

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА КЭМПАС ПРИ Т-КЛЕТОЧНОМ ПРОЛИМФОЦИТАРНОМ ЛЕЙКОЗЕ (клинический случай и обзор литературы)

В.А. Доронин¹, Ю.А. Криволапов², Н.В. Рыжикова³, О.А. Глинщикова³

¹ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО РЖД, Москва; ²Областное патанатомическое бюро, Санкт-Петербург;

³Гематологический научный центр РАМН, Москва

В статье приведены обзор литературы и описание клинического случая применения препарата кэмпас при Т-клеточном пролимфоцитарном лейкозе.

Ключевые слова: Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, кэмпас

USE OF CAMPATH-1H IN T-CELL PROLYMPHOCYTIC LEUKEMIA (CASE REPORT AND REVIEW OF LITERATURE)

V.A. Doronin¹, Y.A. Krivolapov², N.V. Ryzhikova³, O.A. Glinshikova³

¹Central Railway Clinical Hospital №2 named N.A. Semashko, Moscow; ²Regional bureau of pathology, St.-Petersburg; ³Hematology Research Center of Russia, Moscow

This article demonstrates case report and review of literature of successful use Campath-1H in T-cell prolymphocytic leukemia.

Key words: T-cell prolymphocytic leukemia, Campath

Одной из форм зрелоклеточных Т-клеточных лимфопротрофиеративных заболеваний является Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (Т-ПЛЛ), впервые описанный D. Satovsky и соавт. в 1973 г. [1]. Т-ПЛЛ с наибольшей частотой встречается в двух возрастных группах: у пожилых (средний возраст 69 лет) и у молодых пациентов с атаксией — телеангиэктазией (АТ) [2, 3]. Женщины болеют чаще, чем мужчины (соотношение 4:1). Т-ПЛЛ характеризуется агрессивным клиническим течением с медианой выживаемости 7,5 мес [2].

Основные клинические проявления заболевания — выраженная спленомегалия, наблюдающаяся в дебюте заболевания у 75% больных, а также гепатомегалия и лимфаденопатия, регистрируемые приблизительно у половины пациентов. Реже первой манифестацией заболевания является поражение кожи, отличающееся полиморфной картиной: от кожной сыпи, обычно пятнисто-папулезной, до генерализованной эритродермии [2, 4].

Органные поражения, например ЦНС и легких, встречаются редко и описаны лишь в нескольких случаях. Менее чем у 5% больных заболевание начинается бессимптомно и только в анализе крови обнаруживается медленно нарастающий абсолютный лимфоцитоз. Такие случаи, особенно мелкоклеточный вариант Т-ПЛЛ, ошибочно диагностируют как хронический лимфолейкоз (ХЛЛ). Однако в противоположность ХЛЛ, течение которого может оставаться стабильным длительное время, Т-ПЛЛ прогрессирует в течение нескольких месяцев.

Характерным лабораторным изменением Т-ПЛЛ является высокий лейкоцитоз, который может достигать $1000 \times 10^9/\text{л}$ [2, 4].

Этиологические причины Т-ПЛЛ не установлены. В сыворотке крови антитела к вирусам HTLV-1/II не обнаружены даже у пациентов из эндемичных регионов. С помощью анализа ДНК не удалось доказать наличие

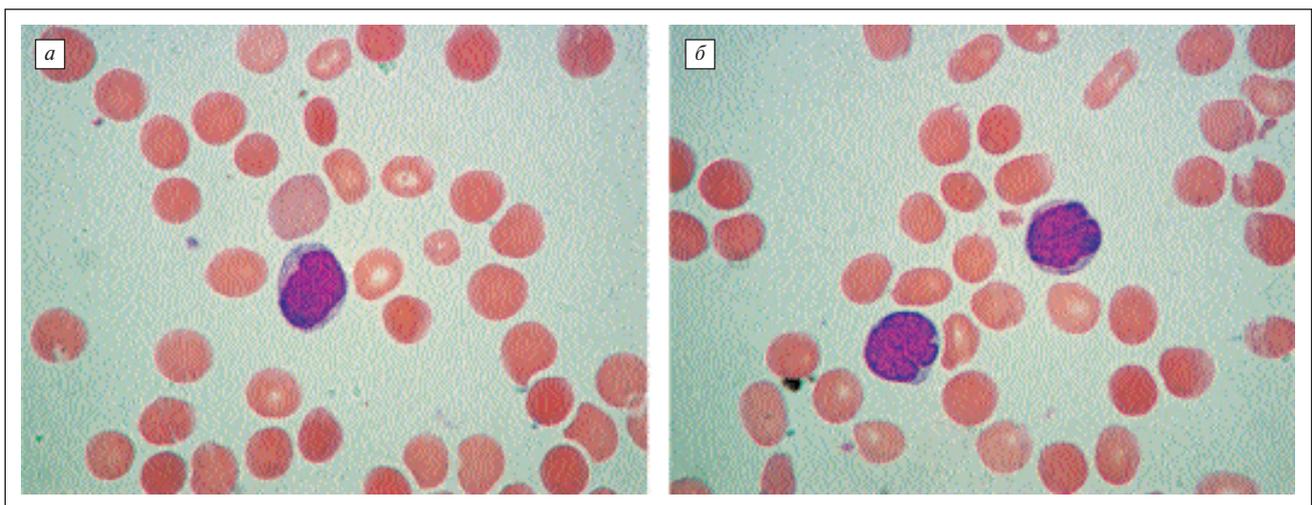


Рис. 1. Морфологическое исследование лимфоцитов при Т-ПЛЛ: а — опухолевая клетка с ободком слабобазофильной цитоплазмы и отчетливо видимой нуклеолой; б — опухолевые клетки с ядрами расщепленной и складчатой формы

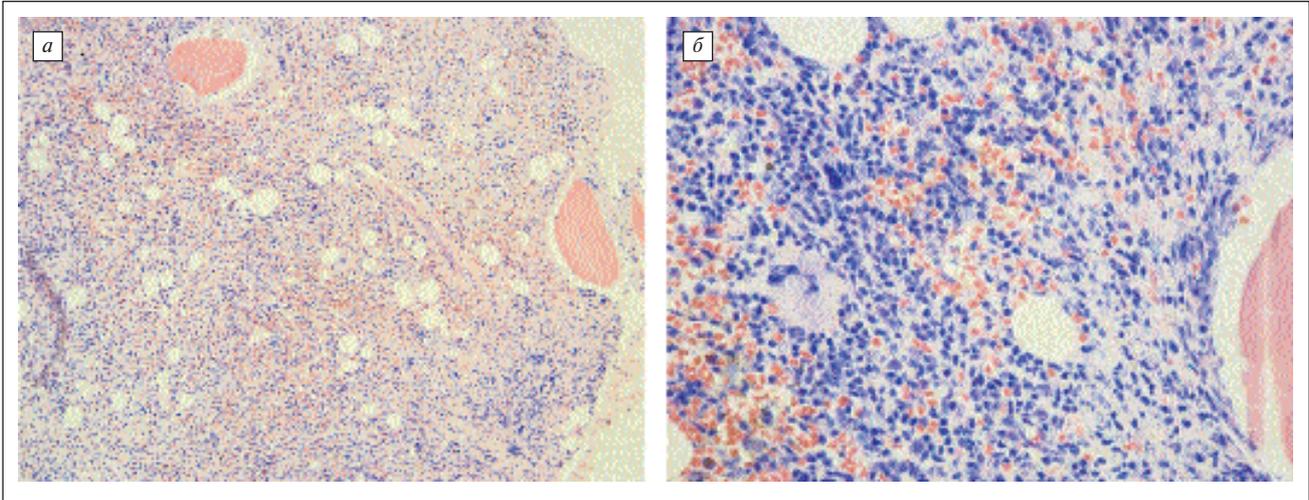


Рис. 2. Морфологическое исследование трепанобиоптата костного мозга при Т-ПЛЛ: а — диффузная инфильтрация костного мозга (малое увеличение); б — инфильтрат из лимфоидных клеток неправильной формы с компактными ядрами

геномной последовательности вируса HTLV-I в опухолевых клетках [2, 5, 6].

Морфологическим субстратом Т-ПЛЛ более чем в 2/3 случаев являются пролимфоциты. Они имеют несколько больший по сравнению с обычным лимфоцитом размер, ядро с конденсированным хроматином, часто с неровными очертаниями и нуклеолой. Цитоплазма опухолевых клеток базофильная и не содержит гранул [7]. Примерно у 25% больных опухолевые клетки представлены двумя другими морфологическими вариантами, выделяемыми в современной классификации ВОЗ (2001). К ним относятся Сезари-подобный вариант, где лимфоциты имеют схожие морфологические черты с таковыми при синдроме Сезари, и мелкоклеточный вариант. Последний характеризуется пролиферацией опухолевых клеток меньшего, в сравнении с классическим вариантом, размера. В большинстве из них при световой микроскопии нуклеола плохо видна, однако электронно-микроскопические исследования позволяют выявить ультраструктурные особенности, присущие пролимфоцитам [7].

При иммунологическом фенотипировании пролимфоциты, как правило, имеют иммунофенотип CD2⁺,

CD5⁺ и выражено экспрессируют CD7-антиген. Количество CD7-антигенных детерминант на поверхности опухолевых клеток Т-ПЛЛ значительно больше, чем на нормальных Т-лимфоцитах и лимфоцитах при других посттимических Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях [8]. В 20% случаев на мембране пролимфоцитов не экспрессируется CD3, однако этот маркер всегда обнаруживается в цитоплазме клеток [2]. Применительно к экспрессии CD4 и CD8 уникального фенотипа, присущего исключительно Т-ПЛЛ, не существует. Чаше всего (2/3 случаев) пролимфоциты CD4⁺, CD8⁻, редко фенотип клеток CD8⁺, CD4⁻ и приблизительно в 25% определяется коэкспрессия CD4 и CD8 [2].

Цитогенетические исследования, проведенные при Т-ПЛЛ, позволили выявить аномалии хромосом 14, 8 и 11. Перестройки хромосомы 14 составляют 2/3 всех цитогенетических изменений: инверсия хромосомы 14 — inv14(q11q32), тандемная транслокация между двумя хромосомами t(14;14). Инверсия хромосомы 14 крайне редко встречается при других зрелоклеточных лимфопролиферативных заболеваниях Т-клеточной природы и считается патогномоничной для Т-ПЛЛ [2]. Важно отметить сходст-

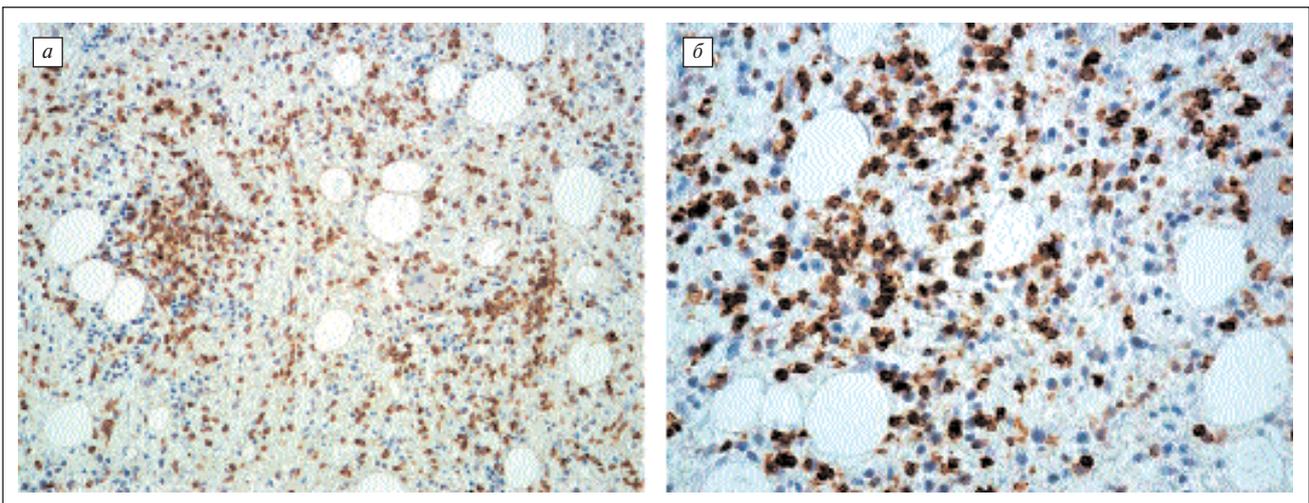


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование клеток инфильтрата костного мозга при Т-ПЛЛ: а — экспрессия Т-клеточного антигена CD3; б — экспрессия Т-клеточного антигена CD8

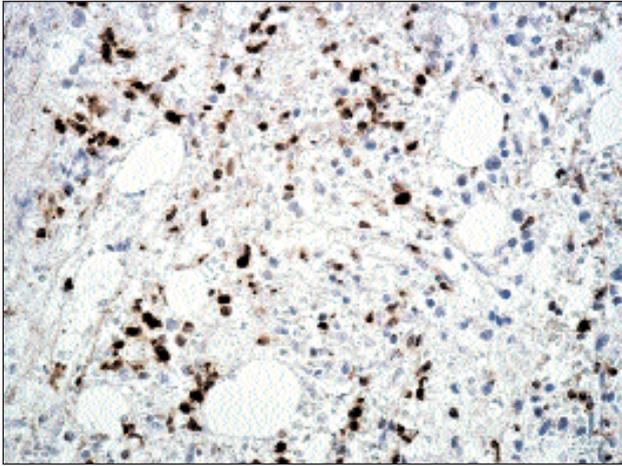


Рис. 4. Экспрессия клетками опухоли *TCL1*-антигена

во цитогенетических изменений в опухолевых клетках при Т-ПЛЛ и в Т-лимфоцитах больных, страдающих АТ. Описанные случаи развития Т-клеточных лейкозов у этих пациентов относятся к Т-ПЛЛ [3, 9]. q11 — место расположения α -цепи гена Т-клеточного рецептора (α -ТКР), а q32 — локус протоонкогена *TCL1* (T-cell leukemia/lymphoma 1). Расположение локуса *TCL1* в непосредственной близости к регуляторным элементам геномной последовательности α -ТКР приводит к гиперэкспрессии *TCL1*, результатом чего является избыточная продукция белка *TCL1* (коактиватора киназы) [10]. Иммуногистохимическое определение экспрессии белка *TCL1* возможно в парафиновых срезах. Экспрессия *TCL1* обнаруживается в 71% случаев Т-ПЛЛ и никогда при других Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. Примечательным является тот факт, что в 50% случаев *TCL1*+ Т-ПЛЛ не сопровождалось развернутой клинической картиной заболевания и уровень лимфоцитов был повышен незначительно. Однако при последующем наблюдении неизменно отмечалось экспоненциальное увеличение количества лимфоцитов в течение нескольких дней или недель [11]. В экспериментальных работах, проведенных на трансгенных мышях, показано, что у *TCL1*+ мышей Т-клеточные опухоли развиваются после достаточно длительного латентного периода [12, 13]. Таким образом, эти данные указывают на то, что

гиперэкспрессия *TCL1* является лишь начальным онкогенным событием, и для развития развернутой картины опухоли необходимы вторичные изменения, молекулярные механизмы которых только предстоит выяснить.

Как уже подчеркивалось, Т-ПЛЛ является заболеванием с агрессивным течением. Больные Т-ПЛЛ обычно резистентны к стандартным схемам лечения, включающим алкилирующие препараты (хлорамбуцил, циклофосфамид). Включение в схему терапии антрациклинов (СНОР) позволяет получить ответ, чаще всего частичный и непродолжительный, только у трети больных [2]. Одним из наиболее активных цитостатических препаратов в лечении Т-ПЛЛ является 2-деоксикоформин (пентостатин). Использование его в дозе 4 мг/м² еженедельно до достижения максимального эффекта позволяет получить общий ответ в 40%, и только в 12% случаев достигается полная ремиссия [2, 14].

Первые сообщения об успешном лечении Т-ПЛЛ моноклональными антителами относятся к 1988 г., когда впервые удалось добиться полной ремиссии с помощью крысиного антитела IgG2b CAMPATH-1G [15].

В работе R. Pawson и соавт. [16] терапия CAMPATH-1H проведена 15 пациентам, ранее получавшим пентостатин. У 9 (60%) получен полный ответ, у 2 (13%) — частичный. Продолжительность лечения в среднем составила 6 нед.

По данным С. Dearden и соавт. [17], лечение CAMPATH-1H проведено 39 пациентам, 30 из которых ранее получали пентостатин и не достигли полной ремиссии. Общий ответ составил 76%, полная ремиссия достигнута у 60% больных, частичная — у 16%. Медиана выживаемости без прогрессии (которая была значительно продолжительнее у больных в полной ремиссии) составила 7 мес (4—45 мес). Семи пациентам выполнена аутологичная трансплантация костного мозга, у трех из них полная ремиссия сохранялась через 5, 7, 15 мес наблюдения. Четверым больным выполнена аллогенная трансплантация костного мозга, из них трое были в полной ремиссии через 24 мес после трансплантации.

Ниже представлен клинический случай использования препарата кэмпас (алемтузумаб) при Т-ПЛЛ.

У больной 54 лет в марте 2006 г. впервые в анализе крови обнаружен лимфоцитоз (лейкоциты $5,0 \times 10^9$ /л, лимфо-

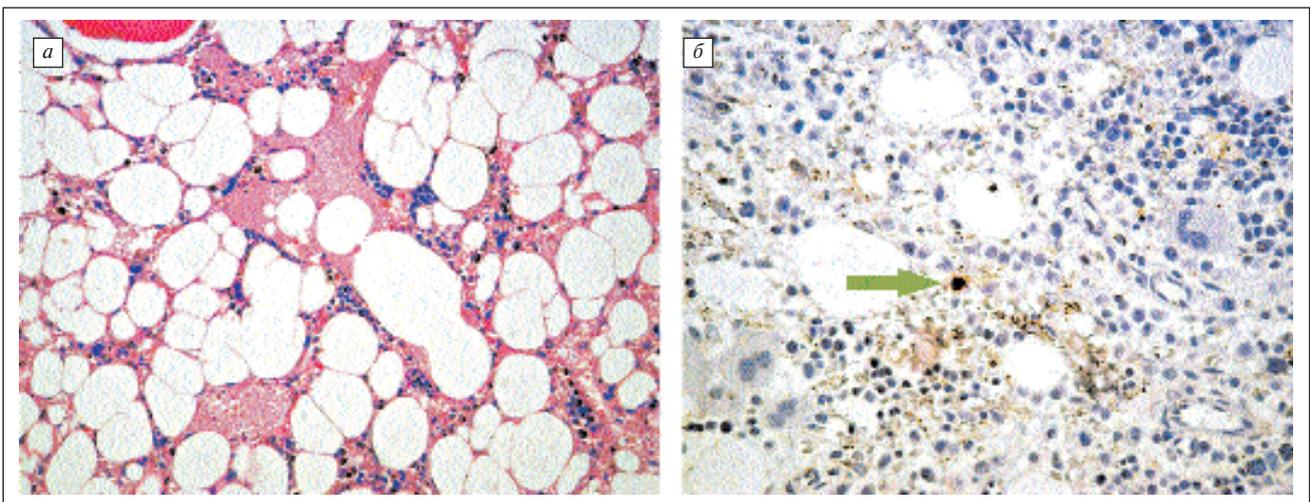


Рис. 5. Картина костного мозга после лечения: а — гистологический препарат, б — единичные *TCL1*-позитивные клетки

циты 54%). В августе того же года госпитализирована в стационар по поводу пневмонии. При обследовании выявлены увеличение селезенки +2 см, умеренная нормохромная анемия, тромбоцитопения, абсолютный лимфоцитоз. Общий клинический анализ крови от 08.2006: Hb — 110 г/л, эр. — $3,4 \times 10^{12}/л$, л. — $7,3 \times 10^9/л$, п/я — 5%, с/я — 19%, лимф. — 67%, мон. — 8%, эоз. — 1%, тр. — $117 \times 10^9/л$.

В ноябре 2006 г. госпитализирована в отделение гематологии ЦКБ №2 им. Н.А.Семашко ОАО РЖД. При физикальном обследовании увеличения периферических лимфоузлов не обнаружено. Выявлена гепатоспленомегалия. Селезенка выступала на 7 см из-под реберной дуги. По данным ультразвукового сканирования, размеры селезенки составили $178 \times 62,3$ мм, печени — 163×81 мм. Общий клинический анализ крови от 20.11.2006: Hb — 77 г/л, эр. — $2,9 \times 10^{12}/л$, л. — $13,1 \times 10^9/л$, п/я — 2%, с/я — 17%, лимф. — 78%, мон. — 2%, эоз. — 1%, тр. — $33 \times 10^9/л$. Морфология лимфоцитов крови представлена полиморфным клеточным спектром, характерным для Т-ПЛЛ (рис. 1). При иммунофенотипировании опухолевые клетки CD3⁺ — 88,7%, CD8⁺ — 86,7%, CD7⁺ — 93,3%, CD4⁺, CD16/CD56⁺.

При исследовании трепанобиоптата костного мозга выявлена гиперплазия кроветворной ткани, которая занимала 60–70% объема межблочных пространств, за счет диффузной пролиферации лимфоидных клеток с компактными ядрами неправильной формы, с грубым глыбчатым хроматином и узким ободком цитоплазмы (рис. 2). При иммуногистохимическом исследовании клетки инфильтрата экспрессировали CD3- и CD8-антигены (рис. 3). В ядрах значительного количества клеток опухоли экспрессирован TCL1-антиген (рис. 4). С антителами к CD4, CD16, TIA-1, CD56, CD57, гранзиму-В и перфорину реакция отрицательная.

При вирусологическом исследовании антитела к вирусу HTLV-I в сыворотке крови не обнаружены. Для диагностики использована тест-система Serodia HTLV-I (Fujierebio Inc., Япония). Титры антител к вирусу Эпштейна — Барр (EBV) в пределах нормы (IgG — VCA 1:160, EA отрицательно; IgM — VCA отрицательно). Титры антител к вирусу герпеса 6-го типа в пределах нормы (IgG 1:20, IgM отрицательно). Антител к вирусу герпеса 8-го типа не обнаружено. Исследования на герпесвирусы проводились методом непрямой иммунофлюоресценции.

При молекулярно-генетическом исследовании выявлена клональная перестройка генов гамма-цепи Т-клеточного рецептора.

С 27.11.2006 начата терапия препаратом кэмпас по 30 мг 3 раза в неделю внутривенно со стандартной премедикацией и эскалацией дозы (первое введение — 3 мг, второе введение — 10 мг, третье введение и все последующие — 30 мг). Реакции первой дозы: лихорадка 38,5°C, озноб II степени. Профилактика инфекционных осложнений проводилась бисептолом 960 мг 2 раза в сутки через день и ацикловиром 400 мг 3 раза в сутки ежедневно в течение всего периода терапии и 2 мес после завершения лечения. С 20.12.2006 (4-я неделя терапии), после увеличе-

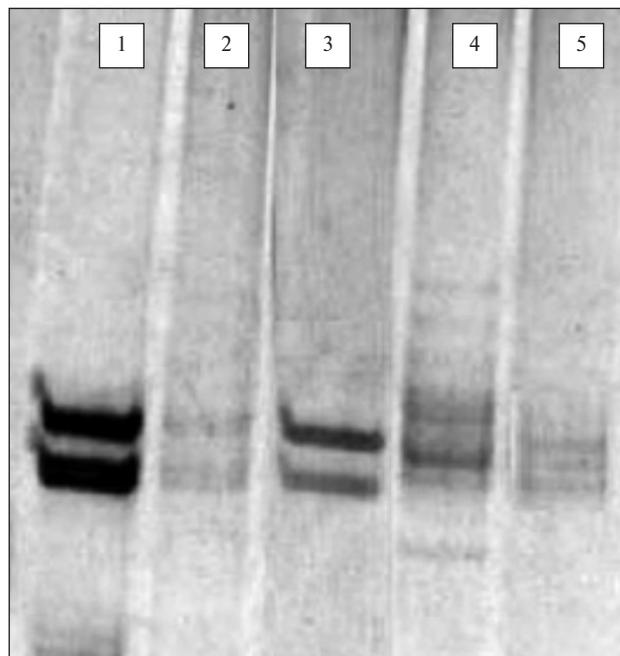


Рис. 6. Результаты определения Т-клеточной клональности: 1 — перед началом терапии, 2 — 8 нед терапии, 3 — 12 нед терапии, 4 — 2 мес после лечения, 5 — 3 мес после лечения

ния числа тромбоцитов, препарат вводился подкожно. На 5-й неделе лечения зарегистрирована реактивация цитомегаловируса (ЦМВ), подтвержденная количественным ПЦР-анализом (количество копий на 10^5 мононуклеаров крови, определяемое методом ПЦР с гибридизационно-флюоресцентной детекцией в режиме «реального времени»). Клиническим проявлением реактивации ЦМВ была фебрильная температура. В течение 2 нед проведена терапия валганцикловиром по 900 мг 2 раза в сутки до разрешения лихорадки и негативного ПЦР-теста.

Продолжительность терапии кэмпасом составила 12 нед. Лечение закончено 06.03.2007. Мониторинг ЦМВ проводился на протяжении всего периода терапии. Реактивации ЦМВ больше зафиксировано не было. Количество копий составляло менее 500 на 10^5 мононуклеаров крови, что является минимальным уровнем чувствительности метода (табл. 1).

Таблица 1. Мониторинг количества ЦМВ, CD4, CD8 и CD52⁺ клеток

Срок наблюдения	Количество копий ЦМВ на 10^5 мононуклеаров крови	CD4 $\times 10^9/л$ (норма 600–1600)	CD8 $\times 10^9/л$ (норма 300–800)	CD52 ⁺ , %
4-я неделя	<500	0,2	1,0	—
5-я неделя	4500	—	—	—
6-я неделя	<500	—	—	—
8-я неделя	<500	42	4	1,5
10-я неделя	<500	—	—	—
12-я неделя	<500	97	13	—
2 мес после лечения	—	165	118	0,7
3 мес после лечения	—	295	358	2,3

Таблица 2. Динамика показателей крови во время и после лечения

Срок наблюдения	Нб, г/л	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	АЧН, 10 ⁹ /л	АЧЛ, 10 ⁹ /л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л
2-я неделя	93	2,0	0,6	1,2	37
4-я неделя	85	1,6	1,5	0,0	90
8-я неделя	94	1,6	1,5	0,0	178
12-я неделя	97	1,9	1,3	0,4	202
2 мес после лечения	126	1,9	1,6	0,33	220
3 мес после лечения	133	3,3	2,1	0,59	225

Примечание. АЧН — абсолютное число нейтрофилов. АЧЛ — абсолютное число лимфоцитов.

Период наблюдения после завершения лечения составил 3 мес.

Динамика показателей крови представлена в табл. 2.

На протяжении периода терапии и после ее завершения мониторировали уровень CD4 и CD8 популяций лимфоцитов, а с 8-й недели лечения — процент CD52⁺ лимфоцитов. Данные мониторинга количества ПЦР-продукта ЦМВ, CD4, CD8 и процента CD52⁺ клеток представлены в табл. 1.

После завершения терапии нормализовались размеры печени и селезенки. В трепанобиоптате кроветворная ткань занимает 10—15% межбалочных пространств. В препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином и азур-эозином, лимфоидные клетки среди клеток кроветворной ткани неразличимы, клетки, экспрессирующие TCL1, единичны (рис. 5). Анализ перестроек генов гамма-цепи T-клеточного рецептора выявил доминирующий моноклон на нижней грани чувствительности метода, что может наблюдаться как при T-клеточной опухоли с небольшой примесью опухолевых клеток, так и при реак-

тивном процессе. Результаты исследования T-клеточной клональности перед началом терапии в период лечения и за последующий период наблюдения представлены на рис. 6.

Заключение

Представленное наблюдение демонстрирует высокую эффективность кэмпаса при T-ПЛЛ, который в настоящее время является наиболее эффективным препаратом в лечении данной формы T-клеточных лимфопрлиферативных заболеваний. Это объясняется большим количеством CD52 антигенных детерминант на опухолевых лимфоцитах при T-ПЛЛ (более 500 000 молекул на клетку). Косвенным подтвержде-

нием этого факта является выраженная лимфопения в процессе терапии. У данной пациентки количество лимфоцитов достигло нулевого уровня уже на 4-й неделе лечения (см. табл. 2). Процесс восстановления количества лимфоцитов достаточно медленный, особенно CD4⁺ популяции, что требует профилактики и тщательного мониторинга возможных инфекционных осложнений. Интересным является тот факт, что рост лимфоидной популяции происходит за счет CD52-негативных клеток (см. табл. 1), которые в норме составляют не более 5% от всех лимфоцитов крови.

Несмотря на отсутствие морфологического субстрата T-ПЛЛ после завершения терапии, утверждать, что достигнута молекулярная ремиссия, преждевременно, поскольку при ПЦР определяется моноклон на грани чувствительности метода. Однако этот феномен может наблюдаться в процессе восстановления лимфопоэза и не всегда свидетельствует о наличии резидуальной опухоли. Для подтверждения данного факта необходимо дальнейшее наблюдение.

Л и т е р а т у р а

- Catovsky D., Galetto J., Okos A. et al. Polymorphocytic leukemia of B and T cell type. *Lancet* 1973;2:232—4.
- Matutes E., Brito-Vapapulle V., Swansbury J. et al. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood* 1991;78:3269—74.
- Taylor A.M., Metcalfe J.A., Thick J., Mak Y.F. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 1996;87:423—38.
- Rosen P.J., Said J. In: *Chronic leukemias and lymphomas. Biology, pathology and clinical management.* G.J Schiller (ed). Humana Press; 2003. p. 79—92.
- Pawson R., Schulz T.F., Matutes E., Catovsky D. The human T-cell lymphotropic viruses types I/II are not involved in T prolymphocytic leukemia and large granular lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1997;11:1305—11.
- Pombo de Oliveira M.S., Matutes E., Schulz T. et al. T-cell malignancies in Brazil. Clinico-pathological and molecular studies of HTLV-I-positive and-negative cases. *Int J Cancer* 1995;60:823—7.
- Matutes E., Garcia Talavera J., O'Brien M., Catovsky D. The morphological spectrum of T-prolymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1986;64:111—24.
- Ginaldi L., Matutes E., Farahat N. et al. Differential expression of CD3 and CD7 in T-cell malignancies: a quantitative study by flow cytometry. *Br J Haematol* 1996;93:921—7.
- Thick J., Metcalfe J.A., Mak Y.F. et al. Expression of either the TCL1 oncogene, or transcripts from its homologue MTCPI/c6.1B, in leukaemic and non-leukaemic T cells from ataxia telangiectasia patients. *Oncogene* 1996;12:379—86.
- Pekarsky Y., Hallas C., Croce C.M. The role of TCL1 in human T-cell leukemia. *Oncogene* 2001;20:5638—43.
- Herling M., Khoury J.D., Washington L.T. et al. A systematic approach to diagnosis of mature T-cell leukemias reveals heterogeneity among WHO categories. *Blood* 2004;104:328—35.
- Hoyer K.K., French S.W., Turner D.E. et al. Dysregulated TCL1 promotes multiple classes of mature B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:14392—7.
- Virgilio L., Lazzeri C., Bichi R. et al. Deregulated expression of TCL1 causes T cell leukemia in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3885—9.
- Mercieca J., Matutes E., Dearden C. et al. The role of pentostatin in the treatment of T-cell malignancies: analysis of response rate in 145 patients according to disease subtype. *J Clin Oncol* 1994;12:2588—93.
- Dyer M.J., Hale G., Hayhoe F.G., Waldmann H. Effects of CAMPATH-1 antibodies in vivo in patients with lymphoid malignancies: influence of antibody isotype. *Blood* 1989;73:1431—9.
- Pawson R., Dyer M.J., Barge R. et al. Treatment of T-cell prolymphocytic leukemia with human CD52 antibody. *J Clin Oncol* 1997;15:2667—72.
- Dearden C.E., Matutes E., Cazin B. et al. High remission rate in T-cell prolymphocytic leukemia with CAMPATH-1H. *Blood* 2001;98:1721—6.