



Лях Е.Г.✉, Исайкина Я.И., Новикова М.А., Савич Ю.В., Жерносеченко А.А.,
Марейко Ю.Е., Прудников Д.В., Минаковская Н.В.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

Применение мезенхимальных стволовых клеток плаценты для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн – Лях Е.Г.; подготовка клеточного продукта – Лях Е.Г., Новикова М.А., Савич Ю.В., Жерносеченко А.А.; введение клеточного продукта пациентам – Прудников Д.В., Марейко Ю.Е., Кирсанова Н.П.; клиническая характеристика пациентов – Прудников Д.В., Марейко Ю.Е., Кирсанова Н.П.; анализ и интерпретация результатов – Лях Е.Г., Исайкина Я.И.

Подана: 20.07.2024

Принята: 10.09.2024

Контакты: mail@oncology.by

Резюме

Основным осложнением после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток является острая реакция «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ). Только 50–65% пациентов с ОРТПХ отвечают на терапию стероидами, что сопряжено с плохим прогнозом их выживаемости. Один из методов усиления иммуносупрессивной терапии (ИСТ) при ОРТПХ – использование биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе мезенхимальных стволовых клеток (МСК). МСК, полученные из послеродовой плаценты, привлекают своей доступностью получения, отсутствием этических конфликтов, а также высокой пролиферативной активностью клеток, что позволяет получить БМКП МСК в кратчайшие сроки и в высокой дозе.

Целью нашего исследования являлась оценка возможности и эффективности применения БМКП МСК плаценты в комбинированной иммуносупрессивной терапии ОРТПХ у детей.

В исследование были включены 9 пациентов с ОРТПХ II–IV ст., которые получили БМКП МСК в дозе $2,5 \times 10^6$ ($2,0$ – $9,0 \times 10^6$) на килограмм веса пациента. Ответ на комбинированную ИСТ с применением БМКП МСК плаценты наблюдали у 88,8% пациентов: у 44,4% детей полный ответ (исчезновение всех симптомов ОРТПХ), у 44,4% – частичный ответ (уменьшение стадии ОРТПХ хотя бы в одном органе). Отменили ИСТ 3 (33,3%) пациентам, 5 (55,6%) – снизили дозу метилпреднизолона в 6 раз на 30-й день введения БМКП МСК. Наибольшую эффективность БМКП МСК продемонстрировал при ОРТПХ с поражением желудочно-кишечного тракта и печени. Так, у 71,4% пациентов с вовлечением этих органов наблюдалась ремиссия. Побочных эффектов и осложнений при введении БМКП МСК плаценты не отмечалось. Нами сделано заключение, что применение БМКП МСК в комбинированной ИСТ при ОРТПХ является безопасным и позволяет получить ответ на проводимую терапию более чем у 80% пациентов детского возраста.



Ключевые слова: реакция «трансплантат против хозяина», мезенхимальные стволовые клетки, плацента, иммуносупрессия

Liakh E., Isaikina Y., Novikova M., Savich J., Zhernasechanka A., Marejko J., Prudnikov D., Kirsanova N.

Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Placenta Mesenchymal Stem Cells for Treatment Acute GVHD in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design – Liakh E.; preparation of the cell product – Liakh E., Novikova M., Savich J., Zhernasechanka A.; introduction of the cell product to patients – Prudnikov D., Marejko J., Kirsanova N.; clinical characteristics of patients – Prudnikov D., Marejko J., Kirsanova N.; analysis and interpretation of the results – Liakh E., Isaikina Y.

Submitted: 20.07.2024

Accepted: 10.09.2024

Contacts: mail@oncology.by

Abstract

Acute graft-versus-host disease (aGVHD) is a frequent complication following allogeneic hematopoietic cell transplantation. Only 50–65% of patients with aGVHD respond to steroid therapy, which is associated with a poor prognosis for survival. The cell therapy with a biomedical cell product (BMCP) based on mesenchymal stem cells (MSCs) is one of the methods of enhancing immunosuppressive therapy (IST) for aGVHD. MSCs obtained from the postpartum placenta are attractive for their availability, the absence of ethical conflicts, as well as the high proliferative activity of cells, which makes it possible to obtain BMCP MSCs in the shortest possible time and in a high dose.

Purpose. To evaluate the possibility and effectiveness of using BMCP placenta-derived MSCs in combined immunosuppressive therapy for aGVHD in pediatric patients.

The study included 9 patients with stage II-IV aGVHD who received BMCP MSCs at a dose of 2.5×10^6 ($2.0\text{--}9.0 \times 10^6$) per kg of patient weight. A response to combined IST using placental BMCP MSCs was observed in 88.8% of patients: 44.4% of children had a complete response (disappearance of all symptoms of aGVHD), 44.4% had a partial response (decrease in the stage of aGVHD in at least one organ). In 3/(33.3%) patients, IST was canceled and in 5/(55.6%) the dose of methylprednisolone was reduced by 6 times on the 30th day of BMCP MSC administration.

BMCP placenta-derived MSCs demonstrated the greatest efficiency in GVHD involving the gastrointestinal tract and liver; remission was observed in 71.4% of patients with involvement of these organs. There were no side effects or complications with the infusion of BMCP placenta-derived MSCs. We concluded that the use of BMCP MSCs in combined IST for aGVHD is safe and allows for a response to therapy in more than 80% of pediatric patients.

Keywords: "graft versus host disease" reaction, mesenchymal stem cells, placenta, immunosuppression

■ ВВЕДЕНИЕ

В терапии некоторых онкологических и онкогематологических заболеваний, тяжелых нарушений иммунной системы и системы кроветворения необходима аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Основным осложнением после аллогенной ТГСК является острая реакция «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ), которая вызвана активацией донорских Т-клеток против специфических антигенов гистосовместимости реципиента [1, 2]. В зависимости от различных факторов ОРТПХ развивается у 30–50% пациентов в течение первых 100 дней после проведения аллоТГСК, при этом у 14–36% развивается тяжелая форма ОРТПХ [3]. Наиболее часто в патологический процесс вовлекаются нижние и верхние отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), ткани печени и кожные покровы [4, 5]. Первая линия терапии ОРТПХ предусматривает использование ряда иммуносупрессивных препаратов, применение которых значительно увеличивает риск развития инфекционных осложнений. Более того, 35–50% пациентов с ОРТПХ не отвечают на первичную терапию стероидами, что сопряжено с плохим прогнозом их выживаемости. Так, только 25–30% пациентов с ОРТПХ III степени и 1–2% пациентов с ОРТПХ IV степени выживают в течение длительного времени (>2 лет) [3–5].

Одним из методов усиления иммуносупрессивной терапии является применение клеточной терапии БМКП – мезенхимальными стволовыми клетками (МСК). МСК модулируют иммунный ответ путем взаимодействия с широким спектром иммунных клеток, включая Т-лимфоциты, В-лимфоциты, естественные киллерные клетки, макрофаги, моноциты, нейтрофилы и дендритные клетки [6, 7]. Кроме того, благодаря противовоспалительному, антиапоптотическому и трофическому свойствам МСК способствуют регенерации тканей, вовлеченных в патологический процесс [7].

В клинической практике хорошо зарекомендовали себя МСК, полученные из костного мозга, а также жировой ткани [8–10]. Тем не менее процедура получения биоматериала достаточно инвазивна, требует анестезии, и, более того, пролиферативный потенциал МСК снижается с увеличением возраста донора, что накладывает ограничения на использование клеточной терапии для пациентов с высокой массой тела, требующих высокой дозы клеток, а также ограничивает кратность введения БМКП МСК. Альтернативным источником для получения МСК являются перинатальные ткани, а именно послеродовая плацента. МСК плацентарного происхождения характеризуются доступностью получения и высоким пролиферативным потенциалом, что делает возможным получение БМКП большой дозы клеток без использования дополнительных ростовых факторов. Наши исследования, показали в эксперименте *in vitro*, что МСК плаценты обладают высоким иммуносупрессивным эффектом, который по степени воздействия на пролиферацию и активацию Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов сопоставим с «золотым стандартом» – МСК костного мозга [11]. Более того, было продемонстрировано, что для МСК плаценты характерен более высокий базовый уровень экспрессии поверхностных антигенов, участвующих в модуляции иммунологической активности (CD106 и коингибиторных молекул CD273, CD274, CD276), что может свидетельствовать о более комплексном иммуносупрессивном эффекте [12].

Первый опыт клинического применения БМКП МСК плаценты для лечения 9 взрослых пациентов со стероидорезистентной формой ОРТПХ (III–IV ст.) показал



общий ответ на комбинированную терапию у 75% пациентов [13]. В другом исследовании введение БМКП МСК плаценты в 5%-ном альбумине в дозе $1,2 \times 10^6$ /кг веса пациента кратностью от 1 до 6 раз оказало снижение выраженности симптомов стероидрезистентной оРТПХ у всех исследуемых пациентов. Однолетняя выживаемость составила 76% [14]. В описанных исследованиях авторы отмечают безопасность применения МСК плаценты, так как не было отмечено побочных реакций на введение клеток.

Более того, некоторые исследователи утверждают, что МСК плацентарного происхождения обладают более выраженным иммуносупрессивным эффектом по сравнению с МСК костного мозга [17, 18].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить возможность и эффективность применения БМКП МСК плаценты в комбинированной иммуносупрессивной терапии оРТПХ у детей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты получили клеточную терапию с использованием зарегистрированного в Республике Беларусь БМКП «Клетки мезенхимальные стволовые плаценты человека ТУ ВУ 600395123.002-2023» (БМКП МСК плаценты). Все изготовленные БМКП МСК соответствовали критериям принадлежности к популяции МСК по иммунофенотипу: $CD73^+$, $CD90^+$, $CD105^+$ > 90%; $CD34^+$, $CD14^+$, $CD45^+$, $HLA-DR^+$ < 2%. Стерильность БМКП МСК подтверждена методами микробиологического исследования.

Введение БМКП МСК проводилось в объеме не менее 15–20 мл 0,9%-ного натрия хлорида либо 30–40 мл 5%-ного альбумина человека и 10%-ного диметилсульфоксида в случае применения БМКП после криохранения. Клеточную суспензию вводили пациенту внутривенно медленно (в течение 10–15 минут) не позднее 30 минут после получения или размораживания продукта.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование включены 8 пациентов, характеристика которых представлена в табл. 1.

После проведения аллогенной ТГСК у пациентов развилась оРТПХ II–IV ст., в связи с чем им было назначено медикаментозное лечение, указанное в таблице. Дополнительно к фармакологическим препаратам в среднем на 45-й день пациенты получили клеточную терапию БМКП МСК плаценты (7 пациентов – 1 введение и 2 пациента – 2 введения). Доза МСК составляла в среднем $2,5 \times 10^6$ /кг веса пациента (табл. 2). Введение БМКП МСК плаценты было безопасным, не вызывало побочных эффектов и осложнений.

Как показывают результаты, у 8 (88,9%) пациентов наблюдалось уменьшение распространенности патологического процесса и снижение степени оРТПХ (табл. 3). До введения МСК состояние 5 пациентов оценивали как II ст. оРТПХ, 3 – как III ст. оРТПХ и 1 – IV ст. После проведения комбинированной терапии полный ответ (исчезновение всех симптомов оРТПХ) был достигнут у 4 (44,4%) пациентов, а у 4 (44,4%) – регистрировали остаточные проявления 0–1-й ст. кожной и в одном случае кишечной формы оРТПХ (частичный ответ). Один

Таблица 1
Характеристика пациентов с оРТПХ, включенных в исследование
Table 1
Characteristics patients with aGVHD included in the study

Пациен-ты	Диагноз	Возраст	Пол	Характеристики аллогенного ТТСК				ИСТ для профилактики и лече-ния оРТПХ	
				Тип ТТСК	Доза ЯСК x10 ⁸ /кг	Доза CD34 ⁺ x10 ⁶ /кг	Доза CD3 ⁺ x10 ⁸ /кг		
1	МДС	5	м	Неродственная HLA-идентичная, алло-ПСК	10,9	4,3	4,2	Циклоспорин, медрол	
2	Анемия Даймон-да – Блэкфена	2	ж	Неродственная HLA-идентичная, алло-КМ	6,7	8,1	0,7	Циклоспорин, микофенолата мофетил, медрол	
3	ОЛП	7	м	Родственная HLA-совместимая, алло-КМ	2,8	2,1	0,5	Циклоспорин, руксолитиниб, медрол	
4	ОМЛ	0,7	ж	Родственная HLA-идентичная ТТСК алло-КМ	3,4	2,4	0,6	Циклоспорин, медрол	
5	Мукополисахари-доз I типа	2	ж	Родственная HLA-гаплосовместимая, алло-ПСК	5,1	5	3,4	Циклоспорин, микофенолата мофетил, медрол	
6	ОМЛ	12	м	Родственная HLA-гаплосовместимая, алло-КМ	10,7	3	2,7	Циклоспорин, микофенолата мофетил, руксолитиниб, медрол	
7	Бифенотипиче-ский лейкоз	10	м	Родственная HLA-гаплосовместимая, алло-ПСК	6,7	6,7	2,0	Циклоспорин, микофенолата мофетил, буденофальк, медрол	
8	ОМЛ	1	м	Родственная HLA-гаплосовместимая алло-КМ	4,9	5,4	0,6	Циклоспорин, микофенолата мофетил, медрол	
9	ПМД	3	м	Неродственная HLA-идентичная, алло-КМ	5,8	6,4	0,5	Циклоспорин, микофенолата мофетил, руксолитиниб, медрол, буденофальк, такролимус	
Медиа-на		3 (0,7–12)			6,7 (2,8–10,9)	4,2 (2,1–8,1)	2,0 (0,5–4,2)		

Примечания: МДС – миелодиспластический синдром, ОЛП – острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ – острый миелобластный лейкоз, ПС – периферическая стволовая клетка, КМ – костный мозг, ЯСК – ядро-содержащие клетки.



Таблица 2
Клеточная терапия БМКП МСК плаценты оРТПХ
Table 2
Cell therapies aGVHD placental MSC

Пациенты с оРТПХ	Срок после ТГСК, день	Количество введений БМКП МСК	Доза БМКП МСК $\times 10^6/\text{кг}$	Номер пассажа МСК
1	+41	1	9,0	IV
2	+31	1	3,9	IV
3	+49	1	2,4	V
4	+17	1	2,5	VI
5	+37	1	2,7	IV
6	+41 +55	2	2,4 2,2	IV VI
7	+43	1	2,8	V
8	+68	1	6,1	V
9	+61 +73	2	2,0 2,4	V V
Медиана (min – max)	+45 (17–73)	1 (1–2)	2,5 (2,0–9,0)	V (IV–VI)

Таблица 3
Эффект применения комбинированной иммуносупрессивной терапии с использованием БМКП МСК плаценты для лечения оРТПХ
Table 3
The effect of combined immunosuppressive therapy using placental BMCP MSC for the treatment of aGVHD

Пациенты	Степень оРТПХ		Вовлеченность органов в патологический процесс		ИСТ (30-й день)	Исход
	До МСК	После МСК (30-й день)	До МСК	После МСК (30-й день)		
1	II	0–I	Кожа	Кожа	Отмена	Смерть от рецидива, хРТПХ
2	II	0–I	Кожа, ЖКТ	Кожа	Отмена	Жив, ремиссия
3	II	0–I	Кожа, печень	–	Снижена	Жив, ремиссия, хРТПХ
4	II	0	Кожа	–	Снижена	Жив, ремиссия
5	II	0	Кожа, ЖКТ	–	Отмена	Жив, ремиссия
6	III	0	Кожа, ЖКТ, печень	Кожа	Снижена	Жив, рецидив, хРТПХ
7	III	0–I	Кожа, ЖКТ	Кожа, ЖКТ	Снижена	Жив, ремиссия
8	III	0	Кожа, ЖКТ	–	Снижена	Жив, ремиссия
9	IV	III	Кожа, ЖКТ, печень	Кожа, ЖКТ, печень	Сохранена	Смерть от полиорганной недостаточности, инфекции, оРТПХ

Примечание: хРТПХ – хроническая форма реакции «трансплантат против хозяина».

пациент с IV ст. оРТПХ не ответил ни на фармакологическую, ни на клеточную иммуносупрессивную терапию. 3 (33,3%) пациентам отменили ИСТ, а 5 (55,6%) – снизили дозу метилпреднизолона в 6 раз на 30-й день введения БМКП МСК.

Наибольшую эффективность БМКП МСК продемонстрировали в отношении патологического процесса РТПХ, локализованного в ЖКТ и печени. Так, у 71,4% пациентов с вовлечением этих органов наблюдалась ремиссия оРТПХ.

Сопоставимые результаты были получены в других клинических исследованиях по применению БМКП МСК плаценты для лечения оРТПХ у пациентов детского возраста. При введении БМКП МСК, полученных из децидуальной ткани плаценты 6 пациентам со стероидорезистентной формой оРТПХ (III–IV ст.) в дозе от $0,9\text{--}2,7 \times 10^6/\text{кг}$, через 6 месяцев полный ответ наблюдали у 66,7% (4/6), а частичный ответ – у 33,3% (2/6), при этом пятилетняя выживаемость составила 67% [15]. В другом исследовании, которое включало как взрослых пациентов, так и детей с оРТПХ II–IV ст. и геморрагическим циститом, было показано, что инфузия БМКП МСК плаценты в дозе от $1,5 \times 10^6/\text{кг}$ курсом от 1 до 5 введений повышала однолетнюю выживаемость до 67% (при этом для пациентов с оРТПХ II ст. она составляла 92%, а для пациентов с оРТПХ III–IV ст. – 52%). Однолетняя выживаемость пациентов с геморрагическим циститом составила 90% [16].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение БМКП МСК в комбинированной ИСТ при оРТПХ является безопасным и позволяет получить ответ на проводимую терапию более чем у 80% пациентов детского возраста.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Storb R. (1986) Graft-versus-host disease after marrow transplantation. *Prog Clin Biol Res*, vol. 224, pp. 139–157.
2. Dickinson A.M., Wang X.N., Sviland L. et al. (2002) In situ dissection of the graft-versus-host activities of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens. *Nat Med*, vol. 8, no 4, pp. 410–414. doi: 10.1038/nm0402-410
3. Malard F., Huang X.J., Sim J.P.Y. (2020) Treatment and unmet needs in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Leukemia*, vol. 34, no 5, pp. 1229–1240. doi: 10.1038/s41375-020-0804-2
4. Martini D.J., Chen Y.B., DeFilipp Z. (2022) Recent FDA Approvals in the Treatment of Graft-Versus-Host Disease. *Oncologist*, vol. 27, no 8, pp. 685–693. doi: 10.1093/oncolo/oyac076
5. Ferrara J.L., Levine J.E., Reddy P. (2009) Graft-versus-host disease. *Lancet*, vol. 2, no 373, pp. 1550–156. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3
6. Kelly K., Rasko J.E.J. (2021) Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Graft Versus Host Disease. *Front Immunol.*, vol. 12, pp. 761616. doi: 10.3389/fimmu.2021.761616
7. Song N., Scholtemeijer M., Shah K. et al. (2022) CD106 and co-inhibitory molecules CD273, CD274, CD276 expression by the placenta mesenchymal stem cells. *Sbornik "BGMU v avangarde meditsinskoj nauki i praktiki"*, vol. 2, no 12, pp. 170–176. (in Russian)
8. Le Blanc K., Ringden O. (2007) Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*, vol. 262, no 5, pp. 509–525. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01844.x
9. Chen X., Wang C., Yin J. et al. (2015) Efficacy of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Steroid-Refractory Acute Graft-Versus-Host Disease following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, vol. 10, no 8, pp. e0136991. doi: 10.1371/journal.pone.0136991
10. Luo C., Huang X., Wei L. et al. (2015) Second-line therapy for patients with steroid-refractory aGVHD: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Immunol.*, vol. 14, pp. 1211171. doi: 10.3389/fimmu.2023.1211171
11. Liakh E., Isaikina Y., Shytikova M. et al. (2021) Immunosuppressive Potential of Placenta-derived Mesenchymal Stem Cells. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Yevropa = Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*, no 4, pp. 458–466. (in Russian)
12. Liakh E., Shytikova M., Isaikina Y. et al. (2022) CD106 and co-inhibitory molecules CD273, CD274, CD276 expression by the placenta mesenchymal stem cells. *Sbornik "BGMU v avangarde meditsinskoj nauki i praktiki"*, vol. 2, no 12, pp. 170–176. (in Russian)
13. Ringden O., Erkers T., Nava S. et al. (2013) Fetal membrane cells for treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Stem Cells*, vol. 31, no 3, pp. 592–601. doi: 10.1002/stem.1314
14. Ringden O., Baygan A., Remberger M. (2018) Placenta-Derived Decidua Stromal Cells for Treatment of Severe Acute Graft-Versus-Host Disease. *Stem Cells Transl Med*, vol. 4, pp. 325–331. doi: 10.1002/sctm.17-0167
15. Ringden O., Gustafsson B., Sadeghi B. (2020) Mesenchymal Stromal Cells in Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation a Review and a Pilot Study in Children Treated With Decidua Stromal Cells for Acute Graft-versus-Host Disease. *Front Immunol.*, vol. 19, no 11, 567210. doi: 10.3389/fimmu.2020.567210
16. Baygan A., Aronsson-Kurttila W., Moretti G. (2017) Safety and Side Effects of Using Placenta-Derived Decidual Stromal Cells for Graft-versus-Host Disease and Hemorrhagic Cystitis. *Front Immunol.*, vol. 11, no 2, pp. 795. doi: 10.3389/fimmu.2017.00795
17. Ringden O., Sadeghi B. (2024) Placenta derived decidua stromal cells – a new frontier in the therapy of acute graft-versus-host disease. *Stem Cells*, vol. 15, no 42, pp. 291–300. doi: 10.1093/stmcls/sxae003
18. Zeiser R., Ringden O., Sadeghi B. et al. (2023) Novel therapies for graft versus host disease with a focus on cell therapies. *Front Immunol.*, vol. 14, pp. 1241068. doi: 10.3389/fimmu.2023.1241068