидный лейкоз; ЮММЛ — ювенильный миеломоноцитарный лейкоз.

Для того чтобы добиться уровня Т-деплеции, сравнимого с таковым при проведении селекции CD34+, и при этом получить более быстрое восстановление иммунитета у пациентов после трансплантации, группа из Тюбингена начала проводить раздельную деплецию — элиминацию из трансплантата только зрелых лимфоцитов, несущих Т-клеточный рецептор $\alpha\beta$ (TCR $\alpha\beta$) [48]. Использование данного метода позволяет оставлять в трансплантате Т-клетки, несущие TCR $\gamma\delta$, которые, по некоторым данным, не обладают аллореактивностью, однако способны осуществлять контроль над инфекцией и давать противоопухолевый эффект [49–51]. По данным литературы, изучение этого метода в клинике в настоящее время проводится в Германии, Италии, однако результаты пока не опубликованы [48, 52]. Аналогичная работа начата и в некоторых трансплантационных центрах России.

Помимо описанной CD3TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплеции существуют и другие подходы с целью ускорить восстановление иммунитета у пациентов после ТГСК и улучшить противоопухолевый контроль за трансплантатом. К ним относятся адоптивная иммунотерапия в посттрансплантационный период донорскими Т-клетками после CD8-деплеции [53] или селективная деплеция аллоспецифичных лимфоцитов [54, 55] антигенспецифичными донорскими Т-клетками [56–59], регуляторными клетками CD4+CD25+ [60], аллореактивными НК-клетками [61–64] и т. п.

Начиная программу гаплогТГСК, мы приняли решение отказаться от методик клеточной селекции и деплеции *in vitro* и сделали ставку на фармакологическую профилактику острой РТПХ. Учитывая контингент пациентов, которые в нашем отделении в начале 1990-х годов имели показания к проведению гаплогТГСК (пациенты с рефрактерными формами лейкозов, часть из которых — вне ремиссии, пациенты с рефрактерными солидными опухолями с остаточными объемными образованиями после нескольких линий противоопухолевой терапии), главной нашей целью было максимально быстрое восстановление донорского иммунитета для контроля за опухолью. Подобные работы проводились в начале 2000-х годов исследователями из Китая

[65, 66] и Японии [67–69]. В недавно опубликованных исследованиях из Китая и Японии, собравших для анализа трансплантации «неманипулированных» (без дополнительной обработки) гаплогидентичных ГСК наибольшие группы детей с онкологическими заболеваниями, трансплантационная летальность через год после пересадки составила 14,5 и 23,1 % соответственно, что сравнимо с результатами трансплантаций при CD3/19-деплеции материала. Необходимо отметить, что всем пациентам в первом исследовании и 5 (24 %) из 21 — во втором проводились миелоаблативные режимы кондиционирования [70, 71]. Интересными показались отдаленные результаты лечения детей с ОМЛ в китайском исследовании. По обновленным в 2013 г. данным, 5-летняя безрецидивная выживаемость составила 82,5 %, когда гаплогТГСК проводилась в первой ремиссии, 59,4 % — во второй ремиссии и 42,9 % — в последующих ремиссиях или при отсутствии ремиссии [7].

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

За 20 лет выполнения гаплогидентичных (частично совместимых) ТГСК детям с крайне неблагоприятными формами онкогематологических заболеваний и солидными опухолями, мы отметили, что этот метод наиболее эффективен при ОМЛ [72]. Режимы кондиционирования сниженной интенсивности с последующей ТГСК от родственных доноров без Т-клеточной селекции/деплеции получило 18 пациентов с ОМЛ. Ко времени трансплантации 4 (22 %) пациента были в первой ремиссии ОМЛ (заболевание характеризовалось медленным ответом на лечение), 7 (39 %) — во второй и последующих ремиссиях, у 4 (22 %) — ремиссия не достигнута, а у 3 (17 %) больных ОМЛ диагностирован как вторая опухоль после остеосаркомы, саркомы Юинга и герминогенной опухоли. Все пациенты со вторичным ОМЛ были в ремиссии на момент трансплантации. Следует отметить, что под ремиссией ОМЛ нами подразумевается клинико-гематологическая ремиссия заболевания. Режимы кондиционирования включали:

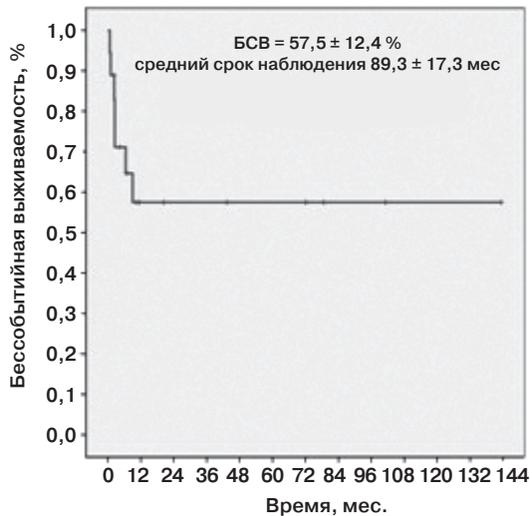


Рис. 1. Бессобытийная выживаемость (БСВ) пациентов с ОМЛ, включенных в исследование

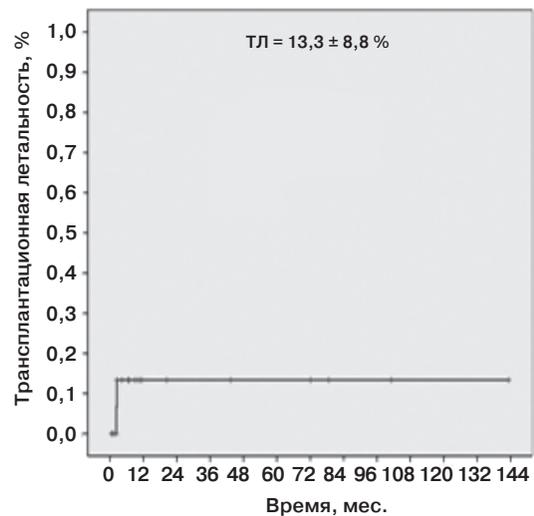


Рис. 2. Трансплантационная летальность (ТЛ) пациентов с ОМЛ, включенных в исследование

бусульфан 4 мг/кг (дни -3, -2) или тресульфан 10–12 г/м² (дни -4, -3, -2), флударабин 30 мг/м² (с -6-го по -1-й день) и антитимоцитарный глобулин 10 мг/кг (дни -5, -3, -1, +1). Профилактика острой РТПХ осуществлялась ингибиторами кальциневрина (циклоспорин А у наиболее ранней группы пациентов и такролимус у более поздней группы), коротким курсом метотрексата в низкой дозе. У пациентов из наиболее ранней группы мы проводили так называемую функциональную деплецию зрелых лимфоцитов путем добавления в контейнер с трансплантатом метилпреднизолона и винкристина. В последнее время мы отказались от данной методики и не проводим никаких видов селекции/деплеции. Токсичность режима кондиционирования оценивалась по шкале для стандартной химиотерапии CTC NCI Ver. 2.

13 пациентов, переживших 100 дней после трансплантации. Признаки РТПХ в этот срок имели место у 11 (85 %) из 13 пациентов: в 4 (31 %) случаях мы наблюдали РТПХ в классической форме (3 — среднетяжелого течения, 1 — тяжелого течения), у 7 (54 %) больных было рецидивирующее течение острой РТПХ при снижении доз/отмене иммуносупрессивной терапии. Ко времени написания работы 11 (61 %) из 18 пациентов остаются под наблюдением без признаков основного заболевания. Средний срок наблюдения составил 45 мес. Причины смерти: 2 (11 %) детей — инфекция на фоне терапии РТПХ, 5 (28 %) — рецидив/прогрессирование ОМЛ. При среднем сроке наблюдения 84 мес. бессобытийная выживаемость составила 57,5 % (рис. 1). Показатель трансплантационной летальности составил 13,3 % при среднем сроке наблюдения 124 мес. (рис. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Токсические органные проявления I–III степени отмечались у 60 % пациентов, IV степени — у 22,5 %. Чаще всего из осложнений у детей наблюдались повышение активности аминотрансфераз и диарея. Восстановление донорского кроветворения было отмечено у 17 (94 %) из 18 детей: лейкоциты — более $1 \times 10^9/\text{л}$ в среднем на +11-й день, тромбоциты — более $20 \times 10^9/\text{л}$ на 12-й день. Больная, не достигшая ремиссии к моменту трансплантации, умерла до восстановления кроветворения от прогрессирования заболевания и сопутствующих инфекционных осложнений. При иммунофенотипировании лимфоцитов периферической крови у пациентов после отмены гранулоцитарного колониестимулирующего фактора мы отметили относительно высокий уровень Т- и НК-клеток, что очень важно для борьбы с инфекциями и осуществления противоопухолевого контроля: уровень клеток CD3+ составлял более $0,7 \times 10^9/\text{л}$, CD4+ — более $0,5 \times 10^9/\text{л}$, CD56+ — более $0,2 \times 10^9/\text{л}$. Острая РТПХ оценивалась у 17 пациентов с восстановленным донорским кроветворением. У 16 (94 %) из 17 детей отмечались признаки острой РТПХ, при этом тяжелая (> II степени) острая РТПХ была лишь у 6 % пациентов (IV степени — 0 %). Хроническая РТПХ оценивалась у

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, собственные результаты гаплогенотипной трансплантации «неманипулированных» (без дополнительной обработки) ГСК оказались вполне сравнимыми по показателю трансплантационной летальности с представленным в литературе, а также с результатами трансплантаций с Т-деплецией материала. Применение режимов кондиционирования сниженной интенсивности наряду с совершенствованием схем фармакологической профилактики РТПХ и сопроводительной терапии позволило минимизировать смертность от трансплантационных осложнений. В связи с этим к настоящему времени возрастает интерес к гаплогенотипной трансплантации. В недавно опубликованном исследовании W. Leung и соавт. выживаемость детей с острыми лейкозами высокого риска после проведения гаплогенотипной трансплантации оказалась даже выше, чем после трансплантаций от HLA-идентичных родственных и неродственных доноров (88, 70 и 61 % соответственно) [73]. Доступность и мотивированность донора существенно облегчает возможность разработки дополнительных противорецидивных программ, основанных на клеточной терапии (например, применение Т-лимфоцитов или НК-клеток, «нагруженных» химерными Т-клеточными рецепторами [74, 75]), для пациентов с крайне высоким риском прогрессирования лейкоза, что в перспективе дает

надежду на дальнейшее увеличение показателей выживаемости. Мы считаем, что сегодня гаплогТКСК перестала быть «терапией отчаяния» и должна своевременно предлагаться пациентам, нуждающимся в пересадке аллогенных ГСК. Вопрос о необходимости манипуляций с трансплантатом *in vitro*, на наш взгляд, остается открытым, в особенности для онкологических пациентов, и может быть решен только в рамках многоцентровых рандомизированных клинических исследований.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rubnitz J.E. Childhood acute myeloid leukemia. *Curr. Treat. Options Oncol.* 2008; 9: 95–105.
2. Creutzig U., Zimmermann M., Henze G. et al. Treatment strategies and long-term results in paediatric patients treated in four consecutive AML BFM trials. *Leukemia* 2005; 19(12): 2030–42.
3. Perel Y., Auvrignon A., Vannier J.P. et al. Treatment of childhood acute myeloblastic leukemia: dose intensification improves outcome and maintenance therapy is of no benefit—multicenter studies of the French LAME (Leucemie Aigue Myeloblastique Enfant) Cooperative Group. *Leukemia* 2005; 19(12): 2082–9.
4. August K.J., Narendran A., Neville K.A. Pediatric Relapsed or Refractory Leukemia: New Pharmacotherapeutic Developments and Future Directions. *Drugs* 2013; 73: 439–61.
5. Grimwade D., Walker H., Oliver F. et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood* 1998; 92: 2322–33.
6. Gorman M.F., Ji L., Hutchinson R. et al. Outcome for children treated for relapsed or refractory acute myelogenous leukemia (rAML): a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia (TACL) Consortium study. *Pediatr. Blood Cancer* 2010; 55(3): 421–9.
7. Liu D.-H., Xu L.-P., Liu K.-Y. et al. Long-term outcomes of unmanipulated haploidentical HSCT for paediatric patients with acute leukaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48: 1519–24.
8. Shaw P.J., Kan F., Pulsipher M.A. et al. Outcomes of pediatric bone marrow transplantation for leukemia and myelodysplasia using matched sibling, mismatched related, or matched unrelated donors. *Blood* 2010; 116: 4007–15.
9. Gluckman E., Vanderson R., William A. et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337(6): 373–81.
10. Kurtzberg J., Laughlin M., Graham M.L. et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 157–66.
11. Wagner J.E., Rosenthal J., Sweetman R. et al. Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood* 1996; 88: 795–802.
12. Silberstein L.E., Jefferies L.C. Placental-blood banking — a new frontier in transfusion medicine. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 199–201.
13. Rubinstein P., Rosenfield R.E., Stevens C.E. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Blood* 1993; 81: 1679–90.
14. Rubinstein P., Dobrila L., Rosenfield R.E. et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1995; 92: 10119–22.
15. Rocha V., Gluckman E., Frasson F. et al. Unrelated cord blood transplantation: outcomes after single-unit intrabone injection compared with double-unit intravenous injection in patients with hematological malignancies. *Transplantation* 2013; 95(10): 1284–91.
16. Page K.M., Zhang L., Kurtzberg J. et al. Total colony-forming units are a strong, independent predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: a single-center analysis of 435 cord blood transplants. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17(9): 1362–74.
17. Barker J.N., Scaradavou A., Stevens C.E. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood* 2010; 115: 1843–9.
18. Sideri A., Neokleous N., Gluckman E. An overview of the progress on double umbilical cord blood transplantation. *Haematologica* 2011; 96(8): 1213–20.
19. Rocha V., Crotta A., Gluckman E. et al. Double cord blood transplantation: extending the use of unrelated umbilical cord blood cells for patients with hematological diseases. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2010; 23(2): 223–9.

20. Powles R.L., Morgenstern G.R., Robinson B. et al. Mismatched family donors for bone marrow transplantation as treatment for acute leukaemia. *Lancet* 1983; 1: 612.
21. Beatty P.G., Clift R.A., Storb R. et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA identical siblings. *N. Engl. J. Med.* 1985; 313: 765.
22. Hows J.M., Yin J.L., Goldman J.M. et al. Histocompatible unrelated volunteer donors compared with HLA nonidentical family donors in marrow transplantation for aplastic anemia and leukemia. *Blood* 1986; 68(6): 1322–8.
23. Reisner Y., Kapoor N., Good R.A. et al. Transplantation for acute leukemia with HLA-A and B non identical parental marrow cells fractionated with soybean agglutinin and sheep red blood cells. *Lancet* 1981; 2(8242): 327–31.
24. Mehta J., Singhal S., Gee A.P. et al. Bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched family donors for acute leukemia: single-center experience of 201 patients. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 389–96.
25. O'Reilly R.J., Kernan N.A., Cunningham I. Allogeneic transplants depleted of T cells by soybean lectin agglutination and E-rosette depletion. *Bone Marrow Transplant.* 1988; 3: 3–6.
26. Schwartz E., Lapidot T., Reisner Y. et al. Abrogation of bone marrow allograft resistance in mice by increased total body irradiation correlates with eradication of host clonable T cells and alloreactive cytotoxic precursors. *J. Immunol.* 1987; 138(2): 460–5.
27. Terenzi A., Lubin I., Rabi I. et al. Enhancement of T-cell depleted bone marrow allografts in mice by thiotepa. *Transplantation* 1990; 50(4): 717–20.
28. Cobbold S.P., Martin G., Waldmann H. et al. Monoclonal antibodies to promote marrow engraftment and tissue graft tolerance. *Nature* 1986; 323(6084): 164–6.
29. Reisner Y., Itzicovitch L., Sharon N. et al. Hematopoietic stem cell transplantation using mouse bone-marrow and spleen cells fractionated by lectins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1978; 75(5): 2933–6.
30. Aversa F., Tabilio A., Giannoni C. et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 1994; 84(11): 3948–55.
31. Aversa F., Terenzi A., Ballanti S. et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: A phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(15): 3447–54.
32. Schumm M., Lang P., Taylor G. et al. Isolation of highly purified autologous and allogeneic peripheral CD34+ cells using the CliniMACS device. *J. Hematother.* 1999; 8: 209–18.
33. Klingebiel T., Cornish J., Labopin M. et al. Pediatric Diseases and Acute Leukemia Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Results and factors influencing outcome after fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children with very high-risk acute lymphoblastic leukemia: impact of center size: an analysis on behalf of the Acute Leukemia and Pediatric Disease Working Parties of the European Blood and Marrow Transplant group. *Blood* 2010; 115: 3437–46.
34. Ciceri F., Labopin M., Rocha V. et al. Acute Leukemia Working Party (ALWP) of European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Group. A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation. *Blood* 2008; 112(9): 3574–81.
35. Barfield R.C., Otto M., Houston J. et al. A one-step large-scale method for T- and B-cell depletion of mobilized PBSC for allogeneic transplantation. *Cytotherapy* 2004; 6: 1–6.
36. Oevermann L., Handgretinger R. New strategies for haploidentical transplantation. *Pediatr. Res.* 2012; 71(4 Pt. 2): 418–26.
37. Hale G.A., Kasow K., Gan K. et al. Haploidentical Stem Cell Transplantation with CD3 Depleted Mobilized Peripheral Blood Stem Cell Grafts for Children with Hematologic Malignancies. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology, 10–13 December 2005, Atlanta, GA, USA.
38. Hale G.A., Kasow K., Madden R. et al. Mismatched family member donor transplantation for patients with refractory hematologic malignancies: Long-term follow-up of a prospective clinical trial. 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology, 9–12 December 2006, Orlando, FL, USA.
39. Handgretinger R., Chen X., Lang P. et al. Feasibility and Outcome of Reduced-Intensity Conditioning in Haploidentical Transplantation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007; 1106: 279–89.
40. Federmann B., Handgretinger R., Bethge W.A. et al. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: a phase II study. *Haematologica* 2012; 97(10): 1523–31.
41. Bader P., Koehl U., Klingebiel T. et al. Rapid immune recovery and low TRM in haploidentical stem cell transplantation in children and adolescence using CD3/CD19-depleted stem cells. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2011; 24: 331–7.
42. Dufort G., Pisano S., Castillo L. et al. Feasibility and outcome of haploidentical SCT in pediatric high risk hematologic malignancies and Fanconi anemia in Uruguay. *Bone Marrow Transplant.* 2012; 47(5): 663–8.
43. Palma J., Handgretinger R., Rivera G.K. et al. Haploidentical stem cell transplantation for children with high-risk leukemia. *Pediatr. Blood Cancer* 2012; 59(5): 895–901.
44. Gonzalez-Vicent M., Ramirez M., Diaz M.A. et al. Graft manipulation and reduced-intensity conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from mismatched unrelated and mismatched/haploidentical related donors in pediatric leukemia patients. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2010; 32(3): e85–90.

45. Oevermann L., Lang P., Handgretinger R. et al. Immune reconstitution and strategies for rebuilding the immune system after haploidentical stem cell transplantation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2012; 1266: 161–70.
46. Locatelli F., Vinti L., Moretta L. et al. Strategies to optimize the outcome of children given T-cell depleted HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2011; 24(3): 339–49.
47. Azevedo R.I., Soares M.V., Sousa A.E. et al. Long-term immune reconstitution of naive and memory T cell pools after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(5): 703–12.
48. Handgretinger R. Negative depletion of CD3(+) and TcR $\alpha\beta$ (+) T cells. *Curr. Opin. Hematol.* 2012; 19(6): 434–9.
49. Bonneville M., O'Brien R.L., Born W.K. Gammadelta T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10: 467–78.
50. Chiplunkar S., Dhar S., Wesch D., Kabelitz D. Gammadelta T cells in cancer immunotherapy: current status and future prospects. *Immunotherapy* 2009; 1: 663–78.
51. Godder K.T., Henslee-Downey P.J., Mehta J. et al. Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased gammadelta T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 751–7.
52. Locatelli F., Bauquet A., Bertaina A. et al. Negative depletion of $\alpha\beta$ T cells and of CD19+ B lymphocytes: A novel frontier to optimize the effect of innate immunity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol. Lett.* 2013 Sep 30.
53. Doderio A., Carniti C., Raganato A. et al. Haploidentical stem cell transplantation after a reduced-intensity conditioning regimen for the treatment of advanced hematologic malignancies: posttransplantation CD8-depleted donor lymphocyte infusions contribute to improve T-cell recovery. *Blood* 2009; 113: 4771–9.
54. Amrolia P.J., Muccioli-Casadei G., Huls H. et al. Adoptive immunotherapy with allodepleted donor T-cells improves immune reconstitution after haploidentical stem cell transplantation. *Blood* 2006; 108: 1797–808.
55. Mielke S., Nunes R., Rezvani K. et al. A clinical-scale selective allodepletion approach for the treatment of HLA-mismatched and matched donor-recipient pairs using expanded T lymphocytes as antigen-presenting cells and a TH9402-based photodepletion technique. *Blood* 2008; 111: 4392–402.
56. Feuchtinger T., Matthes-Martin S., Richard C. et al. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 2006; 134: 64–76.
57. Feuchtinger T., Opher K., Bethge W.A. et al. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood* 2010; 116: 4360–7.
58. Perruccio K., Tosti A., Burchielli E. et al. Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. *Blood* 2005; 106: 4397–406.
59. Lugthart G., Albon S.J., Ricciardelli I. et al. Simultaneous generation of multivirus-specific and regulatory T cells for adoptive immunotherapy. *J. Immunother.* 2012; 35: 42–53.
60. Di I.M., Falzetti F., Carotti A. et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA haploidentical transplantation. *Blood* 2011; 117(14): 3921–8.
61. Brehm C., Huenecke S., Quaiser A. et al. IL-2 stimulated but not unstimulated NK cells induce selective disappearance of peripheral blood cells: concomitant results to a phase I/II study. *PLoS One* 2011; 6(11): e27351.
62. Rizzieri D.A., Storms R., Chen D.F. et al. Natural killer cell-enriched donor lymphocyte infusions from A 3-6/6 HLA matched family member following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2010; 16: 1107–14.
63. Passweg J.R., Tichelli A., Meyer-Monard S. et al. Purified donor NK-lymphocyte infusion to consolidate engraftment after haploidentical stem cell transplantation. *Leukemia* 2004; 18(11): 1835–8.
64. Rubnitz J.E., Inaba H., Ribeiro R.C. et al. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(6): 955–9.
65. Ji S.Q., Chen H.R., Xun C.Q. et al. G-CSF-primed haploidentical marrow transplantation without ex vivo T cell depletion: an excellent alternative for high-risk leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30(12): 861–6.
66. Lu D.P., Dong L., Liu K.Y. et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood* 2006; 107(8): 3065–73. Epub 2005 Dec 27.
67. Yabe H., Inoue H., Yabe M. et al. Unmanipulated HLA-haploidentical bone marrow transplantation for the treatment of fatal, nonmalignant diseases in children and adolescents. *Int. J. Hematol.* 2004; 80(1): 78–82.
68. Ikegami K., Tanji Y., Ogawa H. et al. Successful treatment of refractory T-cell acute lymphoblastic leukemia by unmanipulated stem cell transplantation from an HLA 3-loci mismatched (haploidentical) sibling. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31(6): 507–10.
69. Shimazaki C., Ochiai N., Nakagawa M. et al. Non-T-cell-depleted HLA haploidentical stem cell transplantation in advanced hematologic malignancies based on the fetomaternal microchimerism. *Blood* 2003; 101(8): 3334–6.
70. Huang X., Liu D., Zhang X. et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T cell depletion for treatment of hematologic malignancies in children. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009; 15(1): 91–4.
71. Mochizuki K., Kikuta A., Hosoya M. et al. Feasibility of tacrolimus, methotrexate, and prednisolone as a graft-versus-host disease prophylaxis in non-T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for children. *Clin. Transplant.* 2011; 25(6): 892–7.
72. Субботина Н. Режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью. Современный взгляд и собственный опыт применения в детской онкологии (обзор литературы). *Дет. онкол.* 2009; 3–4: 3–14. [Subbotina N. Reduced intensity conditioning regimens. Current view and own experience with usage in pediatric oncology (literature review). *Det. onkol.* 2009; 3–4: 3–14. (In Russ.)].
73. Leung W., Handgretinger R., Pui C.H. et al. High success rate of hematopoietic cell transplantation regardless of donor source in children with very high-risk leukemia. *Blood* 2011; 118(2): 223–30.
74. Grupp S.A., Kalos M., Barrett D. et al. Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368(16): 1509–18.
75. Tettamanti S., Marin V., Pizzitola I. et al. Targeting of acute myeloid leukemia by cytokine-induced killer cells redirected with a novel CD123-specific chimeric antigen receptor. *Br. J. Haematol.* 2013; 161(3): 389–401.

Н.Н. Субботина — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения детской трансплантации костного мозга

И.С. Долгополов — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения детской трансплантации костного мозга

А.В. Попа — доктор медицинских наук, заведующий отделением химиотерапии гемобластозов

В.К. Бояршинов — кандидат медицинских наук, врач отделения детской трансплантации костного мозга

Р.И. Пименов — врач отделения детской трансплантации костного мозга

Г.Л. Менткевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением детской трансплантации костного мозга

Адрес для переписки: Н.Н. Субботина, 115478, Каширское шоссе, д. 24, Москва, Российская Федерация, тел.: +7 (499) 3244508, e-mail: natik-23@yandex.ru