

DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-26-34



Применение локально изготовленных анти-CD19 CAR-T-клеток в лечении рефрактерных/рецидивирующих В-клеточных лимфом у взрослых

Н.Е. Конопля, О.А. Каленик, И.Н. Северин, А.А. Саврицкая, Н.М. Боброва, Т.М. Дорошенко, А.С. Портянко

ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Республика Беларусь, 223040 Минский район, агрогородок Лесной

Контакты: Наталья Евгеньевна Конопля nkonoplya@mail.ru

Введение. Пациенты с В-клеточной лимфомой с рецидивом или рефрактерностью к проводимому иммунохимиотерапевтическому лечению 2-й и последующих линий имеют крайне неблагоприятный прогноз. На сегодняшний день единственным вариантом лечения является терапия Т-клетками, несущими на себе химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor, CAR). В РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (Минск) отработана технология мануального изготовления анти-CD19 CAR-T-лимфоцитов и показана их безопасность.

Цель исследования – оценить эффективность CAR-T-клеточной терапии, включая частоту объективного ответа, выживаемость без прогрессирования и общую выживаемость, а также безопасность и переносимость данной терапии.

Материалы и методы. Анти-CD19 химерный рецептор 2-го поколения был сконструирован из анти-CD19 scFv-фрагмента антитела, трансмембранного домена CD28, сигнальных доменов белков 4-1BB и CD3z и трансдуцирован в Т-лимфоциты в составе лентивирусного вектора S4. Клеточный продукт был получен путем сепарации и отдельного процессинга CD4- и CD8-лимфоцитов в присутствии интерлейкинов 7 и 15. CAR-T-клеточная терапия проведена 8 пациентам с рефрактерными формами агрессивных В-клеточных лимфом с предшествующей лимфодеплецирующей химиотерапией. Оценка экспансии и персистенции CAR-T-клеток проводили методом проточной цитометрии. Эффективность терапии оценивали по результатам позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой.

Результаты. После введения экспансия CAR-T-клеток отмечалась у всех 8 пациентов, что сопровождалось В-клеточной аплазией. Медиана наблюдения составила 113 (22–529) дней. Частота объективного ответа составила 100 % (7 из 7 пациентов), полная ремиссия достигнута у 6 пациентов, частичная – у 1; 1 пациент умер от осложнений до достижения клинического ответа. Общая выживаемость составила 88 ± 12 %. Синдром выброса цитокинов и нейротоксичность отсутствовали у 6 из 8 пациентов, несмотря на большую опухолевую нагрузку.

Заключение. Продемонстрированы эффективность и безопасность локально изготовленных CAR-T-клеток для лечения пациентов с рефрактерным течением агрессивных В-клеточных лимфом.

Ключевые слова: CAR-T-терапия, CD19, В-клеточная лимфома

Для цитирования: Конопля Н.Е., Каленик О.А., Северин И.Н. и др. Применение локально изготовленных анти-CD19 CAR-T-клеток в лечении рефрактерных/рецидивирующих В-клеточных лимфом у взрослых. Онкогематология 2023; 18(3):26–34. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-26-34

Use of locally produced anti-CD19 CAR-T cells in the treatment of relapsed/refractory B-cell lymphomas in adults

N.E. Konoplya, O.A. Kalenik, I.N. Severin, A.A. Savritskaya, N.M. Bobrova, T.M. Doroshenko, A.S. Portyanko

N.N. Alexandrov Republican Research and Practical Center for Oncology and Medical Radiology; Lesnoy, Minsk Region 223040, Republic of Belarus

Contacts: Natalya Evgen'evna Konoplya nkonoplya@mail.ru

Background. Patients with B-cell lymphoma have an extremely unfavorable prognosis after relapse or in case of refractoriness to the first and consecutive lines of immunochemotherapy with the anti-CD19 CAR-T cells being the only therapeutic option to such patients. The manual preparation of anti-CD19 CAR-T lymphocytes was reproduced in the N.N. Alexandrov Republican Research and Practical Center for Oncology and Medical Radiology (Minsk). Their safety was demonstrated.

Aim. To estimate safety, tolerability and efficacy of the in-house CAR-T cells, including objective response rate, progression-free and overall survival.

Materials and methods. The second generation anti-CD19 chimeric antigen receptor contained an anti-CD19 antibody scFv fragment, CD28 transmembrane domain, 4-1BB and CD3z signaling domains. The coding sequence was cloned into the lentiviral vector S4. The cell product was obtained by expansion of CD4- and CD8-positive lymphocytes populations with IL-7 and IL-15 after initial activation and lentiviral transduction with vector S4. CAR-T cells were infused into 8 patients with refractory forms of B-cell lymphoma after the preliminary lymphodepleting chemotherapy. Persistence of CAR-T cells was assessed by flow cytometry. Therapeutic efficiency was assessed by positron emission tomography-computed tomography with ^{18}F -fluorodeoxyglucose.

Results. Expansion of CAR-T cells with resulting B-cell aplasia was observed in all patients. The median of observation was 113 days (range 22–529 days). Objective response rate was 100 %, complete remission was observed in 6 patients, partial response – in 1 patient. One patient died because of complications before the clinical response. Overall survival was 88 ± 12 %. Cytokine release syndrome and neurotoxicity were not observed in 6 out of 8 patients despite a high tumor burden.

Conclusion. Our study demonstrated efficiency and safety of the in-house CAR-T cells for the treatment of patients with refractory B-cell lymphomas.

Keywords: CAR-T therapy, CD19, B-cell lymphoma

For citation: Konoplya N.E., Kalenik O.A., Severin I.N. et al. Use of locally produced anti-CD19 CAR-T cells in the treatment of relapsed/refractory B-cell lymphomas in adults. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(3):26–34. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-26-34

Введение

Неходжкинские лимфомы занимают 7-е место среди первичных злокачественных новообразований. Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) является самой частой формой всех неходжкинских лимфом и составляет более 30 % [1]. По данным Белорусского канцер-регистра, в 2022 г. выявлено 310 случаев заболевания ДВКЛ [2].

Лечение ДВКЛ 1-й линии, как правило, включает антрациклинсодержащие режимы химиотерапии с применением ритуксимаба и позволяет добиться длительного течения заболевания и ремиссии в 60 % случаев. В исследовании GELA LNH-98.5 продемонстрировано, что при этом режиме в течение 5 лет выживают 58 % пациентов и в течение 10 лет – 42 % [3]. Однако примерно у трети пациентов наблюдается рефрактерность заболевания к инициальной терапии или развивается рецидив [4].

Пациенты, у которых развивается рецидив заболевания после 1-й линии химиотерапии, примерно в 40–60 % случаев могут достичь ремиссии с помощью химиотерапии 2-й линии. Для пациентов с хорошим общим состоянием и отсутствием нарушений функции жизненно важных органов и систем целью этой терапии является достижение полного ответа с последующей консолидацией аутологичной трансплантации гемопоэтических периферических стволовых клеток (ауто-ТПСК). Стандарт лечения 2-й линии пациентов, подходящих для трансплантации, включает ритуксимаб и комбинированную химиотерапию, такую как ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид) и DHAP (дексаметазон, цитарабин и цисплатин) и др. В крупном рандомизированном исследовании пациенты с рецидивом ДВКЛ получали R-ICE в сравнении с R-DHAP (CORAL study). Авторами было показано, что 63 % пациентов удалось достигнуть объективного ответа на тера-

пию любого режима с частотой полного ответа 26 % [5]. Ответ на 2-ю линию химиотерапии является основным прогностическим фактором исхода заболевания после проведения ауто-ТПСК: только пациенты, достигшие полного ответа на лечение, имеют шансы на излечение [6].

Пациенты, у которых развился рецидив после ауто-ТПСК, имеют очень плохой прогноз. Медиана общей выживаемости (ОВ) в таких случаях составляет 9,9 мес [7].

Большинство пациентов после 2-й линии терапии не могут являться кандидатами на ауто-ТПСК из-за рефрактерности к химиотерапии или возраста, сопутствующих заболеваний сердца, легких, печени или почек. Пациенты, не подходящие для трансплантации, практически не имеют возможности для лечения. Эти неблагоприятные исходы демонстрируют потребность в новых подходах к терапии пациентов с рефрактерной/рецидивирующей ДВКЛ.

Терапия Т-клетками, несущими на себе химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor, CAR), представляет собой изменение парадигмы в лечении пациентов данной категории [4]. Наиболее изученными и эффективными в клинической практике в настоящее время являются Т-клетки с CAR к антигену CD19 при В-линейных CD19-позитивных лейкозах и лимфомах. Антиген CD19 считается идеальной мишенью, так как экспрессируется на высоком уровне на клетках В-клеточного острого лимфобластного лейкоза, хронического лимфолейкоза, В-клеточных неходжкинских лимфом и не экспрессируется на гемопоэтических стволовых клетках. Токсичность (on-target и off-tumor) корректируется введением препаратов иммуноглобулинов. Частота достижения полных ремиссий при лечении рефрактерных форм указанных нозологий анти-CD19 CAR-Т-клетками в некоторых исследованиях I/II клинических фаз достигала 100 % [8].

В данной статье мы сообщаем о нашем опыте использования академических (локально изготовленных) CD19 CAR-T-клеток после режима лимфодеплеции флударабином и циклофосфамидом у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей агрессивной В-клеточной лимфомой.

Цель исследования — оценить эффективность CAR-T-клеточной терапии, включая частоту объективного ответа (ЧОО), выживаемость без прогрессирования и ОВ, а также безопасность и переносимость данной терапии.

Материалы и методы

С июня 2021 г. по январь 2023 г. в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (Минск) анти-CD19 CAR-T-клеточная терапия была проведена 8 пациентам с рефрактерными формами агрессивных В-клеточных лимфом. По дизайну исследование сплошное, проспективное. Включали всех пациентов, соответствующих критериям отбора.

Все пациенты удовлетворяли критериям рефрактерного заболевания исследования SCHOLAR-1: прогрессирование как наилучший ответ на любую линию терапии, стабилизация заболевания по крайней мере после 4 циклов терапии 1-й линии или 2 циклов терапии 2-й и последующих линий с длительностью не более 6 мес от момента последней дозы терапии или рецидив, развившийся в течение менее 12 мес после ауто-ТПСК [9].

Всем пациентам было выполнено дополнительное иммуногистохимическое исследование на наличие экспрессии CD19.

Перед введением анти-CD19 CAR-T-клеток пациенты получали следующий режим кондиционирования: флударабин в дозе 30 мг/м² в дни –5, –4, –3 внутривенно капельно за 30 мин; циклофосфамид 300 мг/м² в дни –5, –4, –3 внутривенно капельно за 1 ч. В день 0 осуществляли введение анти-CD19 CAR-T-клеток путем внутривенной болюсной инфузии за 30 мин. Перед введением клеточного продукта выполняли профилактическое введение тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг.

Сопроводительную терапию и управление токсичностью проводили в соответствии с институциональной практикой. Синдром выброса цитокинов (СВЦ) и нейротоксичность оценивали по критериям консенсуса ASTCT (American Society for Transplantation and Cellular Therapy, Американское общество трансплантации и клеточной терапии) [10].

Эффективность терапии оценивали по результатам позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой, в соответствии с критериями ответа на терапию Lugano (2014) [11] на день +30, месяцы +3, +6 и +9, далее — по результатам компьютерной томографии с контрастированием каждые 6 мес.

Получение CAR-T-клеток включало следующие этапы:

• Селекция и экспансия Т-клеток

В качестве исходного материала для получения первичной культуры Т-клеток использовали продукт афереза реципиента.

Изоляцию популяций CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток проводили отдельно методом иммуномагнитной селекции с использованием соответствующих наборов CD4/CD8 Positive Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific, Норвегия). Т-клетки инкубировали в полной среде OpTmizer (Thermo Fisher Scientific, Норвегия) с добавлением рекомбинантных цитокинов интерлейкинов (ИЛ) 7 и 15 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) в конечной концентрации 10 нг/мл. Активацию Т-клеток осуществляли с использованием набора ImmunoCult Human CD3/CD28 T Cell Activator (StemCell Technologies, Канада). Продолжительность экспансии клеточного продукта составила 13 дней, смену среды проводили 2 раза в неделю.

• Генетическая модификация Т-клеток

Рекомбинантные псевдотипированные лентивирусные частицы, предназначенные для трансдукции Т-клеток, получали путем транзитной котрансфекции клеточной линии HEK293T (ATCC CRL-3216) лентивирусной системой 2-го поколения. Трансфер-вектор S4, полученный на основе плазмиды pWPXL (Addgene #12257), содержал бицистронную экспрессионную кассету, кодирующую последовательность CAR 2-го поколения к белку CD19 человека, а также транскрированного варианта белка рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) человека.

В качестве пакующего вектора использовали плазмиду pCMV-dR8.91. Белок оболочки VSV-G кодировался вектором pMD2.G (Addgene #12259). Функциональный титр вирусных частиц определяли методом трансдукции клеток линии 293T серией последовательных разведений. В контроль безопасности вирусного супернатанта входили определение рекомбинантно-компетентных вирусных частиц (RCL) методом количественной полимеразной цепной реакции, микробиологический контроль. Трансдукцию Т-клеток реципиента проводили в присутствии рекомбинантного фибронектина RetroNectin (Takara Bio, Япония). Множественность инфекции составила 10–15 TU/клетку (TU — transduction unit, трансдуцирующая единица).

• Иммунофенотипический анализ клеточного продукта

Оценку субпопуляционного состава Т-клеток осуществляли методом проточной цитометрии с использованием антител к антигенам CD3, CD4, CD8, CD45RO, CCR7, CD62L, CD95 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Определение функционального титра рекомбинантных лентивирусных частиц, а также уровня трансдукции Т-клеток проводили с использованием антител FAB9577R (R&D Systems, США) к транскрированному варианту белка EGFR человека.

Оценка экспансии и персистенции CAR-T-клеток в организме реципиента. Анализ проводили в периферической крови методами проточной цитометрии (определение Т-клеток с эктопической экспрессией рекомбинантного белка EGFRt) каждые 2–3 дня в течение 30 дней.

Статистический анализ включал описательные характеристики (медианы, диапазон значений). ЧОО определяли как сумму полной и частичной ремиссий. Выживаемость без прогрессирования и ОВ оценивали с использованием метода Каплана–Майера. Выживаемость без прогрессирования определяли как время от начала лечения до момента прогрессирования или рецидива лимфомы, ОВ — как время от начала лечения до наступления смерти по любой причине. Началом лечения считали дату инфузии клеток.

Результаты

Анти-CD19 CAR-T-клеточный продукт был получен для всех 8 пациентов, включенных в исследование. Наблюдали существенную гетерогенность исходного материала, обусловленную значительной предлеченностью реципиентов: медиана содержания CCR7⁺CD45RO⁺-клеток до экспансии в популяции CD4-Т-лимфоцитов составила 22,33 (8,42–58,52) %, в популяции CD8-Т-лимфоцитов — 38,07 (30,77–79,78) %. Тем не менее использование комбинации цитокинов ИЛ-7 и -15 в процессе наработки CAR-T-клеток *ex vivo* позволило получить конечные клеточные продукты, обладающие высокой противоопухолевой активностью и способностью к экспансии в организме реципиента.

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице.

У 4 пациентов заболевание было первично-рефрактерным, у 4 рефрактерность развилась в ходе последующей терапии, в том числе у 2 пациентов после ауто-ТПСК. Наиболее распространенным морфологическим вариантом была ДВКЛ — у 4 пациентов, первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома имела у 2 пациентов, лимфома Беркитта — у 1, фолликулярная лимфома степени IIIa — у 1. Заболевание Bulky (наибольший диаметр >10 см) отмечалось у 7 пациентов в период до афереза, 3 из них в связи с быстро прогрессирующим процессом потребовалась bridging-терапия: лучевая терапия, дексаметазон в дозе 30 мг/м² и химиотерапия (по 1 случаю).

Экспансия CAR-T-клеток отмечалась у всех 8 пациентов. Медиана пикового значения экспансии CAR-T-клеток в периферической крови составила 70,5 (2,65–433) клеток/мкл. Медиана пика приходилась на 14-й (12–21-й) день (рис. 1, 2). У всех пациентов с отмеченной экспансией CAR-T-клеток наблюдалась В-клеточная аплазия.

Медиана периода наблюдения составила 113 (22–529) дней. ЧОО составила 100 % (7 из 7 пациентов), полная ремиссия достигнута у 6 пациентов, частичная — у 1. Один пациент умер от осложнений до достижения клинического ответа. ОВ составила 88 ± 12 % (рис. 3).

Нейротоксичность и СВЦ отсутствовали у 6 из 8 пациентов, несмотря на большую опухолевую нагрузку.

У пациента К1. на 19-й день развился СВЦ III степени тяжести, который включал лихорадку, снижение сатурации кислорода, гемодинамическую нестабильность, что потребовало искусственной вентиляции легких. Введение 2 доз тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг

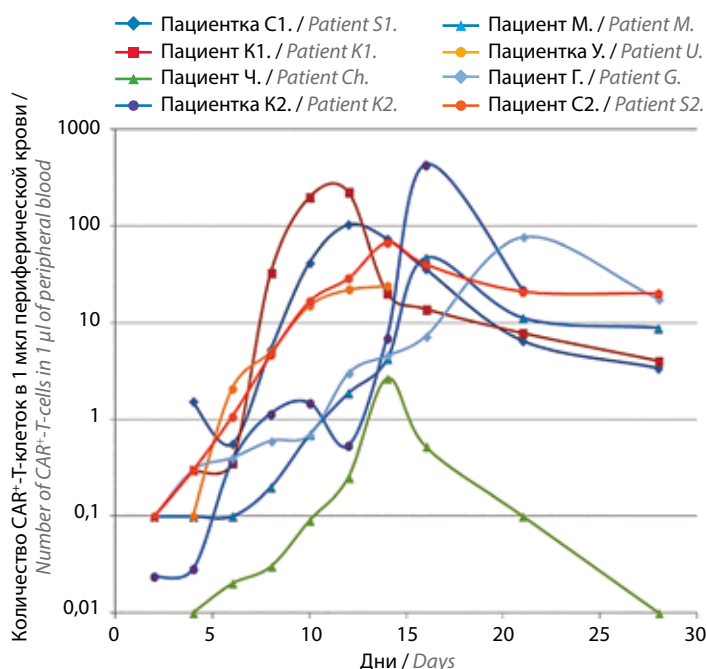


Рис. 1. Экспансия и персистенция CAR⁺-Т-клеток *in vivo*
Fig. 1. Expansion and persistence of CAR⁺ T cells *in vivo*

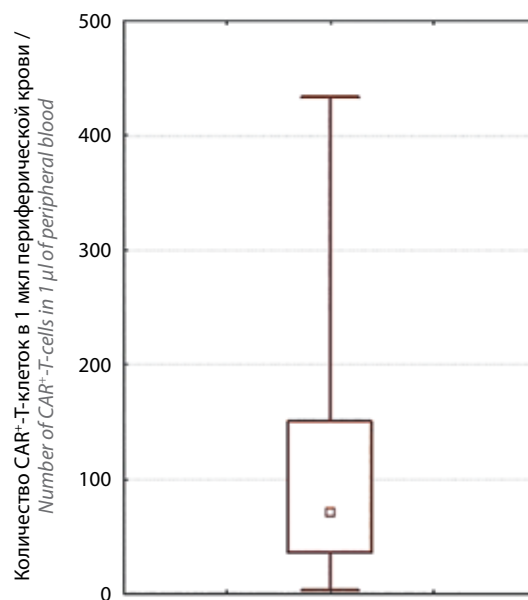


Рис. 2. Распределение пикового содержания CAR⁺-Т-клеток в периферической крови
Fig. 2. Distribution of peak CAR⁺ T cell content in peripheral blood

Клиническая характеристика пациентов
Clinical characteristics of the patients

Характеристика Characteristic	Пациентка С1. Patient S1.	Пациент К1. Patient K1.	Пациент Ч. Patient Ch.	Пациентка К2. Patient K2.	Пациент М. Patient M.	Пациентка У. Patient U.	Пациент Г. Patient G.	Пациент С2. Patient S2.
Возраст, лет Age, years	34	49	38	45	42	35	23	63
Пол Gender	Женский Female	Мужской Male	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male	Мужской Male
Диагноз Diagnosis	ПМВКЛ PMBCL	ДВКЛ non- GCB-подтип DLBCL, non-GCB subtype	ДВКЛ non- GCB- подтип DLBCL, non-GCB subtype	ДВКЛ GCB-подтип DLBCL, GCB subtype	Лимфома Беркитта Burkitt lymphoma	ПМВКЛ PMBCL	ДВКЛ non- GCB-подтип DLBCL, non-GCB subtype	Фолликулярная лимфома степени IIIa Follicular lymphoma IIIa degree
Стадия исходно (Ann Arbor) Initial stage (Ann Arbor)	IV	II	IV	IV	II	IV	IV	IV
Число линий предшествующей терапии Lines of prior therapy	3	5	4	2 по поводу рецидива 2, due to relapse	3	2	4	4
Аутологичная трансплантация гемопоэтических периферических стволовых клеток Autologous hematopoietic peripheral stem cell transplantation	Нет No	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет No	Нет No	Нет No	Да Yes
Bulky	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Нет No	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Первичная рефрактерность Primary refractory	Да Yes	—	—	—	Да Yes	Да Yes	Да Yes	—
Вторичная рефрактерность Secondary refractory	—	Да Yes	Да Yes	Да Yes	—	—	—	Да Yes
R-IP1	3	3	3	3	3	2	4	2
Уровень лактатдегидрогеназы Lactate dehydrogenase level	2 нормы 2-fold	3 нормы и более 3-fold and higher	Норма Normal	2 нормы 2-fold	3 нормы и более 3-fold and higher	2 нормы 2-fold	3 нормы и более 3-fold and higher	Норма Normal

Примечание. ПМВКЛ — первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома; ДВКЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома; GCB — лимфома из клеток герминального центра; R-IP1 — Пересмотренный международный прогностический индекс.

Note. PMBCL — primary mediastinal large B-cell lymphoma; DLBCL — diffuse large B-cell lymphoma; GCB — germinal center B-cell lymphoma; R-IP1 — Revised International Prognostic Index.

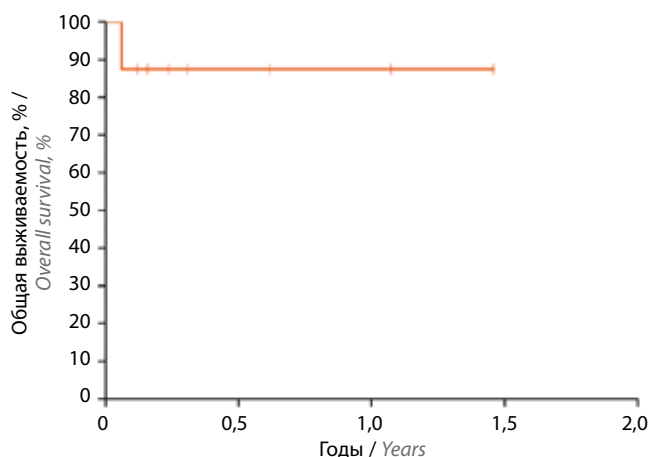


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов, получивших CAR-T-клеточную терапию

Fig. 3. Overall survival in patients treated with CAR-T cell therapy

с интервалом 8 ч не стабилизировало состояние, возникли признаки септического шока, и на 23-й день пациент умер до достижения клинического ответа. При аутопсии обнаружены двусторонняя очагово-сливная ниже- и среднедолевая фибринозно-гнойная бронхопневмония (результат бактериологического исследования: *Acinetobacter baumannii*); сепсис: септицемия (результат бактериологического исследования: *Acinetobacter baumannii*). В надключичных и лимфатических узлах средостения обнаружен некроз (рис. 4).

Медиана пикового значения уровня ИЛ-6 в периферической крови составила 118,85 (5,87–127 500) пг/мл.

Медиана пика приходилась на 10-й (8–27-й) день (рис. 5, 6).

При сопоставлении динамики ИЛ-6 и экспансии CAR-T-клеток выяснилось, что их пиковые значения совпадают или пик ИЛ-6 опережает пик экспансии CAR-T-клеток на 3–4 дня (рис. 7).

Обсуждение

С момента первоначального одобрения CD19-таргетных CAR-T-клеток для острого лимфобластного лейкоза и рефрактерной/рецидивирующей В-клеточной лимфомы в 2017–2018 гг. прошло более 5 лет. За этот период опубликованы результаты 3 основных исследований ZUMA-1, JULIET и TRANSCEND, в которых у большинства пациентов отмечалась химиорезистентность (76 % в ZUMA-1, 55 % в JULIET и 67 % в TRANSCEND). ЧОО варьировала от 52 до 74 % с показателями выживаемости в течение 1 года от 48 до 59 % [12–14]. Результаты этих исследований продемонстрировали, что терапия CAR-T-клетками изменила подходы к лечению рефрактерной ДБКЛ, давая шанс таким пациентам. Так, в ретроспективном исследовании SCHOLAR-1 у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей ДБКЛ, получавших «традиционную» терапию, частота полного ответа составила 7 %, медиана ОВ – 6 мес, а показатель выживаемости в течение 1 года – 28 % [9]. После этих исследований CAR-T-терапия начала входить в реальную клиническую практику. При этом данные, демонстрирующие эффективность и широкую осуществимость CAR-T-терапии в реальных популяциях, ограничены.

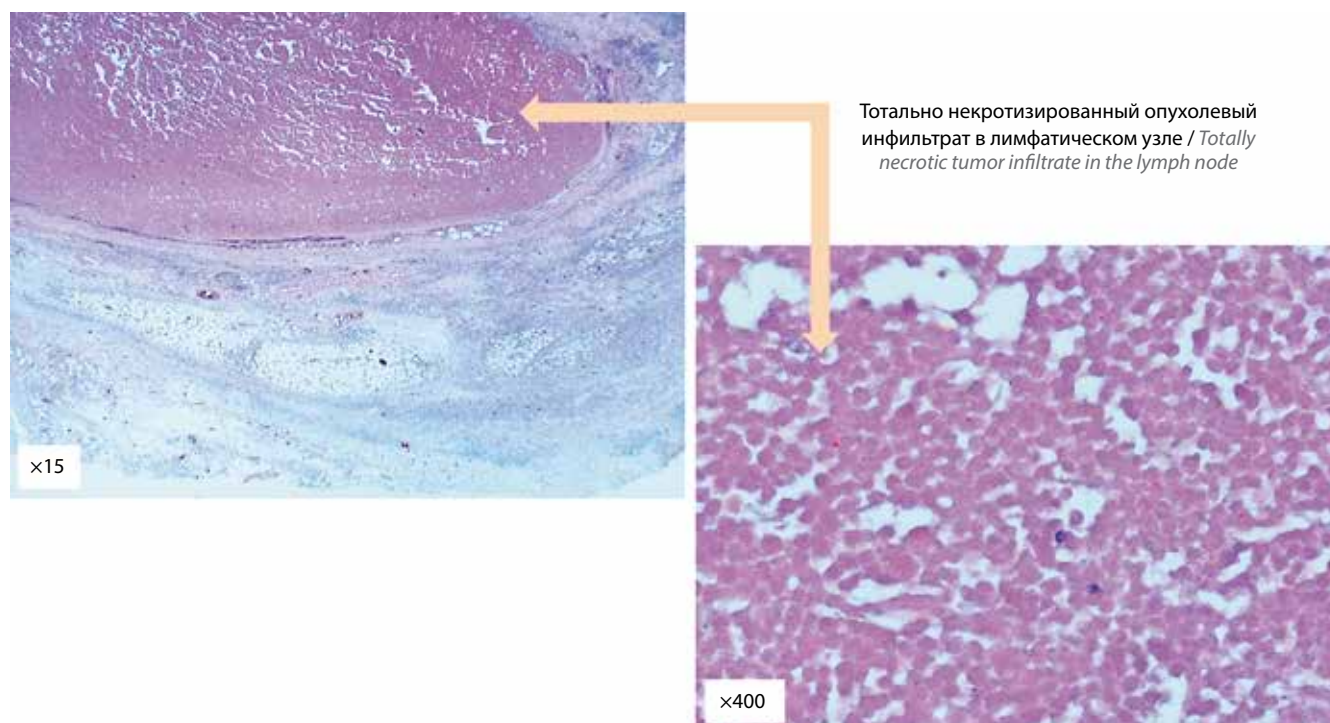


Рис. 4. Тотальный некроз лимфатического узла пациента К1., обнаруженный при аутопсии

Fig. 4. Total lymph node necrosis of patient K1., found at autopsy

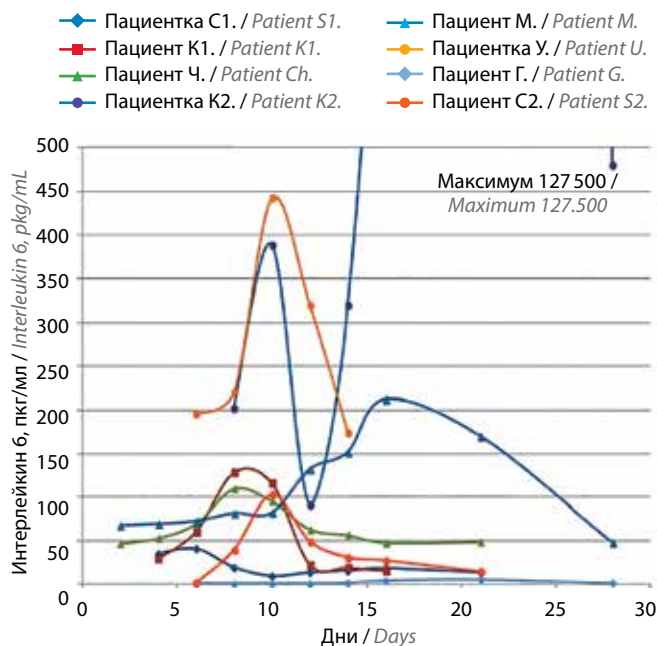


Рис. 5. Уровни интерлейкина 6 в периферической крови пациентов, получивших CAR-T-клеточную терапию
Fig. 5. Peripheral blood levels of interleukin-6 in patients who received CAR-T cell therapy

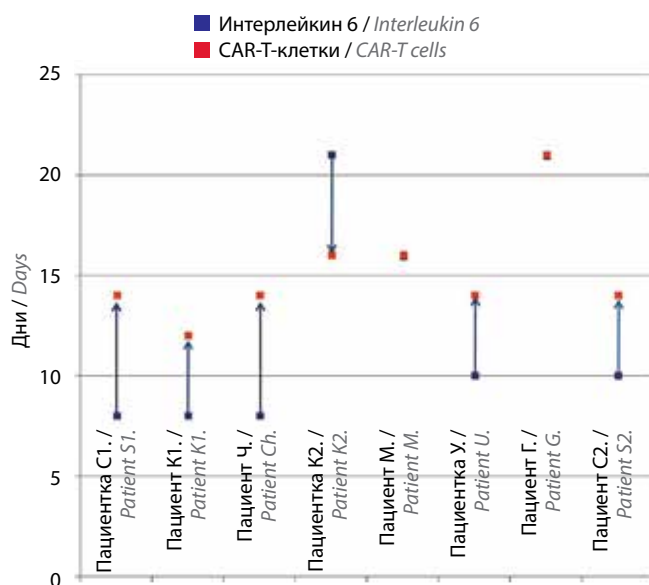


Рис. 7. Достижение пикового значения концентрации интерлейкина 6 и CAR-T-клеток в периферической крови
Fig. 7. Achievement of peak interleukin-6 concentrations and CAR-T cell in peripheral blood

Сложности использования клеточного продукта связаны со следующими моментами. Отбор пациентов для терапии CAR-T-клетками основан на информации о назначении клеточных продуктов (axi-cel и tisa-cel и др.), полученной из клинических испытаний, и содержит только общее руководство. Пациенты, рассматриваемые для терапии CAR-T-клетками, должны иметь рефрактерное заболевание, которое не прогрессирует быстро, для проведения лейкофереза, изготов-

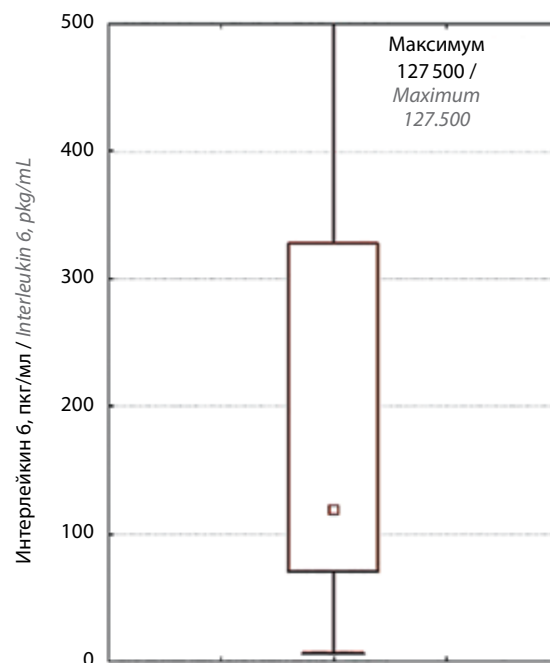


Рис. 6. Распределение пикового содержания интерлейкина 6 в периферической крови
Fig. 6. Distribution of peak interleukin-6 in peripheral blood

ления и инфузии CAR-T-клеток. У пациентов не должно быть активной неконтролируемой инфекции или диагноза первичной лимфомы центральной нервной системы. Наконец, у пациентов должна быть адекватная функция почек, печени, легких и сердца (хотя точные параметры немного различаются между продуктами). В реальных же условиях больше пациентов со статусом ECOG ≥ 2 , выраженной коморбидностью, сильной предлеченностью, быстрым прогрессированием заболевания, требующим bridging-терапии. Эти факторы могут приводить к снижению эффективности терапии. Так, реальный анализ данных 91 пациента с ДВКЛ, получавшего коммерческую терапию CAR-T в Великобритании, продемонстрировал заметно худшие ответы и частоту длительных ремиссий по сравнению с таковыми в ключевых исследованиях. При медиане наблюдения 4,8 мес медиана бессобытийной выживаемости составила всего 3,1 мес. Для пациентов, получающих аксикабтаген силолейсел, частота полного ответа составила 21 %, и примерно у 60 % наблюдалось прогрессирование. Для тисагенлеклейсела частота полного ответа составила 17 %, а прогрессирования заболевания — около 70 %. В этой популяции пациентов средний возраст был 56 лет; 88 % пациентов имели рефрактерность к самому последнему предшествующему лечению [15]. P. Sesques и соавт. сообщили о результатах лечения 61 пациента, получавшего axi-cel или tisa-cel в одном европейском центре, и показали ЧОО 45 % (в 3 мес); у 8 и 10 % пациентов были зафиксированы СВЦ III степени и ICANS (immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, синдром нейротоксичности, связанный с иммунными

эффекторными клетками) соответственно. Существенных различий не обнаружено между различными клеточными продуктами по эффективности и безопасности [16].

Еще важными моментами, ограничивающими доступность CAR-T-клеточной терапии, являются высокая стоимость этого метода и сложность логистики. В среднем общая стоимость терапии тисагенлеклейслом при В-клеточной лимфоме составила 515 150 долларов США, аксикабтагеном силотейслом — 503 955 долларов США. Основными факторами, влияющими на общую стоимость лечения, были цены на препараты CAR-T-клеток, сопроводительную терапию и купирование нежелательных явлений. Один из путей, способствующих снижению цены на препараты CAR-T-клеточной терапии, — это производство клеток в лечебных учреждениях по месту оказания медицинской помощи, так называемые академические CAR. В результате остаются только производственные затраты [17, 18].

В РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова отработана технология мануального изготовления анти-CD19 CAR-T-лимфоцитов. Цель нашего исследования заключалась в оценке эффективности CAR-T-клеточной терапии, а также ее безопасности и переносимости. Характеристики пациентов, получивших CAR-T-терапию в нашем центре, были сопоставимы с таковыми в других исследованиях реальной клинической практики [7, 8, 11]. Все пациенты отличались сильной предлеченностью, количество линий терапии в среднем составляло 3,5. У 1 пациентки после ауто-ТПСК развился рецидив заболевания, рефрактерный к 2 линиям терапии. В связи с быстропрогрессирующим процессом 3 пациентам было необходимо проведение bridging-терапии.

Наши результаты свидетельствуют о высокой антилимфомной активности полученных CAR-T-клеток.

ЧОО и ОВ сопоставимы с результатами как ключевых, так и исследований реальной практики. СВЦ и нейротоксичность отсутствовали у 6 из 8 пациентов. Симптомы СВЦ могут имитировать синдром системной воспалительной реакции. Несмотря на то что большинство лихорадок, наблюдаемых у пациентов с СВЦ, связано с высвобождением провоспалительных цитокинов, а не с сепсисом, сопутствующие неконтролируемые инфекции могут усугублять СВЦ и приводить к смерти пациентов [19]. В нашем случае у пациента К1. на 19-й день развился СВЦ III степени тяжести, к которому присоединились признаки септического шока, что привело к смерти на 23-й день. Количество ИЛ-6 повышалось к моменту проявления клинических симптомов СВЦ, достигнув максимума (127 500 пг/мл) к 21-му дню.

При сопоставлении пиковых значений ИЛ-6 и экспансии CAR-T-клеток выяснилось, что пик ИЛ-6 совпадает или опережает пик экспансии CAR-T-клеток на 3–4 дня. Этот показатель может быть хорошим биомаркером начинающегося СВЦ для своевременного его купирования рекомбинантным моноклональным антителом к человеческому рецептору ИЛ-6 — толизумабом.

Заключение

Результаты нашего исследования продемонстрировали эффективность и безопасность локально изготовленных так называемых академических CAR-T-клеток для лечения пациентов с рефрактерным течением В-клеточных лимфом. Эти результаты обнадеживают, однако необходимы дополнительные исследования с включением большего числа пациентов и более длительным периодом наблюдения, чтобы лучше определять, какая группа пациентов получит наибольшую пользу от CAR-T-терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. World Health Organization. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality. Int Agency Res Cancer 2020;68:1.
2. Океанов А.Е., Моисеев П.И., Левин Л.Ф. и др. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2012–2021 гг. Под ред. С.Л. Полякова. Минск: Профессиональные издания, 2022. 296 с.
Okeanov A.E., Moiseev P.I., Levin L.F. et al. Cancer in Belarus: facts and figures. Analysis of data from the Belarusian Cancer Registry for 2012–2021. Ed.: S.L. Polyakov. Minsk: Professional publications, 2022. 296 p. (In Russ.).
3. Coiffier B., Thieblemont C., van den Neste E. et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. Blood 2010;116(12):2040–5. DOI: 10.1182/blood-2010-03-276246
4. Sehn L.H., Salles G. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. N Engl J Med 2021;384(9):842–58. DOI: 10.1056/NEJMra2027612
5. Gisselbrecht C., Glass B., Mounier N. et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. J Clin Oncol 2010;28(27):4184–90. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.1618.
6. Armand P., Welch S., Kim H.T. et al. Prognostic factors for patients with diffuse large B cell lymphoma and transformed indolent lymphoma undergoing autologous stem cell transplant in the positron emission tomography era. Br J Haematol 2013;160(5): 608–17. DOI: 10.1111/bjh.12176
7. Nagle S.J., Woo K., Schuster S.J. et al. Outcomes of patients with relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma with progression of lymphoma after autologous stem cell transplantation in the rituximab era. Am J Hematol 2013;88(10):890–4. DOI: 10.1002/ajh.23524
8. Miller B.C., Maus M.V. CD19-targeted CAR T cells: a new tool in the fight against B cell malignancies. Oncol Res Treat 2015;38(12):683–90. DOI: 10.1159/000442170
9. Crump M., Neelapu S.S., Farooq U. et al. Outcomes in refractory diffuse large B-Cell lymphoma: results from the international

- SCHOLAR-1 study. *Blood* 2017;130(16):1800–8. DOI: 10.1182/blood-2017-03-769620
10. Lee D.W., Santomaso B.D., Locke F.L. et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25(4):625–38. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758
 11. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F. et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32(27):3059–68. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800
 12. Locke F.L., Ghobadi A., Jacobson C.A. et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2019;20(1):31–42. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30864-7
 13. Schuster S.J., Bishop M.R., Tam C.S. et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2019;380(1):45–56. DOI: 10.1056/NEJMoa1804980
 14. Abramson J.S., Palomba M.L., Gordon L.I. et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet* 2020;396(10254):839–52. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31366-0
 15. Kuhn A., Roddie C., Martinez-Cibrian N. et al. Real-world data of high-grade lymphoma patients treated with CD19 CAR T in England. *Blood* 2019;134(Suppl_1):767. DOI: 10.1182/blood-2019-124177
 16. Sesques P., Ferrant E., Safar V. et al. Commercial anti-CD19 CAR T cell therapy for patients with relapsed/refractory aggressive B cell lymphoma in a European center. *Am J Hematol* 2020;95(11):1324–33. DOI: 10.1002/ajh.25951
 17. Грибкова И.В., Завьялов А.А. Фармакоэкономический анализ терапии CAR T-клетками при диффузной В-крупноклеточной лимфоме и В-линейных костных лимфобластных лейкозах. *Клиническая онкогематология* 2022;15(2):205–12. DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-205-212
Gribkova I.V., Zavyalov A.A. Pharmacoeconomic analysis of CAR-T cell therapy in diffuse large B-cell lymphoma and B-lineage acute lymphoblastic leukemias. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2022;15(2):205–12. (In Russ.). DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-205-212
 18. Heine R., Thielen F.W., Koopmanschap M. et al. Health economic aspects of chimeric antigen receptor T-cell therapies for hematological cancers: present and future. *Hemasphere* 2021;5(2):e524. DOI: 10.1097/HS9.0000000000000524
 19. Frey N.V., Levine B.L., Lacey S.F. et al. Refractory cytokine release syndrome in recipients of chimeric antigen receptor (CAR) T cells. *Blood* 2014;124(21):2296. DOI: 10.1182/blood.V124.21.2296.2296

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Минск) А.А. Мигасу, А.Н. Мелешко, Т.В. Шман.

Acknowledgment. The authors are grateful to the staff of the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk), A.A. Migas, A.N. Meleshko, T.V. Shman.

Вклад авторов

Н.Е. Конопля, Т.М. Дорошенко, А.С. Портянко: обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи;
О.А. Каленик, И.Н. Северин, А.А. Саврицкая, Н.М. Боброва: сбор и обработка материала, редактирование статьи.

Authors' contributions

N.E. Konoplya, T.M. Doroshenko, A.S. Portyanko: literature review on the article topic, article writing;
O.A. Kalenik, I.N. Severin, A.A. Savritskaya, N.M. Bobrova: data collection and processing, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.Е. Конопля / N.E. Konoplya: <https://orcid.org/0000-0003-0592-7182>
О.А. Каленик / O.A. Kalenik: <https://orcid.org/0000-0001-8629-2830>
И.Н. Северин / I.N. Severin: <https://orcid.org/0000-0002-7697-4798>
А.А. Саврицкая / A.A. Savritskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9374-6711>
Т.М. Дорошенко / T.M. Doroshenko: <https://orcid.org/0000-0002-1099-0912>
А.С. Портянко / A.S. Portyanko: <https://orcid.org/0000-0003-2399-117X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Alexandrov Republican Research and Practical Center for Oncology and Medical Radiology.

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 02.05.2023. **Принята к публикации:** 15.06.2023.

Article submitted: 02.05.2023. **Accepted for publication:** 15.06.2023.