

Результаты

У 62,2% (n=28) встречалась фебрильная лихорадка. После терапии моноклональными АТ 35,5% (n=16) была проведена родственная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), 26,7% (n=12) получили гаплоидентичную ТГСК, а 37,8 (n=17) не получали ТГСК. На август 2018 года живы 64,4% (n=29) пациентов.

Выводы

Большинство пациентов получили терапию моноклональными АТ в качестве 3-й линии терапии. Лечение и уход за такими пациентами требуют особого внимания.

Также, за неимением инструкции на русском языке, необходимо составить регламент приготовления раствора с моноклональным АТ.

Ключевые слова

Иммунотерапия, Милотарг, моноклональные антитела, Блинагумаб, Инотузумаб.

A pilot study of ruxolitinib combined with cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis and relapse prevention in patients with myelofibrosis: a prospective study

Maria V. Barabanshikova, Ivan S. Moiseev, Elena V. Morozova, Julia J. Vlasova, Vadim V. Baykov, Ildar M. Barkhatov, Boris V. Afanasyev

Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children's Oncology, Hematology and Transplantation at the First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Maria V. Barabanshikova
E-mail: mashaprian@mail.ru

Introduction

Allogeneic stem cell transplantation (allo-HSCT) is currently the only treatment modality with curative potential in patients with myelofibrosis (MF), although transplant-associated complications and relapses significantly reduce the application of this method. JAK1/JAK2 inhibitor ruxolitinib is effective in reducing symptomatic splenomegaly and myelofibrosis-related symptoms. At the same time it has significant immunomodulatory effect, and is used for the treatment of steroid-refractory acute and chronic graft-versus-host disease (GVHD). This study evaluated calcineurin inhibitor-free GVHD prophylaxis regimen with ruxolitinib in combination with posttransplant cyclophosphamide (PTCy).

Patients and methods

Twenty patients at a median age of 51 (32-61) years were enrolled in the study. Two patients were diagnosed with post-essential thrombocythemia myelofibrosis, 4, with post-polycythemia vera myelofibrosis; 14, with primary myelofibrosis. By the DIPSSplus scale, 11 patients had intermediate-2, 8 patients had high-risk disease and 1 patient was transplanted in blast crisis. Fifteen patients were positive for *JAK2V617F*; 3 were *CALR*-positive; and 2 were *MPL*-positive before alloHSCT. All patients were treated with JAK1/2 inhibitors before alloHSCT, with median treatment duration of 6 months (3-22) at a dose of 30-45 mg. The disease stabilization occurred in 11 patients; clinical improvement, in 8, and the disease progression was observed in 1 case. Splenectomy was performed in 7 patients, due to poor spleen

response. Reduced-intensity conditioning (fludarabine 180 mg/m² plus busulfan 8-10 mg/kg) followed by allo-HSCT performed from full-matched related (n=3) or unrelated donor (n=10), and mismatched HSCT (HLA 9/10) from unrelated (n=2) or haploidentical donor (n=5). Graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis consisted of posttransplant cyclophosphamide 100 mg/kg at day +3, +4 and ruxolitinib 5-7.5 mg bid from day+5 to day +50 (n=2), and day +100 (n=18). G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells (n=19) and bone marrow (n=1) were used as stem cell sources. Median number of CD34+cells/kg was 6.7x10⁶ (1.4-12.0). The trial is registered on clinicaltrials.gov, NCT02806375.

Results

Median follow-up time was 18 (6.6-36.1) months. Primary engraftment was documented in 18 patients. Median time to leukocyte engraftment was 32 days (18-61), to platelet engraftment, 38 days (15-219). One patient received second transplantation from the same donor due to primary graft failure. He died in cytopenia accomplished by sepsis. Severe poor graft function was documented in 11 patients. In 7 of these cases, it resolved spontaneously with a median duration of 79 days (16-470). Three patients recovered after CD34+ boost administration. Dose reduction of ruxolitinib to 10 mg/day due to poor graft function was performed in 8 patients. Three out of four deaths occurred before engraftment: one patient was lost due to *Pseudomonas aeruginosa* sepsis, one death was associated with gastrointestinal bleeding, and one patient deceased due to primary graft failure and sepsis. One patient died due to thrombotic microangiopathy and sepsis on D+115. Twenty-nine percent of

patients developed acute GVHD (grade 2-4), 18%, aGVHD grade 3-4. In all cases except of one, aGVHD grade 3-4 was successfully treated with calcineurin inhibitors. One patient required systemic steroid therapy. Moderate chronic GVHD (NIH) was documented in 29% of patients. The regimen was well tolerated. Grade 3-4 toxicities included only toxic hepatitis in 4 and sepsis in 5 patients. Mild veno-occlusive disease was observed in one patient, TMA, in one case. Viral reactivation was documented in 47% of patients, CMV (n=6), EBV (n=1), HHV type 1,2 (n=1), HHV type 6 (n=2), BK virus (n=1). Moderate hemorrhagic cystitis developed in 2 patients. Non-relapse mortality on D+100 was 15% and 20%, at 1 year. The two-year overall survival was 80%. All the patients achieved hematological, molecular remission and full donor chimerism. Near-complete resolution of bone marrow

fibrosis was documented in 12 patients. No molecular or hematological relapses were registered.

Conclusion

AlloHSCT is an effective treatment modality for myelofibrosis. GVHD prophylaxis using a combination of PTCy and ruxolitinib is associated with good acute and chronic GVHD control, and it seems to be a promising modality, at least for MF patients.

Keywords

Myelofibrosis, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, ruxolitinib, graft-versus-host disease, prophylaxis, cyclophosphamide.

Применение посттрансплантационного циклофосфида и руксолитиниба в качестве профилактики реакции трансплантат против хозяина и рецидива у пациентов с миелофиброзом: проспективное исследование

Мария В. Барabanщикова, Иван С. Моисеев, Елена В. Морозова, Юлия Ю. Власова, Вадим В. Байков, Ильдар М. Бархатов, Борис В. Афанасьев

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой; Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение

Миелофиброз относится к хроническим *BCR-ABL*-негативным миелопролиферативным неоплазиям и сопровождается, как правило, непрерывно прогрессирующим течением. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток в настоящее время является единственным методом терапии, позволяющим добиться излечения от заболевания. Применение ингибитора *JAK1/JAK2* руксолитиниба во многом позволяет изменить статус заболевания на момент алло-ТГСК – уменьшить спленомегалию, конституциональные симптомы, улучшить гематологические показатели, в ряде случаев привести к регрессу фиброза в костном мозге. В то же время руксолитиниб обладает иммуномодулирующим эффектом, благодаря чему широко используется для лечения острой и хронической РТПХ. В нашем исследовании мы использовали руксолитиниб в комбинации с посттрансплантационным циклофосфаном в качестве профилактики РТПХ и рецидива заболевания.

Материалы и методы

Мы проанализировали результаты алло-ТГСК у 20 пациентов в возрасте от 32 до 61 лет (медиана 51 год). У 14 пациентов был диагностирован первичный миелофиброз, у 2 пациентов – посттромбоцитомический миелофиброз, у 4 пациентов – постполицитомический миелофиброз. Одиннадцать пациентов относились к промежуточному-2 риску по шкале DIPSSplus, восемь – к высокой группе риска. Одному пациенту алло-ТГСК была выполнена в фазе бластного криза. У пятнадцати пациентов отмечалась мутация *JAK2V617F*, у двух –

мутация в гене *MPL*, у трех – мутация в гене *CALR*. Все пациенты получали терапию руксолитинибом в качестве предтрансплантационной подготовки, медиана длительности терапии составила 6 месяцев (3-22) в дозе 30-45 мг. У восьми пациентов отмечалось клиническое улучшение, у 1 – прогрессирование заболевания, у 11 – стабилизации заболевания на момент алло-ТГСК. У семи пациентов была выполнена спленэктомия в связи с выраженной спленомегалией и недостаточным ответом со стороны селезенки. Во всех случаях применялся режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз (флударабин 180 мг/м², бусульфан 10 мг/кг). Трём пациентам алло-ТГСК была выполнена от HLA-совместимого (10/10) родственного (3) и неродственного (10) донора, от частично-совместимого (9/10) неродственного донора (2) и гаплоидентичного (5) донора. В качестве профилактики РТПХ использовался циклофосфамид 100 мг/кг в день +3, +4 и руксолитиниб 5-7,5 мг x 2 раза в сутки с дня +5 по день +50(2) и день +100(18). Медиана количества CD34+-клеток составила 6,7x10⁶ (1,4-12,0). Исследование зарегистрировано на clinicaltrials.gov, NCT02806375.

Результаты

Приживление трансплантата было зарегистрировано у 18 больных. Медиана времени до приживления по лейкоцитам составила 32 дня (18-61), по тромбоцитам – 38 дней (15-219). Повторная алло-ТГСК была выполнена в одном случае в связи с первичным неприживлением. Однако пациент погиб из-за инфекционных осложнений во время цитопении. Тяжелая гипофункция транс-

плантата наблюдалась у 11 пациентов. Гипофункция разрешилась самостоятельно у семи больных в течение 79 дней (16-470), в остальных случаях было выполнено введение CD34+ клеток (3). Трое из 4 пациентов погибли до приживления: 1 – сепсис *Pseudomonas aeruginosa*, 1 – желудочно-кишечное кровотечение, 1 – первичное неприживление и сепсис. Одна пациентка погибла в результате тромботической микроангиопатии (ТМА) на Д+115. Острая РТПХ 2-4 степени отмечалась у 29% пациентов, острая РТПХ 3-4 степени – 18%. Во всех случаях, кроме одного, острая РТПХ 3-4 степени разрешилась на фоне терапии ингибиторами кальциневрина. Один пациент получал терапию системными глюкокортикоидными препаратами. Хроническая РТПХ средней степени тяжести наблюдалась у 29% пациентов. Переносимость режима кондиционирования и протокол профилактики была удовлетворительная. Токсичность 3-4 степени, в частности токсический гепатит и сепсис, отмечались у 4 и 5 пациентов соответственно. Веноокклюзионная болезнь средней степени тяжести наблюдалась у 1 пациента, ТМА – 1. Реактивация цитомегаловируса отмечалась у 6 пациентов, EBV – 1, HHV 1 и 2 типа – 1, HHV 6 типа – 2, BK вируса – 1, геморрагический цистит – 2.

Двухлетняя общая выживаемость составила 80%. Все пациенты достигли молекулярной, клинико-гематологической ремиссии, полного донорского химеризма. Практически полный регресс фиброза в костном мозге зарегистрирован у 12 пациентов. Ни в одном случае не отмечалось развитие рецидива заболевания. Трансплантационная летальность составила 15% и 20% через 100 дней и 1 год после алло-ТГСК соответственно.

Заключение

Алло-ТГСК является эффективной терапевтической опцией для пациентов с миелофиброзом. Применение в посттрансплантационном периоде циклофосфида в комбинации с руксолитинибом представляется эффективной терапевтической опцией в качестве профилактики РТПХ и рецидива заболевания.

Ключевые слова

Миелофиброз, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, руксолитиниб, реакция «трансплантат против хозяина», профилактика, циклофосфамид.

Comparative *in vitro* analysis of human NK-cell lines expressing chimeric antigen receptors

Tatyana N. Belovezhets^{1,2}, Andrey A. Gorchakov^{1,2}, Sergey V. Kulemzin¹, Anton N. Chikaev¹, Olga A. Koval^{1,3}, Elena V. Kuligina³, Aleksander V. Taranin^{1,2}

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Contact: Tatyana N. Belovezhets

E-mail: ochotanya@gmail.com

Introduction

CAR T cell therapy received regulatory approval for treatment of pediatric r/rALL patients in August, 2017. Despite impressive efficacy, widespread use of CAR T cell therapy is limited by prohibitively high costs, complex standardization procedures, as well as by inherent difficulties to produce CAR T cell products for certain groups of patients. Moving CAR T cell therapy from autologous to allogeneic format appears highly attractive, yet challenging, as current techniques of cell sorting and genome engineering may do not entirely eliminate the risk of GvHD. Choosing immortalized human NK-cell lines over T cells as CAR carriers offers a possible solution to this problem. Such cell lines are inexpensive to maintain, they do not cause GvHD, and are straightforward to standardize. Several human NK-cell lines have been described to date, however no side-by-side comparisons of activity of such cells engineered to express CARs have been performed.

Methods

In this study, three immortalized human NK-cell line back-

grounds (A, B, and NK-92) were used to establish sublines expressing a CD20-specific CAR. *In vitro* cytotoxicity assays of parental and CAR-expressing cells against CD20-positive Burkitt lymphoma target cells (Raji) were performed. Alternative target cells (HEK293T(CD20+)) and non-target isogenic controls (HEK293T) were also included into cytotoxicity tests.

Results

All the three CAR-NK cell lines obtained displayed pronounced cytotoxicity against Raji target cells, however this cell line was also highly sensitive to killing by unmodified parental NK-92 cells. Thus, in order to perform side-by-side comparisons of CAR-NK cell activity *in vitro*, we established HEK293T cells overexpressing CD20, as the target cell line. The level of non-specific cytotoxicity of parental NK-cell lines against HEK293T(CD20+) cells was below 20% across the E:T ratios ranging from 1 to 5, whereas specific CAR-mediated cytotoxicity at E:T=5 constituted 73% (CAR-NK-92), 55% (CAR-B), and 34% (CAR-A).