

## Трансплантация двух HLA-совместимых единиц пуповинной крови как современный подход к решению проблемы малого количества клеток и альтернатива аллогенной трансплантации костного мозга при лейкемии у взрослых пациентов

А.В. Берсенёв

Thomas Jefferson University, Philadelphia, USA

Трансплантация клеток пуповинной крови (ПК), как альтернатива неродственной трансплантации костного мозга (ТКМ), уже прочно заняла свои позиции в онкогематологии. К основным преимуществам трансплантации ПК, по сравнению с ТКМ, относят более низкую частоту развития «реакции трансплантат-против-хозяина» (РТПХ) и более либеральный подход к степени HLA-совместимости трансплантата при равном посттрансплантационном прогнозе. Однако, при трансплантации ПК отмечают более низкий engraftment и повышенную вероятность рецидива [1, 2].

Если в детской онкогематологии трансплантация ПК вместо ТКМ стала уже рутинной процедурой, то основной проблемой такой трансплантации во «взрослой клинике» является недостаточное количество клеток в одном трансплантате для полного энграфтинга и восстановления нормального гемопоэза. Менее 30% взрослых пациентов, находящихся в ожидании трансплантата, могут рассчитывать на подходящий (по дозе клеток и HLA-совместимости) образец ПК. Богатая клиническая практика трансплантации костного мозга показала решающее значение дозы ядродержащих (ЯСК) и гемопоэтических (CD34<sup>+</sup>) клеток в трансплантате для успешного прогноза – энграфтинга и выживаемости пациентов с лейкемией. Так, известно, что трансплантация ПК в дозе менее 180 млн/кг ядродержащих клеток и меньше 170 тыс/кг CD34<sup>+</sup> клеток ассоциирована с их крайне низким приживлением и высокой летальностью пациентов [3].

Вопрос о ретрансплантации гемопоэтических клеток (костного мозга, ПК и/или обогащённой фракции мобилизированной крови) обычно возникает при острой недостаточности и отторжении трансплантата, рецидиве лейкемии [4, 5, 6]. Проблема недостаточной дозы клеток (как ядродержащих в целом, так и CD34<sup>+</sup> гемопоэтических – в частности) в онкогематологической клинике не нова. Ещё в 1969 г. были описаны попытки увеличения дозы клеток в трансплантате методом использования второго неродственного донора костного мозга [7]. В настоящее время предлагаются два основных пути решения проблемы «недостаточной дозы трансплантата» – экспансия гемопоэтических клеток (ГК) *in vitro* перед трансплантацией и трансплантация смеси ядродержащих клеток (ЯСК) из двух разных образцов ПК.

Ранее уже сообщалось об успешном клиническом применении кратковременной экспансии ГК *in vitro* перед трансплантацией размороженного образца ПК [8]. В 2000 г. была успешно осуществлена трансплантация клеток ПК, подвергшихся предварительной экспансии *ex vivo* (AastromReplicell System) 2-м взрослым пациентам с хронической миелоидной

лейкемией [9]. Другим подходом при недостаточности первого трансплантата ПК могла бы стать «пожарная трансплантация» второго в «щадящем режиме». О клиническом успехе такого подхода сообщила совсем недавно японская группа Ohwada [4]. Для профилактики ранних осложнений, связанных с трансплантацией низкой дозы ПК у взрослых, Fernandez предлагает прибегать к котрансплантации низкой дозы пурифицированных CD34<sup>+</sup> клеток, мобилизованных в периферический кровоток здоровых гаплоидентичных родственных доноров [10]. Первые попытки инфузии смеси нескольких образцов ПК от разных доноров онкологическим больным были осуществлены ещё в 60–70-е годы, но не увенчались успехом и относились к разряду «пробных» [11, 12]. В 1994 году Shen выполнил трансплантацию смеси нескольких несовместимых образцов ПК 4-м пациентам с солидным раком, показав возможность полной ремиссии (3 из 4 пациентов) и отсутствие РТПХ [13].

Экспериментальные данные по трансплантации 2 проб человеческой ПК в организм преиммунных овец подтвердили отсутствие иммунного конфликта [17]. После трансплантации lineage<sup>-</sup> гемопоэтических клеток 2 образцов ПК в NOD/SCID мышей был показан хороший ко-энграфтинг и отсутствие ингибирования иммунологически различных клеток донора друг другом [18]. Однако, совсем недавно в экспериментальной работе был показан высококонкурентный (между пробами) энграфтинг клеток и «ассимметричный химеризм» после трансплантации 2 единиц ПК, одна из которых была нефракционирована, а вторая обогащена CD34<sup>+</sup> методом lineage-деплеции [19]. Неожиданно исследователи наблюдали развитие «реакции трансплантат-против-трансплантата», что было ассоциировано с наличием CD34<sup>-</sup>/lineage<sup>+</sup> клеток [19]. De Lima описывает наблюдение ко-энграфтинга обоих донорских образцов ПК с достижением полной ремиссии у пациента с острой формой лейкемии [20]. Таким образом, механизмы конкурентного энграфтинга при одномоментной трансплантации 2 образцов ПК остаются до конца не ясными и дискуссионными.

Пионерами по разработке современного метода «двухдозной» трансплантации ПК стала группа Juliet Barker из University of Minnesota. Разработка метода и первые клинические наблюдения были описаны в предшествующих публикациях группы [14, 15, 16, 23]. В первом клиническом сообщении наблюдался неконкурентный энграфтинг обеих единиц в первые 60 дней после трансплантации [14]. Недавно были опубликованы результаты клинического исследования по изучению эффективности трансплантации двух единиц ПК (для решения проблемы малого количества клеток)

взрослым пациентам с лейкемией [21]. Группа Barker из University of Minnesota проанализировала результаты деятельности центра за последние 3 года и подвела итоги II фазы клинических испытаний метода [21, 22, 23]. На результатах этого исследования хотелось бы остановиться подробнее.

В исследование было включено 23 пациента с острыми и хроническими формами лейкемии. Критериями отбора к трансплантации 2 доз ПК считались: невозможность родственной трансплантации костного мозга при HLA-совместимости < 5–6/6 (HLA–A, B, DRB1), отсутствие совместимого неродственного трансплантата, совместимости < 4–6/6 HLA при наличии одного адекватного образца ПК и неадекватная клеточная доза в ПК-трансплантате. Все пациенты подвергались различным режимам миелоабляции перед трансплантацией. Оба образца ПК подбирали по HLA-совместимости (> 4–6/6 HLA–A, B, DRB1). Минимальной дозой для трансплантации считали > 15 млн ЯСК/кг веса.

Все пациенты продемонстрировали устойчивый энgraфтинг с выходом из нейтропении в течение 23 дней (в среднем) после трансплантации. В 76% наблюдался энgraфтинг образца одного донора и в 24% – обоих. Смешанный донорский гемопоэз наблюдали только в 2 случаях на 60-й день после трансплантации. Острая «реакция трансплантат-против-хозяина» II–IV и III–IV степеней наблюдалась в 65 и 13% соответственно. Одногодичная выживаемость с переходом в ремиссию составила 57% и 72% в группе пациентов, которым была выполнена трансплантация.

Интересно, что дозы ЯСК (180 против 190 млн/кг) и CD34<sup>+</sup> (150 против 200 тыс/кг) клеток в доминантных образцах оказывались несколько ниже, чем в «проигравших» при одинаковом % (60–61) жизнеспособных клеток после разморозки. Напротив, количество CD3<sup>+</sup> клеток (зрелые T-лимфоциты) в доминантных образцах оказывалось выше, чем в «проигравших» энgraфтинг (6 против 4 млн/кг). Эти данные согласуются с результатами, полученными в экспериментальной работе группы Kim [18]. То есть, «выигранный» донорский энgraфтинг, как и вероятность развития «реакции трансплантат-против-трансплантата», зависит от содержания зрелых T-клеток (в частности, CD3<sup>+</sup>) и не зависит от степени HLA-совместимости между образцами. В недавней экспериментальной работе Nauta [24] было подтверждено, что один образец выигрывает конкурентный энgraфтинг у второго. Было показано, что энgraфтинг значительно усиливает добавление второго образца, что, однако, нельзя однозначно объяснить увеличением количества CD34<sup>+</sup> клеток, а может происходить за счёт влияния каких-либо факторов из «проигравшего» образца [24].

Таким образом, данные I–II фаз клинических испытаний в University of Minnesota продемонстрировали безопасность и эффективность метода 2-дозной трансплантации ПК для лечения лейкемии. Статистические данные

соответствуют таковым при неродственной трансплантации костного мозга.

Недавно было описано первое клиническое наблюдение по трансплантации 2 образцов ПК мальчику 12 лет с хронической миелоидной лейкемией в Тайване. Наблюдался энgraфтинг только одного несовместимого образца, выигрывавшего и по общему количеству ЯСК [25]. Интересное клиническое исследование было проведено в Китае [26]. Шести пациентам с лейкемией пересаживали смесь 2 образцов ПК. Ни у одного из них не наблюдали смешанного химеризма, что не согласуется с данными других авторов [14, 20]. Время восстановления гемопоэза было сравнимо с таковым при трансплантации одного образца ПК от неродственного донора, однако у 2 пациентов вообще не наблюдали энgraфтинга. У 2 пациентов была достигнута полная ремиссия (время наблюдения – 52 и 48 месяцев). Авторы также отмечают снижение частоты и интенсивности РТПХ [26]. Следует отметить, что образцы ПК для одной трансплантации были несовместимы между собой, в отличие от исследования Barker [21].

В заключение, по результатам проведённых экспериментальных и клинических исследований можно сделать ряд выводов:

1. Трансплантация 2 образцов ПК является достойной альтернативой аллогенной трансплантации костного мозга у взрослых пациентов с лейкемией и решает проблему недостаточного количества гемопоэтических клеток [14–16, 20–23, 26];

2. Преимуществами подхода с трансплантацией 2 доз ПК является более низкая частота развития «реакции трансплантат-против-хозяина» [21, 26] и ускоренный энgraфтинг с восстановлением гемопоэза [18, 21, 24] по сравнению с результатами обычных неродственных трансплантаций ПК [3];

3. Остаётся неясным механизм донорского энgraфтинга и конкуренции между «выигравшим» и «проигравшим» образцами [18, 19, 21, 24]. Основы конкуренции за энgraфтинг между двумя образцами – иммунологические и зависят от содержания негемопоэтических клеток (например, зрелых T-клеток). Более равномерный ко-энgraфтинг, по-видимому, можно получить при lineage-деплеции клеток, исключаяющей «реакции трансплантат-против-трансплантата» [18, 19, 24].

Перспективным направлением является разработка схемы двухдозной трансплантации ПК с немиелоаблятивным протоколом кондиционирования реципиента. После III фазы испытаний станет окончательно ясно о распространении и приживлении метода в широкой клинической мировой практике. Трансплантация двух доз ПК даёт шанс на излечение многим онкогематологическим пациентам, выписанным из центров трансплантации костного мозга по причине отсутствия подходящего трансплантата.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. – М., 2003, 921.
2. Rocha V., Sanz G., Gluckman E. Eurocord and European Blood and Marrow Transplant Group. Umbilical cord blood transplantation. *Curr. Opin. Hematol.* 2004; 11(6): 375–85.
3. Wagner J.E., Barker J.N., DeFor T.E. et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002; 100: 1611–8.
4. Ohwada C., Nakaseko C., Ozawa S. et al. Second cord blood transplantation (CBT) with reduced-intensity conditioning for graft failure after the first CBT for AML. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 34(11): 999–1000.
5. Wolff S. Second hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of graft failure, graft rejection of relapse after allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 29: 545–52.

6. Tanaka T., Matsubara H., Adachi S. et al. Second transplantation from HLA 2-loci-mismatched mother for graft failure due to hemophagocytic syndrome after cord blood transplantation. *Int. J. Hematol.* 2004; 80(5): 467–9.
7. Mathe G., Amiel J.L., Schwarzenberg L. et al. Bone marrow transplantation in man. *Transplant. Proc.* 1969; 1: 16–24.
8. Kogler G., Nurnberger W., Fischer J. et al. Simultaneous cord blood transplantation of ex vivo expanded together with non-expanded cells for high risk leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 24(4): 397–403.
9. Pecora A.L., Stiff P., Jennis A. et al. Prompt and durable engraftment in two older adult patients with high risk chronic myelogenous leukemia (CML) using ex vivo expanded and unmanipulated unrelated umbilical cord blood. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 25: 797–9.
10. Fernandez M.N., Regidor C., Cabrera R. et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: Early recovery of neutrophils by supportive co-transplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34<sup>+</sup> cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp. Hematol.* 2003; 31(6): 535–44.

11. Ende M. Lymphangiosarcoma. Report of a case. *Pac. Med. Surg.* 1966; 74(2): 80–2.
12. Ende M. Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. A new method. *Va. Med. Mon.* 1972; 99(3): 276–80.
13. Shen B.J., Hou H.S., Zhang H.Q., Sui X.W. Unrelated, HLA-mismatched multiple human umbilical cord blood transfusion in four cases with advanced solid tumors: initial studies. *Blood Cells* 1994; 20: 285–92.
14. Barker J.N., Weisdorf D.J., Wagner J.E. Creation of a double chimera after the transplantation of umbilical-cord blood from two partially matched unrelated donors. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344: 1870–1.
15. Barker J.N., Weisdorf D.J., DeFor T.E. et al. Rapid and complete donor chimerism in adult recipients of unrelated donor umbilical cord blood transplantation after reduced intensity conditioning. *Blood* 2003; 102: 1915–19.
16. Barker J.N., Weisdorf D.J., DeFor T.E. et al. Multiple unit unrelated donor umbilical cord blood transplantation in high risk adults with hematologic malignancies: impact on engraftment and chimerism. *Blood* 2002; 100: 41a.
17. Zanjani E., Almeida-Porada G., Hangoc G., Broxmeyer H.E. Enhanced short term engraftment of human cells in sheep transplanted with multiple cord bloods: implications for transplantation of adults. *Blood* 2000; 96: 552a (abstract).
18. Kim D.W., Chung Y.J., Kim T.G. et al. Cotransplantation third-party mesenchymal stromal cells can alleviate single-donor predominance and increase engraftment from double cord transplantation. *Blood* 2004; 103: 1941–8.
19. Yahata T., Ando K., Miyatake H. et al. Competitive repopulation assay of two gene-marked cord blood units in NOD/SCID/gammac(null) mice. *Mol. Ther.* 2004; 10(5): 882–91.
20. De Lima M., St John L.S., Wieder E.D. et al. Double-chimaerism after transplantation of two human leucocyte antigen mismatched, unrelated cord blood units. *Br. J. Haematol.* 2002; 119: 773–6.
21. Barker J.N., Weisdorf D.J., DeFor T.E. et al. Transplantation of two partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005; 105(3): 1343–7.
22. Barker J. Double cord blood transplants in adult recipients. 7th Int Congress Cell Transplant Society. Nov. 17–20, Boston, USA. Book of abstracts; abs. 236; 59.
23. Barker J.N., DeFor T., Davies S.M. et al. Impact of multiple unit unrelated donor umbilical cord blood transplantation in adults: preliminary analysis of safety and efficacy. *Blood* 2004; 98: 666a.
24. Nauta A.J., Kruisselbrink A.B., Lurvink E. et al. Enhanced engraftment of umbilical cord blood-derived stem cells in NOD/SCID mice by cotransplantation of a second unrelated cord blood unit. *Exp. Hematol.* 2005; 33(10): 1249–56.
25. Hung G.Y., Chiou T.J., Chang C.Y. et al. Double-unit unrelated cord blood transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Int. J. Hematol.* 2005; 82(2): 159–61.
26. Wang F.R., Huang X.J., Zhang Y.C. et al. Successful transplantation of double unit umbilical-cord blood from unrelated donors in high risk leukemia with a long follow-up. *Chin. Med. J.* 2005; 118(9): 772–6.