

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ -деплецией у детей с химиорезистентным острым миелобластным лейкозом

Л.Н. Шелихова, М.А. Илюшина, К.В. Семиглазова, Ж.Б. Шеховцова, Д.А. Шашелева, Р.Д. Хисматуллина, Е.Е. Курникова, Д.С. Першин, Д.Н. Балашов, С.А. Радыгина, П.Е. Трахтман, И.И. Калинина, Я.О. Музалевский, А.С. Казаченок, В.В. Захарова, В.В. Бриллиантова, Ю.В. Ольшанская, А.В. Панферова, Е.А. Зеркаленкова, Д.Д. Байдильдина, Г.А. Новичкова, А.Г. Румянцев, А.А. Масчан, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Терапия первично-рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) и рефрактерных рецидивов по-прежнему сложная, не решенная задача в детской онкогематологии. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – единственный излечивающий метод терапии химиорезистентных форм. В данной работе представлены результаты алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ -деплецией у детей с химиорезистентным ОМЛ. В исследование были включены 36 пациентов с первично-рефрактерным ($n = 14$) и рефрактерным ($n = 22$) рецидивами, получившие трансплантацию на базе НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России; медиана наблюдения – 2,2 года. Предтрансплантационный режим терапии включал циторедукции с citarabiном и флударабином с последующим треоосульфран-содержащим режимом кондиционирования с добавлением мелфалана либо тиофосфамида. Антитимотици-тарный глобулин получили 14 пациентов; тоцилизумаб +/- абатацепт – 12; $\alpha\beta$ -T- и CD19-деплеция трансплантата проведена с помощью аппаратов *CliniMACS Plus* или *CliniMACS Prodigy*. Посттрансплантационная терапия включала инфузию модифицированных донорских лимфоцитов с применением или без применения гипометилирующих препаратов. У 30 (83%) пациентов клинико-гематологическая ремиссия достигнута на +30-е сут. Кумулятивная вероятность развития острой РТПХ II–IV степени – 25%; хронической РТПХ – 18%; трансплантационная смертность – 6%; прогрессия или рецидив заболевания – 48%. Двухлетняя бессобытийная и общая выживаемость – 46 и 41% соответственно. Восстановление NK-клеток на +30-е сут выше медианы ассоциировано со статистически значимым улучшением выживаемости. Таким образом, алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с $\alpha\beta$ -T-деплецией может быть куративной опцией у 45% детей с химиорезистентным ОМЛ и ассоциирована с низкой трансплантационной летальностью и вероятностью развития РТПХ. Данное исследование поддержано Независимым этическим комитетом и утверждено решением Ученого совета НМИЦ ДГОИ.

Ключевые слова: химиорезистентный острый миелоидный лейкоз, гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, $\alpha\beta$ -T-клеточная деплеция, иммунная реконституция

Шелихова Л.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2019; 18 (2): 11–21.
DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-2-11-21

$\alpha\beta$ -T-cell-depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children with chemorefractory acute myeloid leukemia

L.N. Shelikhova, M.A. Ilushina, K.V. Semiglazova, Zh.B. Shekhovtsova, D.A. Shashelva, R.D. Khismatullina, E.E. Kurnikova, D.S. Pershin, D.N. Balashov, S.A. Radygina, P.E. Trakhtman, I.I. Kalinina, Y.O. Muzalevskii, A.S. Kazachenok, V.V. Zaharova, V.V. Brilliantova, Yu.V. Olshanskaya, A.V. Panferova, E.A. Zerkalenkova, D.D. Baidildina, G.A. Novichkova, A.G. Rumyantsev, A.A. Mascha, M.A. Maschan

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Контактная информация:

Шелихова Л.Н., врач-гематолог, заведующая отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 1 НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lnik1975@mail.ru

© 2019 by NMRC PHOI

Correspondence:

Larisa N. Shelikhova, MD, hematologist, head of the hematopoietic stem cell transplantation department. Department of hematopoietic stem cell transplantation, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: lnik1975@mail.ru

Primary refractory and relapsed refractory acute myeloid leukemia remains an unresolved problem in pediatric oncology. Children with AML who fail to achieve complete remission on high-dose cytarabine and anthracyclines have no chance for survival without allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. We evaluated the outcome of $\alpha\beta$ -T-cell-depleted haploidentical transplantation in a cohort of children with chemorefractory acute myeloid leukemia. Thirty-six patients with either primary refractory ($n = 14$) or relapsed refractory ($n = 22$) acute myeloid leukemia in active disease status received a transplantation from haploidentical donors. The preparative regimen included cytoreduction with fludarabine and cytarabine and subsequent treatment with treosulfan and either melphalan or thiophosphamide. Serotherapy consisted of antithymocyte globuline in 14 pts and targeted immunomodulation with tocilizumab +/- abatacept in 22 pts. Grafts were PBSCs engineered by TCR- $\alpha\beta$ /CD19 depletion. Posttransplant preemptive therapy included modified donor lymphocyte infusions with or without hypomethylating agents. Complete remission was achieved in 30 (83%) pts. The cumulative incidence of acute GVHD grade II-IV was 25%, and the cumulative incidence of chronic GVHD was 18%. Transplant-related mortality was 6%, and relapse incidence was 48%. Event-free survival was 46%, and overall survival was 41% at 2 years. Good early recovery of NK cells was associated with significantly improved survival and decreased relapse incidence. Our data suggest that $\alpha\beta$ -T-cell-depleted haploidentical HSCT provides a reasonable chance of cure in a cohort of children with chemorefractory acute myeloid leukemia and creates a solid basis for further improvement. The study was approved by the Independent Ethics Committee of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology.

Key words: chemorefractory acute myeloid leukemia, haploidentical hematopoietic stem cell transplantation, $\alpha\beta$ -T-cell-depletion, immune recovery

Shelikhova L.N., et al. Pediatric hematology/oncology and immunopathology, 2019; 18 (2): 11–21.
DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-2-11-21

Терапия первично-рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) и рефрактерных рецидивов по-прежнему представляет собой сложную, нерешенную задачу в детской онкогематологии. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – единственный лечающий метод терапии химиорезистентных форм. Показатели выживаемости алло-ТГСК при рефрактерных формах ОМЛ, несмотря на использование миелоаблативных режимов кондиционирования, включая тотальное облучение тела, по данным литературы, варьируют от 9 до 44% [1, 2]. Большинство опубликованных данных представляют результаты ретроспективных исследований, основная проблема которых – искусственная селекция отдельных групп пациентов. При этом исторически доступ пациентов к технологии трансплантации был ограничен двумя факторами: необходимостью подбора HLA-совместимого донора и риском прогрессии заболевания, а также угрожающими жизни побочными эффектами трансплантации, включая токсичность высокодозной химиотерапии и иммунологическую токсичность (реакцию «трансплантата против хозяина»).

Разработанный в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России подход к выполнению алло-ТГСК на базе технологии иммуномагнитной деплеции нежелательных популяций лимфоцитов позволил в значительной степени решить эти проблемы. Данный метод терапии позволяет снизить риск трансплантационной смертности при выполнении ТГСК от гаплоидентичных доноров менее чем до 5%. Таким образом, выполнение процедуры ТГСК становится доступным всем нуждающимся, независимо от наличия в семье или регистре совместимого донора [3–8]. В литературе недостаточно данных, позволяющих с точностью определить, возможно ли при использовании гаплоидентичной трансплантации с $\alpha\beta$ -Т-клеточной деплецией достичь приемлемых

результатов выживаемости у пациентов с миелобластным лейкозом, трансплантированных в активной фазе заболевания, так как только несколько пациентов с химиорезистентным ОМЛ были включены в анализ в опубликованных работах [4].

В 2012–2016 годах в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России основным подходом к терапии для химиорезистентных ОМЛ было проведение алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с деплецией $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов. В качестве терапевтической стратегии мы выбрали индукцию аплазии костного мозга с использованием флударабина/цитарабина и быструю инициацию треосульфана-содержащего режима кондиционирования аналогично режимам FLAMSA-RIC [9]. Тем пациентам, у которых были достигнуты приживление и полная ремиссия после проведения трансплантации, в дальнейшем проводили гипометилирующую химиотерапию в комбинации с инфузиями модифицированных донорских клеток памяти либо только инфузии донорских клеток памяти.

В данной работе представлены результаты ретроспективного одноцентрового исследования, в которое были включены 36 пациентов с химиорезистентным ОМЛ, получившие гаплоидентичную трансплантацию с деплецией $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С июня 2012 по сентябрь 2017 года на базе отделений ТГСК НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России 36 пациентам (19 девочек и 17 мальчиков) с химиорезистентным ОМЛ была проведена алло-ТГСК. Медиана возраста пациентов на момент ТГСК составила 9,6 (от 1 до 18) года; медиана наблюдения для выживших пациентов – 2,2 года. Данное исследование поддержано Независимым этическим комитетом и утверждено решением Ученого совета НИИЦ ДГОИ.

Статус заболевания и предшествующая терапия.

Для пациентов с первично-рефрактерными формами ОМЛ медиана времени от момента постановки диагноза до трансплантации составила 123 (от 57 до 224) дня; при рецидивах ОМЛ: от момента установления диагноза до момента рецидива – 11,3 (от 3,7 до 23) мес.; время от рецидива до трансплантации – 85 (от 27 до 123) дней.

Результаты цитогенетических и молекулярно-биологических исследований были доступны у

Таблица 1

Цитогенетические характеристики пациентов

Перестройки	Число пациентов, n
Моносомия 7 ± дополнительные	4
t(8;21)	3
t(10;11), KMT2A реаранжировка	4
t(9;11), KMT2A реаранжировка	3
t(11;19), KMT2A реаранжировка	1
FLT3 ITD	4
Другие	3
Комплексный кариотип	1
Неизвестный статус/неизвестная значимость*	10

* У 6 из 10 пациентов с невыявленными мутациями при стандартном цитогенетическом исследовании были выявлены от 1 до 6 клональных перестроек методом NGS панели.

Таблица 2

Основные характеристики пациентов и трансплантата

Характеристика	Параметр	Значение	
Пациенты	Возраст на момент трансплантации, лет (интервал)	9,6 (1–18)	
	Пол, М:Ж	17:19	
Диагноз	Время от постановки диагноза до трансплантации*, дней (интервал)	94 (13–224)	
	Цитогенетический прогноз	Благоприятный	3
		Промежуточный/неизвестный	17
		Неблагоприятный	16
	Статус заболевания	Первично-рефрактерный	14
Рефрактерный рецидив		22	
	Лейкемические бласты в КМ, %	39 (5–100)	
Серотерапия	АТГ	14	
	Без АТГ	22	
Донор	Мать	22	
	Отец	14	
Трансплантат	NK-клетки	$28 \times 10^6/\text{kg}$	
	$\gamma\delta$ -Т-клетки	$8 \times 10^6/\text{kg}$	
	$\alpha\beta$ -Т-клетки	$12 \times 10^3/\text{kg}$	
	CD19+ клетки	$61 \times 10^3/\text{kg}$	
	CD34+ клетки	$9 \times 10^6/\text{kg}$	
Несовпадение по KIR	Да	12	
	Нет	24	
Инфузия донорских лимфоцитов после ТГСК	Без ИДП	10**	
	TCR $\alpha\beta$ -	7	
	Клетки памяти	19	

* В случае течения рефрактерного рецидива – интервал от рецидива до трансплантации; ** 10 пациентов не получали ИДП: 1 – в связи с первичным неприживлением; 4 – из-за прогрессии заболевания; 1 – из-за ранней смерти, не связанной с рецидивом; 4 – в связи РТПХ или ГЛГ.

26 пациентов: 16 из них отнесены к группе неблагоприятного прогноза; 7 – промежуточного и 3 – благоприятного прогноза в соответствии с международной классификацией [10]. Среди 10 пациентов без выявленных цитогенетических перестроек методом секвенирования нового поколения (NGS) в 6 случаях зафиксированы множественные клональные молекулярные aberrации. Детальная информация о генетических вариантах представлена в таблице 1. Все пациенты получили первую линию терапии в соответствии с актуальными протоколами лечения ОМЛ. Пациенты с рецидивами ОМЛ получили терапию по протоколу *Relapsed AML-2001* без применения Г-КСФ [11].

Химиорезистентную форму заболевания устанавливали при проведении морфологического исследования костного мозга при наличии более 5% лейкемических бластных клеток и подтверждали с помощью ИФТ и/или цитогенетических и/или молекулярных маркеров, по крайней мере, после двух курсов интенсивной химиотерапии, включающих как минимум один курс FLAM или FLAida – флударабин, цитарабин и антрациклин (идарубицин или митоксантрон). Среднее содержание бластных клеток в костном мозге до начала циторедукции составляло 39% (от 5 до 100%). У 22 пациентов гаплоидентичными

донорами были матери, у 14 – отцы. Несовместимость по KIR-лигандам была представлена в 12 из 36 пар «донор–реципиент». Основные характеристики пациентов, доноров и трансплантатов представлены в таблице 2.

Режимы кондиционирования и состав трансплантата. Все пациенты получили циторедуктивный курс терапии, включающий флударабин в дозе 30 мг/м²/сут и цитарабин – 2000 мг/м²/сут в 1–5-й дни. Кондиционирование, содержащее треосульфан в качестве базового препарата, начиналось через 4 дня после завершения циторедукции; в качестве второго алкилирующего агента 21 пациент получил мелфалан, 14 – тиофосфамид.

Пять пациентов получили лошадиный антицитотоксический глобулин (ATGAM, Pfizer, Нью-Йорк, США); 9 – кроличий антицитотоксический глобулин (Thymoglobuline, Genzyme, Кембридж, Массачусетс). С июня 2015 года у 22 пациентов серотерапию антицитотоксическим глобулином заменили на антицитокиновую терапию блокатором ИЛ-6 тоцилизумабом. С октября 2016 года к тоцилизумабу добавлен блокатор ко-стимуляторного сигнала абатацепт (n = 10). Схема режимов кондиционирования представлена в таблице 3.

Гемопозитические стволовые клетки были получены путем проведения афереза мононуклеарной фракции периферической крови у гаплоидентичных доноров после стандартного режима мобилизации с

помощью Г-КСФ. В 12 случаях для достижения необходимой мобилизации стволовых периферических клеток был добавлен плериксафор.

αβ-T- и CD19-деплеция проведены с помощью аппарата *CliniMACS Plus* или *CliniMACS Prodigy* (Miltenyi Biotec, Bergish Gladbach, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Состав трансплантата проанализирован в соответствии с протоколом производителя. Медиана показателей клеточного состава трансплантата: для αβ-T-клеток – 12 × 10³/кг; для CD34+ клеток – 8,5 × 10⁶/кг; для NK-клеток – 28,9 × 10⁶/кг; для γδ-T-клеток – 8,2 × 10⁶/кг; для CD19+ клеток – 61 × 10³/кг. В таблице 2 представлены основные характеристики доноров и трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток.

До 2015 года 5 пациентов с целью профилактики РТПХ получили такролимус в дозе 0,02 мг/кг/сут до +30-го дня; 2 пациента не получали специфической профилактики. С 2015 года у 29 пациентов профилактику РТПХ проводили с использованием бортезомиба – 1,3 мг/м²/сут, на -5, -2, +2 и +5-е сут от ТГСК. Дополнительно, с целью деплеции В-лимфоцитов, 29 пациентов получили также ритуксимаб в дозе 200 мг/м² на -1-е сут.

Противовирусную терапию проводили в упреждающем режиме, выполняя еженедельный вирусологический мониторинг: цитомегаловирус (ЦМВ), Эпштейна–Барр (ЭБВ), аденовирус (АДВ) в перифе-

Таблица 3

Схема режимов кондиционирования

Препарат	Дозировка	Дни																					
		-16	-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	2	5	7	14	28
Флударабин	30 мг/м ²																						
Цитарабин	2000 мг/м ²																						
Треосульфан	14 г/м ²																						
Мелфалан	140 мг/м ²																						
АТГ (лошадиный)	25 мг/кг																						
Флударабин	30 мг/м ²																						
Цитарабин	2000 мг/м ²																						
Треосульфан	14 г/м ²																						
Тиотепа	300 мг/м ²																						
Бортезомиб	1,2 мг/м ²																						
АТГ (кроличий)	2,5 мг/кг																						
Флударабин	30 мг/м ²																						
Цитарабин	2000 мг/м ²																						
Треосульфан	14 г/м ²																						
Тиотепа	300 мг/м ²																						
Бортезомиб	1,2 мг/м ²																						
Тоцилизумаб	8 мг/кг																						
Абатацепт	10 мг/кг																						

рической крови определяли методом количественной ПЦР. Противовирусную терапию ганцикловиром начинали после детекции ЦМВ-виремии > 500 коп./мл и продолжали в течение не менее 2 недель до получения двух отрицательных результатов. В случаях выявления ДНК ЭВВ с противовирусной целью использовали ритуксимаб при вирусной нагрузке более 10000 эквивалентов генома/мл в течение 2 недель подряд или при доказанном сопутствующем лимфо-пролиферативном синдроме.

Приживление нейтрофильного ростка регистрировали в первый из трех последовательных дней при уровне гранулоцитов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$, а приживление тромбоцитов – в первый из трех последовательных дней при уровне тромбоцитов более $20,0 \times 10^9/\text{л}$ без предшествующей трансфузии. Диагностику и стадирование острой РТПХ (о.РТПХ) и хронической РТПХ (хр.РТПХ) проводили в соответствии со стандартными критериями [12].

Инфузия донорских лимфоцитов. У всех пациентов с констатированным приживлением трансплантата, достигших клинико-гематологической ремиссии ($n = 30$), была запланирована инфузия модифицированных донорских лимфоцитов (ИДЛ), однако у 4 пациентов ИДЛ не проводили из-за течения о.РТПХ ($n = 3$) и вторичного гемофагоцитарного синдрома ($n = 1$).

Использовали два типа модифицированных донорских лимфоцитов: продукт $\alpha\beta$ -деплеции первичного трансплантата (первоначально аликвотированные и криоконсервированные) и CD45RA-деплементированные лимфоциты (Т-лимфоциты памяти), полученные из первичного продукта афереза либо после нестимулированного афереза. Семь пациентов получили в среднем по 3 (от 1 до 6) инфузии $\alpha\beta$ -деплементированных Т-клеток; медиана времени до проведения терапии – 44 (от 39 до 64) дня, среднее количество NK-клеток в продукте – $10 \times 10^6/\text{кг}$. С 2014 года часть пациентов получила инфузию CD45RA-деплементированных лимфоцитов в рамках пилотного исследования, результаты которого опубликованы ранее [13].

Девятнадцать пациентов получили в среднем 3 (от 1 до 3) инфузии CD45RA-деплементированных лимфоцитов; медиана времени до первого введения – 36 сут. Все ИДЛ выполняли после отмены иммуносупрессивной терапии. Мониторинг иммунорекогнитуции проводили ежемесячно путем определения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с использованием проточной цитометрии.

Посттрансплантационная химиотерапия. Для предотвращения рецидива основного заболевания в рамках клинического исследования пациенты, достигшие ремиссии, могли получать посттранс-

плантационную химиотерапию: 5-азациитидин (5-AZA) в дозе $35 \text{ мг}/\text{м}^2/\text{сут}$, в 1–5-й дни, и бортезомиб – $1,3 \text{ мг}/\text{м}^2$, в 1 и 4-й дни.

Шестнадцать пациентов получили в среднем 3 (от 1 до 6) курса посттрансплантационной терапии. Среднее время до начала первого курса – 40 (от 33 до 99) дней. У 15 пациентов курсы химиотерапии проводили с ИДЛ – $\alpha\beta$ -Т-клеточным продуктом ($n = 3$) или клетками памяти ($n = 12$).

Данное исследование поддержано Независимым этическим комитетом и утверждено решением Ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России в соответствии с Хельсинкской декларацией. Пациенты и/или их законные опекуны подписали информированное согласие на участие в этом исследовании.

Статистический анализ. Основное внимание в нашем анализе уделено общим результатам ТГСК и оценке влияния опубликованных ранее факторов на исход ТГСК при рефрактерном ОМЛ. Эти факторы включают: несовпадение донора и реципиента по комплексу KIR, ЦМВ-виремию, восстановление основных субпопуляций лимфоцитов на +30-е сут после ТГСК, посттрансплантационную терапию, первично-рефрактерное или рефрактерное течение после рецидива, первичный цитогенетический статус, степень поражения костного мозга перед трансплантацией, пол донора, возраст пациента, наличие острой или хронической РТПХ.

Посттрансплантационные факторы риска оценивали в когорте пациентов, которые достигли полной ремиссии на +30-е сут. Для выявления корреляции между течением хр.РТПХ и выживаемостью в анализ были включены только выжившие пациенты, у которых продолжительность ремиссии составляла более 2 мес., для оценки иммунорекогнитуции и выживаемости – только пациенты с донорским приживлением на +30-е сут.

Конечные точки включали кумулятивную вероятность рецидивов/прогрессии (КВР), трансплантационную смертность (ТС), острую и хроническую РТПХ, бессобытийную выживаемость (БСВ) и общую выживаемость (ОВ). Событиями считали смерть от любой причины, рецидив или персистенцию лейкомиических бластов, учитывая их при анализе БСВ. Распределение числовых данных между группами сравнивали с помощью U-теста Манна–Уитни; значения сравнивали с применением точного критерия Фишера. Трансплантационную смертность и рецидив/прогрессирование считали конкурирующими рисками и рассчитывали в соответствии с моделью конкурирующих рисков. Бессобытийную и общую выживаемость рассчитывали с помощью метода Каплан–Майера. Для статистического анализа использовали

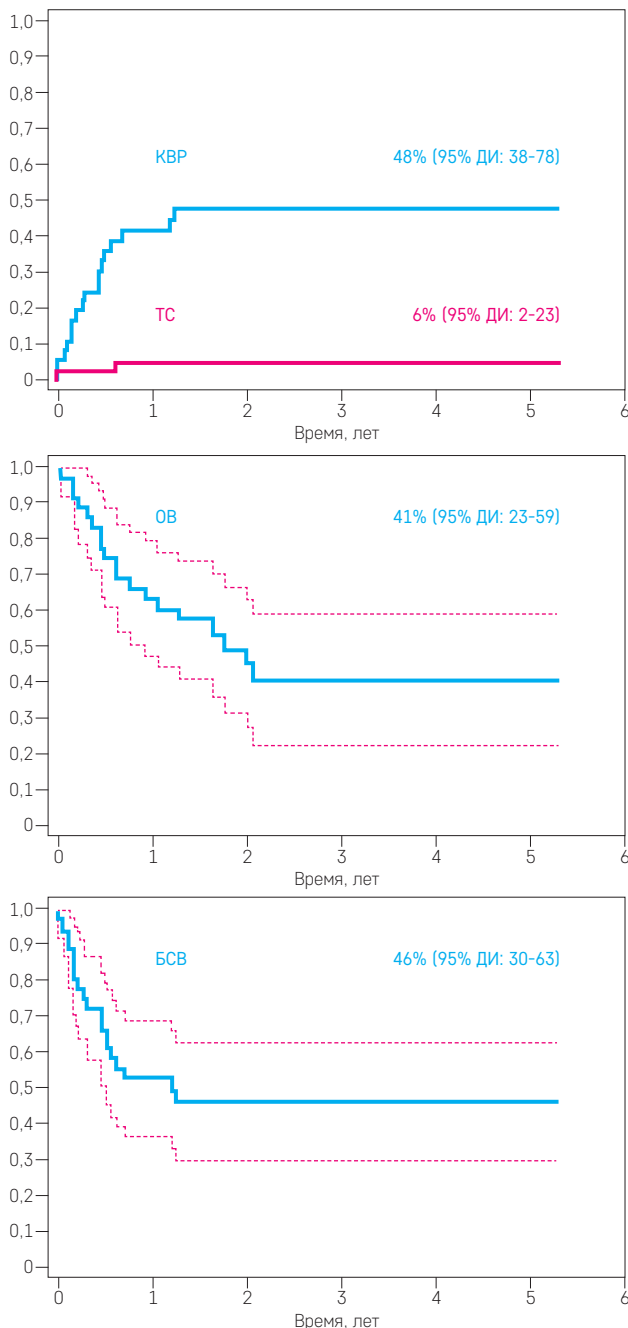
программное обеспечение XLSTAT (Addinsoft, Париж, Франция, 2017). Выжившие пациенты цензурированы датой последнего наблюдения (05.05.2018); медиана наблюдения для выживших пациентов – 2,2 года.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приживление трансплантата, острая и хроническая РТПХ. У 30 (83%) пациентов были зафиксированы приживление трансплантата, 100%-й донорский химеризм в костном мозге и клинико-гематологическая ремиссия на +30-е сут. Один пациент умер на

Рисунок 1

Показатели выживаемости: общая выживаемость (ОВ), бессобытийная выживаемость (БСВ), трансплантационная (ТС) и кумулятивная вероятность рецидива (КВР)



+14-е сут в связи с острым повреждением легких, связанным с приживлением. У 4 пациентов ремиссия не достигнута – эти пациенты умерли в связи с прогрессией заболевания. У одного пациента было зарегистрировано первичное неприживление трансплантата без признаков активного заболевания; после повторной ТГСК от неродственного донора этот пациент пребывает в длительной продолжающейся ремиссии. Среднее время приживления для нейтрофилов и тромбоцитов составило 13 и 14 дней соответственно.

Острая РТПХ II–IV степени была диагностирована у 9 пациентов в среднем на 38-й день от ТГСК; кумулятивный риск о.РТПХ II–IV степени составил 25% (95% ДИ: 14–44). У 3 пациентов развилась о.РТПХ III–IV степени. Кумулятивная частота РТПХ III–IV степени – 9% (95% ДИ: 3–27). Частота возникновения о.РТПХ статистически достоверно не различалась между теми, кто получал АТГ (35%; 95% ДИ: 17–72), и теми, кто получал тоцилизумаб +/- абатацепт (18%; 95% ДИ: 8–44); $\log\text{-rank } p = 0,23$.

Признаки экстенсивной хр.РТПХ развились у 6 пациентов в среднем на 128-й день после ТГСК. У 3 пациентов хр.РТПХ развилась после ИДЛ. Кумулятивная вероятность хр.РТПХ через 2 года составила 18% (95% ДИ: 9–37). Из 17 выживших пациентов один продолжает иммуносупрессивную терапию синеролimusом для контроля печеночной хр.РТПХ.

Трансплантат-ассоциированная смертность, рецидивы и выживаемость. Два пациента умерли по причинам, не связанным с основным заболеванием, на +14 и +223-и сут после ТГСК. Причиной смерти в одном случае стал острый респираторный дистресс-синдром, совпавший с приживлением; в другом – инфекционное осложнение на фоне течения хр.РТПХ. Кумулятивная частота трансплантационной смертности составила 6% (95% ДИ: 2–23). Прогрессия или рецидив ОМЛ развились у 16 пациентов на сроке 138 (от 30 до 454) дней после ТГСК. Кумулятивная частота рецидивов или прогрессирования через 2 года наблюдения составила 48% (95% ДИ: 38–78) во всей когорте. Бессобытийная и общая выживаемость через 2 года составили 46% (95% ДИ: 30–63) и 41% (95% ДИ: 23–59) соответственно. Основные результаты исследования приведены на рисунке 1.

Влияние ранней иммунорекогнитуции и несовместимости по комплексу KIR. Одно из потенциальных преимуществ применения $\alpha\beta$ -Т-клеточной деплеции – ранняя иммунорекогнитуция: восстановление естественных киллеров, $\gamma\delta$ - и $\alpha\beta$ -Т-клеток происходит раньше, чем при использовании технологии позитивной селекции CD34+ клеток [7, 14]. Мы оценили влияние раннего восстановления этих популяций лимфоцитов на основные исходы.

На +30-е сут у 29 человек абсолютные значения NK-клеток, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-клеток были доступны для проведения анализа. Пациентов ретроспективно разделили на группы в зависимости от восстановления каждой популяции лимфоцитов выше или ниже медианы. Медиана абсолютного количества для NK-клеток, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-клеток составляла 400/мм³, 35/мм³ и 76/мм³ соответственно. Восстановление NK-клеток выше медианы ассоциировано со статистически значимым улучшением выживаемости. Для пациентов с абсолютным количеством NK-клеток на

+ 30-е сут выше медианы 2-летние ОВ, БСВ и КВР составили 69% (95% ДИ: 46–91), 69% (95% ДИ: 46–91) и 31% (95% ДИ: 15–65), а среди пациентов с количеством NK-клеток ниже медианы 1-летняя ОВ, БСВ и КВР составляли 12% (95% ДИ: 0–44), 22% (95% ДИ: 1–44) и 71% (95% ДИ: 51–98); *log-rank* $p = 0,008$; 0,02 и *grey test* $p = 0,04$. Восстановление $\gamma\delta$ -Т-клеток выше медианы также сопровождалось тенденцией к улучшению ОВ – 64% (95% ДИ: 39–89) против 13% (95% ДИ: 0–36), *log-rank* $p = 0,09$, и статистически недостоверной разницей между 2-летней БСВ,

Таблица 4

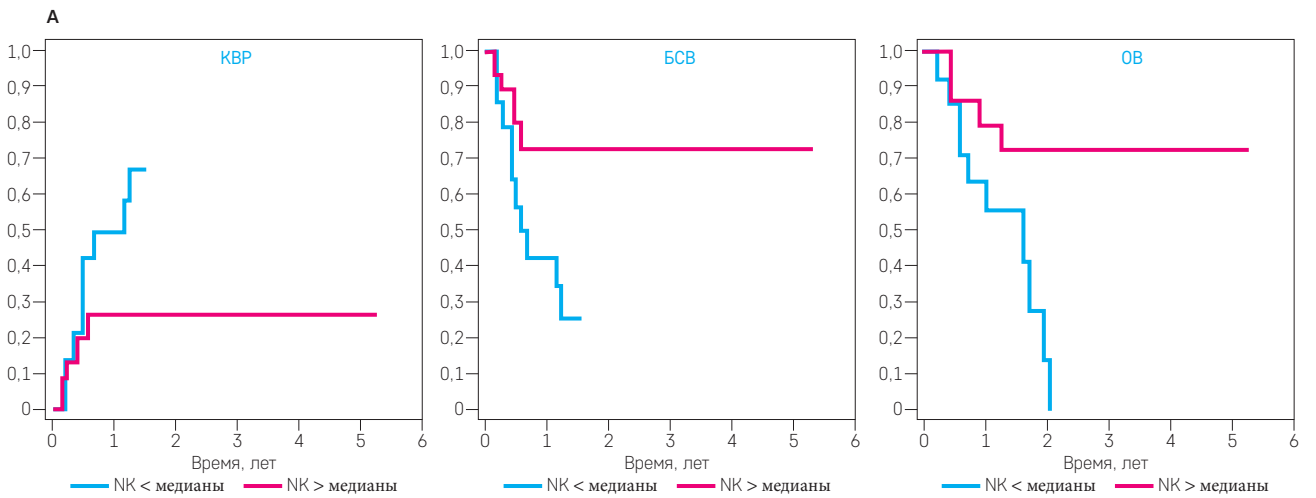
Корреляция между wybranными характеристиками пациентов и исходами трансплантации

Параметр	Корреляция между wybranными пре- и посттрансплантационными характеристиками пациентов и исходами трансплантации													
	Группа	Кол-во, n	КВР %	95% ДИ	<i>p</i> value	ТС %	95% ДИ	<i>p</i> value	БСВ %	95% ДИ	<i>p</i> value	ОВ %	95% ДИ	<i>p</i> value
Возраст пациента	> медианы	18	44	27–74	0,55	11	3–41	0,15	49	26–73	0,95	44	19–70	0,99
	< медианы	18	51	32–80		0	–		44	22–67		46	21–71	
Пол донора	М	14	29	13–65	0,046	0	–	0,07	57	31–83	0,236	48	15–81	0,36
	Ж	22	61	43–86		14	4–52		39	18–60		35	14–57	
Количество blasts, КМ	> медианы	18	28	13–59	0,02	11	3–41	0,15	61	38–83	0,11	57	32–83	0,17
	< медианы	18	68	49–94		0	–		32	10–54		28	5–50	
Цитогенетические данные (прогноз)	Благоприятный	3	33	7–100	0,25	0	–	0,32	67	13–100	0,87	67	13–100	0,52
	Промежуточный/неизвестный	17	37	19–69		12	3–43		44	22–66		40	12–69	
	неблагоприятный	16	64	43–93		0	–		45	17–72		33	8–58	
Несовместимость по KIR	Да	12	42	21–81	0,46	8	0–98	0,63	50	22–78	0,52	48	18–77	0,45
	Нет	24	51	34–76		4	0–34		44	25–65		38	15–61	
АТГ	Да	14	64	44–95	0,055	0	–	0,25	36	10–61	0,15	36	11–61	0,49
	Нет	22	38	22–65		9	2–34		53	32–75		44	19–70	
Бортезомиб	Да	29	38	63–100	0,01	0	–	0,49	54	36–73	0,025	50	30–70	0,13
	Нет	7	86	24–61		7	2–26		14	0–40		14	0–40	
Статус заболевания	Первично-рефрактерный	14	38	19–75	0,21	7	1–47	0,73	55	28–82	0,3	43	10–76	0,38
	Рефрактерный рецидив	22	55	37–80		5	0–100		41	20–62		37	16–69	
Содержание CD34+	> медианы	18	46	28–77	0,8	0	3–41	0,15	54	30–78	0,4	47	19–75	0,6
	< медианы	18	50	32–79		11	30–41		39	16–61		36	13–79	
хр.РТПХ	Да	6	0	–	0,03	17	3–99	0,05	83	53–100	0,2	83	53–100	0,19
	Нет	22	54	37–80		0	–		53	31–74		42	16–67	
о.РТПХ II-IV	Да	8	63	37–100	0,17	12	0–100	0,1	22	0–49	0,09	17	0–44	0,1
	Нет	22	38	22–66		0	–		54	35–74		49	27–70	
ЦМВ-виремия	Да	15	54	36–81	0,66	5	0–35	0,82	53	28–79	0,66	53	28–78	0,71
	Нет	21	40	22–74		7	0–100		42	20–63		33	9–56	
Кол-во NK клеток, на 30-й день	> медианы	15	27	12–62	0,05	0	–	0,3	73	51–96	0,025	73	51–96	0,008
	< медианы	14	67	46–99		7	0–90		26	0–50		14	0–39	
Кол-во $\gamma\delta$ -Т-клеток, на 30-й день	> медианы	15	36	18–72	0,1	0	–	–	64	39–89	0,13	64	39–89	0,09
	< медианы	14	81	56–100		0	–		32	7–56		13	0–36	
Кол-во $\alpha\beta$ -Т-клеток, на 30-й день	> медианы	15	57	36–90	0,9	0	–	–	47	21–72	0,9	46	20–71	0,83
	< медианы	14	60	33–100		0	–		49	22–76		32	0–66	
Применение азациитидина после ТГСК	Да	16	62	43–91	0,07	0	–	0,29	37	14–61	0,14	33	7–58	0,35
	Нет	14	21	8–58		7	0–77		71	48–98		71	49–95	
ИДЛ с клетками памяти	Да	19	38	21–68	0,24	5	0–68	0,45	57	34–80	0,35	50	24–76	0,56
	Нет	11	56	33–96		0	–		44	13–74		38	6–70	

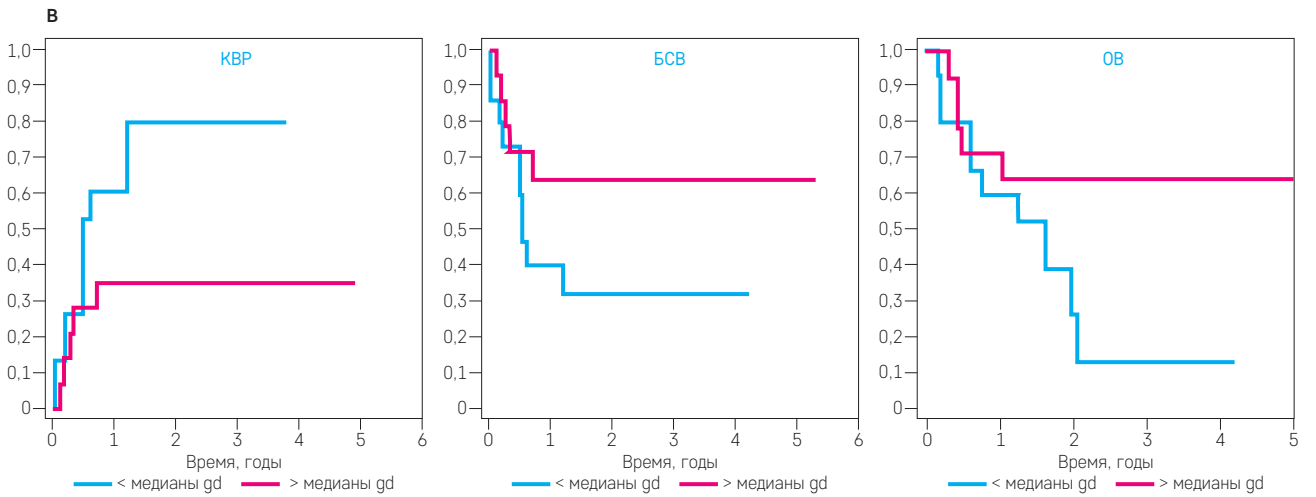
Примечание: КВР – Кумулятивная частота развития рецидива; ТС – трансплантат-ассоциированная смертность; БСВ – бессобытийная выживаемость; ОВ – общая выживаемость.

Рисунок 2

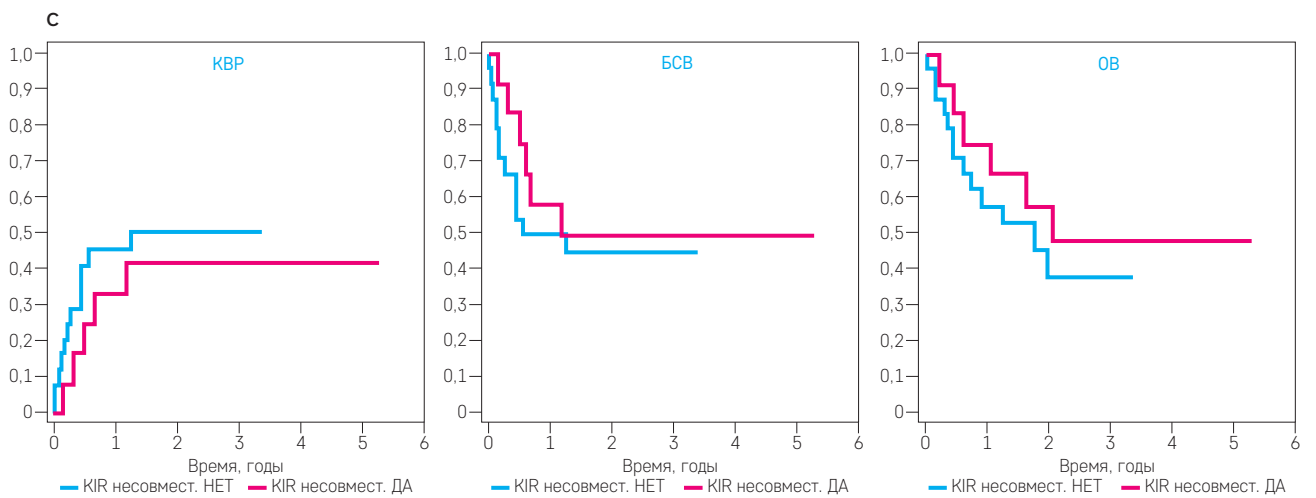
Влияние ранней иммунореконституции и несовместности по KIR на основные исходы (КВР, ОВ, БСВ)



	n	КВР, %	интервал	p	БСВ, %	интервал	p	ОВ, %	интервал	p
NK > медианы	15	27	12–26	0,05	73	51–96	0,008	73	51–96	0,025
NK < медианы	14	67	46–99		26	0–50		14	0–39	



	n	КВР, %	интервал	p	БСВ, %	интервал	p	ОВ, %	интервал	p
Гамма/дельта Т > медианы	15	36	18–72	0,1	64	39–89	0,13	64	39–89	0,09
Гамма/дельта Т < медианы	14	81	56–100		32	7–56		13	0–36	



	n	КВР, %	интервал	p	БСВ, %	интервал	p	ОВ, %	интервал	p
KIR-несовместимость ДА	12	42	21–81	0,46	50	22–78	0,52	48	18–77	0,45
KIR-несовместимость HET	24	51	34–76		44	25–65		38	15–61	

64% (95% ДИ: 39–89) против 32% (95% ДИ: 8–56) и КВР – 36% (95% ДИ: 18–72) против 81% (95% ДИ: 55–100). Восстановление $\alpha\beta$ -Т-клеток не было связано с какой-либо разницей в основных исходах. Предположительно, 12 пациентов имели несоответствие по комплексу KIR согласно лиганд-лиганд модели [16], не связанное с разницей в исследуемых исходах трансплантации. Взаимосвязь раннего восстановления лимфоцитов, несовпадение по комплексу KIR и основным исходам трансплантации показаны на рисунке 2 и в таблице 4.

Другие факторы риска. Среди оцениваемых факторов риска исходная цитогенетика, возраст пациента, инфекционный статус, первичное рефрактерное течение или рефрактерное течение рецидива, о.РТПХ и использование посттрансплантационной химиотерапии не коррелировали с частотой рецидивов и выживаемостью. Более высокое содержание лейкоэмических клеток в костном мозге парадоксально было связано с уменьшением частоты рецидивов. Использование бортезомиба ассоциировано со значительно меньшей частотой рецидивов и улучшением EFS, хотя число пациентов, не получавших бортезомиб, было низким. Использование доноров мужского пола, а также развитие хр.РТПХ, было связано со статистически достоверным снижением частоты рецидивов. Результаты анализа суммированы в таблице 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на то что алло-ТГСК – единственный вид терапии, который дает шанс излечения для пациентов с рефрактерным ОМЛ, доля пациентов с благоприятным долгосрочным исходом остается незначительной. В большинстве опубликованных литературных источников содержатся данные о значительной гетерогенности выбора доноров и используемых режимов кондиционирования. В некоторых статьях сообщается о влиянии на исходы трансплантации таких факторов, как интенсивность режима кондиционирования, возраст пациента, активность заболевания до ТГСК, острая и хроническая РТПХ, исходная цитогенетика и NK-аллореактивность для гаплоидентичных доноров [1, 2, 15].

В нашей работе представлены данные ретроспективного исследования в когорте детей с химиорезистентным ОМЛ, которые были трансплантированы от гаплоидентичного донора после $\alpha\beta$ -Т-деплеции трансплантата, предтрансплантационной циторедукции и треосульфан-содержащего кондиционирования. Степень вариабельности в когорте связана с развитием фармакологической профилактики РТПХ после трансплантации и использованием инфузии модифицированных донорских лимфоцитов и про-

филактической гипометилирующей химиотерапии.

По данным нашего исследования, применяемая тактика проведения алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с $\alpha\beta$ -Т-деплецией позволяет добиться долгосрочной выживаемости в группе пациентов детского возраста с химиорезистентными ОМЛ. Так, 83% пациентов достигли полной ремиссии, а 47% оставались в ремиссии (медиана периода наблюдения – 2,2 года). Данный режим связан с низкими показателями о.РТПХ и хр.РТПХ, а также низкой трансплантационной летальностью – 6%. Эффективность терапии не зависла от возраста пациентов, исходной цитогенетики и активности лейкемии, в отличие от литературных данных [2]. Исторически трансплантат-ассоциированная смертность была серьезной проблемой, особенно среди подростков [2]. Куративный потенциал данной терапии, по-видимому, не зависит от индукции о.РТПХ, учитывая отсутствие корреляции о.РТПХ с показателями выживаемости. Отмечена тенденция к росту выживаемости и уменьшению частоты рецидивов у пациентов с хр.РТПХ, при этом абсолютное число таких пациентов невелико, а у 75% выживших никогда не наблюдалось признаков хр.РТПХ.

Технология $\alpha\beta$ -Т-клеточной деплеции была разработана с фокусом на антилейкемический потенциал NK-клеток и $\gamma\delta$ -Т-клеток [16, 18–20]. Ранняя экспансия и активация этих цитотоксических субпопуляций потенциально могут компенсировать недостаток аллореактивности обычных Т-лимфоцитов в противоопухолевом иммунитете. Более того, отсутствие сложного взаимодействия цитокинов, связанного с началом развития РТПХ, а также снижение частоты использования глюкокортикоидной терапии могут оказывать положительный эффект на антилейкемический потенциал NK- и $\gamma\delta$ -Т-клеток [17–20].

В ранней работе *L. Ruggeri* и соавт. показано, что NK-аллореактивность регулируется составом KIR-лигандов реципиента и донора и дает особое преимущество при гаплоидентичной Т-деплезированной трансплантации с использованием CD34+ селекции. Тем интереснее было отсутствие влияния прогнозируемой KIR-несовместимости на частоту рецидивов и выживаемость в исследуемой когорте, одновременно с этим мы видим корреляцию между ранним восстановлением NK-клеток, выживаемостью и частотой рецидивов. Одна из возможных причин этой находки состоит в том, что для зрелых NK-клеток, сохраняющихся в трансплантате после $\alpha\beta$ -Т-клеточной деплеции в условиях провоспалительного цитокинового окружения, несоответствие по KIR имеет меньшее значение для активации цитотоксичности, чем в случае *de novo* развивающихся NK-клеток после CD34+ селекции. В целом мы по-

лагаем, что результаты нашего исследования подтверждают роль НК-клеток в лечении рефрактерного ОМЛ и лягут в основу дополнительного изучения *in-vivo* или *ex-vivo* для улучшения функциональности НК-клеток [21, 22].

Важный предварительный вывод, также касающийся используемого режима ТГСК, заключается в том, что замена АТГ на комбинацию антагониста IL-6 и блокатора ко-стимуляции не связана с повышенным риском неприживления трансплантата или РТПХ. Учитывая непредсказуемое действие циркулирующих поликлональных антител АТГ на популяцию НК- и $\gamma\delta$ -Т-клеток трансплантата, препаратами выбора стали тоцилизумаб и абатацепт. Данное решение было основано на опубликованных международных данных, показавших активность тоцилизумаба и абатацепта в профилактике РТПХ [23, 24]. Мы предполагаем также, что блокирование IL-6 пути и передачи сигнала CD28 имеют наименьшее значение для активации и функционирования НК-клеток. Если это открытие подтвердится в последующем исследовании, инициированном нашей группой и зарегистрированном под номером #NCT02942173, то появится уникальная возможность для использования агентов, усиливающих активность НК- и/или $\gamma\delta$ -Т-клеток сразу после приживления – это оптимальный срок для применения иммунотерапии, точка максимального уменьшения опухоли и одновременной деплеции иммуносупрессивных клеточных популяций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с $\alpha\beta$ -Т-деплецией позволяет достигать долгосрочных ремиссий, а возможно, и выздоровления у 45% пациентов детского возраста с химиорезистентным ОМЛ и ассоциирована с низкими трансплантационной летальностью и вероятностью развития РТПХ. Сохраняющийся риск прогрессии и рецидива заболевания требует поиска новых подходов к терапии и ТГСК данных форм лейкемии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Shelihova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
Ilushina M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7652-7704>
Semiglazova K.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8148-6310>
Shekhovtsova Zh.B. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9912-6572>
Shasheleva D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5641-8567>
Khismatullina R.D. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5618-7159>
Kurnikova E.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4767-5382>
Balashov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>
Radygina S.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7696-1153>
Trakhtman P.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0231-1617>
Kalinina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>
Muzalevskii Y.O. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3513-8299>
Kazachenok A.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0497-9175>
Zaharova V.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5949-5317>
Brilliantova V.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0079-7761>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Panferova A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8580-3499>
Zerkalenskaya E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>
Baidildina D.D. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7130-8596>
Novichkova G.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
Rumiantsev A.G. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1643-5960>
Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
Maschan M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Bunin N.J., Davies S.M., Aplenc R., Camitta B.M., DeSantes K.B., Goyal R.K., et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for children with acute myeloid leukemia beyond first remission or refractory to chemotherapy. *J Clin Oncol* 2008 Sep 10; 26 (26): 4326–32.
- O'Hare P., Lucchini G., Cummins M., Veys P., Potter M., Lawson S., et al. Allogeneic stem cell transplantation for refractory acute myeloid leukemia in pediatric patients: the UK experience. *Bone Marrow Transplant* 2017 Jun; 52 (6): 825–31.
- Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCR α and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015 Nov; 21 (11): 1955–62.
- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR- α / β and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016 May; 51 (5): 668–74.
- Bertina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of α and β T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood* 2014 Jul 31; 124 (5): 822–6.
- Locatelli F., Merli P., Pagliara D., Li Pira G., Falco M., Pende D., et al. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after

- alphabeta T-cell and B-cell depletion. *Blood* 2017 Aug 3; 130 (5): 677–85.
7. Lang P., Feuchtinger T., Teltschik H.M., Schwinger W., Schlegel P., Pfeiffer M., et al. Improved immune recovery after transplantation of TCRalpha/beta/CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015 Jun; 50 (Suppl 2): S6–10.
 8. Jacoby E., Varda-Bloom N., Goldstein G., Hutt D., Churi C., Vernitsky H., et al. Comparison of two cytoreductive regimens for alpha/beta-T-cell-depleted haploidentical HSCT in pediatric malignancies: Improved engraftment and outcome with TBI-based regimen. *Pediatr Blood Cancer* 2018 Feb; 65 (2).
 9. Schmid C., Schleuning M., Henrich M., Markl G.E., Gerbitz A., Tischer J., et al. High antileukemic efficacy of an intermediate intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk acute myeloid leukemia in first complete remission. *Bone Marrow Transplant* 2008 Apr; 41 (8): 721–7.
 10. Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.M., Gibson B., Dworzak M.N., Adachi S., de Bont E., et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012 Oct 18; 120 (16): 3187–205.
 11. Kaspers G.J., Zimmermann M., Reinhardt D., Gibson B.E., Tamminga R.Y., Aleinikova O., et al. Improved outcome in pediatric relapsed acute myeloid leukemia: results of a randomized trial on liposomal daunorubicin by the International BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2013 Feb 10; 31 (5): 599–607.
 12. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone marrow transplantation* 1995 Jun; 15 (6): 825–8.
 13. Maschan M., Blagov S., Shelikova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Starichkova J., et al. Low-dose donor memory T-cell infusion after TCR alpha/beta depleted unrelated and haploidentical transplantation: results of a pilot trial. *Bone Marrow Transplant* 2018 Mar; 53 (3): 264–73.
 14. Bertaina A., Zorzoli A., Petretto A., Barbarito G., Inglese E., Merli P., et al. Zoledronic acid boosts gamma/delta T-cell activity in children receiving alpha/beta(+) T and CD19(+) cell-depleted grafts from an HLA-haplo-identical donor. *Oncoimmunology* 2017; 6 (2): e1216291.
 15. Nemecek E.R., Gooley T.A., Woolfrey A.E., Carpenter P.A., Matthews D.C., Sanders J.E. Outcome of allogeneic bone marrow transplantation for children with advanced acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2004 Nov; 34 (9): 799–806.
 16. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E., Perruccio K., Shlomchik W.D., Tosti A., et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002 Mar 15; 295 (5562): 2097–100.
 17. Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol* 2012 Dec; 39 (6): 664–73.
 18. Handgretinger R., Schilbach K. The potential role of gamma/delta T cells after allogeneic HCT for leukemia. *Blood* 2018 Mar 8; 131 (10): 1063–72.
 19. Handgretinger R., Lang P., Andre M.C. Exploitation of natural killer cells for the treatment of acute leukemia. *Blood* 2016 Jun 30; 127 (26): 3341–9.
 20. Chaleff S., Otto M., Barfield R.C., Leimig T., Iyengar R., Martin J., et al. A large-scale method for the selective depletion of alpha/beta T-lymphocytes from PBSC for allogeneic transplantation. *Cytotherapy* 2007; 9 (8): 746–54.
 21. Romee R., Rosario M., Berrien-Elliott M.M., Wagner J.A., Jewell B.A., Schappe T., et al. Cytokine-induced memory-like natural killer cells exhibit enhanced responses against myeloid leukemia. *Sci Transl Med* 2016 Sep 21; 8 (357): 357ra123.
 22. Romee R., Cooley S., Berrien-Elliott M.M., Westervelt P., Verneris M.R., Wagner J.E., et al. First-in-human phase 1 clinical study of the IL-15 superagonist complex ALT-803 to treat relapse after transplantation. *Blood* 2018 Jun 7; 131 (23): 2515–27.
 23. Kennedy G.A., Varelias A., Vuckovic S., Le Texier L., Gartlan K.H., Zhang P., et al. Addition of interleukin-6 inhibition with tocilizumab to standard graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic stem-cell transplantation: a phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2014 Dec; 15 (13): 1451–9.
 24. Koura D.T., Horan J.T., Langston A.A., Qayed M., Mehta A., Khoury H.J., et al. In vivo T-cell costimulation blockade with abatacept for acute graft-versus-host disease prevention: a first-in-disease trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013 Nov; 19 (11): 1638–49.