

мы обеспечения трансплантационных центров гемопоэтическим материалом от российских неродственных доноров.

Ключевые слова

Регистр доноров костного мозга, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, неродственный донор гемопоэтических стволовых клеток.

Screening for predictive biomarkers after related and unrelated grafts with posttransplantation cyclophosphamide in adult patients

Ivan S. Moiseev¹, Elena V. Babenko¹, Olga S. Epifanovskaya¹, Anna A. Dotsenko¹, Vladislav S. Sergeev¹, Elena A. Surkova², Daria A. Kuznetcova², Sergey V. Lapin², Elena I. Darskaya¹, Elena V. Morozova¹, Sergey N. Bondarenko¹, Boris V. Afanasyev¹

¹ R. M. Gorbacheva Memorial Institute of Hematology, Oncology and Transplantation

² Laboratory of Autoimmune Diagnostics, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Contact: Dr. Ivan S. Moiseev

E-mail: moisiv@mail.ru

Introduction

There are a number of biomarkers that predict non-relapse mortality (NRM), graft-versus-host disease (GVHD) and relapse incidence (RI) after conventional GVHD prophylaxis based on calcineurin inhibitors with or without antithymocyte globulin. The biologic mechanisms behind the prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide (PTCy) might be different. Currently there is limited data whether the conventional predictive biomarkers work with this type of prophylaxis.

Patients and methods

We conducted a prospective single-center study between 2015 and 2016 in 79 patients. 34% of patients had acute lymphoblastic leukemia, 66% – acute myeloblastic. 68% of patients were in the first complete remission, 27% – in the 2nd and 5% – in the 3rd. 26 received matched related bone marrow (BM) graft with single-agent PTCy GVHD prophylaxis and 53 received unrelated peripheral blood stem cell graft (PBSC) with PTCy, tacrolimus and MMF prophylaxis. Median age was 35 years (range 18-59). The graft was studies extensively studied by flow cytometry (cytometer FACS Aria II, antibodies by Miltenyi biotec). The following populations were analysed: CD3, CD4, CD8, CD16CD56, NKT, iNKT, Treg, double-positive T-cells, double-negative T-cells, TCRalpha/beta, TCR v11 memory cells. The frozen plasma from day +0 was analysed by ELISA (commercial kits by eBioscience) for VEGF A, from day +7 for soluble TNF receptor, IL-8, IL-6, soluble IL-2 receptor, from day+21-30 (after engraftment sample) for ST2, IL-17, soluble TNF receptor. The above mentioned biomarkers were tested in logisted regression for predictive value regarding GVHD and overall survival (OS).

Results

With median follow-up of 15 months overall survival in the study group was 79%, NRM 6%, RI 20%, event-free-survival 75%, acute GVHD grade II-IV 13%, grade III-IV 5%, moderate and severe chronic GVHD 22%. NRM in patients with GVHD was 0%. Despite some predictive value in ROC analysis for acute GVHD of Treg (AUC 0.608), % of CD4 (0.628) and iNKT (0.630), the difference in the GVHD rate was not significant due to small number of events ($p>0.07$). The predictive biomarker of chronic GVHD was IL-17 measured on day +30 (AUC 0.615), with increased incidence of 57% vs 29%, $p=0.017$ in patients with elevated level. The most predictive populations for OS were CD3 (AUC 0.626), CD4 (AUC 0.628), CD8 (AUC 0.653), NKT (AUC 0.615), TCRalpha/beta (0.634), iNKT (0.615), iNKT CD8+ (0.613), double-positive T-cells (AUC 0.657). Measured cytokines had lower predictive value for OS than graft composition, except IL-2 receptor (AUC 0.610). The differences in OS was predominantly due to RI. For example, presence of CD8 cells >18% significantly increased the risk of relapse (53% vs 12%, $p<0.001$). The same trend was observed for other populations. This phenotype with reduced graft-versus-leukemia was independent of the graft source ($p=0.57$) and occurrence of acute ($p=0.37$) and chronic GVHD ($p=0.50$).

Conclusion

The current biomarkers of acute GVHD has limited predictive value after related and unrelated grafts with PTCy, because of the low incidence of this complication and low GVHD-associated mortality. On the contrary we have observed that patients with high prevalence of effector cell populations in the graft have increased RI after transplantation. The explanation of this phenomenon could be elucidated during further studies that evaluate reconstitution of these populations.

Disclosure

The reported study was funded by RFBR, according to the research project No. 16-34-60142 mol_a_dk.

Keywords

Hematopoietic stem cell transplantation, graft-versus-host disease, cyclophosphamide prophylaxis, biomarkers, efficiency.

Поиск прогностических биомаркеров у взрослых пациентов при родственных и неродственных трансплантациях гемопоэтических стволовых клеток с посттрансплантационным циклофосфаном

Иван С. Моисеев¹, Елена В. Бабенко¹, Ольга С. Епифановская¹, Анна А. Доценко¹, Владислав С. Сергеев¹, Елена А. Суркова², Дарья А. Кузнецова², Сергей В. Лапин², Елена И. Дарская¹, Елена В. Морозова¹, Сергей Н. Бондаренко¹, Борис В. Афанасьев¹

¹ НИИ Детской Онкологии, Гематологии и Трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. И. П. Павлова

² Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний, Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. И. П. Павлова

Введение

В настоящий момент существует ряд биомаркеров, которые обладают прогностическим значением в отношении реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), трансплантационной летальности (ТЛ) и рецидивов основного заболевания. Однако, валидация этих биомаркеров преимущественно выполнялась после классической профилактики РТПХ, включающей ингибитор кальциневрина, метотрексат/микофенолат и антитимоцитарный глобулин при неродственных трансплантациях. Число исследований прогностического значения биомаркеров после посттрансплантационного циклофосфана (ПТЦф) крайне ограничено.

Пациенты и методы

С 2015 по 2016 было проведено проспективное исследование с включением 79 реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В исследование были включены только пациенты в ремиссии острого лейкоза, 34% с острым лимфобластным лейкозом, 66% с острым миелобластным. В первой ремиссии ТГСК выполнялась 68% пациентов, во второй – 27%, в третьей – 5%. Двадцати шести пациентам выполнена ТГСК от родственного донора с источником трансплантата – костный мозг, 53 – выполнена неродственная ТГСК с источником трансплантата – стволовые клетки периферической крови. Профилактика РТПХ при родственных включала только ПТЦф 50 мг/кг в Д+3,+4 без дальнейшей иммуносупрессии, при неродственных – комбинацию ПТЦф, таクロлимуса и миофенолата мофетила. Медиана возраста составила 35 лет (диапазон 18-59). Было проведено расширенное исследование трансплантата методом проточной цитометрии (цитометр FACS ARIA II, моноклональные антитела Miltenyi biotec). Исследовалось наличие следующих популяций лимфоцитов: CD3, CD4, CD8, CD16CD56, NKT, iNKT, Т-регуляторы, дубль-позитивные Т-клетки, дубль-негативные Т-клетки, TCRalpha/beta, Т-клетки памяти TCR v11. Также исследовались замороженные

образцы плазмы методом ИФА: VEGF A в Д0, растворимый рецептор к ФНОальфа, ИЛ-8, ИЛ-6, растворимый рецептор к ИЛ-2 (ИЛ-2Р) в Д+7, и ST2, ИЛ-17, растворимый рецептор к ФНОальфа в Д+21-30 (образец после приживления).

Результаты

При медиане наблюдения 15 месяцев общая выживаемость (ОВ) в исследуемой группе составила 79%, трансплантационная летальность – 6%, частота рецидивов – 20%, бессобытийная выживаемость – 75%, острая РТПХ II-IV степени – 13%, III-IV степени – 5%, хроническая РТПХ средней и тяжелой степени – 22%. Трансплантационная летальность в группе пациентов с РТПХ составила 0%. Несмотря на то, что в ROC анализе содержание Трег (AUC 0.608), CD4 (0.628) и iNKT (0.630) в трансплантате имели предиктивное значение, различия были не значимы из-за низкой частоты РТПХ ($p>0.07$). Прогностическим значением в отношении хронической РТПХ обладал ИЛ-17 при измерении на Д+30 (AUC 0.615, 57% против 29%, $p=0.017$). Наиболее прогностическими популяциями в трансплантате в отшении ОВ были CD3 (AUC 0.626), CD4 (AUC 0.628), CD8 (AUC 0.653), NKT (AUC 0.615), TCRalpha/beta (0.634), iNKT (0.615), iNKT CD8+ (0.613дубль-позитивные Т-клетки (AUC 0.657). Прогностическая значимость цитокинов в отношении ОВ была ограничена, за исключением ИЛ-2Р (AUC 0.610). Различия в ОВ в основном были связаны с рецидивом основного заболевания. Например, содержание CD8 клеток в трансплантате >18% достоверно повышало вероятность рецидива (53% vs 12%, $p<0.001$). Такой же тренд наблюдался и для других популяций. Наблюдавшийся фенотип со сниженной реакцией трансплантат-против-лейкоза наблюдался независимо от источника трансплантата ($p=0.57$), развития острой ($p=0.37$) или хронической РТПХ ($p=0.50$).

Заключение

Исследованные биомаркеры РТПХ обладали ограниченным прогностическим значением после родствен-

ных и неродственных ТГСК с ПТЦФ, что связано с низкой частотой развития этого осложнения и нулевой РТПХ-ассоциированной летальностью. Тем не менее, было выявлено, что пациенты, которым выполнена трансфузия трансплантата с высоким содержанием эффективных популяций лимфоцитов, имели повышенный риск рецидива после трансплантации. Биологическое обоснование этому феномену может быть получено в дальнейших исследованиях иммунной реконституции этих популяций.

Конфликт интересов

Данное исследование проведено при поддержке РФФИ, грант № 16-34-60142 мол_а_дк.

Ключевые слова

Трансплантация гемопоэтических клеток, реакция «трансплантат против хозяина», циклофосфамид, профилактика, биомаркеры, эффективность.

Efficacy and safety of nivolumab-based therapy in children with relapse of hematologic malignancies after allogenic HSCT

Olga O. Molostova, Larisa N. Shelikhova, Mariya A. Alyabieva, Dmitry N. Balashov, Svetlana A. Radygina, Irina I. Kalinina, Michael A. Maschan, Alexei A. Maschan

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Contact: Dr. Olga O. Molostova
E-mail: olga.molostova@gmail.com

Background

Patients with posttransplant acute leukemia relapse are hardly curable and the outcome is extremely poor. The effectiveness of standard chemotherapy and donor lymphocyte infusions is limited. A possible alternative to standard chemotherapy and DLI is use of PD-1 inhibitors, which may potentiate the allogeneic immune response in order to harness graft-versus-leukemia effect.

Methods

We analyzed retrospectively 8 patients, age 3 to 14 years, who had received therapy with PD-1-inhibitor after HSCT. The cohort included 6 patients with acute myeloid leukemia, 1 pt with acute lymphoblastic leukemia and 1 pt with hepatosplenic gamma/delta T cell lymphoma. At the moment of HSCT 5 patients had an advanced stage of their disease, 2 were in complete remission and 1 had positive minimal residual disease. All patients received allo-HSCT (5 patients from haploidentical donors, 3 patients from HLA-identical siblings). At day +30 after HSCT all patients were in clinical and molecular remission, 50% of the patients developed grade 1-2 acute GVHD with skin and GI impairment. The average time to relapse was 180 (97-420) days. Bone marrow relapse was detected in 6 patients while 2 patients had molecular relapse. All patients received 1 injection of nivolumab at a dose of 3 mg/kg. One patient with AML received the injection of nivolumab already being in the remission after second HSCT because of high risk of relapse.

Results

Adverse events were registered in 6 (75%) patients. Two patients developed immune meningoencephalitis, 1 pt had grade 4 immune-mediated liver toxicity, 2 pt had grade 3

skin GVHD flare and immune fever was registered in 4 pts. Four patients required prolonged systemic immunosuppressive therapy to control immune-mediated adverse effects. No mortality related to checkpoint-inhibitor toxicity was registered. One patient developed progressive liver disease. Bone marrow aspiration was done to evaluate efficiency of therapy after the first injection of nivolumab. Seven patients were evaluable for response. Six of 7 patients did not respond to therapy. Average time to disease progression was 21 days. Stable remission was achieved in 1 patient with ALL who received injection of nivolumab being in the full-blown relapse after HSCT. One year and 3 months later this patient remains in clinical and molecular remission, although immune-mediated liver damage progressed to end-stage liver disease and patient received a successful liver transplantation. Patient with AML received the injection of nivolumab already being in the remission and 22 months after therapy remains in clinical and molecular remission.

Conclusions

Our limited experience suggests that use of PD-1 inhibitors after allo-HSCT is associated with significant toxicity. Further prospective study is required to establish the safety and efficiency of this approach.

Keywords

PD-1 inhibitors, allo-HSCT, relapse, ALL, AML.