

Опыт применения комбинации стволовых клеток пуповинной и периферической крови от частично-совместимых родственных доноров у больного нейробластомой IV стадии

И.С. Долгополов¹, Н.Н. Субботина¹, В.К. Бояршинов¹, А.А. Исаев², Л.Ю. Андреева³,
И.А. Демидова⁴, Р.С. Равшанова¹, Г.Л. Менткевич¹

¹НИИ Детской онкологии и гематологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²Гемабанк, Москва

³НИИ Клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

⁴ГУ Гематологический Научный Центр, Москва

Ключевые слова: стволовые клетки, пуповинная кровь, нейробластома.

За последние два десятилетия пуповинная кровь признана в качестве полноценного и равноправного источника гемо-поэтических стволовых клеток наряду с костным мозгом и периферической кровью. Первая трансплантация клеток пуповинной крови от сиблинга, проведенная в 1988 г. ребенку с анемией Фанкони, позволила не только расширить показания к трансплантации, но и углубила наши познания об основах гемопоэза и принципах становления посттрансплантационного иммунитета. Важным шагом явилось создание банков пуповинной крови по всему миру, что увеличило вероятность нахождения подходящего донора, и, следовательно, благоприятно сказалось на трансплантационной активности. Преимуществами клеток пуповинной крови являются относительная легкость получения, высокий пролиферативный потенциал и «наивность» иммунной системы трансплантата. Проблемами являются малый объем и низкая клеточность получаемого материала, что приводит к замедленному восстановлению показателей гемопоэза после трансплантации, существенно увеличивает длительность пребывания больного в стационаре и потребность в трансфузии препаратов крови. Делаются попытки преодолеть неблагоприятные факторы путем одновременной трансплантации мезенхимальных клеток и пуповинной крови или последовательной трансплантации нескольких образцов пуповинной крови от разных доноров. Мы представляем описание случая последовательной трансплантации гемопоэтических клеток пуповинной крови и периферических стволовых клеток от родственного частично-совместимого донора больному с нейробластомой IV стадии.

Мальчик, 5 лет, поступил в отделение с диагнозом: нейробластома забрюшинного пространства IV стадии с поражением костного мозга и лимфатических узлов забрюшинного пространства, средостения, над- и подключичной области слева. Первично в г. Омске в октябре 2004 г. на основании клинических и радиологических данных был ошибочно поставлен диагноз: нефробластома и в декабре 2004 г. начата терапия по программе SIOP-2000 с сокращением опухолевой массы на 25%. После проведения макроскопически неполного оперативного удаления опухоли забрюшинного пространства в январе 2005 г. и гистологического исследования диагноз

изменен на нейробластома. Индуктивная химиотерапия (ХТ) проведена по протоколу NB-97 с января по август 2005 г. и включала винкристин, цисплатин, вепезид, дакарбазин, гомлоксан и адриамицин. Санация костного мозга достигнута после первого курса протокольной ХТ. В марте 2005 г. по данным сканирования с MIBG I¹²³ отмечается патологическое накопление в забрюшинных, над- и подключичных лимфатических узлах и средостении. Лучевая терапия проведена в СОД 12 Гр на средостение и брюшную полость в июле и августе 2005 г. соответственно. По окончании индуктивной ХТ сохраняется накопление MIBG I¹²³ в левой над- и подключичной областях. По данным КТ брюшной полости в области первичной опухоли имеется частично кальцинированный конгломерат лимфатических узлов. В октябре 2005 г. проведена операция типа «second look» на брюшной полости и удаление надключичных лимфатических узлов. По данным гистологического заключения опухолевых клеток в материале, полученном из брюшной полости, не найдено, а в надключичных лимфатических узлах имеются клетки нейробластомы без признаков патоморфоза. В послеоперационном периоде на эту область проведена лучевая терапия в дозе 10,8 Гр. При контрольном обследовании в ноябре 2005 г. констатирован частичный эффект в связи с наличием объемного образования в средостении размером 23х16х15 мм с кальцинатами и сохраняющееся накопление MIBG I¹²³ в этой области.

В процессе лечения у родителей больного родился ребенок мужского пола, чья пуповинная кровь была собрана и криоконсервирована в Гемабанке (Москва). Материал объемом 39 мл содержал $0,44 \times 10^8$ ядросодержащих клеток/кг и $0,16 \times 10^6$ CD 34⁺ клеток/кг веса реципиента. Согласно результатам HLA типирования больной и его сиблинг полностью совпадали по II классу (HLA DRB1 и DQB1). По данным типирования родителей у отца было выявлено совпадение 10/10 HLA антигенов в направлении донор-реципиент и 9/10 в направлении реципиент-донор (таб.). Учитывая крайне неблагоприятный прогноз заболевания, больному было предложено проведение 2 последовательных аллогенных родственными трансплантаций на фоне режима кондиционирования со сниженной интенсивностью. Режим кондиционирования был начат 10.11.2005 г. и включал флюдарабин 180 мг/м²; антиtimoцитарный иммуноглобулин 40 мг/кг и

бусульфан 8 мг/кг. г. Первая трансплантация клеток пуповинной крови произведена 17.11.2005 г. (день 0). Профилактика острой РТПХ включала в себя только назначение циклоспорина в дозе 2,5 мг/кг/сут со дня -1. Одновременно начата стимуляция кроветворения отца Г-КСФ с целью сбора стволовых клеток периферической крови. На день +4 отцу проведен сеанс лейкофереза на сепараторе клеток крови Cobe Spectra. Полученный материал включал

$17,7 \times 10^8$ ядросодержащих клеток/кг, $19,6 \times 10^6$ CD 34⁺ клеток/кг и $4,5 \times 10^8$ CD 3⁺ клеток/кг веса реципиента и был перелит пациенту после кратковременной инкубации с винкристином и метилпреднизолоном. Профилактика РТПХ была усилена метотрексатом в дни +1, +3, +6 на фоне постоянно поддерживаемой терапевтической концентрации циклоспорина в крови. Г-КСФ в дозе 5 мкг/кг внутривенно назначен с дня 0.

Таблица. HLA-типирование пациента и родственников

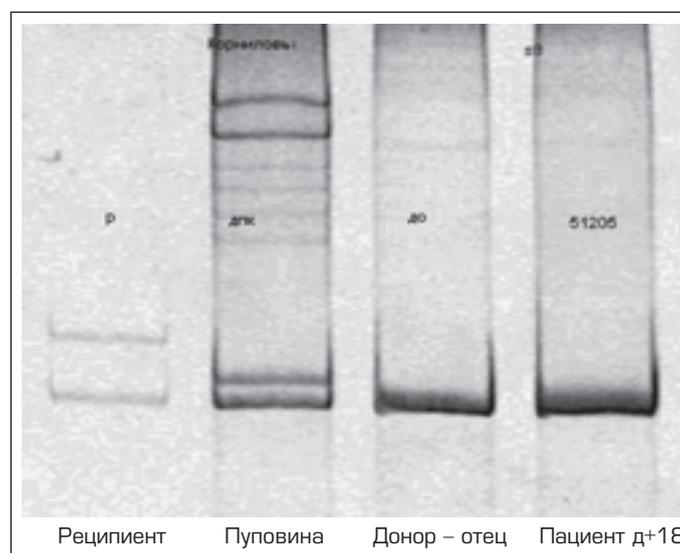
Результаты типирования	I класс (серология)				II класс (высокое разрешение)			
	HLA A		HLA B		HLA DRB1		HLA DQB1	
Пациент	3	25(10)	7	18	8	15	0401/2	0602-8
Пуповинная кровь	3	3	50(12)	7	8	15	0401/2	0602-8
Отец	3	25(10)	7	18	15	15	0602-8	0602-8

Самочувствие больного оставалось удовлетворительным. Не отмечалось токсичности >1 степени, индекс Карновского/Лански сохранялся на уровне 90%. Интересно, что падение уровня лейкоцитов ниже $1,0 \times 10^9$ /л отмечалось только на день +7 после первой трансплантации. Первый эпизод лихорадки, потребовавший назначения антибактериальной терапии отмечен на день +9. Со дня +6 на коже было впервые отмечено появление мелкопятнистой сыпи, усиливающейся во время введения циклоспорина. Лейкоциты $>1,0 \times 10^9$ /л и тромбоциты $>50 \times 10^9$ /л восстановились на день +15 и день +17 соответственно.

На день +18 методами высокого разрешения констатировано полное приживление трансплантата от отца и полное отсутствие в крови пациента ДНК сиблинга (рис.). Со дня +20 развилась кожная форма РТПХ 2 стадии, которая разрешилась ко дню +32 на фоне назначения стероидов в дозе 3 мг/кг/сут. На фоне снижения гормонов до дозы 0,5 мг/кг/сут наблюдался рецидив острой кожной РТПХ 2 стадии. Дальнейшее снижение гормонов было приостановлено, и к терапии добавлен микофенолат мофетил. По результатам контрольного обследования через три недели после трансплантации объемное образование в передне-верхнем средостении сохранялось без существенной динамики процесса. При цитологическом исследовании костного мозга поражения не выявлено. В настоящее время, спустя 75 дней после трансплантации, больной находится в состоянии стабилизации основного заболевания по данным рентгенологического исследования, и у него сохраняется полный донорский химеризм (отец). В периферической крови (по данным исследований субпопуляции лимфоцитов) с первого месяца после трансплантации наблюдаются нормальные уровни зрелых Т-лимфоцитов и повышение уровней NK клеток.

Впервые в России мы показали возможность и безопасность проведения сочетанной трансплантации клеток

пуповинной крови и гемопоэтических клеток взрослого донора. Длительное отсутствие снижения уровня лейкоцитов $<1,0 \times 10^9$ /л и инфекционного синдрома может быть объяснено высоким содержанием коммитированных предшественников в пуповинной крови и их ускоренным созреванием на фоне применения Г-КСФ. Установление полного донорского химеризма в ранние сроки и раннее восстановление иммунной системы обеспечивает хорошую базу для реализации эффекта «трансплантат-против-опухоли» и иммунотерапии.



Определение химеризма с использованием гипервариабельного маркера рMCT(D1S180)