

Chimerism evaluation in a CD3⁺ cell lineage in the patients with acute myeloid leukemia (AML) after allogeneic HSCT with TCR a/b depletion

Varvara V. Brilliantova, V. O. Bobrynina, Elena V. Raikina, Michael A. Maschan, L. N. Shekhovtsova, Dmitry N. Balashov, Pavel E. Trachtman, Elena E. Kournikova

Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Haematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

Contact: Prof. Michael A. Maschan

E-mail: michael.maschan@fccho-moscow.ru

Introduction

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only life-saving approach in a number of disorders. This procedure is especially important in oncohematology. HSCT is coupled with many dangers, e.g., transplant rejection, infectious complications, graft-versus-host disease (GVHD) as well as relapse of the primary disease. To trace the donor hematopoietic recovery, engraftment and functioning of transplant, the chimerism measurement (patients' cell ratio) is performed in peripheral blood and bone marrow post-transplant. Upon TCRab depletion (immunocompetent T cell elimination) from donor transplant, the patients may retain high levels of their own cells, especially, CD3⁺ cells for a long time. Therefore, one should realize, if the mixed CD3⁺ cell chimerism comprises an adverse risk factor post-transplant. The aim of the work was to evaluate the CD3⁺ lineage chimerism in A patients with acute myeloblastic leukemia (AML) treated by HSCT from haploidentical and nonrelated donors, with TCR a/b depletion of the grafts.

Patients and methods

The clinical sample consisted of forty-two patients with AML who underwent allogeneic HSCT with TCR a/b depletion within a time period from February 2012 to May 2015. HSCT from haploidentical donor was made to 18 patients; from HLA-compatible unrelated donors, to 23 patients. The chimerism measurements were performed every 30 days within a year. Over this time period, fifteen patients developed an AML relapse. Chimerism was determined for the CD3⁺ cells separated by immunomagnetic separation at the magnetic beads (Dynabeads, Life Technologies) from the bone marrow samples; further analysis was performed by means of real-time PCR assays using reagents from the

Center of Medical Genetics, and specially adapted primers for insertion/deletion polymorphisms (purchased from *Evrogene, Syntol*).

Results

The patients transplanted from unrelated donors exhibited higher amounts of their own cells in the CD3⁺ populations since 90 days post-transplant, and up to day 150 as compared to the patients after haploidentical HSCT ($p < 0.05$). After day +150, the significant differences in CD3⁺ chimerism faded away. Higher chimerism levels in the patients after unrelated HSCT did not correlate with a risk of relapse development in this group.

Conclusion

Hematopoietic stem cell transplantation with TCR a/b depletion from HLA-compatible unrelated donors is characterized by a higher percentage of recipient cells in the CD3⁺ lineage post-transplant, as compared to the patients receiving HSCT from haploidentical donors ($p < 0.05$). However, increased number of autologous cells in the CD3⁺ population does not correlate with higher relapse risk in this group of the patients.

Keywords

Acute myeloid leukemia, hematopoietic stem cell transplantation, CD3⁺ cells, mixed chimerism, relapse risk.

Оценка химеризма в CD3⁺ клеточной популяции у пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) после аллогенной ТГСК с TCR α/β деплецией

Варвара В. Бриллиантова, В. О. Бобрынина, Елена В. Райкина, Михаил А. Масчан, Л. Н. Шеховцова, Дмитрий Н. Балашов, Павел Е. Трахтман, Елена Е. Курникова
ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия

Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) при многих заболеваниях является единственным способом спасти жизнь пациента. Особенно важную роль эта процедура играет в онкогематологии. ТГСК сопряжена со множеством опасностей, таких как отторжение трансплантата, развитие инфекционных осложнений, развитие реакции трансплантата против хозяина (РТПХ), а также развитие рецидива основного заболевания. Для того, чтобы отслеживать, как происходит процесс восстановления донорского кроветворения у реципиента, приживление и функционирование трансплантата используется измерение химеризма (количества собственных клеток реципиента) в крови и костном мозге после трансплантации. При использовании TCRα-деплеции (удалении иммунокомпетентных клеток – Т-лимфоцитов из донорского трансплантата перед пересадкой) в дальнейшем у пациентов, в ряде случаев, длительное время сохраняется высокий процент собственных клеток, особенно в CD3⁺ фракции клеток. В связи с этим появилась необходимость понять, является ли смешанный химеризм в CD3⁺ клетках после трансплантации неблагоприятным фактором риска. Цель работы состояла в оценке динамики химеризма в CD3⁺ клетках у пациентов с ОМЛ после ТГСК с TCR α/β деплецией от гаплоидентичных и неродственных доноров.

Пациенты и методы

Выборку составили пациенты с диагнозом ОМЛ, прошедшие аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток с TCR α/β деплецией в период с февраля 2012 года по май 2015 года (n=42). Трансплантацию от гаплоидентичного донора получили 18 пациентов, от HLA-совместимых неродственных доноров – 23 пациентов. Измерение химеризма проводилось каждые 30 дней в течение года. За время наблюдения рецидив развился у 15 человек. Химеризм определяли в CD3⁺ клетках, выделенных методом магнитной сепарации на магнитных

частицах Dynabead (Life Technologies) из образцов костного мозга, дальнейший анализ проводили методом ПЦР в режиме (реального времени с использованием реактивов для ПЦР (ООО «Центр медицинской генетики») и специально подобранным праймером, специфичным к участкам ДНК с полиморфизмами Insertion/Deletion («Евроген», «Синтол»).

Результаты

Пациенты, получившие ТГСК от неродственного донора, характеризовались более высоким количеством собственных клеток в CD3⁺ клетках, начиная с 90 дня после ТГСК и до 150 дня, по сравнению с пациентами после ТГСК от гаплоидентичного донора (p<0,05). После 150 дня значимые различия в химеризме CD3⁺ исчезали. Более высокий уровень химеризма у пациентов после неродственной ТГСК не коррелировал с развитием рецидива в этой группе.

Выводы

Трансплантация с TCR α/β деплецией от совместимых неродственных доноров характеризуется более высоким процентом собственных клеток в CD3⁺ линии после трансплантации по сравнению с пациентами, получившими ТГСК от гаплоидентичных доноров (p<0,05). Более высокое количество собственных клеток в CD3⁺ линии после 90 дня от неродственной ТГСК не характеризует более высокий риск развития рецидива в этой группе больных.

Ключевые слова

Острый миелобластный лейкоз, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, CD3⁺ клетки, смешанный химеризм, риск рецидива.