

**ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ СООТВЕТСТВИЯ HLA АЛЛЕЛЕЙ I И II КЛАССА
ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА НА РИСК РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ
РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» ПОСЛЕ АЛЛОГЕННЫХ
НЕРОДСТВЕННЫХ ТРАНСПЛАНТАЦИЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ
КЛЕТОК**

Кузьмич Е.В., Макаренко О.А., Алянский А.Л., Тимофеева Н.П., Иванова Н.Е.,
Бондаренко С.Н., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В.

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский
Университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, НИИ Детской Онкологии, Гематологии и Трансплантологии
имени Р.М. Горбачевой. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8*

тел. (812)-233-97-39 e-mail: yelenakuzmich@gmail.com.

Резюме

В настоящем исследовании проанализированы результаты 390 аллогенных неродственных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток, выполненных в Институте Детской Онкологии, Гематологии и Трансплантологии им. Р.М. Горбачевой в 2001-2012гг.

Цель работы – анализ влияния степени соответствия HLA аллелей I и II класса донора и реципиента на частоту развития острой и хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

Риск развития острой РТПХ 3-4 степени зависел от числа несоответствующих HLA аллелей у донора и реципиента, от локуса, в котором донор и реципиент имели несоответствующие аллели. Увеличение риска острой РТПХ 3-4 степени у пациентов, перенесших трансплантацию от доноров, подобранных по 9 из 10 аллелей, было ассоциировано с несоответствием в локусах HLA-DRB1, HLA-C, HLA-B.

Частота развития хронической РТПХ у пациентов, получивших трансплантат, подобранный по 10/10 и 9/10 HLA аллелей, была равнозначной.

Ключевые слова: аллогенная неродственная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, реакция трансплантат против хозяина, HLA аллели I и II класса донора и реципиента.

**IMPACT OF HLA CLASS I AND CLASS II ALLELES MATCHING OF THE
DONOR AND RECIPIENT ON THE RISK OF ACUTE AND CHRONIC GRAFT-
VERSUS-HOST DISEASE AFTER ALLOGENEIC UNRELATED HEMATOPOIETIC
STEM CELL TRANSPLANTATIONS**

Kuzmich E.V., Makarenko O.A., Alynskiy A.A., Timofeeva N.P., Ivanova N.E.,
Bondarenko S.N., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V.

*First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Raisa Gorbacheva Memorial
Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation*

Abstract

In the present study we analyzed the results of 390 unrelated allogeneic hematopoietic stem cell transplantations which were performed at Raisa Gorbacheva Memorial Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation between January 2001 and December 2012.

The aim of the study is to analyze the impact of HLA class I and class II alleles matching of the donor and recipient on the risk of acute and chronic graft-versus-host disease (GVHD).

The risk of grades III-IV acute GVHD was influenced by the number of mismatched alleles, individual class I and class II loci disparities of the donor and recipient. An increased risk of grades III-IV acute GVHD was associated with mismatched alleles of HLA-DRB1, HLA-C, HLA-B loci for 9 of 10 allele-matched pairs.

Hazards of chronic GVHD in the group with a 10/10 allele-matched transplant and in the group with a single I class allele and single II class allele mismatches were equal in the analyzed cohort.

Key words: unrelated allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, graft-versus-host disease, HLA class I and class II alleles of the donor and recipient.

Введение

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от подобранного по HLA системе неродственного донора - метод терапии гематологических и онкологических заболеваний, применяющийся при отсутствии HLA-идентичного родственного донора (сиблинга) [1].

Подбор пар донор/реципиент осуществляется по 10 HLA аллелям (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 локусы). Если донор, соответствующий данным требованиям, недоступен, альтернативным вариантом выбора может стать алло-ТГСК от неродственного донора, подобранного по 9 и менее HLA аллелям. Данный тип трансплантаций сопряжен с высоким риском развития тяжелых посттрансплантационных осложнений, в особенности – острой реакции «трансплантат против хозяина» [1].

Как было показано, частота развития острой РТПХ тяжелой степени зависит от числа несоответствующих HLA аллелей донора и реципиента, от локуса, в котором пациент и донор имеют несоответствующие аллели, от комбинации несоответствующих HLA аллелей [2-10].

Опубликованные данные отражают как общие, так и характерные для отдельных исследованных групп закономерности, что связано с генетическими факторами (вариабельность частот распределения HLA аллелей и гаплотипов в пределах различных популяций), клинико-биологическими характеристиками исследованных когорт пациентов.

Цель настоящей работы - исследование влияния степени соответствия HLA аллелей I и II класса донора и реципиента на риск развития острой и хронической РТПХ.

Материалы и методы

Проанализированы результаты 390 алло-ТГСК от неродственных доноров, выполненных в Институте Детской Онкологии, Гематологии и Трансплантологии им. Р.М. Горбачевой в 2001-2012гг.

Алло-ТГСК были проведены пациентам со следующими заболеваниями: острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – 115 (29,5%), острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) – 144 (36,9%), хронический миелолейкоз (ХМЛ) – 29 (7,4%), миелодиспластический синдром (МДС) – 31 (8,0%), лимфомы (лимфома Ходжкина, неходжскинская лимфома) – 16 (4,1%), апластическая анемия – 11 (2,8%), наследственные заболевания – 27 (6,9%), другие заболевания – 17 (4,4%) человек.

В данном исследовании при выполнении логистического регрессионного анализа пациенты с диагнозом лейкоз были разделены на группы стандартного и высокого риска рецидива. К группе стандартного риска рецидива относились пациенты в стадии 1 полной

ремиссии ОЛЛ, ОМЛ и 1 хронической фазы ХМЛ на момент проведения алло-ТГСК. К группе высокого риска рецидива относились пациенты в более продвинутой стадии заболевания. Группа стандартного риска включала 81 пациента, группа высокого риска – 207 пациентов.

Медиана возраста пациентов составила 21 год (диапазон от 1 года до 60 лет). Медиана возраста доноров составила 32 года (диапазон от 19 до 57 лет). Распределение пациентов по половому признаку было следующим: мужчины – 216 (55,4%), женщины – 174 (44,6%). Среди доноров преобладали лица мужского пола - 273 (70,0%). Распределение пар донор/реципиент по половому признаку представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение пар донор/реципиент по половому признаку

Пол донора/пациента	N	%
Мужчина/мужчина	63	41,8
Мужчина/женщина	111	28,5
Женщина/мужчина	52	13,3
Женщина/женщина	64	16,4

Перед проведением алло-ТГСК антитела класса IgG к вирусу цитомегалии были определены у 291 (74,6%) пациента и 134 (34,4%) доноров. Негативный серологический ЦМВ статус имели 85 (21,8%) пациентов и 242 (62,0%) донора. Распределение пар доноров/реципиент по серологическому ЦМВ статусу представлено в таблице 2.

Таблица 2

Распределение пар донор/реципиент по серологическому ЦМВ статусу

Серологический ЦМВ статус донора/реципиента	N	%
Позитивный/позитивный	103	26,4
Позитивный/негативный	31	7,9
Негативный/позитивный	188	48,2
Негативный/негативный	54	13,9
Неизвестен	14	3,6

При подготовке к проведению алло-ТГСК 263 (67,3%) пациента получили немиелоаблативные режимы кондиционирования, 127 (32,6%) пациентов – миелоаблативные режимы кондиционирования.

В качестве источника гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в 275 (70,5%) случаях использовались периферические стволовые клетки крови (ПСКК), в 115 (29,5%) случаях – костный мозг (КМ).

После алло-ТГСК клинические признаки острой РТПХ 3-4 степени наблюдались у 29,1% пациентов исследованной когорты. Определение тяжести течения острой РТПХ выполнено в соответствии с классификацией Glucksberg Н. [13]. В течение двух лет после алло-ТГСК у 62,0% пациентов отмечались клинические проявления хронической РТПХ.

Подбор пар реципиент/донор был осуществлен по 10 HLA аллелям (HLA-A,- В, -С, -DRB1,- DQB1) при использовании типирования высокого разрешения.

Иммуногенетические исследования выполнены с помощью методов полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных праймеров, сиквенс-специфичных олигонуклеотидных проб (наборы производства «One Lambda», США), метода секвенирования (наборы производства «Protrans», Германия).

Согласно стандартам Европейской Федерации Иммуногенетики (EFI) соответствие HLA аллелей донора и реципиента констатировалось при наличии идентичной нуклеотидной последовательности экзона 2 и экзона 3 для локусов HLA класса I, экзона 2 для локусов HLA класса II [11, 12]. При отсутствии идентичности нуклеотидной последовательности в пределах вышеперечисленных экзонов аллели донора и реципиента расценивались нами как «несоответствующие».

Для анализа риска развития РТПХ несоответствие аллелей оценивалось в векторе «трансплантат против хозяина» (наличие у реципиента аллелей, отсутствующих у донора).

Статистический анализ данных выполнен с помощью пакета SAS Enterprise Guide (версия 5.1). Для сравнения риска развития РТПХ в группах с разной степенью соответствия HLA аллелей донора и реципиента использован точный тест Фишера. Для анализа влияния степени соответствия HLA аллелей донора и реципиента и клинических факторов на частоту развития острой РТПХ 3-4 степени использован метод логистической регрессии.

Результаты

Из числа пациентов исследованной когорты 289 (74,1%) человек получили трансплантат от доноров, подобранных по 10 из 10 HLA аллелей.

Алло-ТГСК от доноров, подобранных по 9 из 10 аллелей, была выполнена 81 пациенту. В данной группе 82,7% больных имели несоответствие с донором по одному аллелю HLA класса I. Несоответствие по одному аллелю HLA класса II наблюдалась в 17,3% случаев.

Среди пациентов, получивших трансплантат от доноров, подобранных по 9 из 10 аллелей, наиболее часто встречалось несоответствие в локусе HLA-C (32,1 % случаев). Несоответствие пациента и донора по одному аллелю локуса HLA-A наблюдалось в 27,2%, HLA-B - 23,4%, HLA-DRB1 - 6,2%, HLA-DQB1 – 11,1% случаев.

Алло-ТГСК от доноров с несоответствием по 2 и более HLA аллелям была выполнена 20 пациентам исследованной когорты.

Риск развития острой реакции «трансплантат против хозяина» 3-4 степени зависел от числа несоответствующих HLA аллелей у донора и реципиента. В группе пациентов, имеющих несоответствие с донором по одному HLA аллелю I или II класса, относительный риск развития острой РТПХ 3-4 степени по сравнению с пациентами, получившими трансплантат, подобранный по 10 аллелям, составил 1.98 (CI 1.42-2.76; $p<0.001$). При наличии у пациента и донора несоответствия по 2 и более HLA аллелям I, II класса относительный риск развития острой РТПХ 3-4 степени составил 2.71 (CI 1.65-4.45; $p=0.007$). Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние степени соответствия HLA аллелей донора и реципиента на риск развития острой и хронической РТПХ

Характеристика степени соответствия HLA аллелей донора и реципиента	Острая РТПХ 3-4степени RR (CI)	Хроническая РТПХ RR (CI)
10 из 10 аллелей	1.00	1.00
9 из 10 аллелей	1.98 (1.42-2.76) $P<0.001$	1.11 (0.86-1.43) $P=0.56$
9 из 10 аллелей, несоответствие в I классе	1.98 (1.39-2.82) $P<0.001$	1.14 (0.87-1.50) $P=0.52$
9 из 10 аллелей, несоответствие во II классе	1.97 (1.05-3.68) $P=0.09$	1.01 (0.58-1.75) $P=1.00$
8 и менее из 10 аллелей	2.71 (1.65-4.45) $P=0.007$	

Примечание: здесь и далее - RR - относительный риск; CI - 95% доверительный интервал.

Частота развития острой РТПХ 3-4 степени у пациентов, перенесших алло-ТГСК от донора, подобранного по 9/10 аллелей, зависела от локуса, в котором донор и реципиент имели несоответствие. Увеличение частоты развития острой РТПХ тяжелой степени было ассоциировано с несоответствием в локусах HLA-DRB1, HLA-C, HLA-B. Относительный риск при несоответствии в HLA-DRB1 локусе составил 2.89 (CI 1.57-5.29; $p=0.03$), в HLA-C локусе – 2.36 (CI 1.52-3.67; $p=0.004$), в HLA-B локусе – 2.16 (CI 1.30-3.61; $p=0.02$). Наличие несоответствия в локусах HLA-A и HLA-DQB1 не оказывало существенного влияния на риск развития острой РТПХ 3-4 степени. Результаты анализа представлены в таблице 4.

Таблица 4

Влияние несоответствия в различных локусах HLA системы на риск развития острой РТПХ 3-4 степени

Характеристика степени соответствия HLA аллелей донора и реципиента	Острая РТПХ 3-4 степени RR (CI)
10 из 10 аллелей	1,0
9 из 10 аллелей, несоответствие в HLA-A локусе	1.32 (0.63-2.89) $P=0.54$
9 из 10 аллелей, несоответствие в HLA-B локусе	2.16 (1.30-3.61) $P=0.02$
9 из 10 аллелей, несоответствие в HLA-C локусе	2.36 (1.52-3.67) $P=0.004$
9 из 10 аллелей, несоответствие в HLA-DRB1 локусе	2.89 (1.57-5.29) $P=0.03$
9 из 10 аллелей, несоответствие в HLA-DQB1 локусе	1.24 (0.38-4.07) $P=0.67$

Анализ 2-летних кумулятивных событий хронической РТПХ показал, что частота развития осложнения в группах пациентов, перенесших алло-ТГСК от доноров, подобранных по 10/10 аллелей и 9/10 аллелей, не имела статистически значимых различий (61,1% и 68,6% пациентов соответственно). Результаты представлены в таблице 3.

Следующие факторы, влияющие на результаты алло-ТГСК, были учтены в пошаговом логистическом регрессионном анализе: диагноз, группа риска рецидива (лейкозы), возраст пациента, возраст донора, подбор пар донор/реципиент по полу, ЦМВ

серологический статус донора и реципиента, режим кондиционирования, источник гемопоэтических стволовых клеток.

Логистический регрессионный анализ показал, что наряду с несоответствием аллелей донора и реципиента в локусах HLA- DRB1, HLA-C, HLA-B статистически значимыми факторами риска развития острой РТПХ тяжелой степени были применение периферических стволовых клеток крови в качестве источника ГСК и миелоаблативный режим кондиционирования.

Результаты анализа приводятся в таблице 5

Таблица 5

Влияние иммуногенетических и клинических факторов на риск развития острой РТПХ 3-4 степени

Локус	HLA подбор 9/10 против 10/10, OR (CI)	Режим кондиционирования: миелоаблативный против немиелоаблативного, OR (CI)	Источник ГСК: ПСКК против КМ, OR (CI)
HLA-B	3.08 (1.12-8.49) P=0.03	1.78 (1.00-3.19) P=0.049	-
HLA-C	3.59 (1.34-9.63) P=0.01	-	2.28 (1.09-4.77) P=0.03
HLA- DRB1	8.62 (1.33-55.9) P=0.02	-	3.08 (1.40 -6.78) P=0.005

Примечание: OR – соотношение шансов; CI – 95% доверительный интервал.

Обсуждение

Таким образом, выполненный анализ показал, что степень соответствия HLA аллелей I и II класса донора и реципиента является фактором, оказывающим существенное влияние на риск развития острой РТПХ тяжелой степени после аллогенных неродственных ТГСК.

Частота развития данного осложнения значительно возросла при увеличении числа несоответствующих HLA аллелей у донора и реципиента.

Риск развития острой РТПХ у пациентов, перенесших алло-ТКМ от доноров, подобранных по 9/10 аллелям, зависел от локуса, в котором донор и реципиент имели

несоответствие. Наличие несоответствующих аллелей в HLA-DRB1, HLA-C, HLA-B локусах было выраженным фактором риска для пациентов исследованной когорты.

Для сравнения полученных результатов обратимся к данным CIBMRT (the Center for International Blood and Marrow Transplant Research), 2007г. Проанализированы исходы 3857 аллогенных неродственных трансплантаций костного мозга, выполненных в США в период 1998-2003гг. Применялись миелоаблативные режимы кондиционирования, костный мозг в качестве источника гемопоэтических стволовых клеток (в 94% случаев). Установлено, что в группе пациентов, подобранных с донором по 9/10 HLA аллелям, наличие несоответствия в HLA-A, HLA-B, HLA-C локусах обуславливало наибольший риск развития острой РТПХ тяжелой степени [3].

В нашей работе мы не получили статистически значимых различий при сравнении риска развития острой РТПХ 3-4 степени в группах с подбором 10/10 и 9/10 с несоответствием в локусе HLA-A.

Наличие несоответствия в локусе HLA-DQB1 в случае 9/10 подобранных доноров не увеличивало частоту развития острой РТПХ тяжелой степени, что согласуется с данными литературы [5].

Вероятность развития хронической РТПХ в группах пациентов, перенесших алло-ТГСК от доноров, подобранных по 10/10 аллелей и 9/10 аллелей, была равнозначной, что также соответствует данным, представленным в литературе [9].

Результаты нашей работы, могут быть использованы в практической деятельности врачей-гематологов при планировании проведения алло-ТГСК от неродственных доноров. В первую очередь в тех случаях, когда для пациента недоступен донор с соответствием по 10 HLA аллелям, и предстоит выбор «наименьшего риска» из числа нескольких доноров с меньшей степенью соответствия HLA аллелей.

Литература

1. Petersdorf E.W. Risk assessment in hematopoietic stem cell transplantation // Best Pract. Res. Clin. Haematol.- 2007.- Vol.20.-P.155-170.
2. Petersdorf E.W., Malkki M., Hsu K. et al. 16th IHIW: International Histocompatibility Working Group in Hematopoietic Cell Transplantation // International Journal of Immunogenetics.- 2013.- Vol.40.- P. 2-10.
3. Lee S.J., Klein J., Haagenson M. et al. // High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation //Blood.-2007.- Vol.110.-P.4576-4583.
4. Tiercy J.M., Passweg J., Van Biezen A. et al. Isolated HLA-C mismatches in unrelated donor transplantation for CML //Bone Marrow Transplantation.- 2004.- Vol. 34.- P. 249–255.
5. Flomenberg N., Baxter-Lowe L.A., Confer D. et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome // Blood. – 2004.-Vol.104.- P.1923-1930.
6. Morishima Y., Yabe T., Matsuo K. et al. Effects of HLA allele and killer immunoglobulin-like receptor ligand matching on clinical outcome in leukemia patients undergoing transplantation with T-cell-replete marrow from an unrelated donor // Biol. Blood Marrow Transplant. - 2007.- Vol.13,N.3.- P. 315-328.
7. Kawase T., Morishima Y., Matsuo K. et al. High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism // Blood. – 2007.- Vol.110.- P. 2235-2241.
8. Yagasaki H., Kojima S., Yabe H. et al. Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia //Blood.- 2011.- Vol.118.- P.3186-3190.
9. Woolfrey A., Klein J.P., Haagenson M. et al. HLA-C antigen mismatch is associated with worse outcome in unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation // Biol. Blood Marrow Transplant. - 2011. – Vol.17, N.6.- P.885-892.
10. Fernandez-Vina M.A., Wang T., Lee S.J. et al. Mismatches for HLA-C*03:03/03:04 may be better tolerated than other mismatches in unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation // Tissue Antigens.-2013.-Vol.81, N.5.-P.292.
11. Nunes E., Heslop H., Fernandez-Vina M. et al. Definitions of histocompatibility typing terms: Harmonization of Histocompatibility Typing TermsWorking Group // Human Immunology.-2011.-Vol.72.-P.1214-1216.

12. Standards for Histocompatibility and Immunogenetics Testing - version 6.0, 2012, EFI. (<http://efiweb.eu/>)

13. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-vs-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors // Transplantation.- 1974.-Vol.18.-P.295-304.