

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: организационные и технологические аспекты

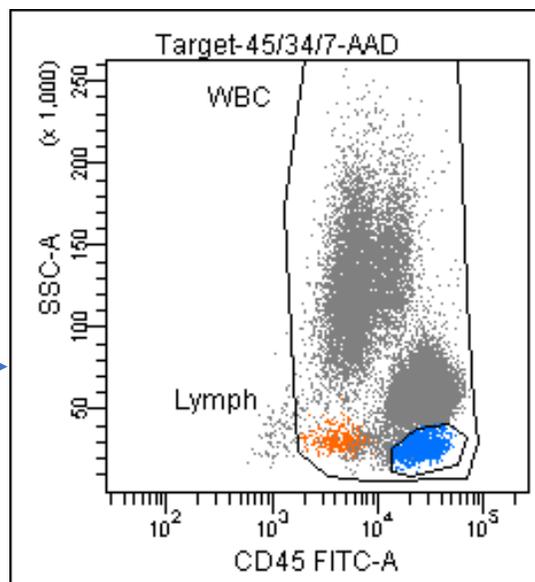
М.А.Масчан

НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

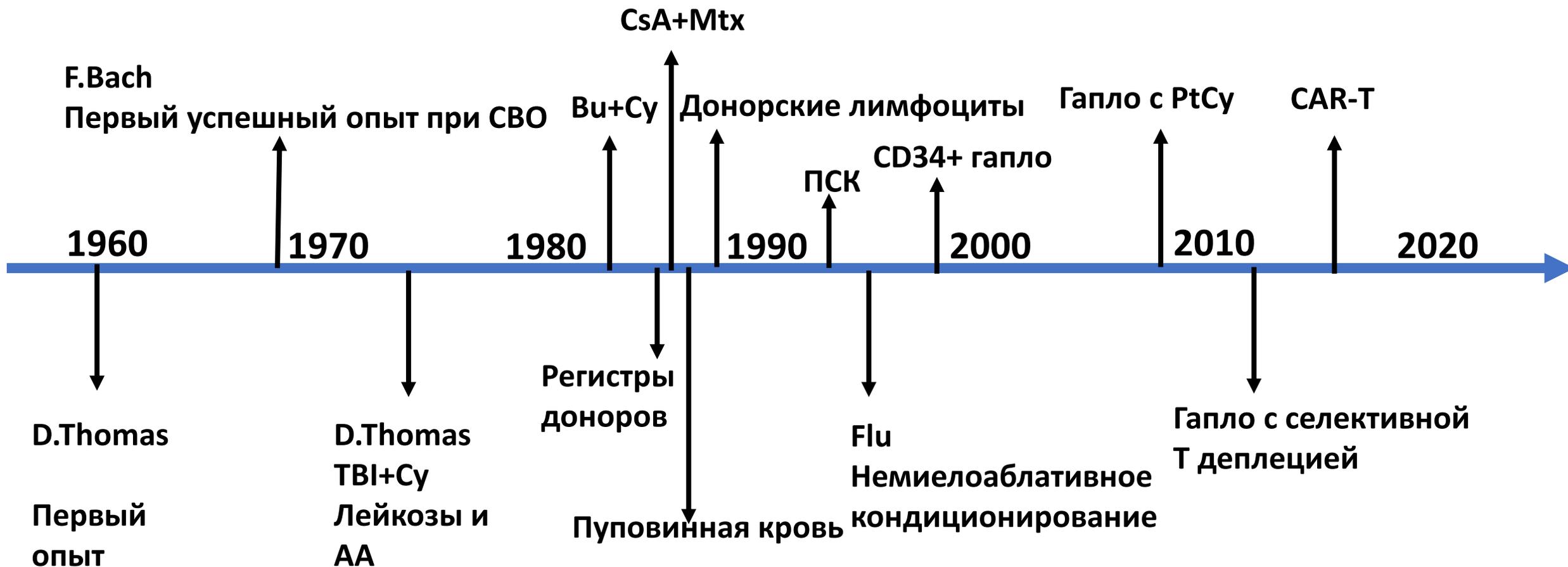


Уничтожить опухоль
Уничтожить резидуальный гемопоэз ("ниша")
Уничтожить лимфоциты реципиента



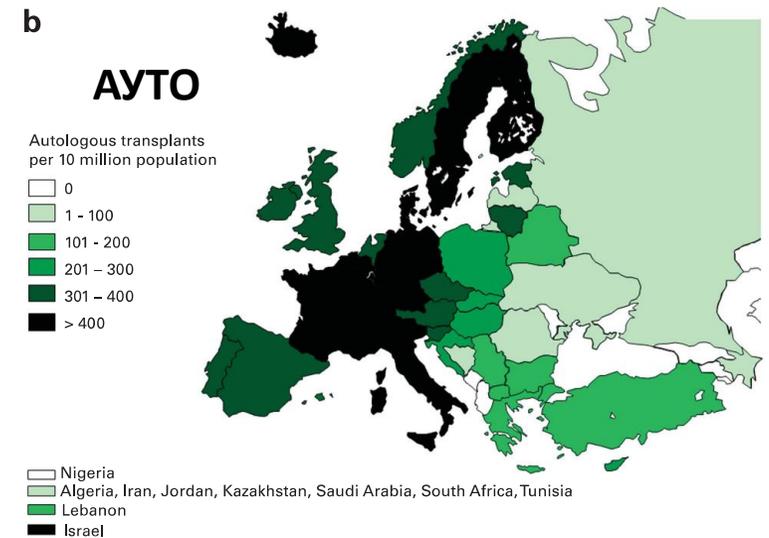
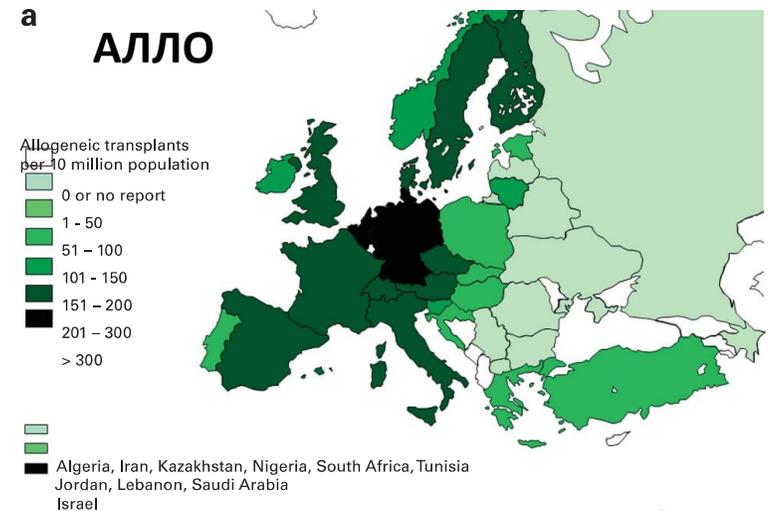
Контроль РТПХ
Контроль инфекций
Замещение компонентов крови
Контроль осложнений цитотоксической терапии

История ТГСК



Оценка общей потребности в ТГСК

- 500 на 10 млн населения
- $500 \times 14,5 = 7200$ ТГСК в год
- Реально выполняется около 1500 в год (~ 20%)



Оценка потребности в ТГСК для детей от 0 до 18 лет

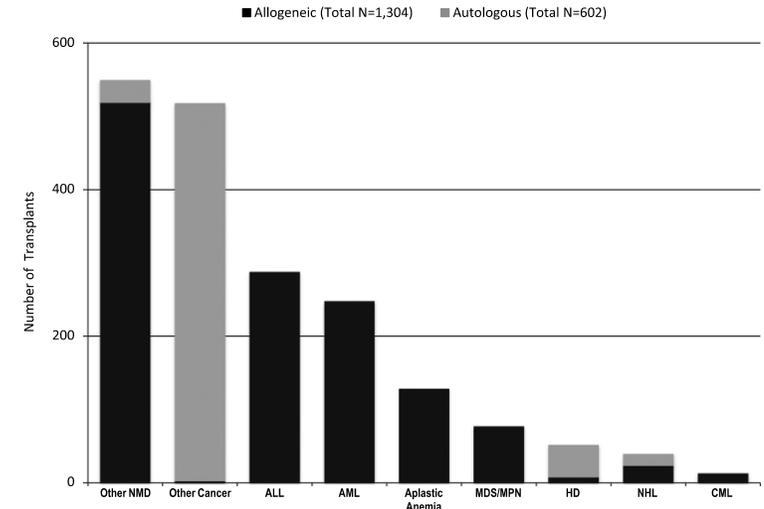
Экстраполяция количества трансплантаций у детей в США и Германии:

США: 1906 ТГСК в год у детей при населении 323 млн. чел

Россия: $1906 \times (144/323) = 860$ ТГСК в год

Германия: ~ 65 ТГСК у детей на 10 миллионов населения в год

Россия: $60 \times 14,5 = 870$ ТГСК в год

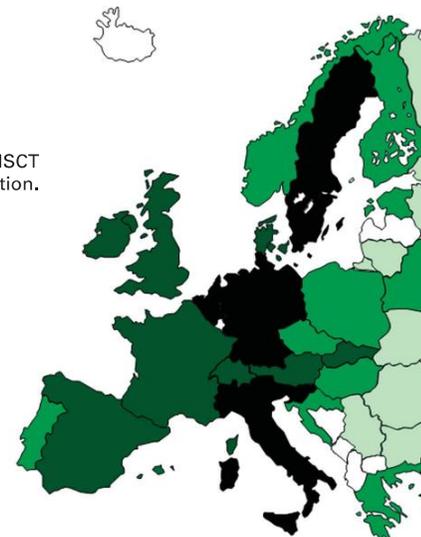
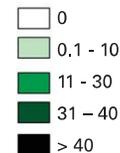


Legend: NHL- non-Hodgkin Lymphoma, AML- acute myelogenous leukemia; HD- Hodgkin's disease; ALL- acute lymphoblastic leukemia; MDS/MPN- myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasms; CLL- chronic lymphocytic leukemia; NMD- non-malignant diseases

a

АЛЛО

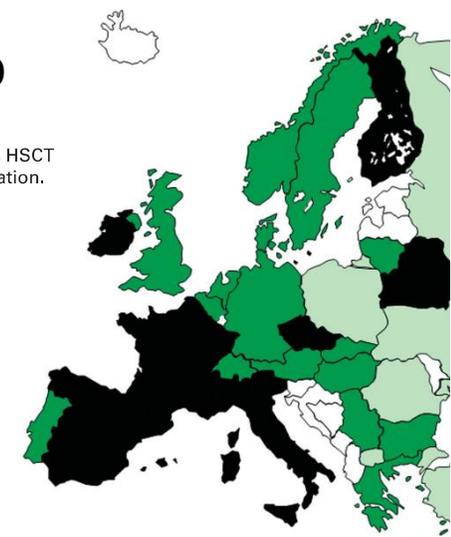
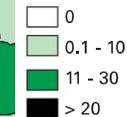
Pediatric allogeneic HSCT per 10 million population.



b

АУТО

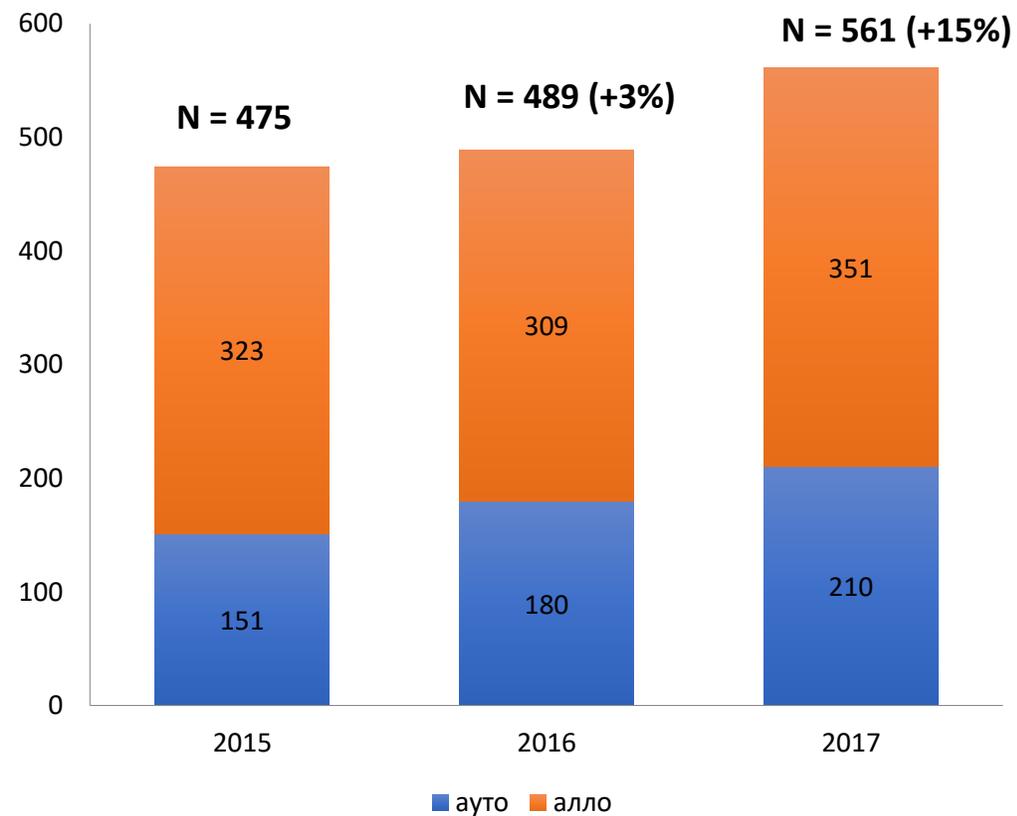
Pediatric autologous HSCT per 10 million population.



Оценка потребности в ТГСК для детей от 0 до 17 лет Исходя из заболеваемости и показаний к ТГСК (экспертная оценка)

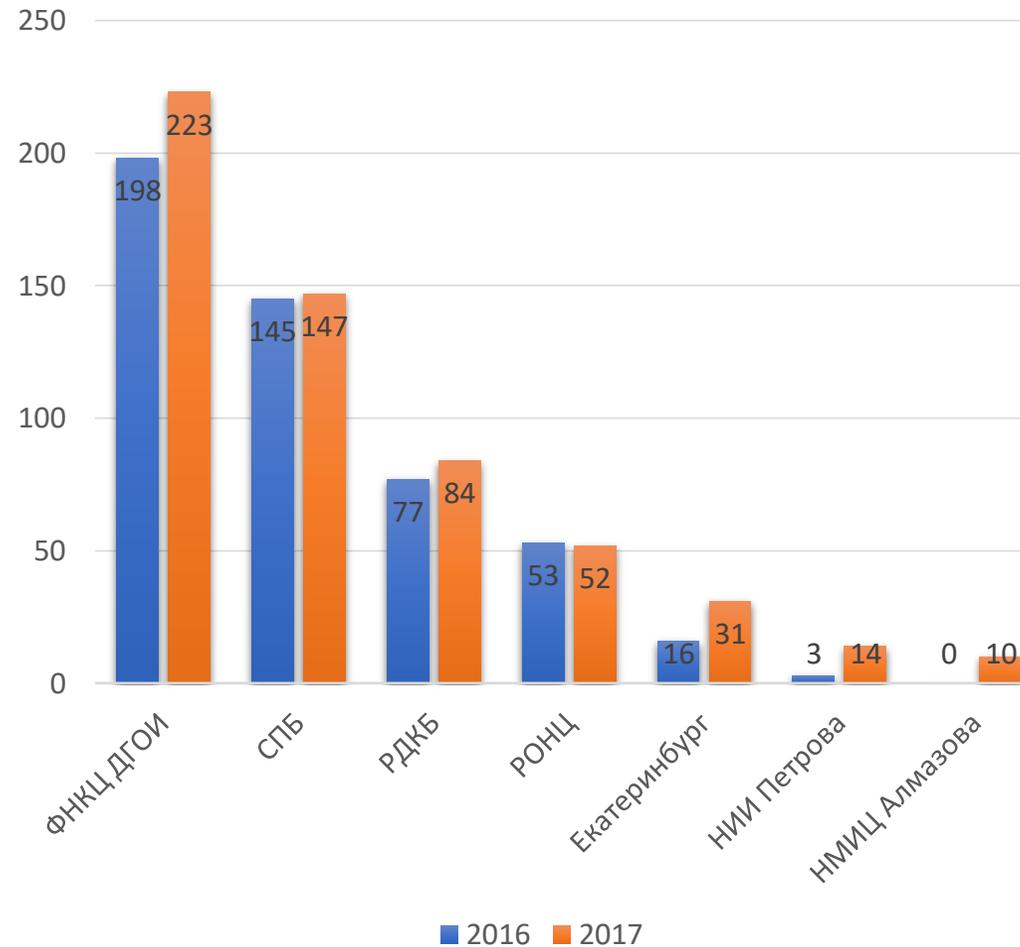
	Предсказанное количество пациентов в России (0-17 лет)(в год)	доля с показанием к ТГСК	Количество (в год)
АЛЛО	300	0,55	165
	1200	0,15	180
	75	0,7	53
	20	1	20
	150	1	150
	25	1,2	30
	20	1	20
	40	1,3	52
Всего АЛЛО			670
АУТО	300	0,1	30
	200	0,2	40
	300	0,4	120
	150	0,3	45
	15	0,5	8
	200	0,1	20
	90	0,25	23
	150	0,15	23
Всего АУТО			308
Всего			977

Общее количество трансплантаций



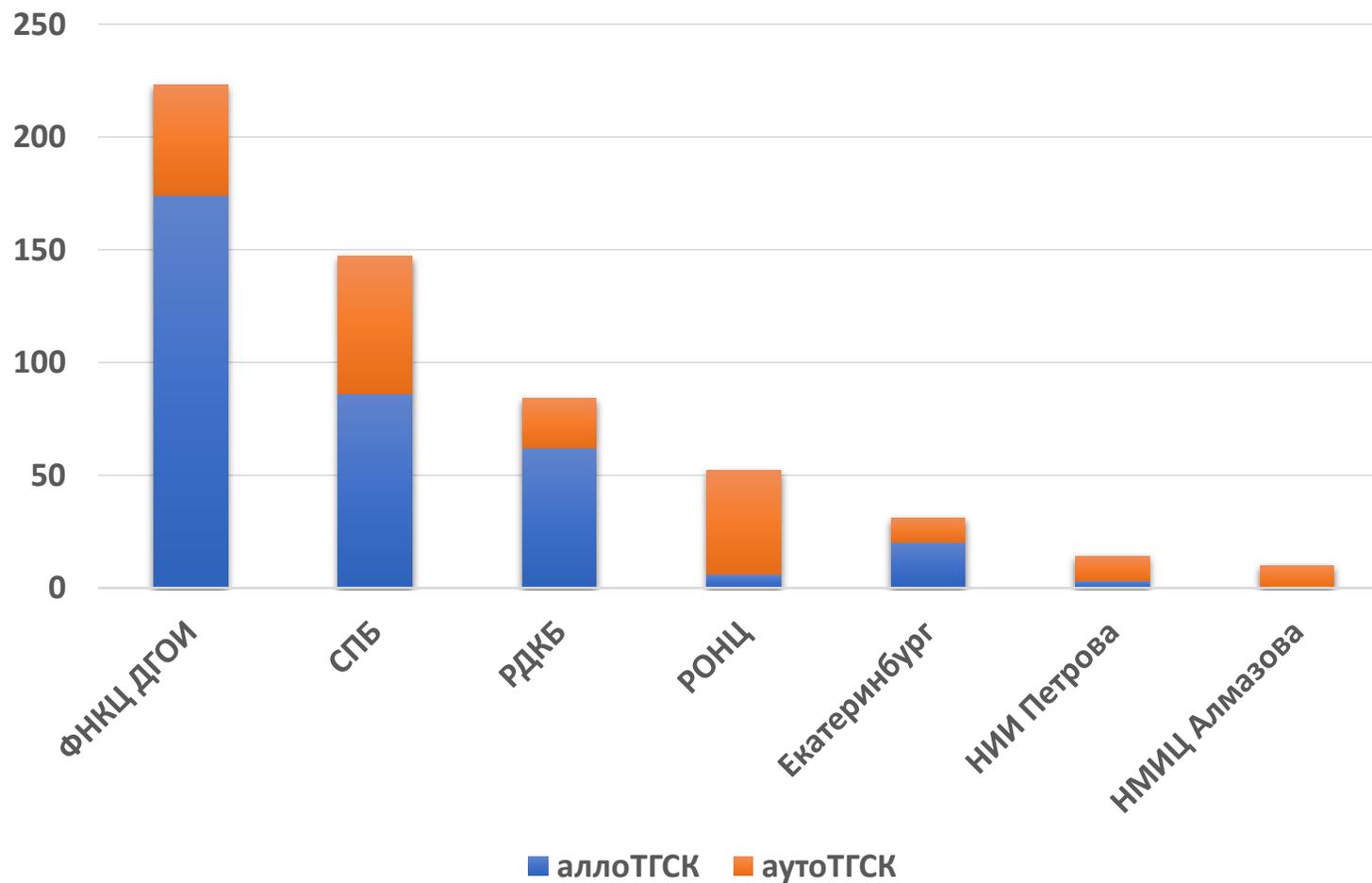
Прирост общего количества трансплантаций + 15% по отношению к 2016 году
Аутологичные + 16,5%
Аллогенные + 13,5%

Динамика количества трансплантаций 2016/2017 по центрам

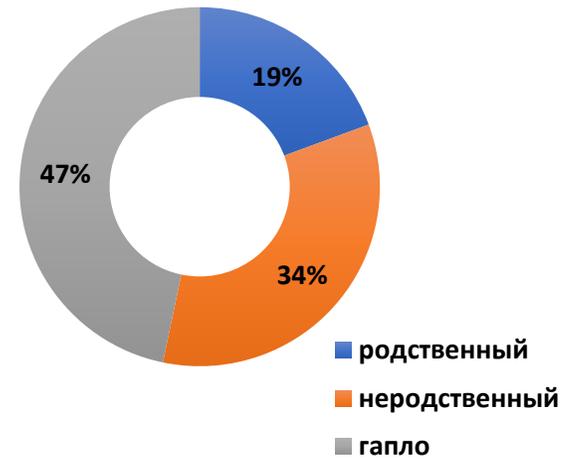
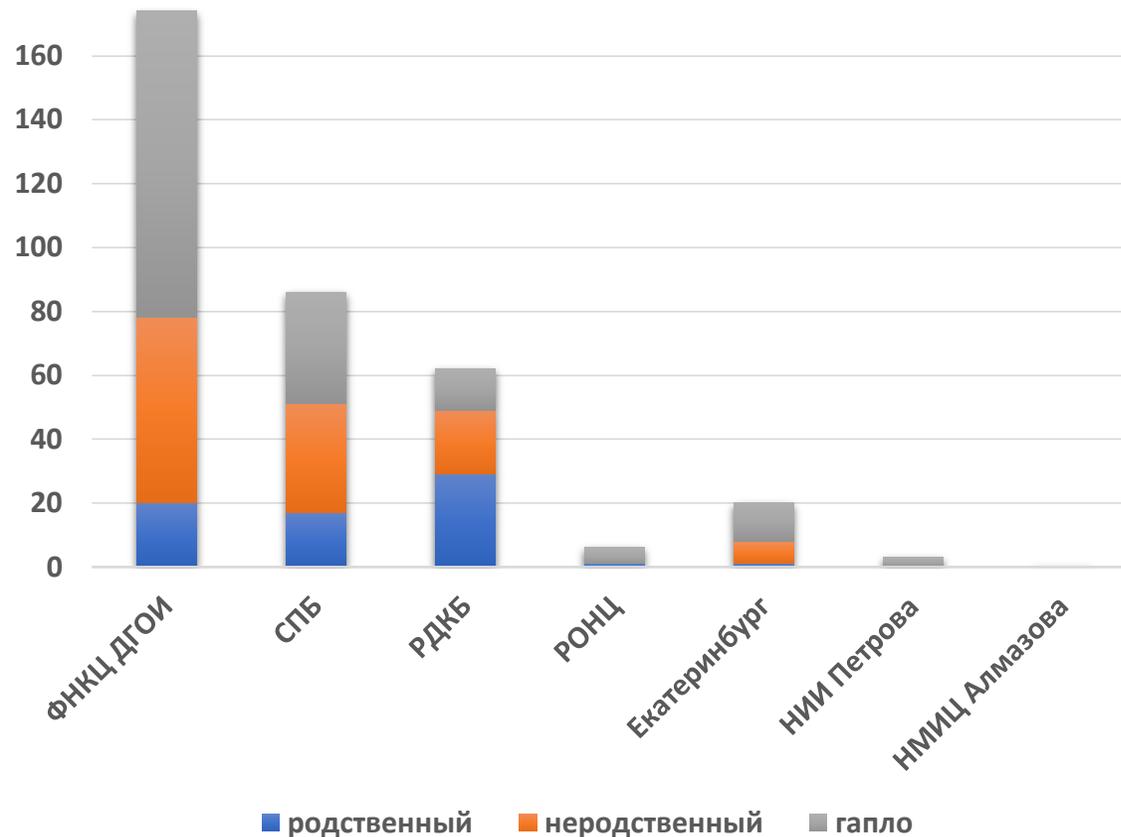


Крупные центры поддерживают стабильно высокую трансплантационную активность
Заметный прирост в Екатеринбурге, НИИ Петрова, НМИЦ Алмазова

Распределение по типам ТГСК (алло/ауто) и по трансплантационным центрам



Типы доноров при аллогенной трансплантации по центрам

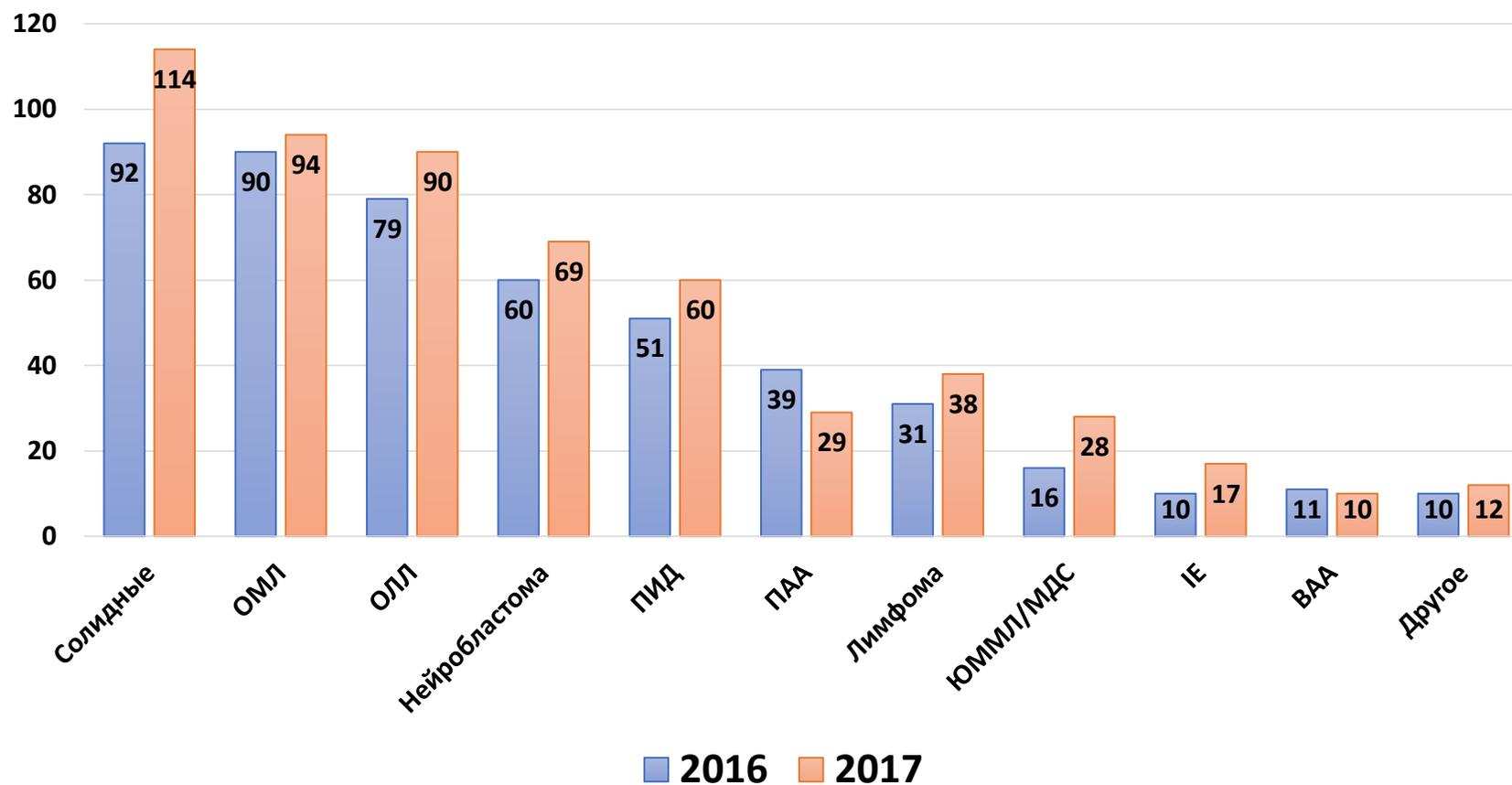


Доля гапло от алло

ФНКЦ ДГОИ	55%
СПб	40%
РДКБ	21%
РОНЦ	83%
Екатеринбург	60%

Гаплоидентичные доноры сохраняют доминирующее положение
Структура алло доноров без существенных изменений к 2016 году

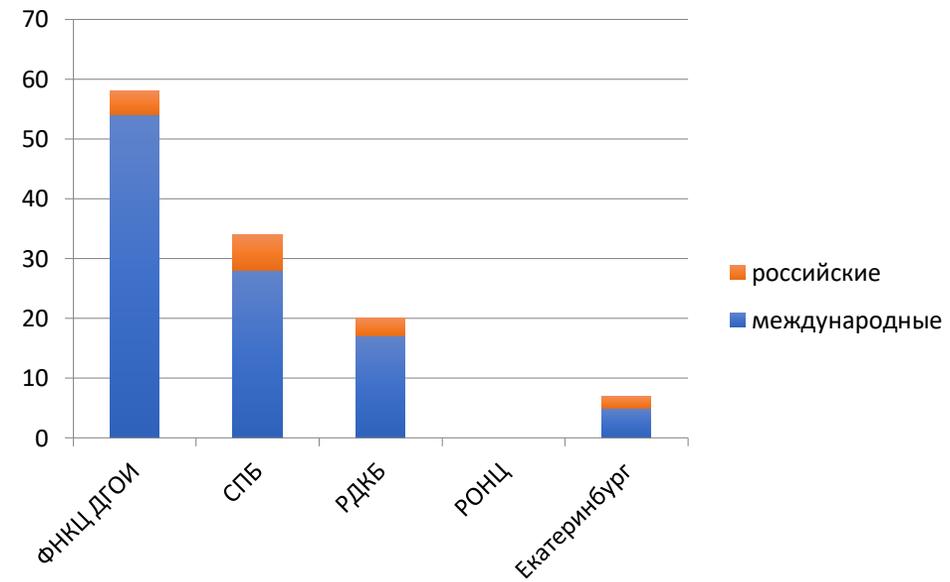
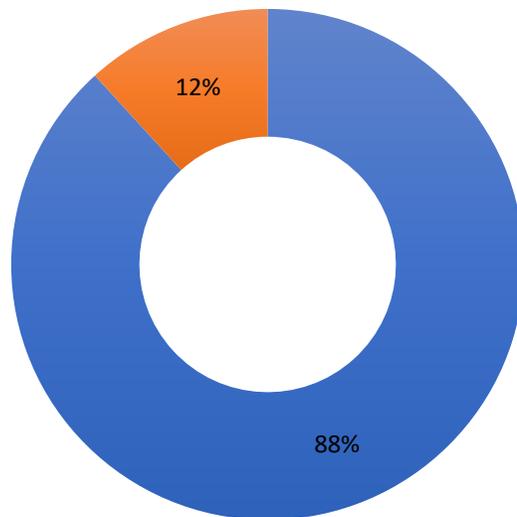
Показания к трансплантации во всех центрах



Трансплантация при «других» солидных опухолях доминируют, частично за счет тандемных пересадок при солидных опухолях

Использование российских и зарубежных регистров при неродственной трансплантации

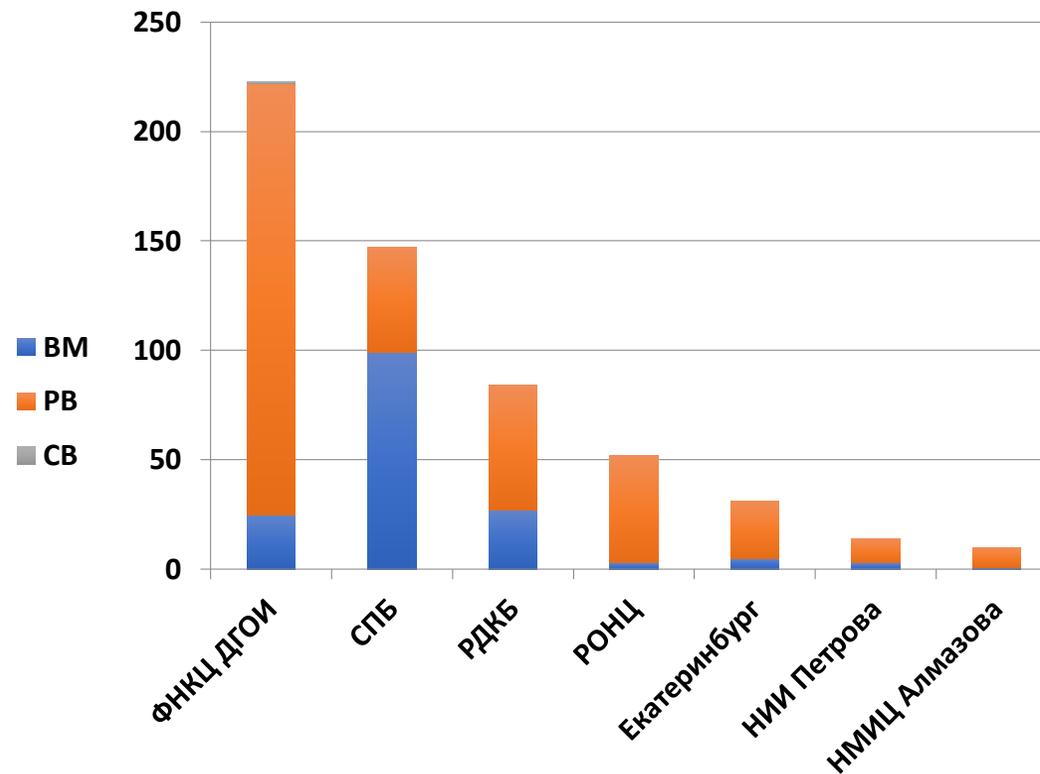
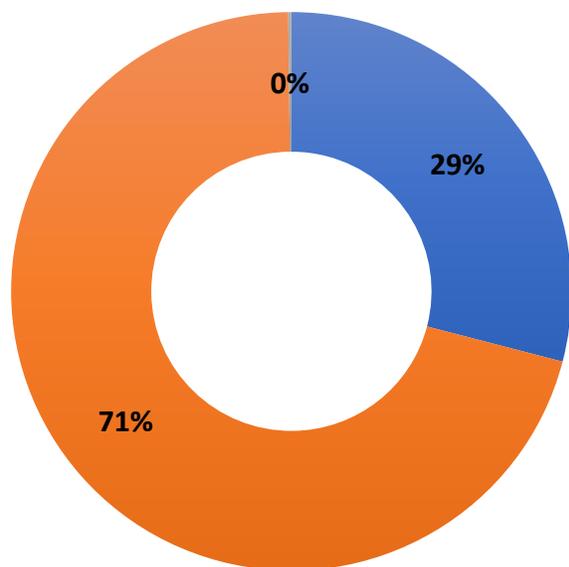
Все центры



Российские доноры	2016	2017
%	16	12
N	16	14

Распределение по источнику трансплантата

Все центры



- Боксы с HEPA-фильтрацией воздуха и кратностью обмена более 4/час
- Оперблок
- Отделение интенсивной терапии с доступом к орган-замещающим технологиям (ИВЛ, диализ)
- МРТ, КТ

- Технология лейкоцитафереза
- Служба крови (круглосуточный доступ к тромбоконцентрату)
- Доступ с современным антимикробным препаратам

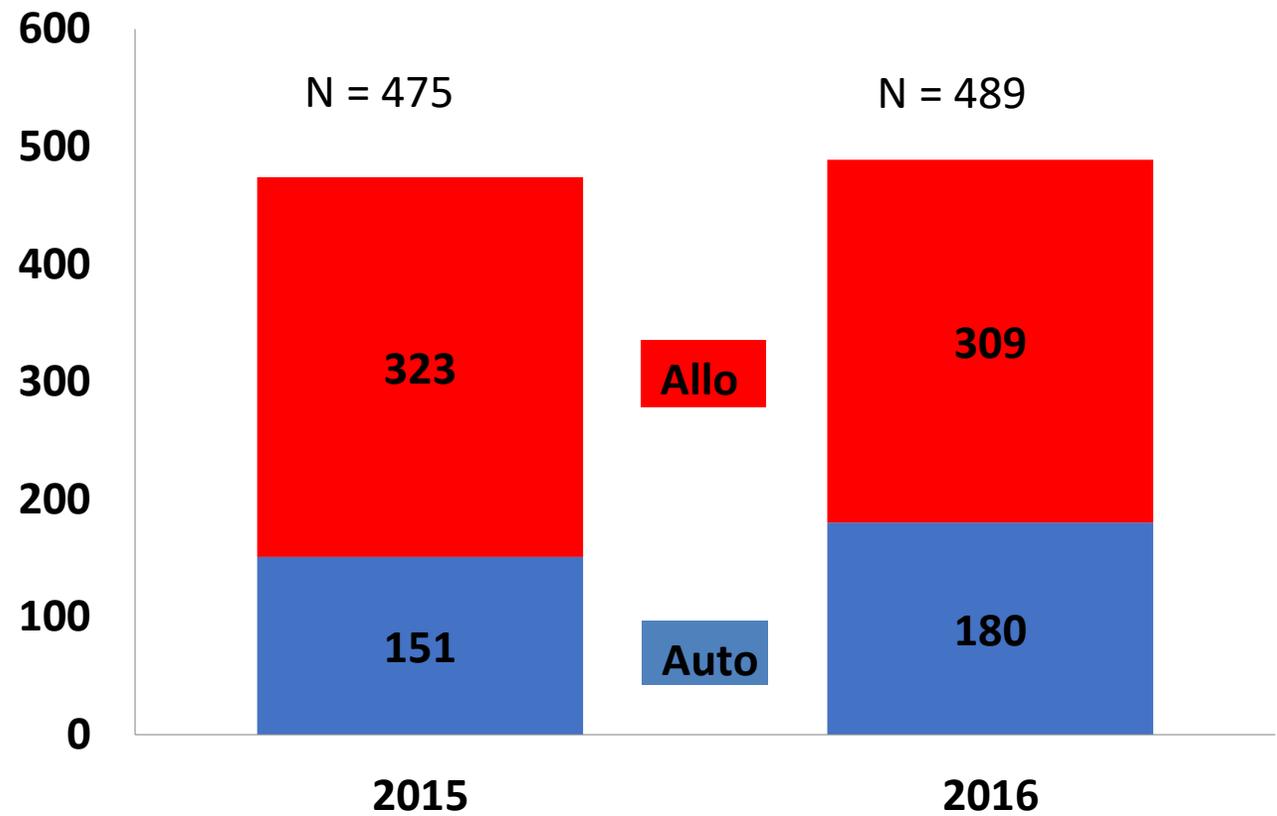


- Базовые лабораторные технологии
- Криоконсервация
- Тканевое типирование
- Микробиология (включая вирусологию)
- Цитометрия (состав трансплантата, иммунный статус)
- Молекулярная биология

- Команда врачей (гематологов, онкологов, иммунологов) и медицинских сестер
- Многопрофильная консультативная служба

Проблемы ТГСК

1. Доступность (и своевременность)

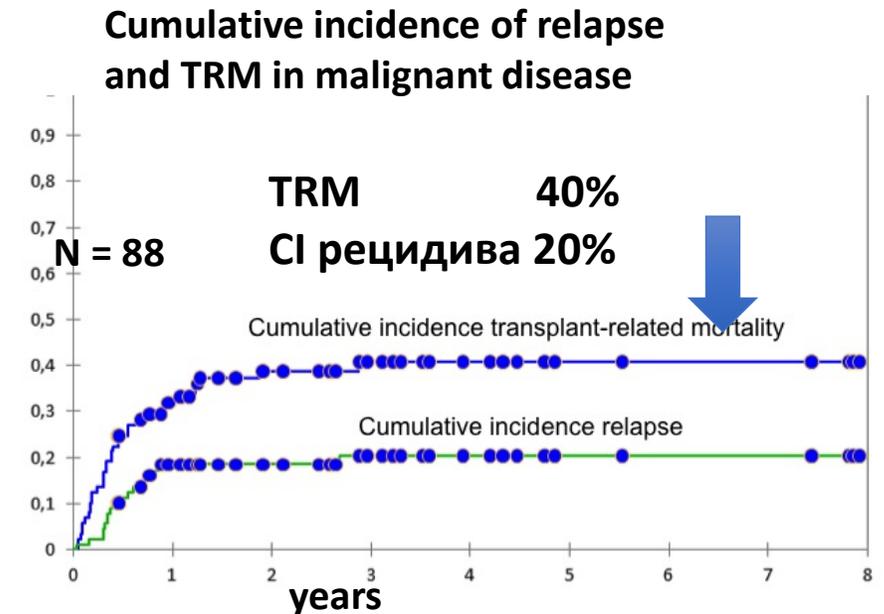
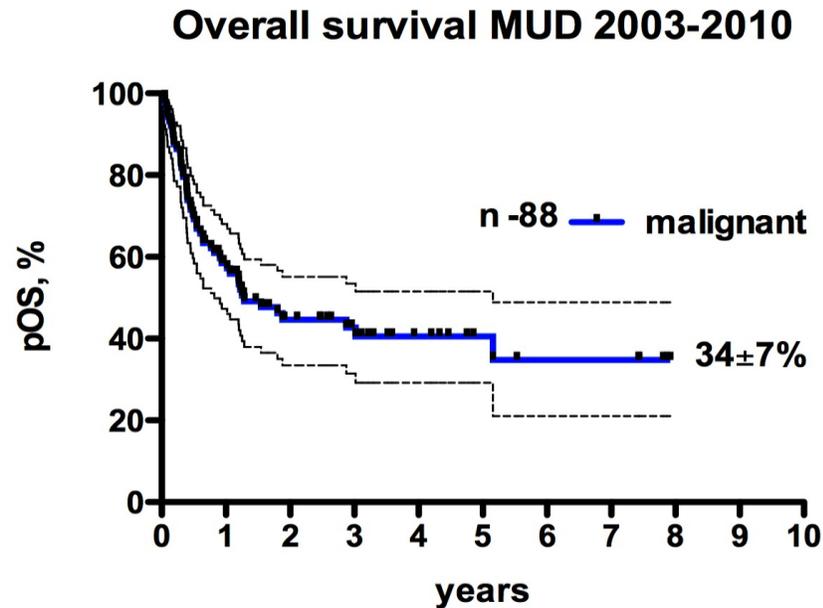


Проблемы ТГСК

1. Доступность (и своевременность)

2. Безопасность

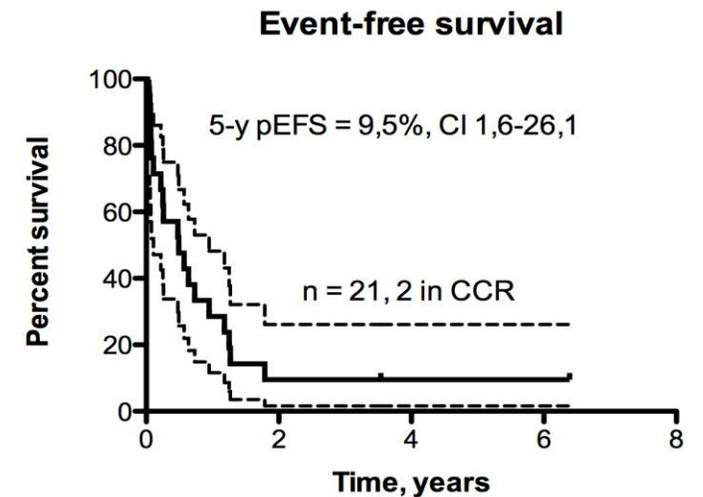
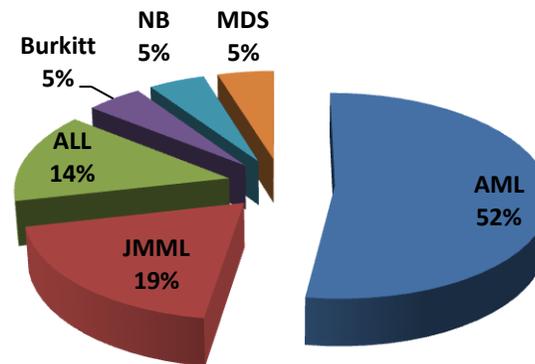
- Трансплантационная смертность (РТПХ, инфекции, органная токсичность)
- Поздние эффекты



Проблемы ТГСК

1. Доступность (и своевременность)
2. Безопасность
 - Трансплантационная смертность
 - Поздние эффекты
3. Эффективность

Гапло с CD3/CD19 деплецией 2006-2009

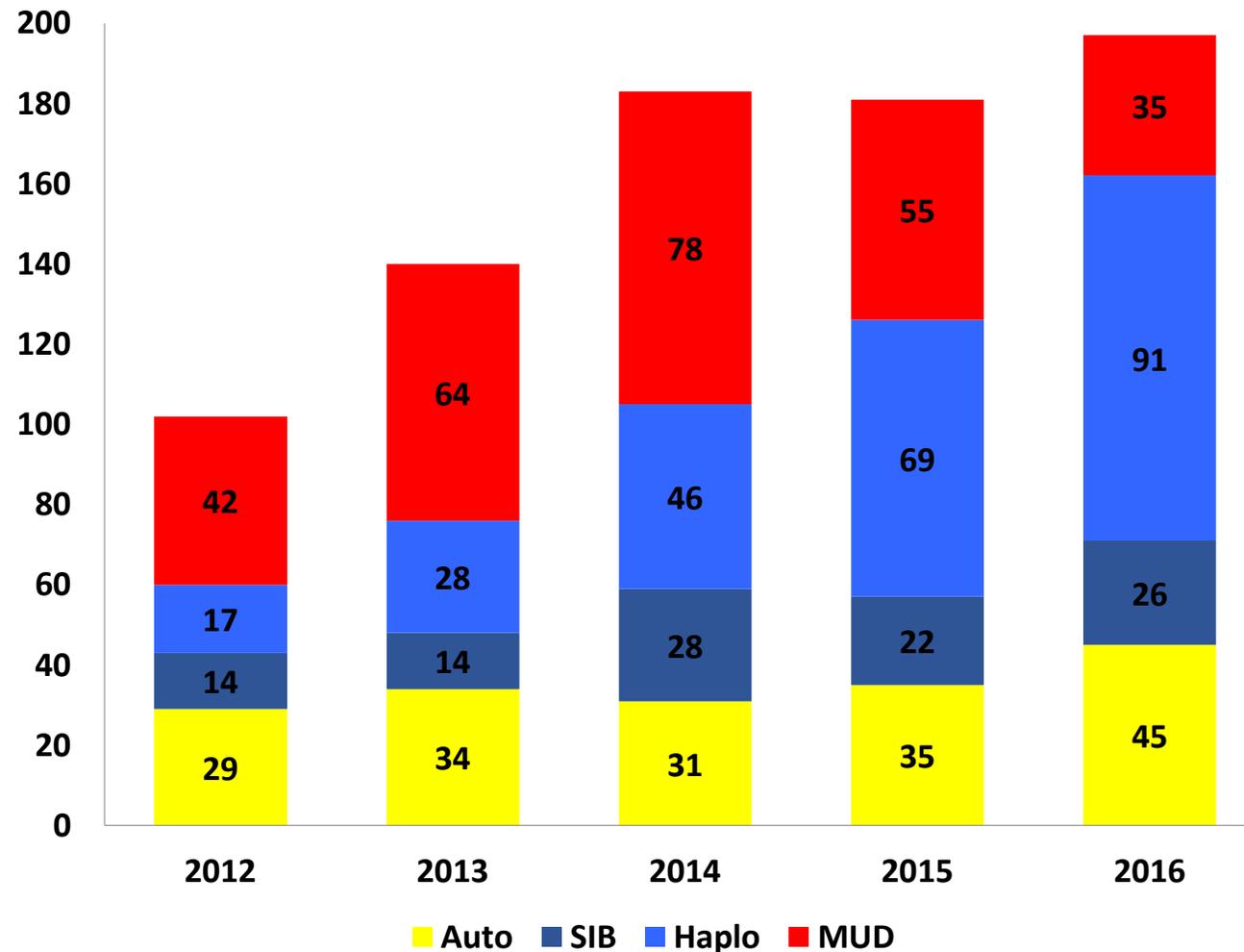




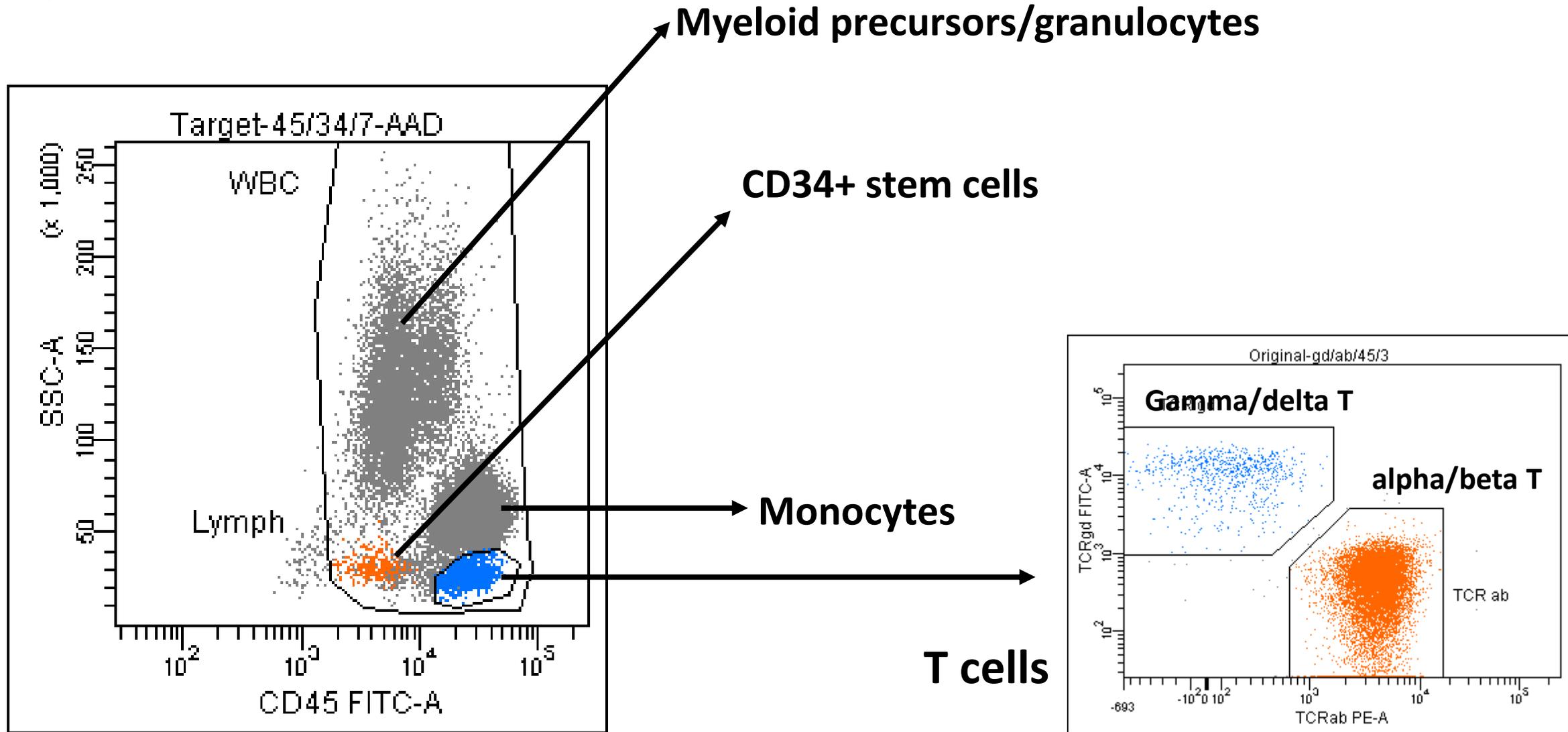
Стратегия ТГСК в центре Дм. Рогачева

- Увеличить доступность –
 - ставка на гаплоидентичных доноров
 - увеличить мощность центра (скорость приживления, длительность иммуносупрессии, повторные поступления в стационар)
- Увеличить безопасность
 - Снизить частоту острой РТПХ
 - Снизить токсичность кондиционирования
 - Снизить груз инфекционных осложнений
 - Снизить частоту поздних осложнений – хроническая РТПХ
- Увеличить эффективность
 - использовать трансплантацию как платформу для дополнительной противоопухолевой терапии

Трансплантационная активность в НМИЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева, 2012-2016



$\alpha\beta$ -T деплеция



TCR альфа/бета и CD19 деплеция

- Разработана R.Handgretinger
- Деплеция эффекторов РТПХ
- Деплеция резервуара EBV (профилактика лимфопролиферации)
- Сохранение потенциальных эффекторов РТПЛ (NK и гамма/дельта-Т клетки)
- Цель – снизить смертность от осложнений без потери противолейкемической активности

A large-scale method for the selective depletion of $\alpha\beta$ T lymphocytes from PBSC for allogeneic transplantation

S Chaleff¹, M Otto¹, RC Barfield¹, T Leimig¹, R Iyengar¹, J Martin², M Holiday¹, J Houston¹, T Geiger³, V Huppert⁴ and R Handgretinger¹

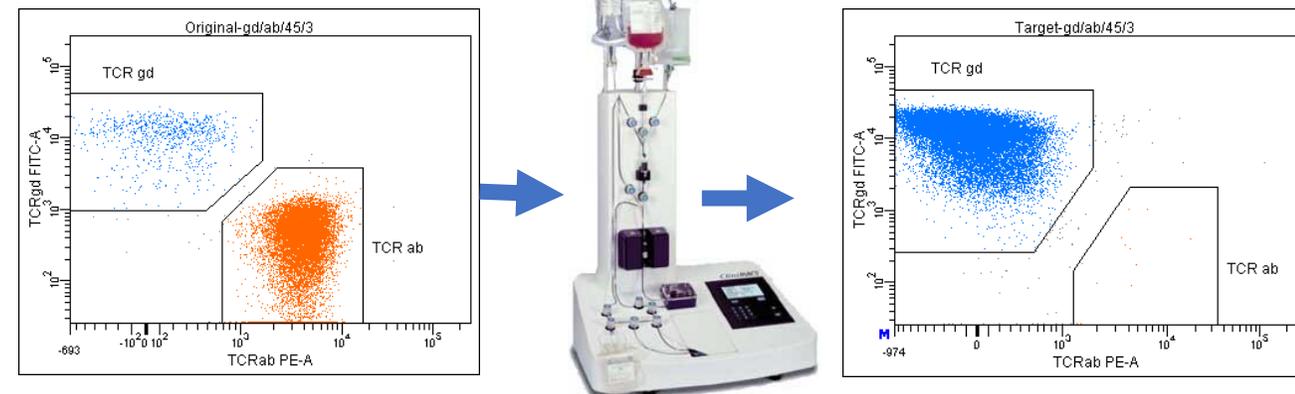
¹Division of Stem Cell Transplantation, Department of Hematology-Oncology, ²Animal Resource Center and ³Department of Pathology, St Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, USA, and ⁴Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany

Cytotherapy, 2013; 15: 1253–1258

Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device

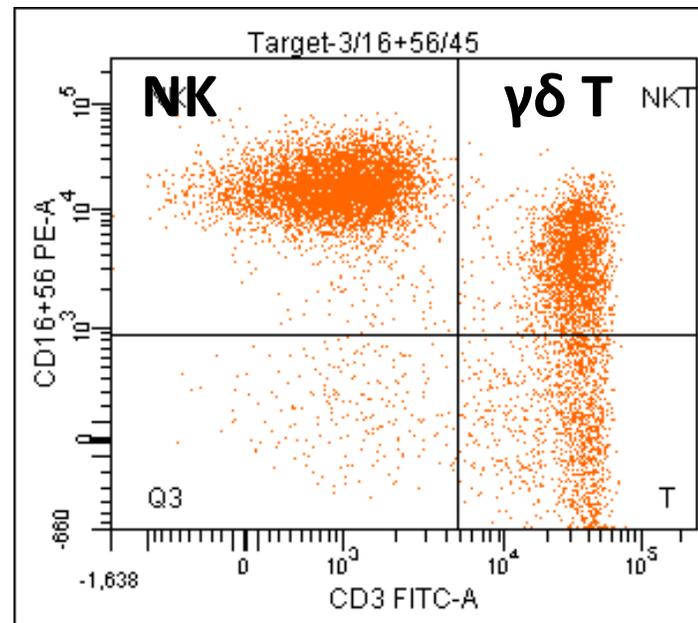
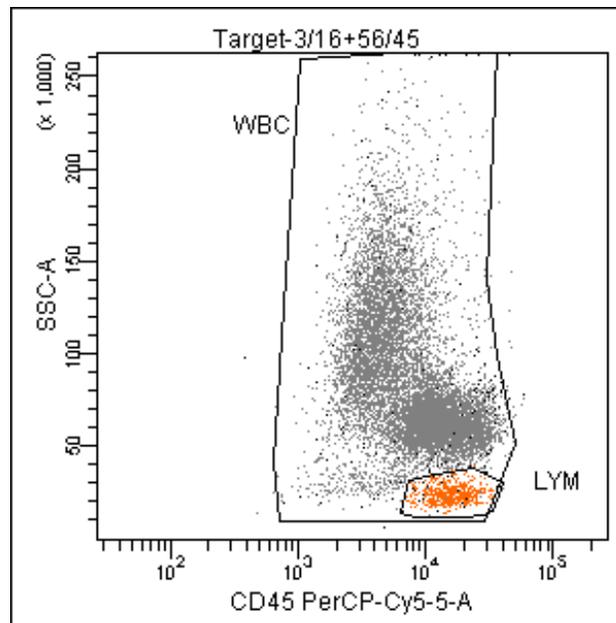
MICHAEL SCHUMM¹, PETER LANG¹, WOLFGANG BETHGE², CHRISTOPH FAUL², TOBIAS FEUCHTINGER¹, MATTHIAS PFEIFFER¹, WICHARD VOGEL², VOLKER HUPPERT³ & RUPERT HANDGRETINGER¹

¹Children's Hospital and ²Medical Center, Department of Hematology & Oncology, University Hospital Tübingen, Tübingen, Germany, and ³Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany



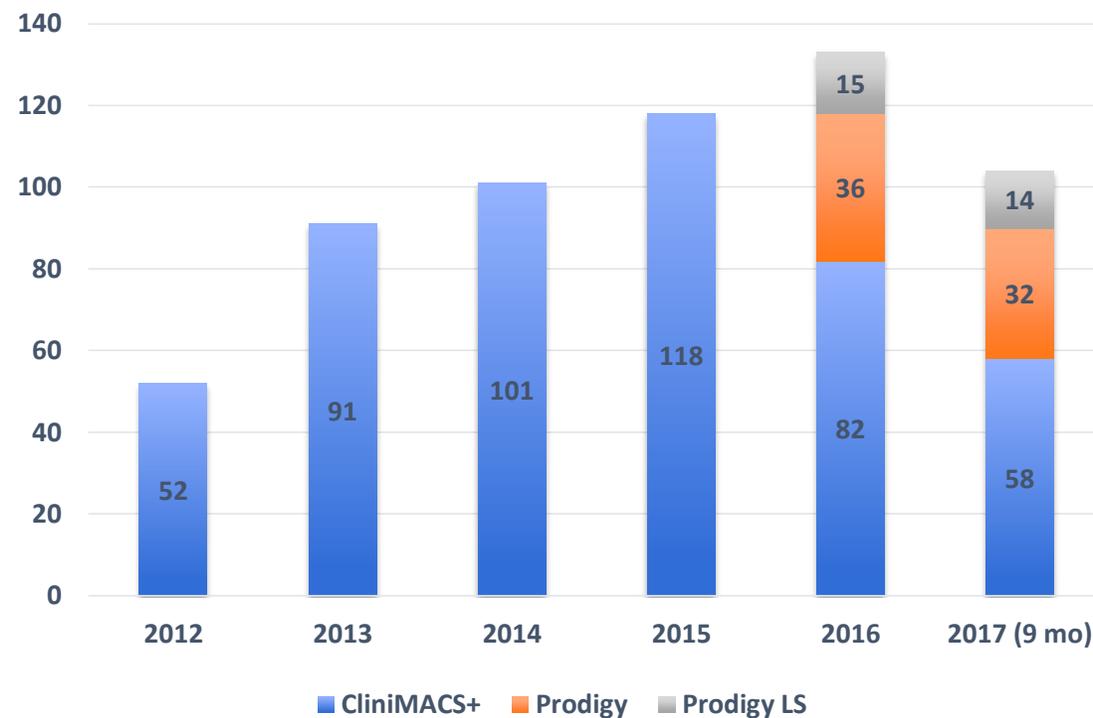
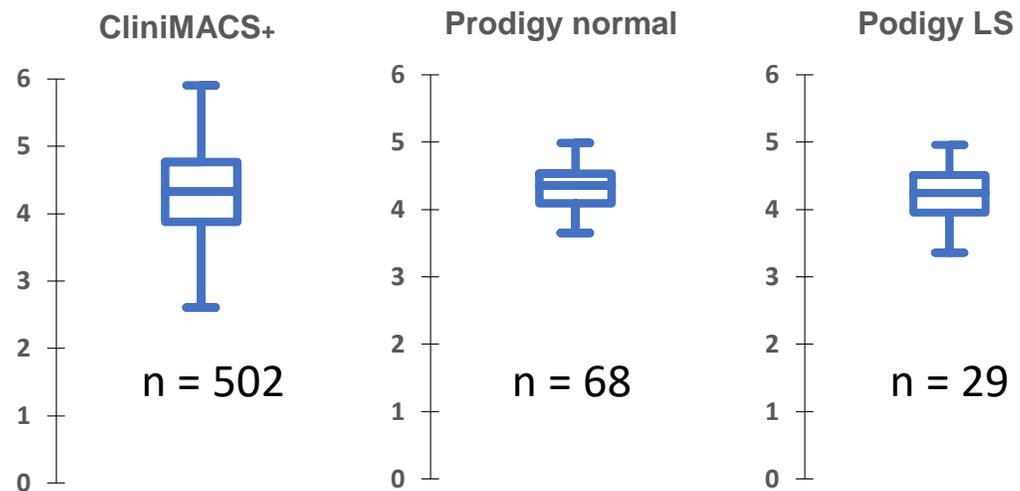


Состав трансплантата после $\alpha\beta$ -T деплеции



Технические результаты

$\alpha\beta$ -T log деплеции



	2012	2013	2014	2015	2016	2017
staff	2	2	2	2	2	3

Характеристика группы: 2012-2017

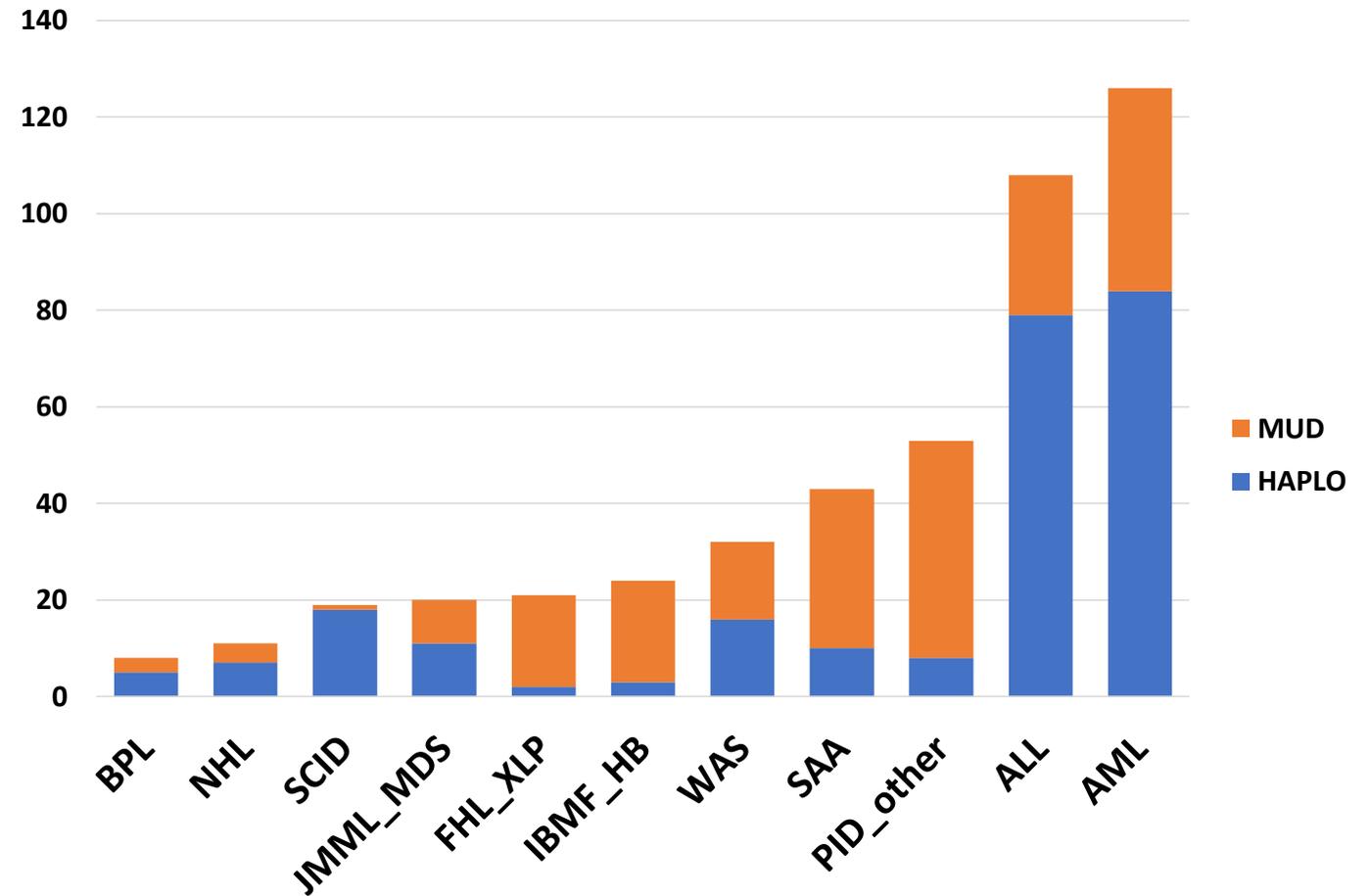
- N= 465
- 1-я АЛЛО ТГСК
- Донор
 - Гапло 243
 - Неродственный 222
- Показание к ТГСК
 - злокачественное 270
 - незлокачественное 195

Пациенты

Пол	м/ж	310/155
Возраст	7 лет	(0,2-23)

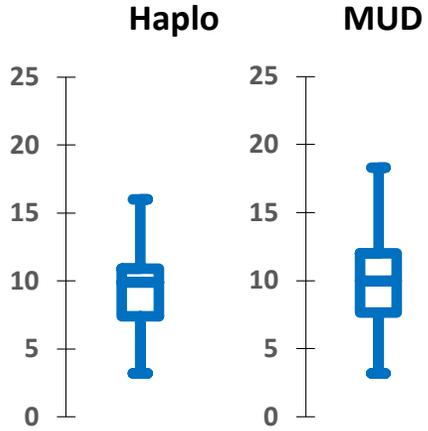
Донор

Пол	м/ж	253/212
Возраст	30 лет	(3-56)

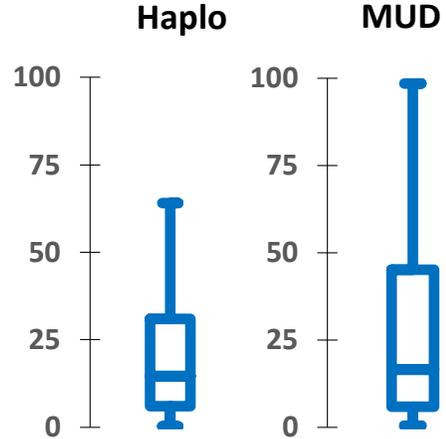


Характеристика трансплантата и приживление

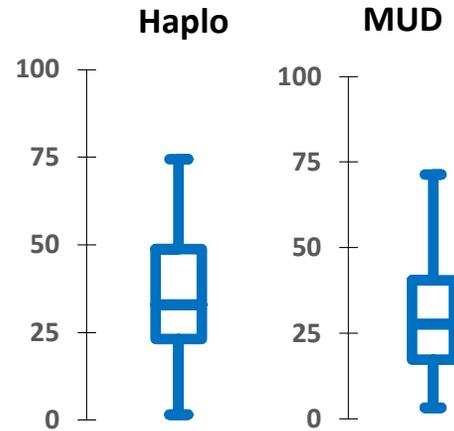
CD34, $\times 10^6/\text{kg}$



ab T cell, $\times 10^3/\text{kg}$

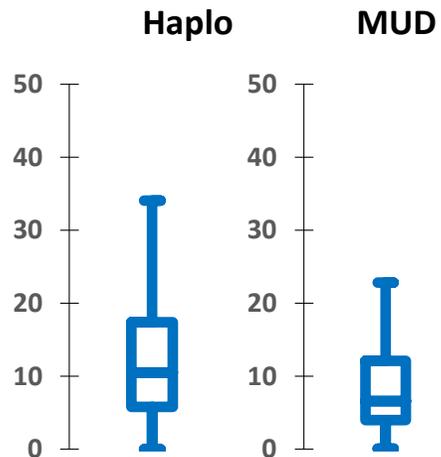


NK cell, $\times 10^6/\text{kg}$

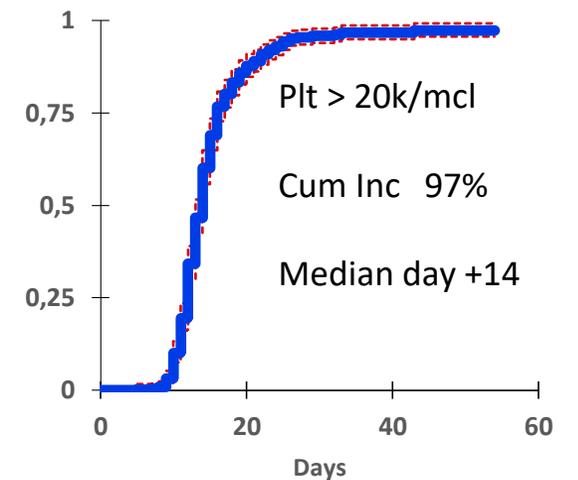
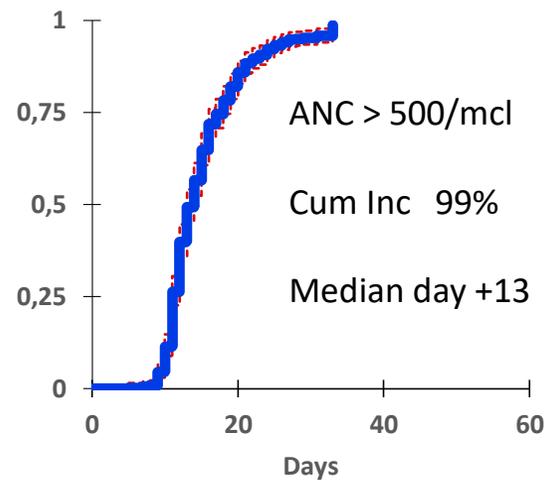
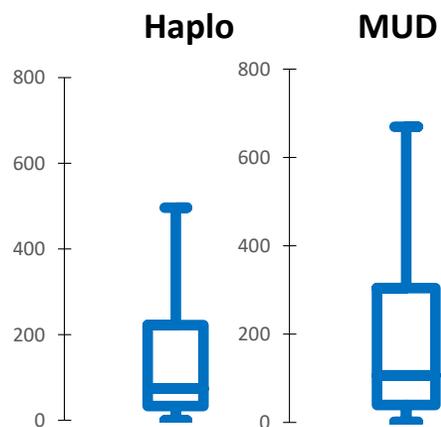


population	median		
	haplo	MUD	
CD34+	9,9	10	$\times 10^6/\text{kg}$
$\alpha\beta$ -T cells	15	16	$\times 10^3/\text{kg}$
CD20+	34	106	$\times 10^3/\text{kg}$
$\gamma\delta$ -T	10	6,6	$\times 10^6/\text{kg}$
NK cells	33	28	$\times 10^6/\text{kg}$

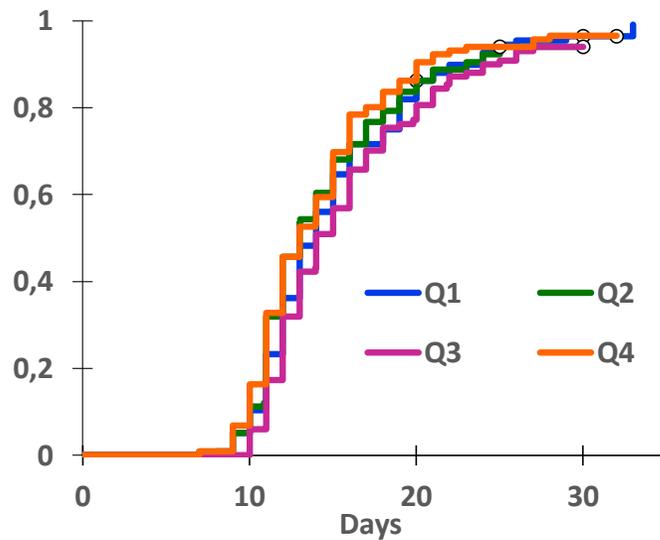
gd T cell, $\times 10^6/\text{kg}$



CD20, $\times 10^3/\text{kg}$

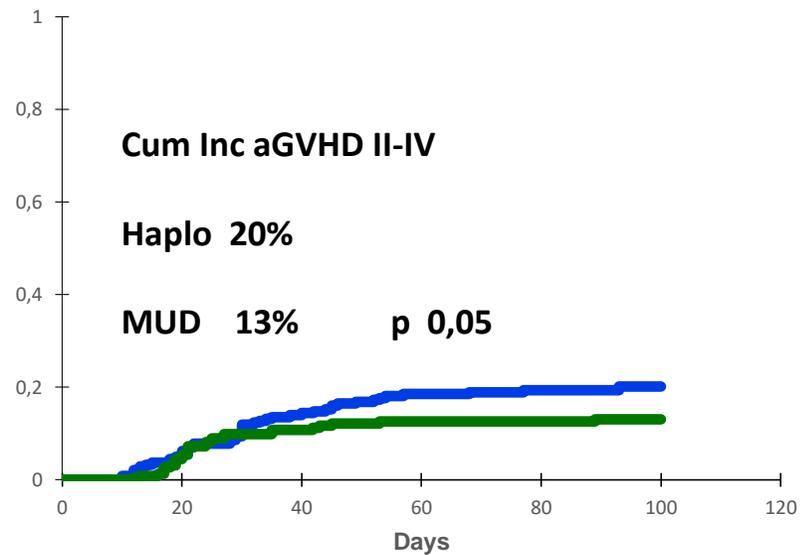
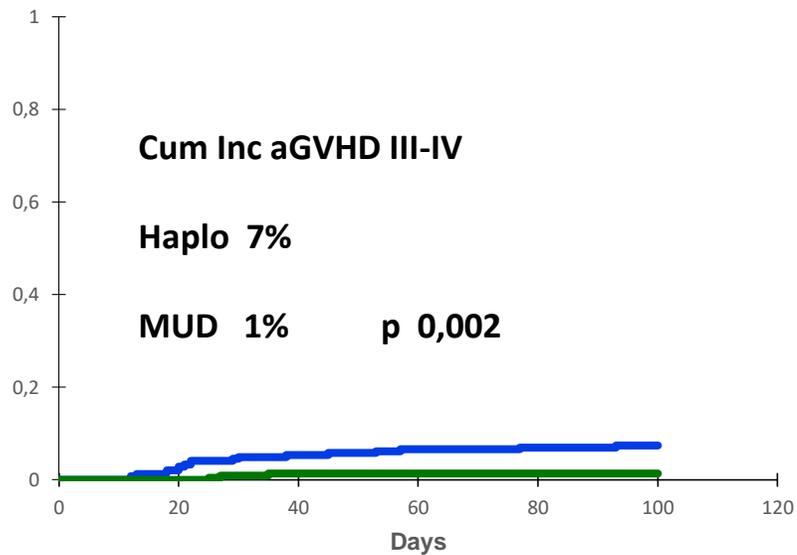
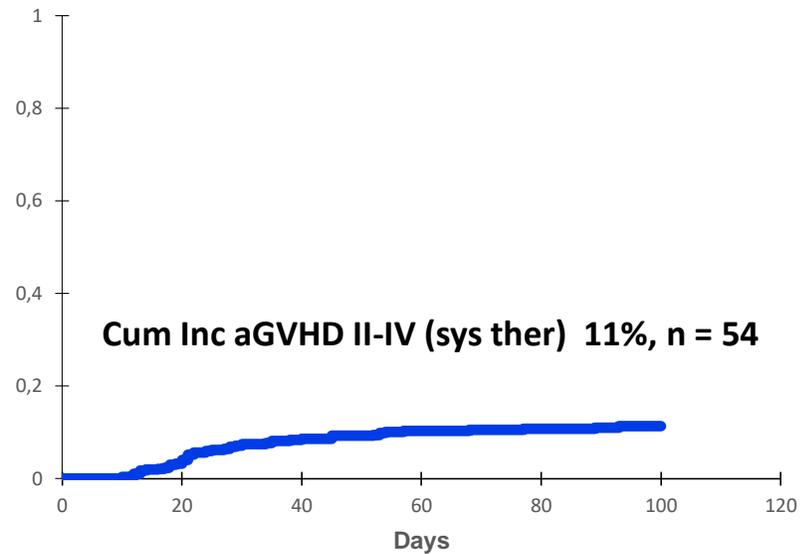
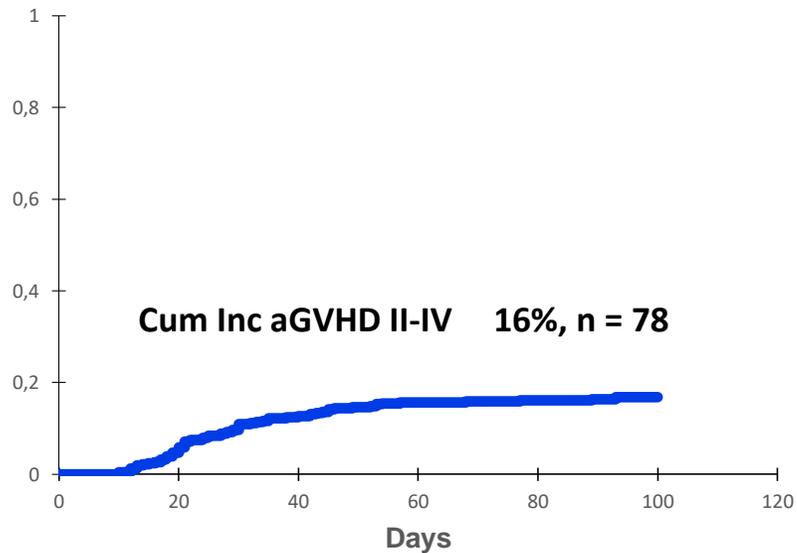


Первичное приживление: нужна ли мега доза стволовых клеток?

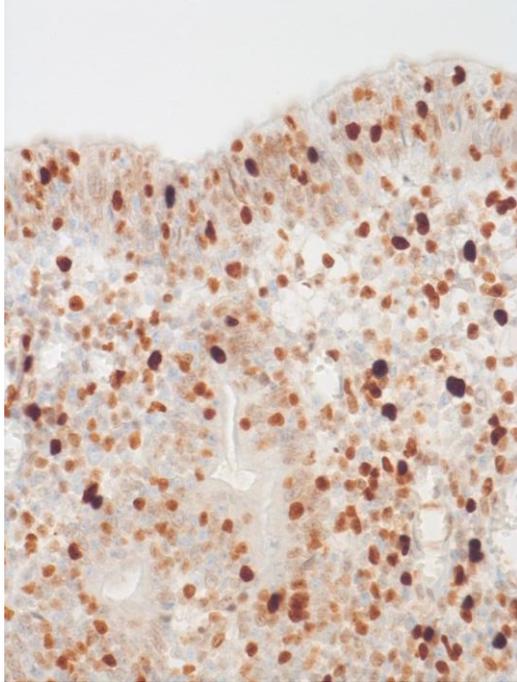
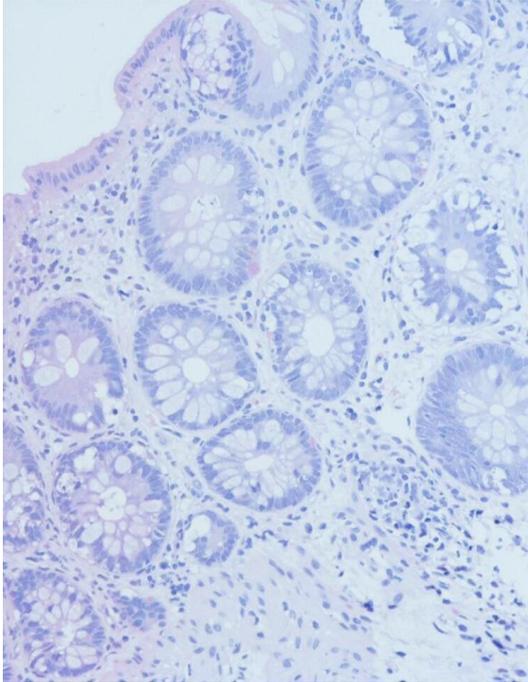


Variable		Cum Inc ANC eng, %	Median day to ANC>500	p
Донор	HAPLO	98±1	12	0,01
	MUD	99±1	14	
Показание	Mal	99±1	13	0,6
	Non-mal	97±1	14	
Mtx	Mtx	99±1	16	0,001
	No Mtx	95±1	12	
CD34 dose (median 10x10 ⁶ /kg)	<median	99±1	13	0,44
	>median	96±1	13	
	< than 5x10 ⁶ /kg	100	14	
12 Gy TBI preparative regimen	Non-TBI	99±1	14	0,004
	TBI	97±2	11	

Острая РТПХ



Острая РТПХ: характеристика и дифф диагноз

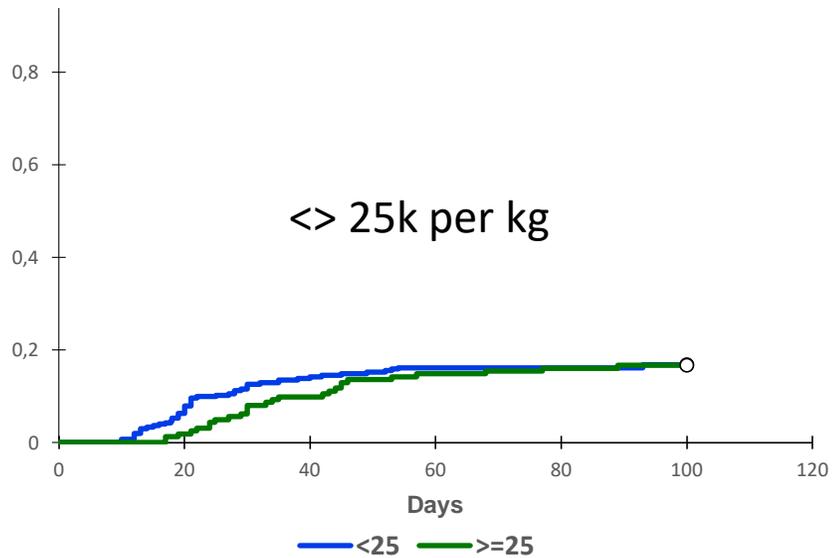
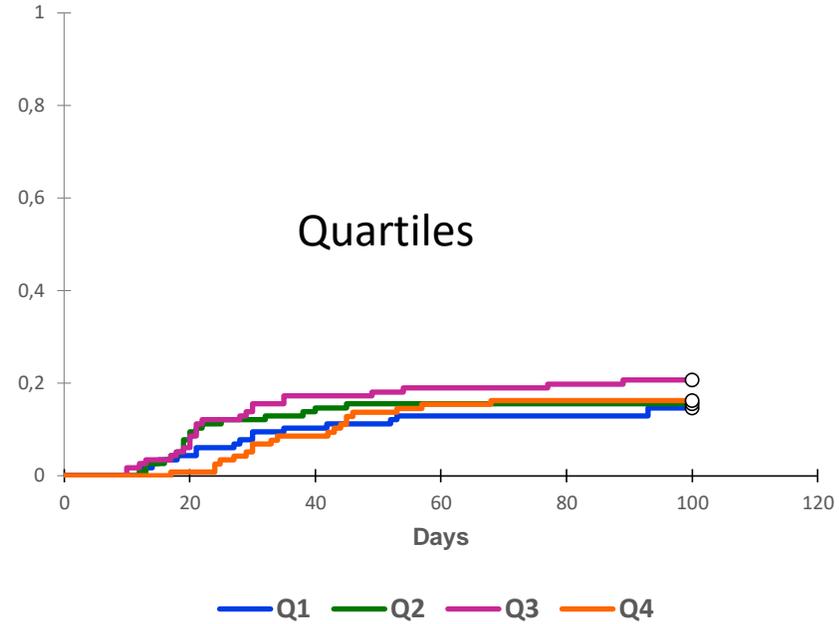
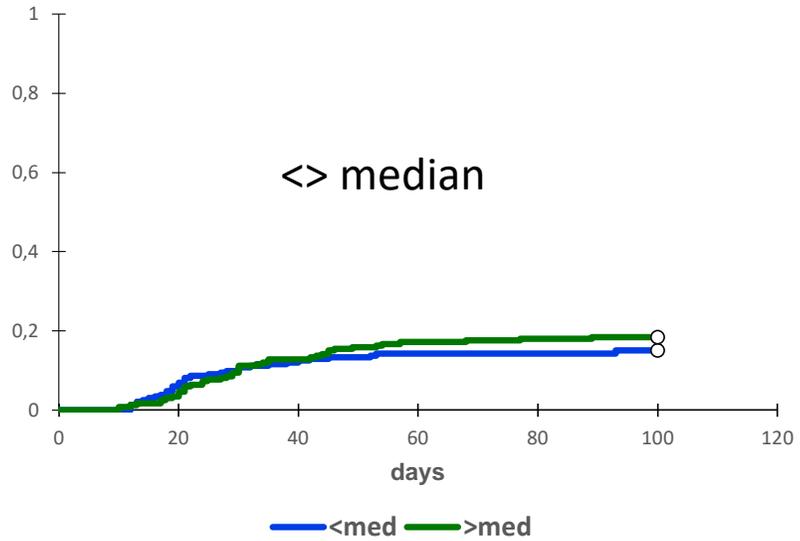


	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
Haplo, n = 243	157 (64%)	37 (15%) 26 skin 11 UGI	31 (13%) 13 skin 10 skin+GI 8 GI	14 (6%) 4 skin 8 GI 2 skin+GI+liver	4 (2%) 2 GI 2 Skin+GI+Liver
MUD, n = 222	149 (67%)	38 (18%) 32 skin 6 UGI	27 (12%) 8 skin 10 skin+GI 9 GI	3 (1%) 2 skin+GI 1 GI	0
	80% never get steroids				3/4 – refractory leukemia without ATG

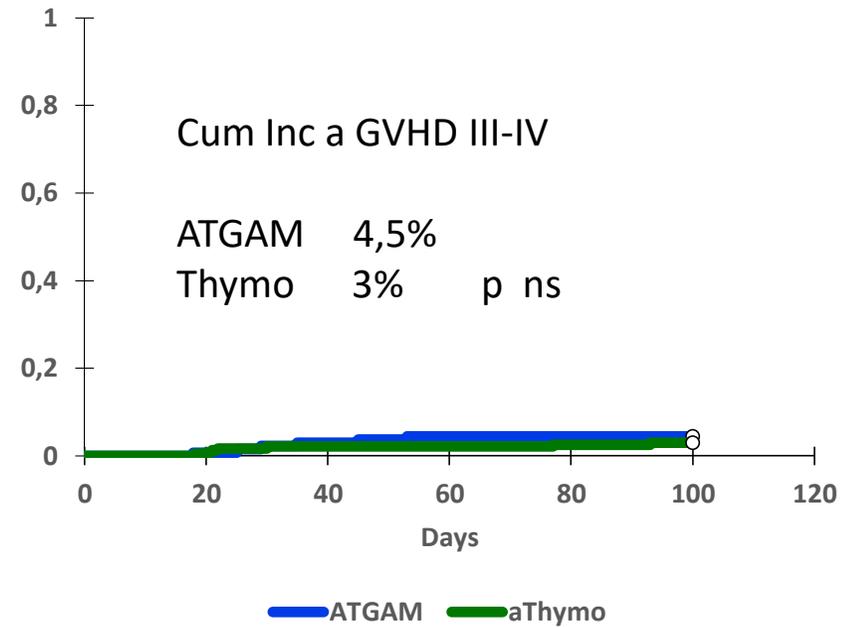
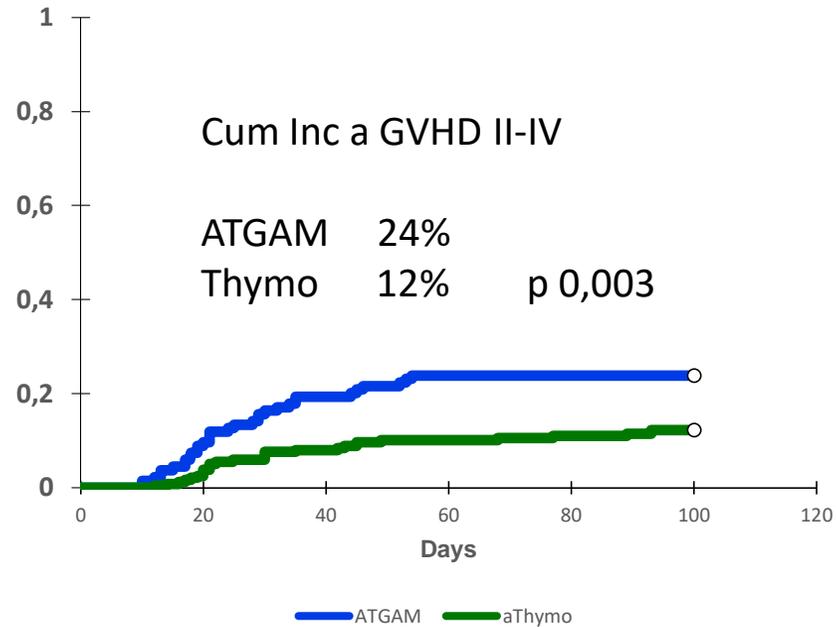
Биоптат толстой кишки: морфология РТПХ и ИГХ+ аденовирус

Дифференциальный диагноз с вирусным энтероколитом

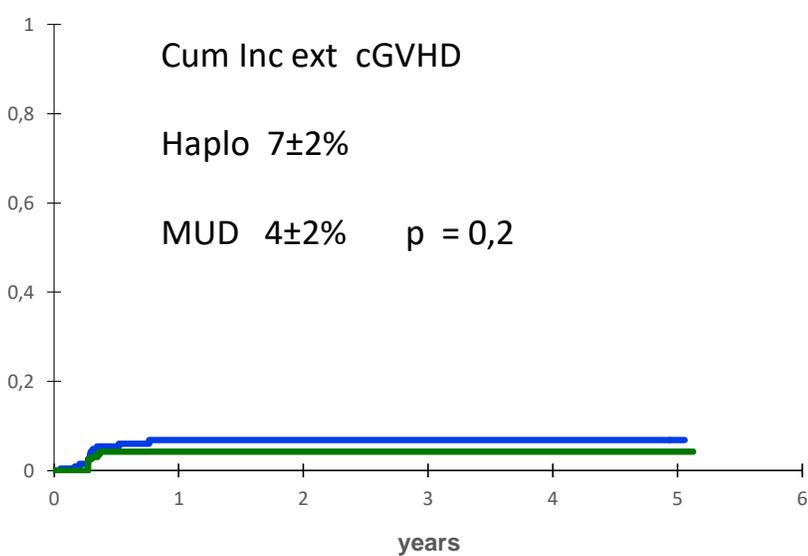
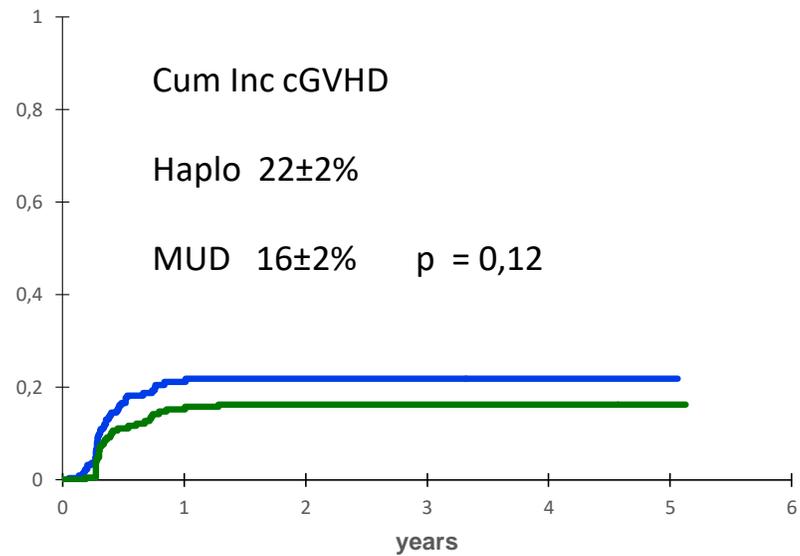
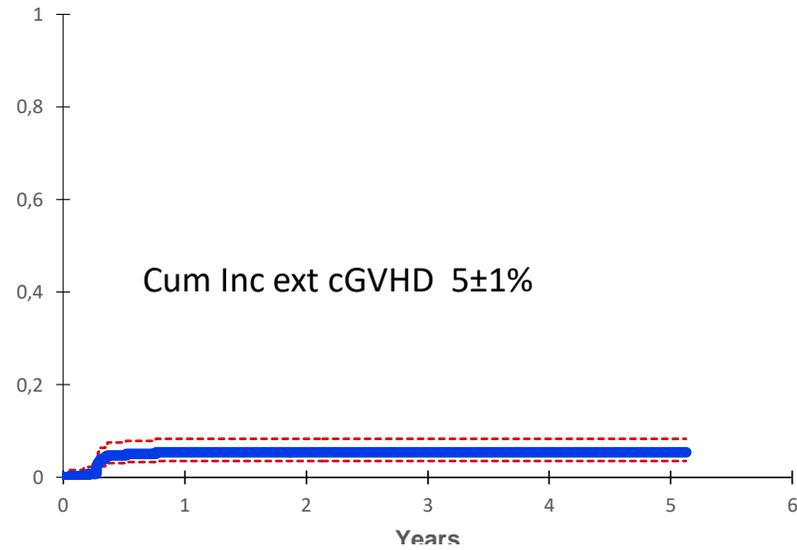
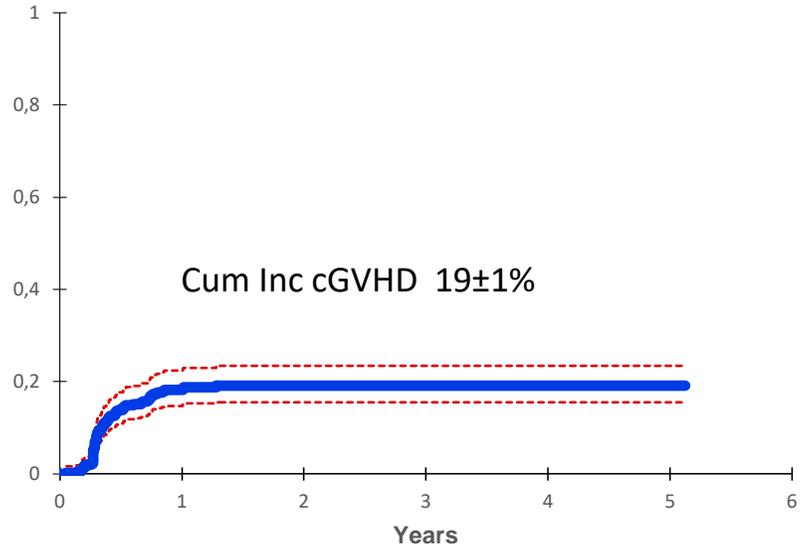
Острая РТПХ: порог альфа/бета Т-лимфоцитов?



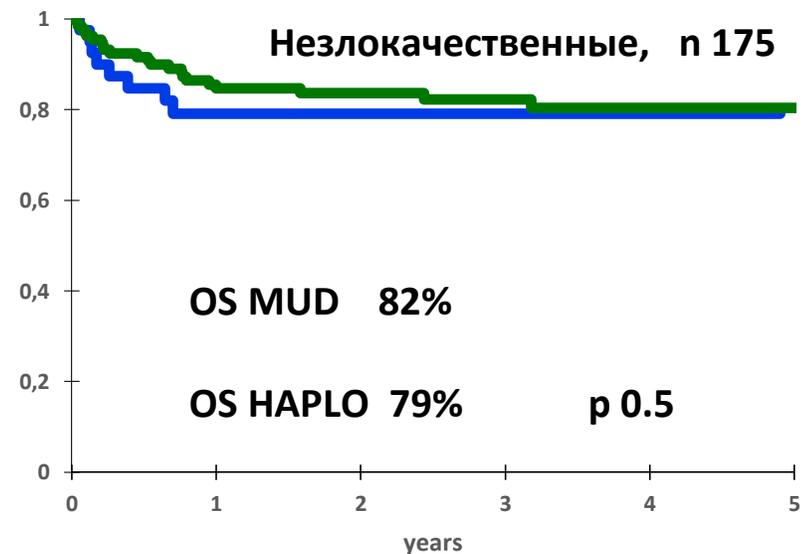
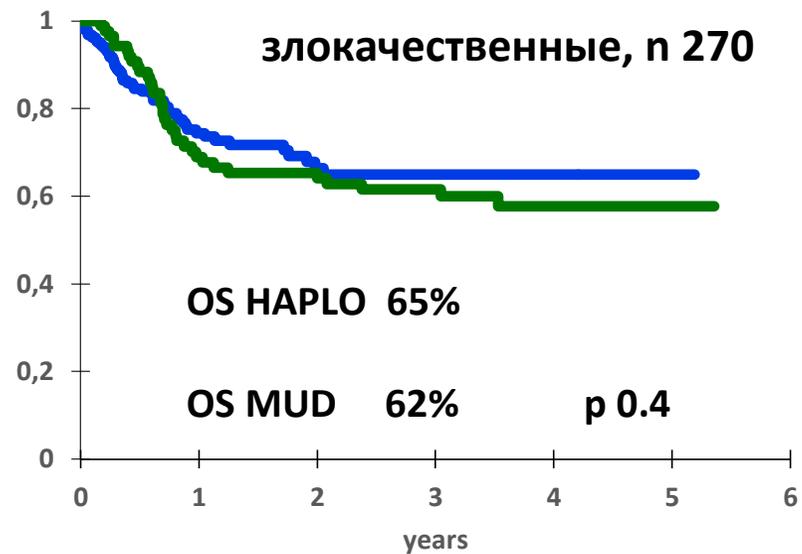
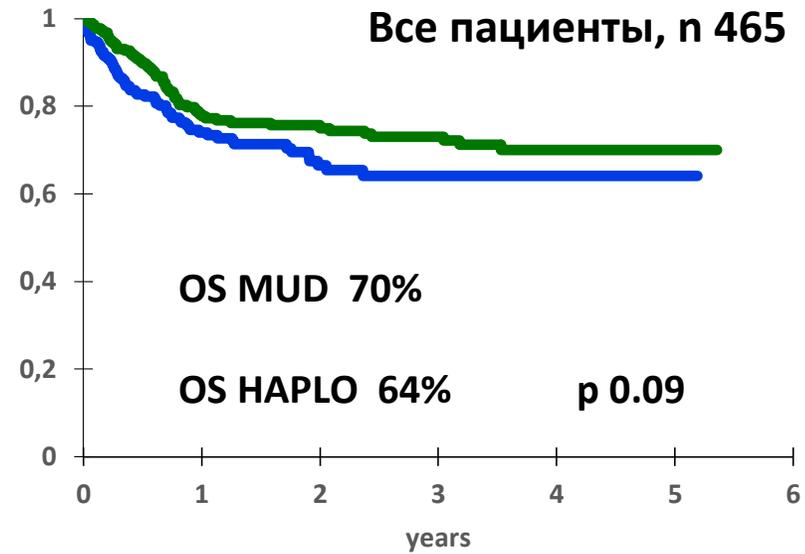
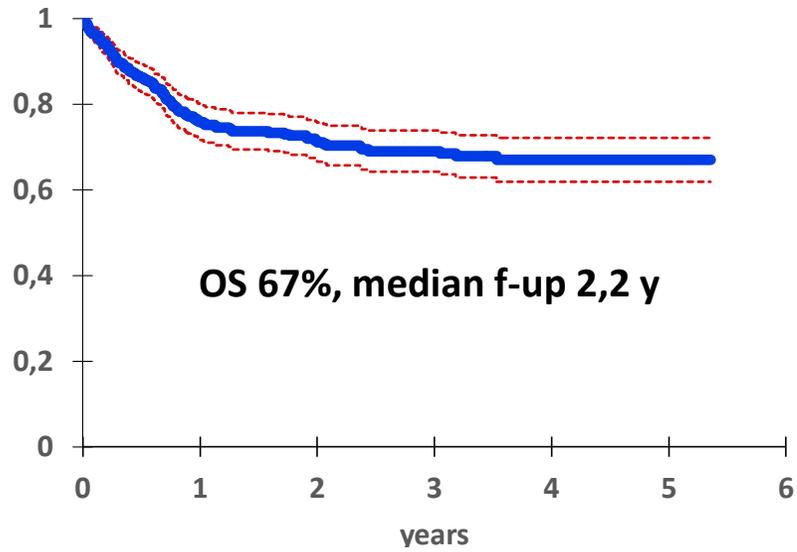
Острая РТПХ: выбор серотерапии



Хроническая РТПХ

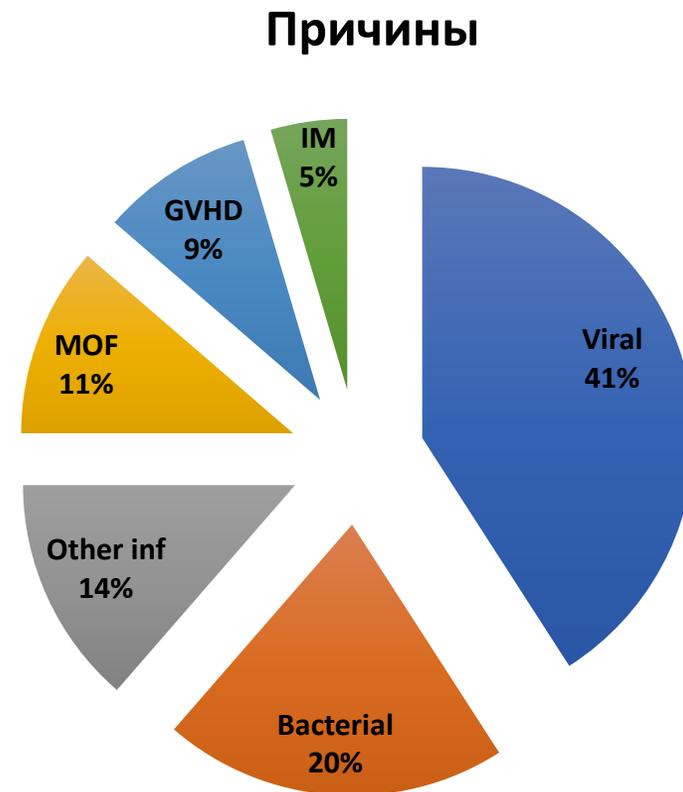
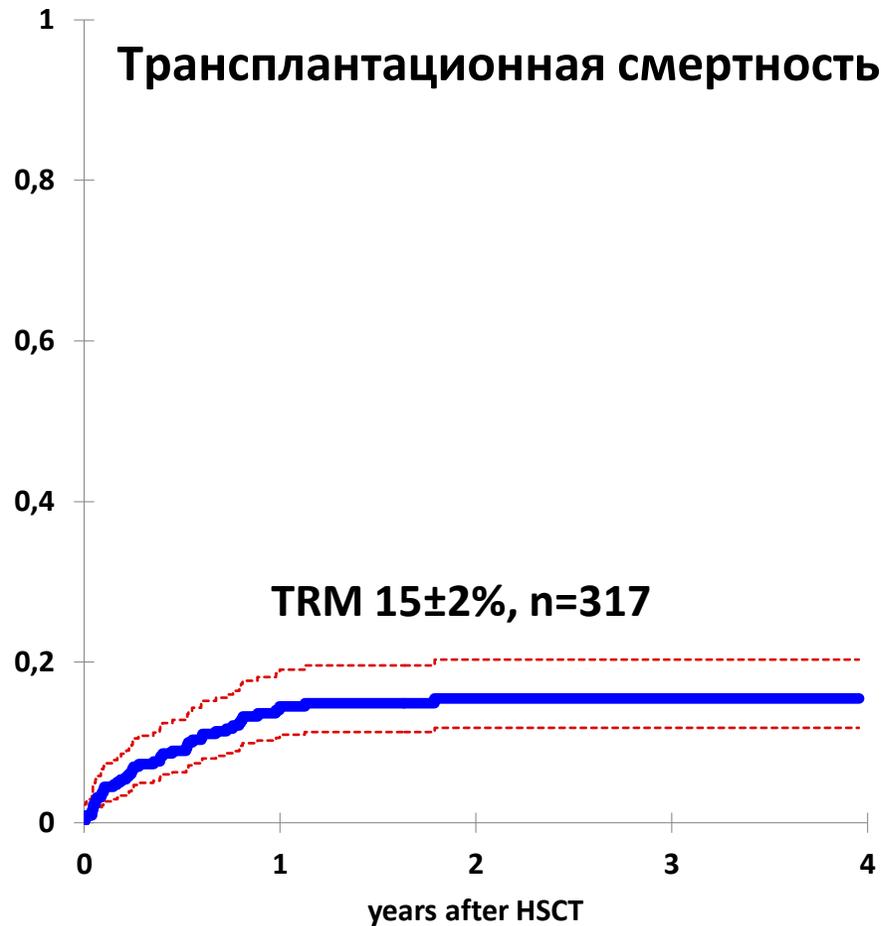


Общие результаты





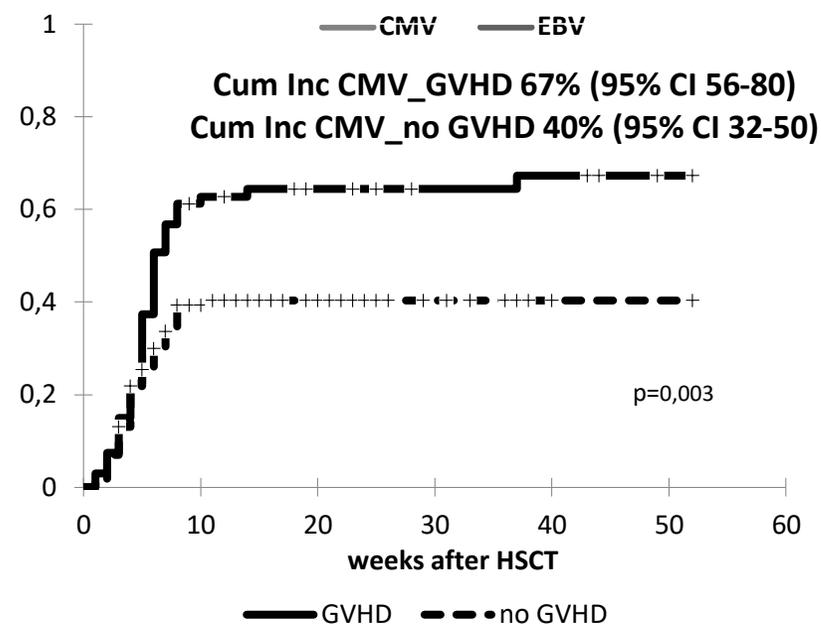
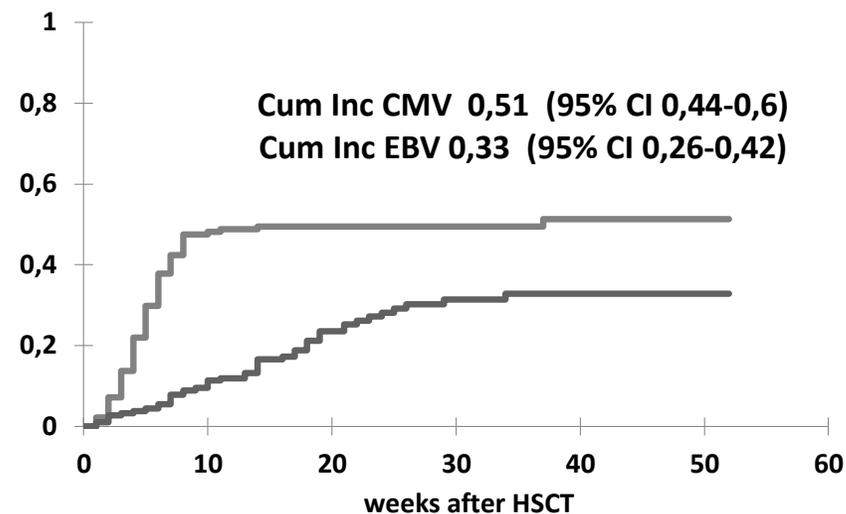
Причины трансплантационной смертности





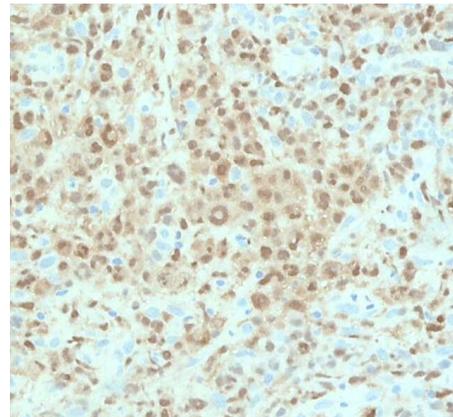
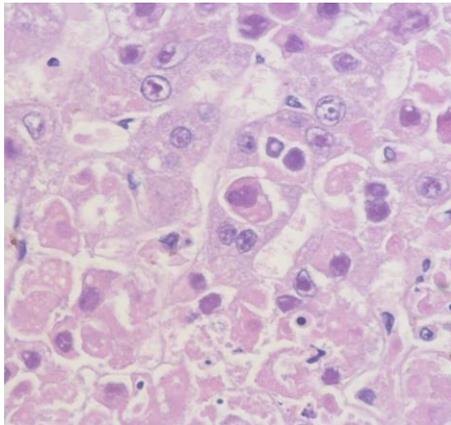
Роль вирусных инфекций

- N = 182
- ЦМВ остается проблемой
- 90% реципиент ЦМВ +
- D-/R+ HR 3,7
- ЦМВ болезнь у 6%
- В 5 случаях – причина смерти





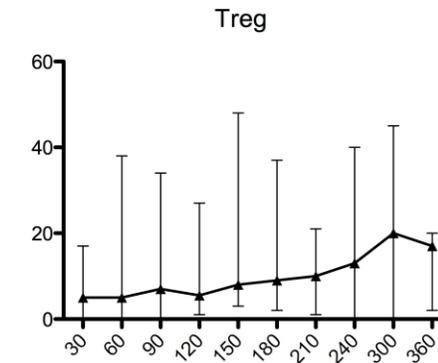
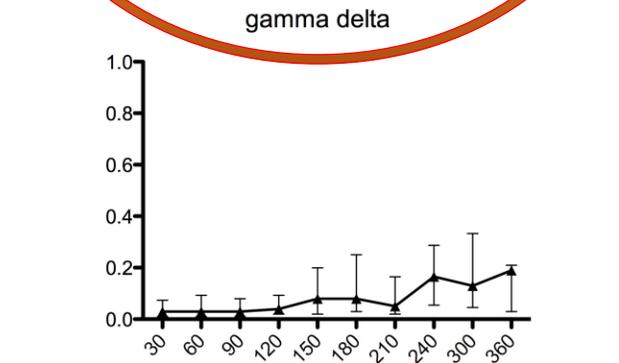
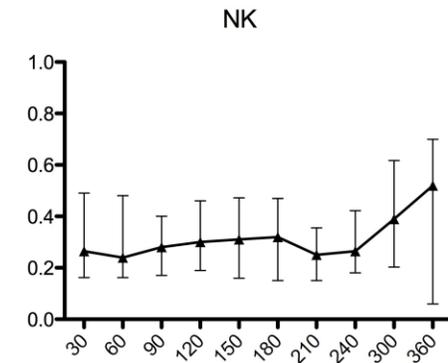
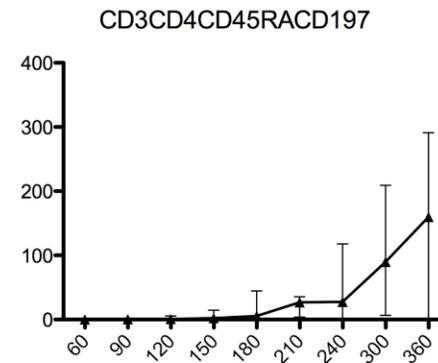
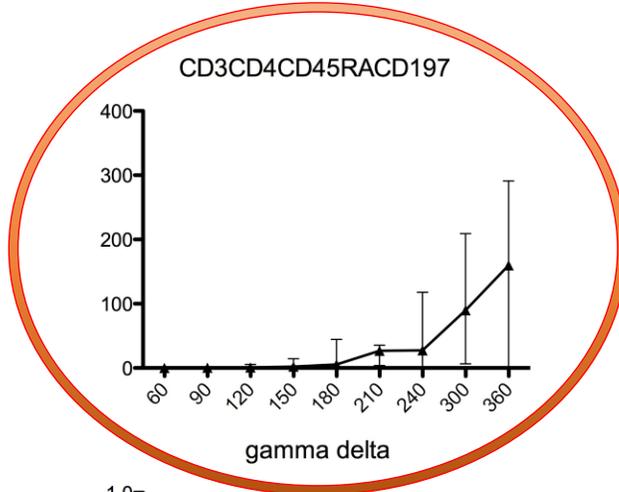
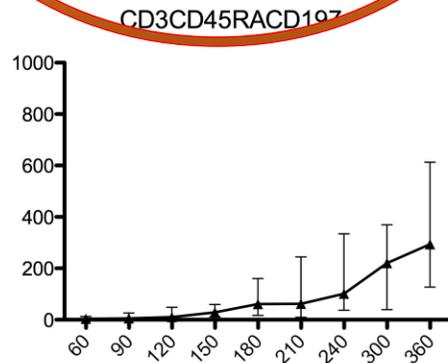
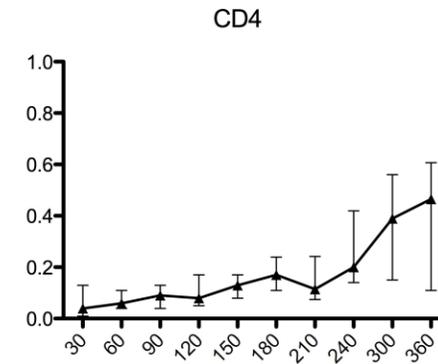
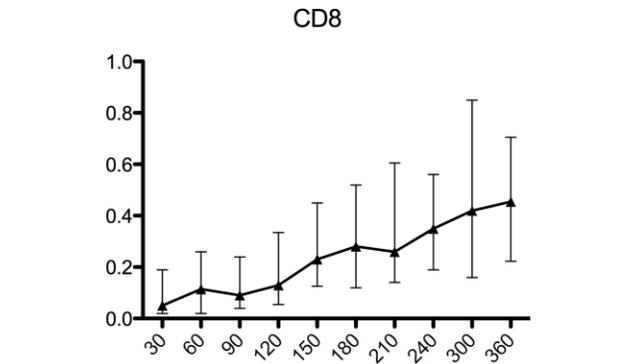
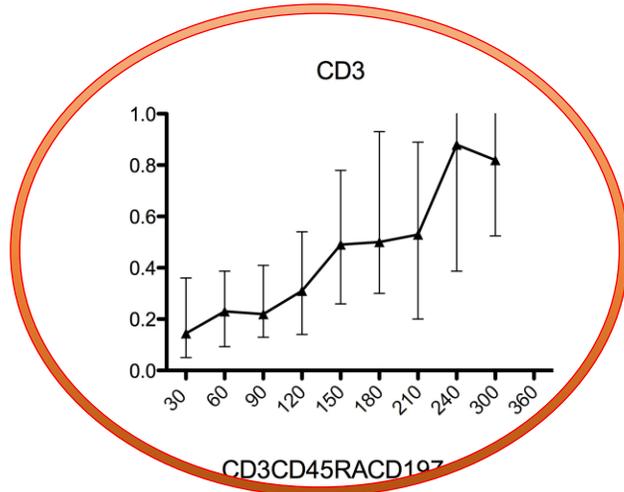
Тяжелые аденовирусные инфекции



- 50% смертельных вирусных инфекций
- Фульминантное течение
- Часто без РТПХ
- Затруднен мониторинг
- Неэффективная лекарственная терапия



Иммунореконституция: отсроченное восстановление разнообразия Т-лимфоцитов



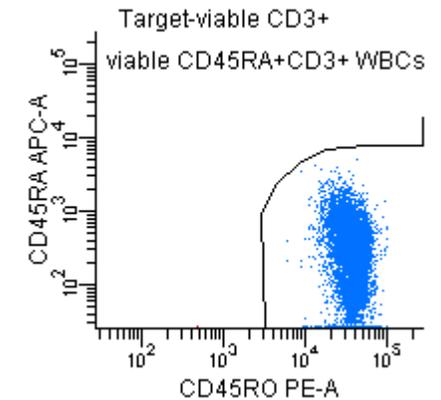
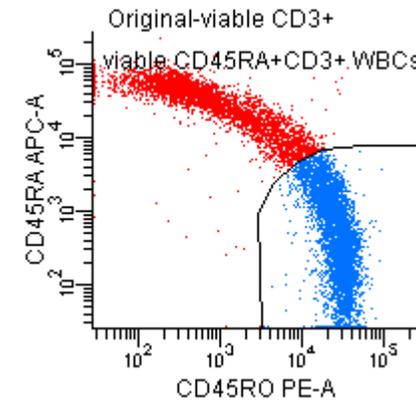
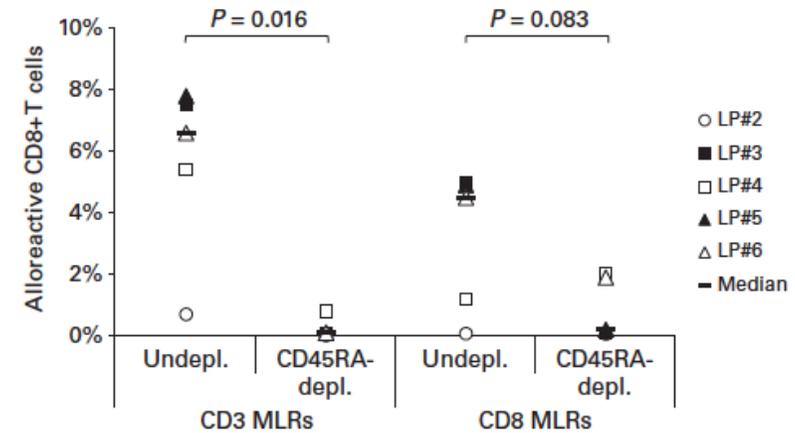
Цель

Улучшить патоген-специфический иммунитет и
снизить инфекционную смертность



CD45RA деплеция: основы

- Аллореактивность связана с наивными Т-лимфоцитами (*Anderson et al, JCI, 2003; Chen et al, Blood, 2004*)
- Деплеция CD45RA снижает (>1 log) частоту аллореактивных Т лимфоцитов (*Distler, Haematologica, 2011; Teschner, BMT, 2013*)
- Сохраняется реактивность к распространенным патогенам (*Bleakley, BMT, 2014, Teschner, BMT, 2013*)





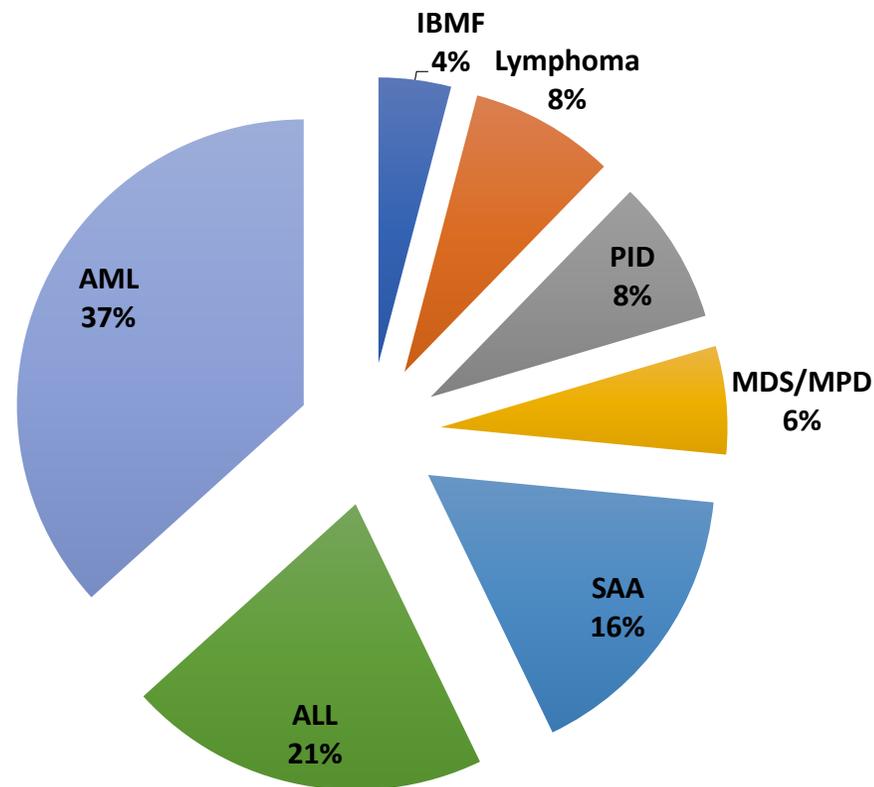
Обоснование к клиническому использованию клеток памяти



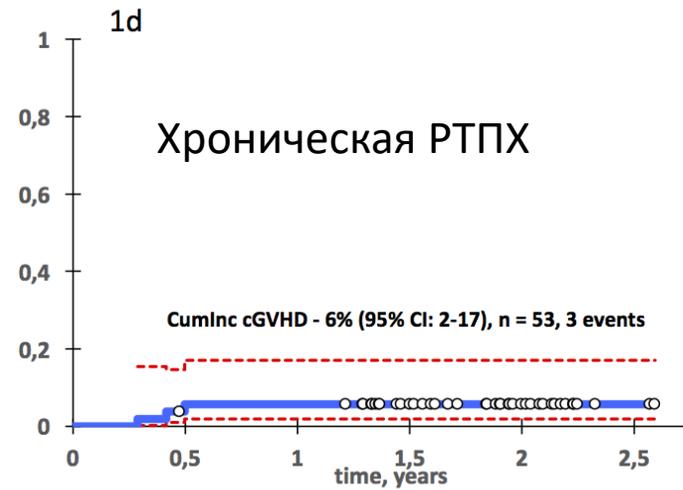
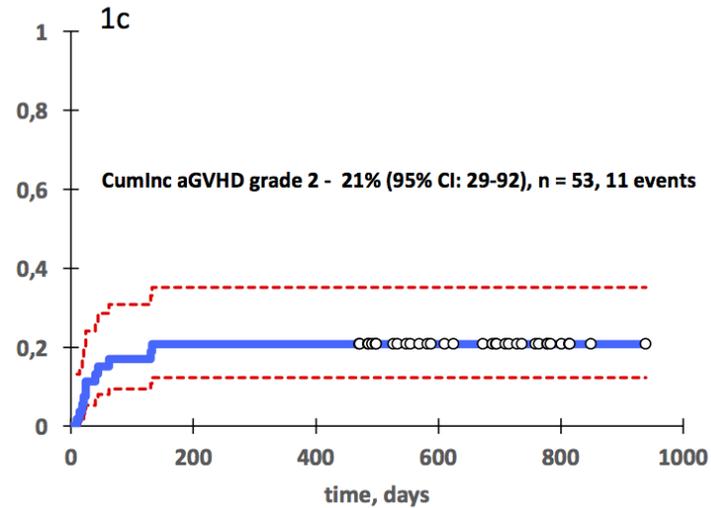
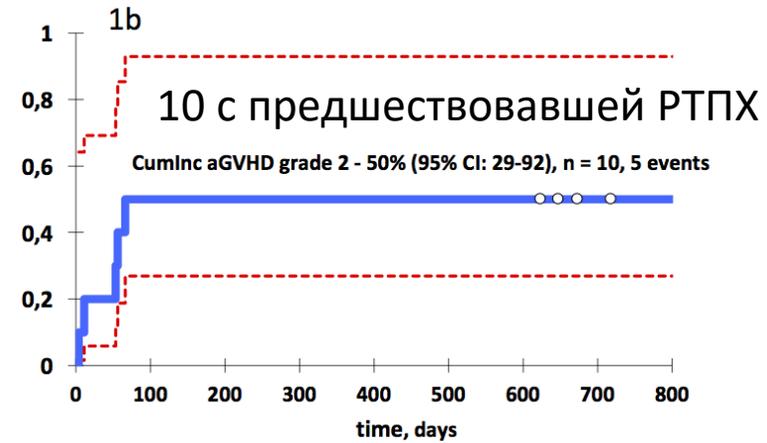
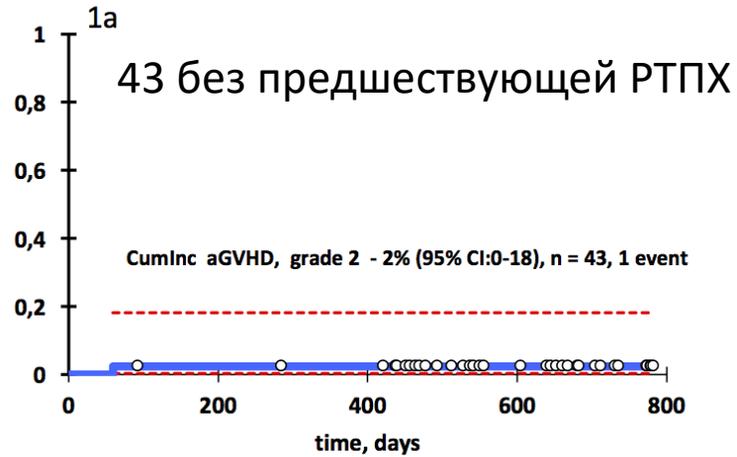
- Профилактическое использование
 - Частота проблемы >50%
 - Высокая стоимость терапии
 - Риск повреждения иммунного повреждения тканей при позднем начале терапии
- Клетки памяти
 - Активность против многих патогенов
 - Репертуар против общих патогенов внутри семьи
 - Автоматическое производство возможно
- Маленькая доза
 - Физиологический иммунный ответ стартует с нескольких клеток
 - Меньше риск РТПХ
 - Достаточная эффективность в профилактике
 - Контроль стоимости

Пилотное исследование инфузий CD45RA –деплементированных донорских лимфоцитов

- 56 пациентов
- Апрель 2014 – Октябрь 2015
- Неродственные n-33
- Гапло n – 23
- 34 (60%) ЦМВ PCR+
 медiana 20 дней до ДЛ
- Наблюдение – 15 месяцев (8-24)
- 143 инфузии

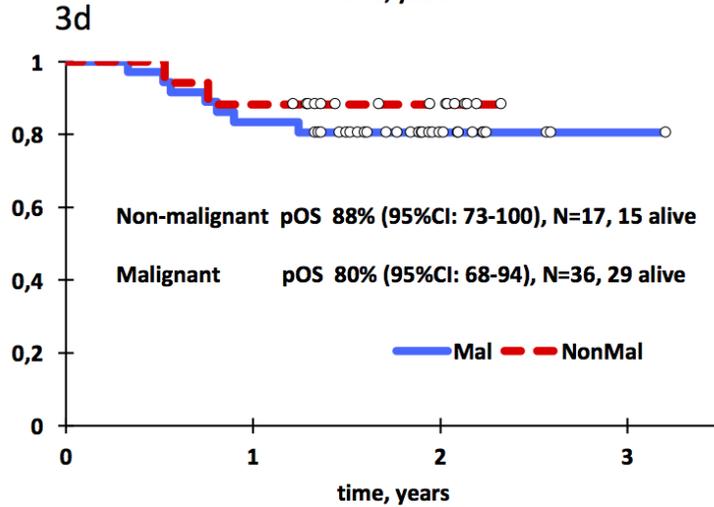
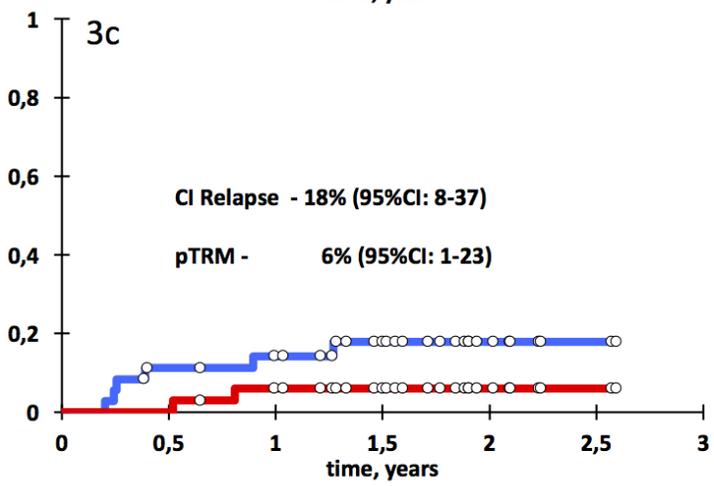
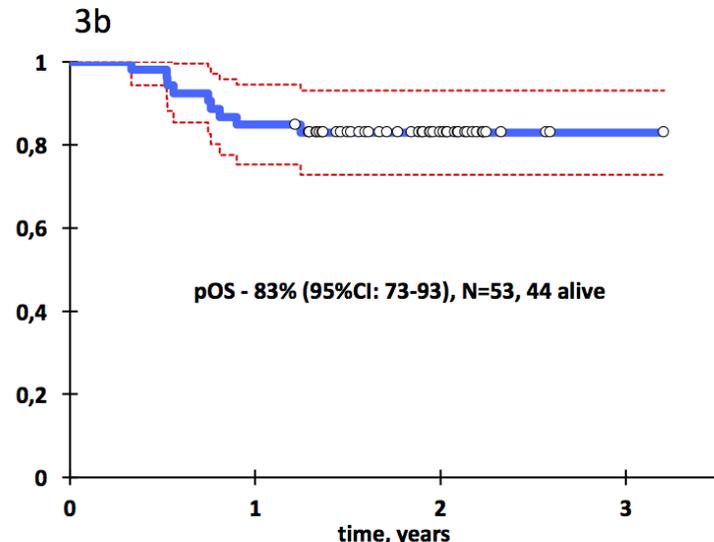
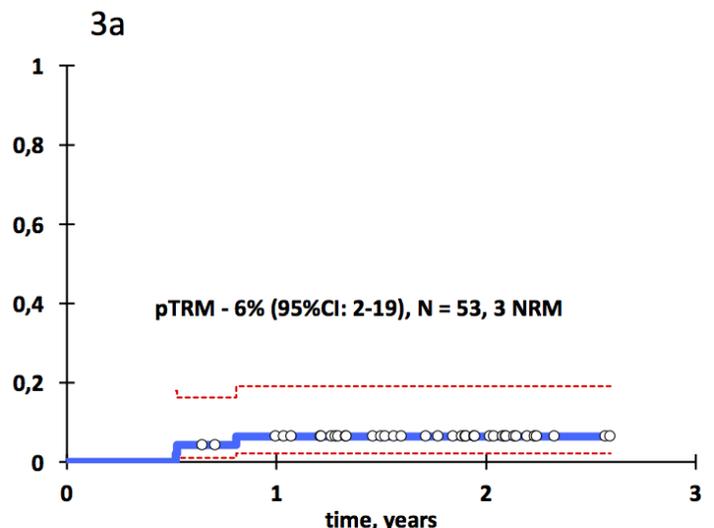


Пилотное исследование инфузий CD45RA –деплементированных донорских лимфоцитов: РТПХ





Пилотное исследование инфузий CD45RA –деплементированных донорских лимфоцитов: общие результаты

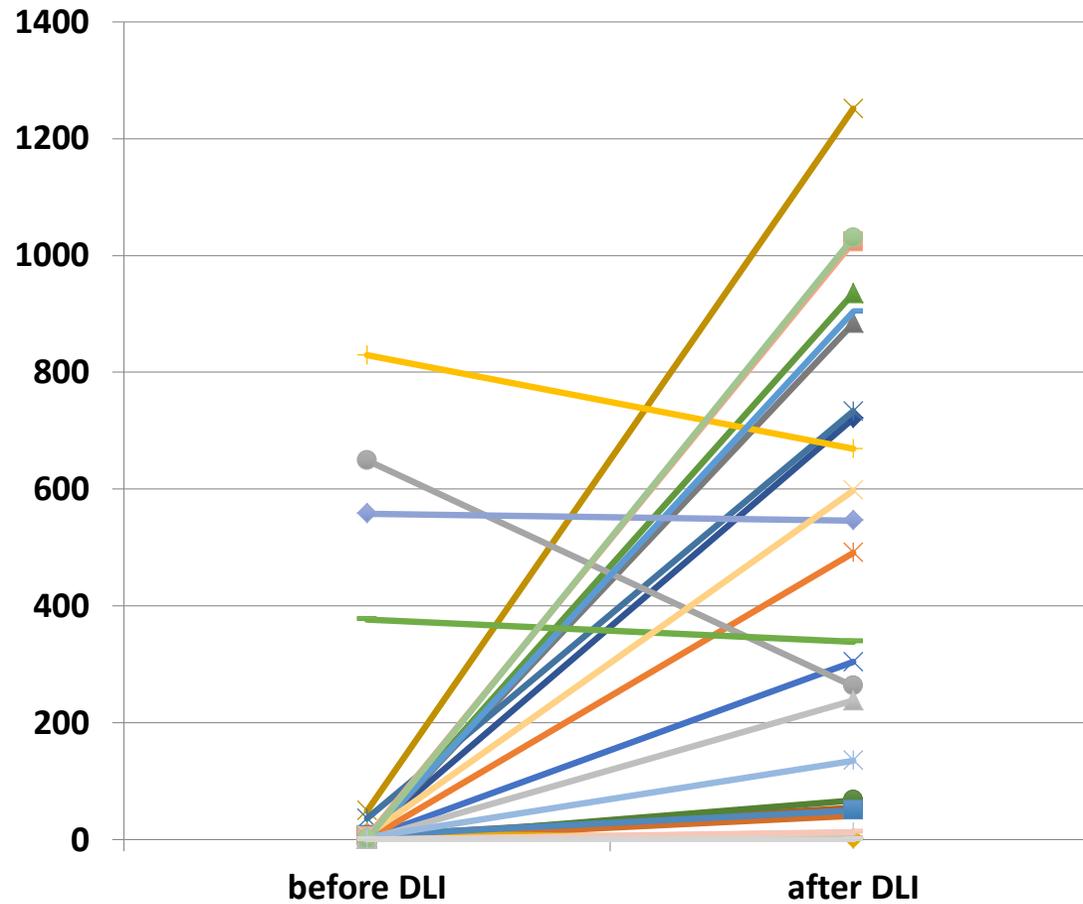




Инфузия CD45RA –деплетированных донорских лимфоцитов



Экспансия вирус-специфичных Т лимфоцитов



median spots/300k MNC	
before	after
2	304
p=0,009	



Продукция интерферона при стимуляции лимфоцитов вирусным антигеном (ELISPOT)



	донор	ДО дл 10.12.14	ПОСЛЕ дл 29.12.14	ПОСЛЕ дл 21.01.15	ПОСЛЕ дл 24.02.15
— контроль	0	0	0	0	0
ЦМВ	261*	8*	1164*	724*	974*
+ контроль	536*	291*	1188*	894*	1118*



Инфузии CD45RA-деплетированных донорских лимфоцитов

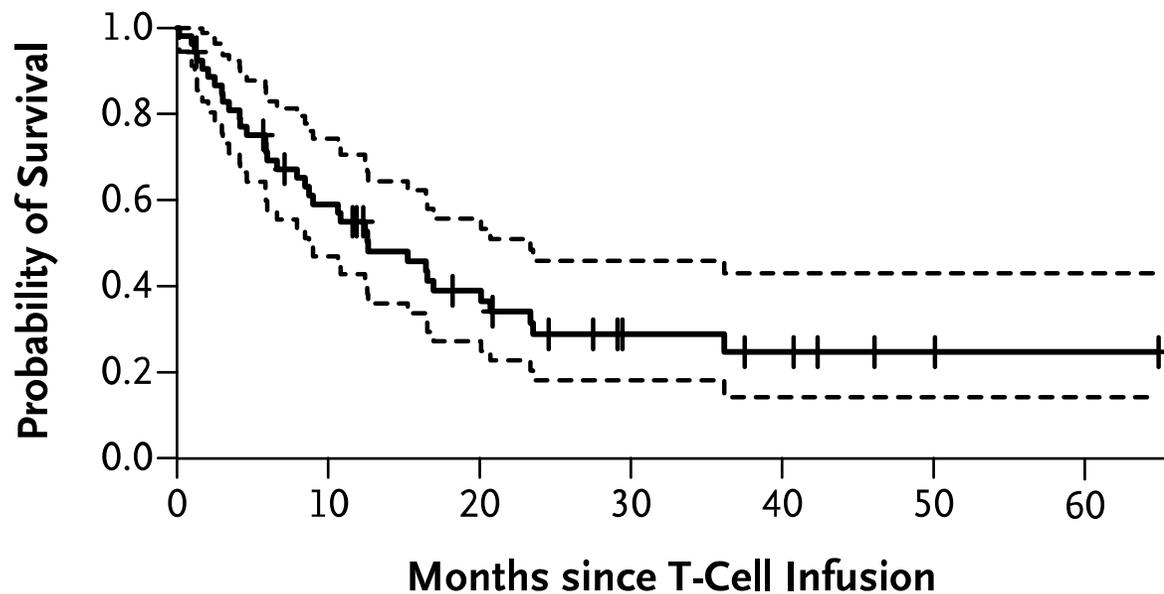
- ✓ Безопасны в раннем пост-трансплантационном периоде
- ✓ Дозы
 - ✓ 25-100k/kg после гапло ТГСК
 - ✓ 100-300k/kg после неродственных ТГСК
- ✓ Экспансия вирус-специфичных Т-лимфоцитов
- ✓ Контроль реактивации цитомегаловируса

Основные результаты платформы селективной Т деплеции

- Надежное приживление
- Очень низкая ранняя смертность
- Низкая трансплантационная смертность(са. 10%)
- оРТПХ II-IV 35% \Rightarrow 10%
- хрРТПХ III 7%
- Рецидивы ОЛЛ 35% \Rightarrow 25%
- Рецидивы ОМЛ 25% \Rightarrow 15%

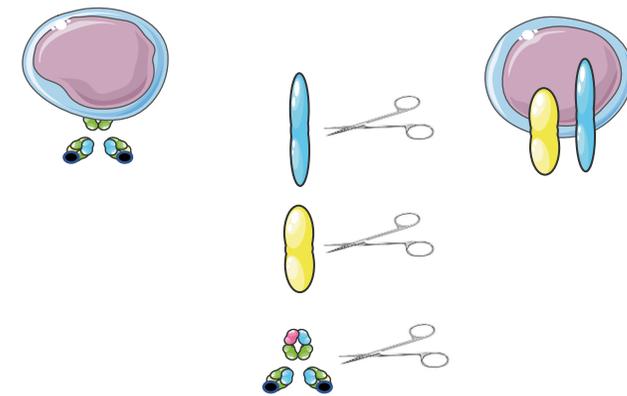
Перенос технологии CAR-T терапии в Россию

- Шанс на излечение 40-50% ранее неизлечимых пациентов с острым лимфобластным лейкозом
- При доступности CAR-T рассчитываем на >95% выживаемость, возможно замену ТГСК для части пациентов



No. at Risk 53 29 16 7 5 2 1

В лимфоцит Т лимфоцит



CAR-T лимфоцит

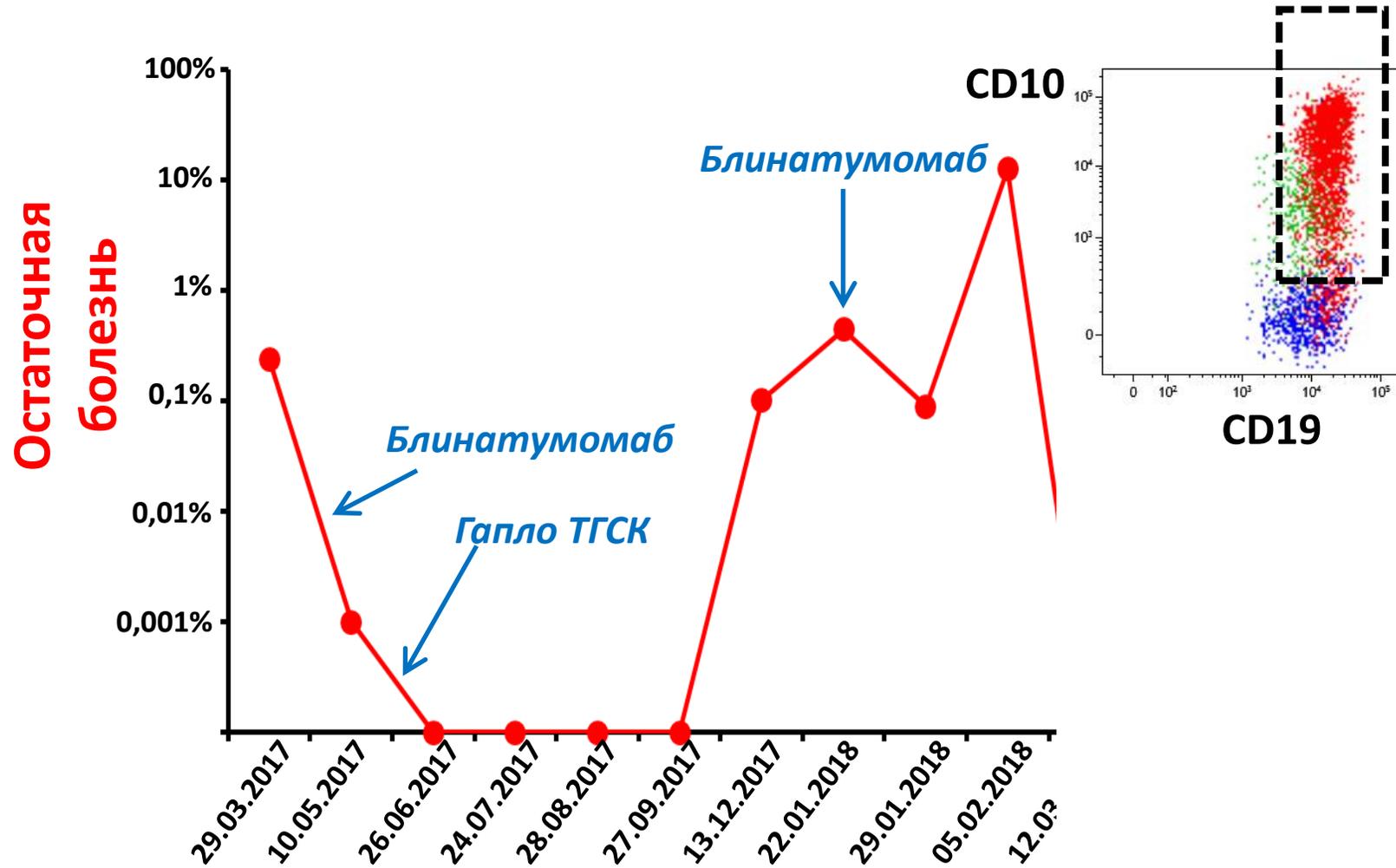


В ОЛЛ

Пациент #1

- 12 лет
- ОЛЛ из В-предшественников с 2015 г
- t(12;21) ETV6-RUNX1
- Второй рецидив в начале 2017 г
- После гаплоидентичной трансплантации с тотальным облучением тела

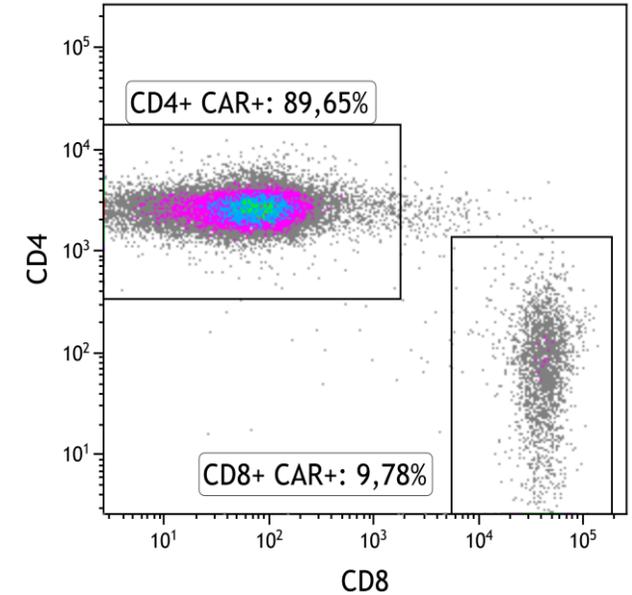
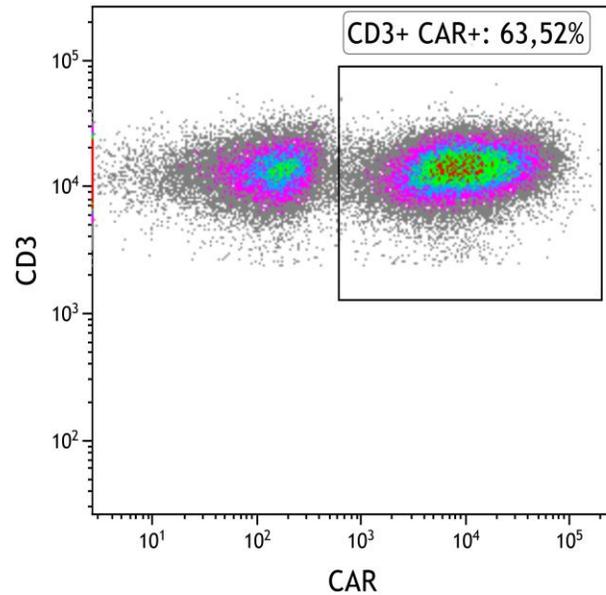
Пациент #1



Данные: А.Попов

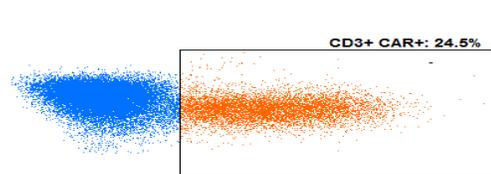
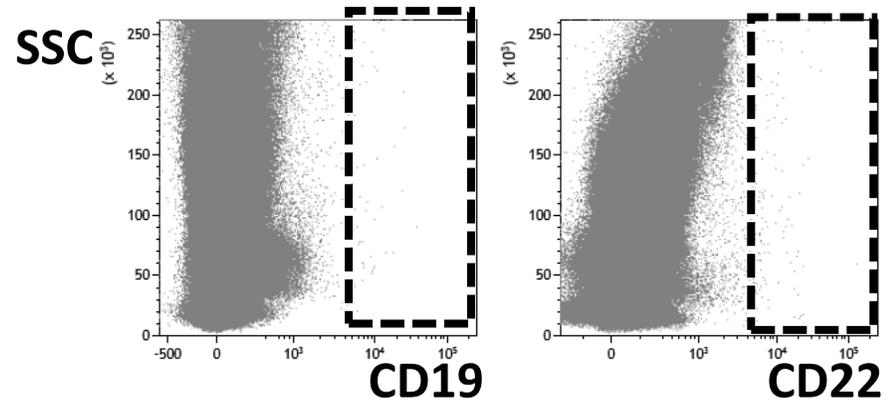
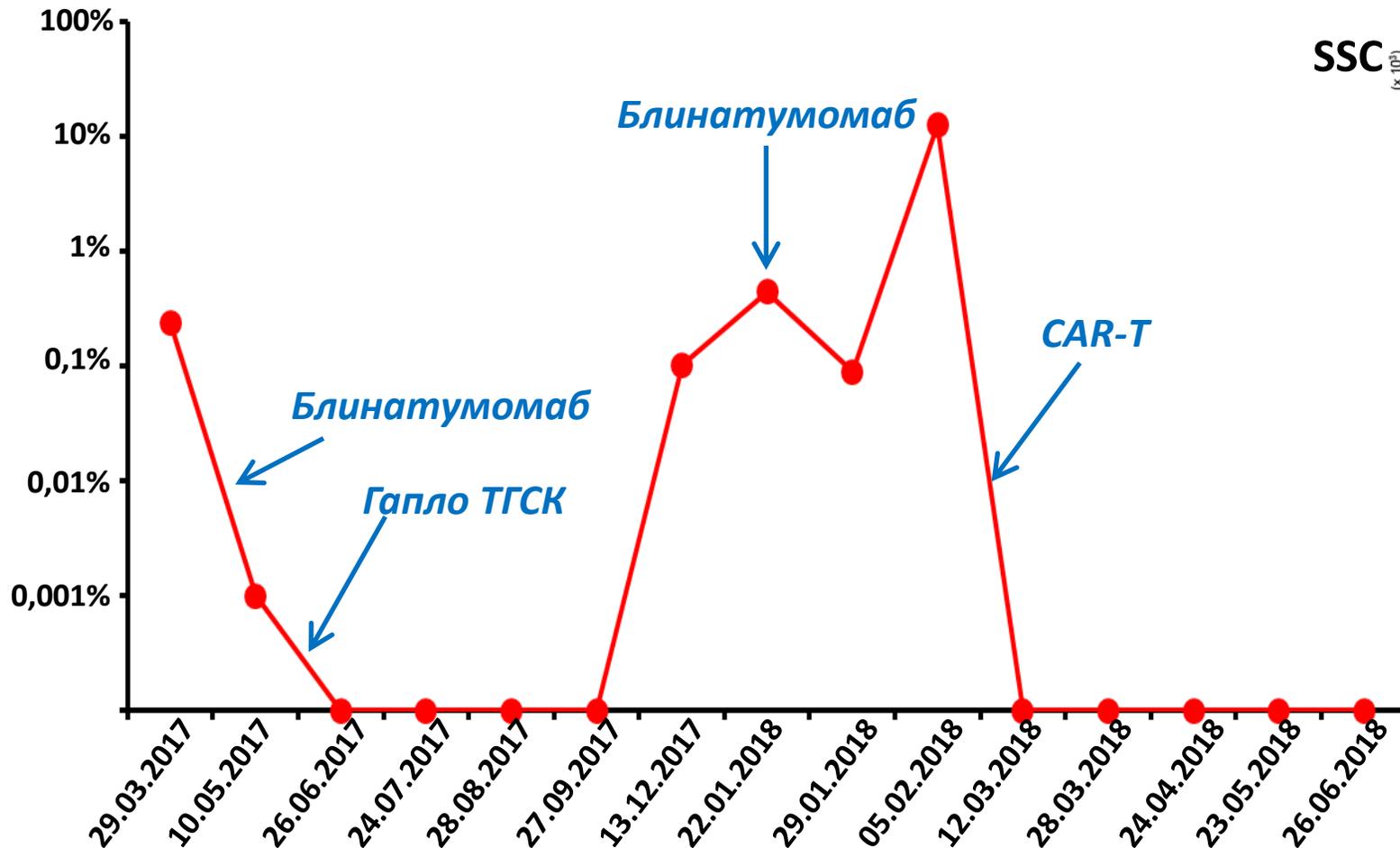
Локальное производство аутологичных CD19 CAR-T лимфоцитов

- 1×10^6 CAR-T на кг
- CD8:CD4 1:9

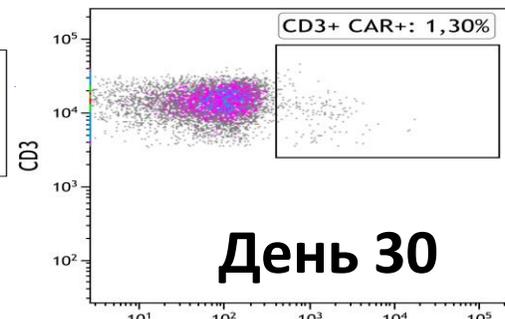


Пациент #1

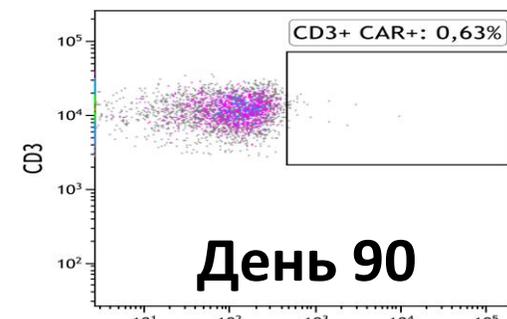
Остаточная
болезнь



День 9



День 30



День 90

Данные: А.Попов, Д.Першин



Команда

- EBMT CIC 694 founder and leader
 - Prof Alexey Maschan
- Clinical team leaders
 - Dmitriy Balashov
 - Larisa Shelikhova
- Clinicians
 - S.Blagov
 - J.Skvortsova
 - M.Ilushina
 - D.Shasheleva
 - R.Khismatullina
 - I.Shipitsina
 - Z.Shehovtsova
 - E.Gutovskaya
 - A.Laberko
 - A.Abrosimov
 - A.Bogoiavlenskaya
 - S.Kozlovskaya
 - S.Radygina
 - V.Pirumova

- Apheresis and Processing
 - Elena Kurnikova
 - P.Trakhtman
 - Y.Muzalevskii
 - A.Kazachenok

- Flow cytometry
 - Elena Boyakova
 - A.Levadnyi
 - S.Dmitrieva
 - S.Rizoiy
 - M.Fadeeva
 - D.Pershin
 - V.Zubachenko
 - V.Zhogov

- Molecular biology
 - Vlasta Bobrynina
 - E.Raikina
 - V.Kalinina
 - O.Shragina
 - V.Krasavina

- Unrelated donor search
 - M.Persiantseva
 - S.Morsch

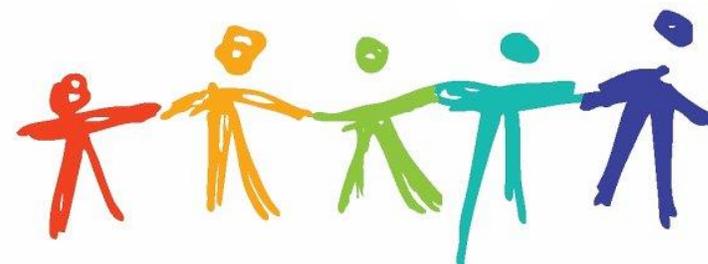
- Nurses of BMT department

- Data management and analysis
 - Zhanna Shekhovtsova
 - Julia Starichkova

- Elispot assay
 - Elena Osipova
 - Natalia Khripkova
 - Mariya Efimenko
 - Victoria Kiseleva

- Professors
 - G.Novichkova
 - A.Rumiantsev
 - D.Litvinov

- Charity "Grant Life"



Спасибо за внимание!