

персистенции CAR T-клеток составила 60 суток (13-90). У всех реципиентов с отмеченной экспансией CAR T-клеток наблюдалась В-клеточная аплазия. Реакцию CRS наблюдали у 77% реципиентов: степень 1 – у 7 пациентов, степень 2 – в 1 случае, степень 3 – у 2 пациентов. Нейротоксичность наблюдали у 46% реципиентов: 1-й степени – у 5 пациентов, 3-ей степени – у 1 пациента.

Полный ответ был зафиксирован для 6 из 8 пациентов с В-линейным ОЛЛ. Один пациент не ответил на проводимую CAR T-терапию и впоследствии умер от прогрессирования, один пациент умер от осложнений (CRS + сепсис) до достижения клинического ответа. У 3 из 6 вышедших в ремиссию пациентов был зафиксирован рецидив спустя 4, 5 и 18 месяцев после проведения CAR T-терапии, соответственно. Медиана продолжительности ремиссии в данной группе составила 9 месяцев (4-18). В группе из 5 пациентов с В-клеточными лимфомами

полный ответ был зафиксирован для 3, частичный – для 1 пациента, и 1 пациент умер от осложнений (CRS + сепсис) до достижения клинического ответа. Пациенты с полным ответом находятся в ремиссии 1, 6 и 10 месяцев соответственно. Пациент с частичным ответом готовится к аутологичной трансплантации гемопоэтической стволовой клетки. Общий исход: в живых – 9 пациентов, умерло – 4, медиана продолжительности наблюдения составила 6 мес. (1-20).

Вывод

Данный метод воспроизводим в клинических условиях и, по результатам текущих наблюдений, обладает достаточной эффективностью в лечении ОЛЛ.

Ключевые слова

CAR T-клеточная терапия, В-ОЛЛ, В-клеточная лимфома.

GC-02

Resistance to anti-CD19 CAR T-cell therapy. Case report

Alexandr A. Migas¹, Tatsiana V. Shman¹, Anna V. Klych¹, Elena S. Lukojko¹, Evgeniy V. Dmitriev¹, Lyudmila V. Movchan¹, Mikalai A. Katsin³, Inna V. Proleskovskaya¹, Olga V. Aleinikova²

¹ Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus; ² Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia; ³ Vitebsk Regional Center of Clinical Oncology, Vitebsk, Republic of Belarus

Contact: Dr. Alexandr A. Migas, e-mail: alexandr.migas@gmail.com

Introduction

Primary resistance to CAR T-cell therapy occurs in 10-20% of pediatric B-ALL cases [PA Atilla, 2022]. Impaired functional activity of CAR T-cells and biological properties of leukemic cells are among the causes of described phenomenon. Anti-CD19 CAR T-cell therapy was carried out at Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (BRCPOHI) for 8 B-ALL patients with one case proven to have primary resistance to the given therapy.

Materials and methods

A 7-year old boy was diagnosed with B-ALL, positive for *MLL (KMT2A)* gene rearrangement (*MLL-AF9*), BIII immunophenotype positive for NG2, CD33, CD65 and CD15 expression. Short-term remission was achieved after treatment according to ALL-MB-2015 protocol with subsequent isolated bone marrow (BM) early relapse I. Leukemic cells were still positive for *MLL-AF9*, but immunophenotype changed to BI with CD33 and CD15 expression. Anti-relapse treatment failed to induce remission. Moreover, leukemic clone acquired multi-drug resistance to chemotherapy. The decision was made to perform anti-CD19 CAR T-cell therapy. Taking into account high tumor burden (93% of blast cells in BM) and patient general condition, final dose of CAR-T-cells (1×10^6 cells/kg) was given as fractionated infusions of 10% and 90% over 7 days. Immune monitoring did not reveal significant CAR T-cell expansion in recipient BM or peripheral blood (PB). Peak concentration of CAR T-cells in patient PB was 0.05 cells/ μ l, while median value in group of 7 patients with noticed expansion was 17 cells/ μ l [range 1.7-224].

Despite carried out immunotherapy, growth of leukemic blasts' count was observed in PB and BM. Immunophenotyping of leukemic cells at this stage revealed mixed phenotype (B/My). Patient died of the disease progression 30 days after the last injection of CAR-T-cells.

Results

It is well known that efficiency of CAR T-cell therapy depends dramatically on cell product characteristics. High content of exhausted and terminally differentiated T-cells significantly reduce their potential for expansion and persistence *in vivo*. In described case number of CCR7-positive CD4 and CD8 T-cells in final product was 84% and 90% correspondingly. Moreover, CAR-T-cells demonstrated high *in vitro* cytotoxicity against model cell line and recipient leukemic blasts. It was previously reported that multi-lineage phenotype (CD19, CD20, CD33, CD34) is frequent in CAR T-cell therapy non-responders [KE Masih, 2022]. It must be noticed, that B/My phenotype was also observed in described patient. Another one mechanism of primary resistance to CAR-T-cell therapy is CD58 gene mutations or loss of corresponding protein expression on tumor cells [RG Majzner, 2020, Xin Yan, 2022]. CD58 protein is a ligand for T-cell costimulatory receptor CD2. Disruption of CD58 interaction with its partner CD2 leads to formation of suboptimal immunological synapse, which results in impairment of CAR T-cell functional activity and loss of its expansion potential. Normalized to healthy lymphocytes, coefficient of CD58 expression on the surface of given patient blasts was 0.95. Whereas median value for the same parameter in group of CAR T-therapy responders was 2.46 (range 1.2-6.56).

Conclusions

We suppose that the described case of primary resistance of B-ALL to anti-CD19 CAR T-cell therapy can be explained by patient's leukemic cells properties: mixed immunophenotype and rearrangement of *MLL* gene, decreased expression/loss of surface CD58 antigen.

Keywords

Total body irradiation, allo-HSCT, children, hemoblastoses, radiation therapy.

Устойчивость к анти-CD19 CAR-T-клеточной терапии: Описание клинического случая

Александр А. Мигас¹, Татьяна В. Шман¹, Анна В. Клыч¹, Елена С. Лукойко¹, Евгений В. Дмитриев¹, Людмила В. Мовчан¹, Николай А. Катин³, Инна В. Пролесковская¹, Ольга В. Алейникова²

¹ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь; ² Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия; ³ Витебский областной клинический онкологический диспансер, Витебск, Республика Беларусь

Введение

Первичная резистентность к CAR T-клеточной терапии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом (В-ОЛЛ) наблюдается с частотой до 20% случаев [Atilla RA, 2022]. Причиной данного явления может быть, как сниженная функциональная активность CAR-T-клеток, так и биологические особенности опухолевого клона. В Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦДОГИ) анти-CD19 CAR T-терапия была проведена для 8 пациентов с В-ОЛЛ, у одного из которых наблюдали резистентность к данной терапии.

Материалы и методы

Мальчик в возрасте 7 лет поступил в РНПЦДОГИ, где был установлен диагноз В-ОЛЛ с наличием перестройки *MLL* (*KMT2A*) гена (*MLL-AF9*), ВПН иммунофенотип с положительной экспрессией NG2, CD33, CD65 и CD15. После проведения терапии согласно протоколу ALL-MB-2015 была достигнута непродолжительная ремиссия, за которой последовал ранний I изолированный (КМ) рецидив. При рецидиве опухолевые клетки сохраняли *MLL-AF9* перестройку, но соответствовали ВПН иммунофенотипу с экспрессией CD33 и CD15. После курса противорецидивной терапии пациент не достиг ремиссии, развил химиорезистентность, вследствие чего было принято решение о проведении анти-CD19 CAR-T-терапии. Учитывая высокую опухолевую нагрузку (93% бластных клеток в костном мозге) и общее состояние пациента, CAR T-клетки вводили дробно в количестве 10% и 90% от расчетной дозы (1×10^6 клеток/кг) с интервалом 7 суток. Иммуномониторинг не выявил значимой экспансии CAR-T-клеток в организме реципиента. Пиковое содержание CAR T-клеток в периферической крови составило 0,05 клеток/мкл, тогда как значение медианы пикового уровня CAR T-клеток для остальных 7 пациентов составило 17 (1,7-224) клеток/мкл. Несмотря на проведенную иммунотерапию наблюдали рост содержания бластных клеток в костном мозге и периферической крови. При иммунофенотипировании на стадии прогрессии был выявлен смешанный фенотип (В/Му) лейкоэмических клеток. Спустя 30 суток после последнего введения CAR T-клеток пациент умер от прогрессирования основного заболевания.

Результаты

Известно, что особенности CAR T-клеточного продукта влияют на эффективность терапии. Так, высокое содержание терминально дифференцированных, истощенных Т-клеток в конечном продукте снижает их способность к экспансии/персистенции. В клеточном продукте, полученном для описываемого пациента, содержание CCR7-позитивных клеток составило 84% и 90% для CD4 и CD8 CAR T-клеток соответственно. Также была подтверждена высокая цитотоксическая активность CAR T-клеток пациента в тесте *in vitro*, как в отношении модельной клеточной линии, так и собственных опухолевых клеток реципиента. Согласно литературным данным смешанный фенотип лейкоэмических клеток (CD19, CD20, CD33, CD34), наблюдаемый и в описываемом случае, с высокой частотой встречается среди пациентов, не отвечающих на CAR T-терапию [KE Masih, 2022]. Еще одним из описанных ранее механизмов первичной резистентности является возникновение мутаций в гене, кодирующем белок CD58, либо снижение его экспрессии на поверхности опухолевых клеток [RG Majzner, 2020, Xin Yan, 2022]. CD58 является лигандом для костимуляторной молекулы CD2, и нарушение их взаимодействия приводит к формированию неэффективного иммунологического синапса между CAR T-лимфоцитом и опухолевой клеткой из-за чего снижается функциональная активность CAR T-клеток и их способность к экспансии. Нормализованный относительно здоровых лимфоцитов коэффициент экспрессии CD58 на поверхности опухолевых клеток пациента составил 0,95. При этом, медианное значение для аналогичного показателя в группе пациентов с эффективной экспансией CAR T-клеток составило 2,46 (1,2-6,56).

Вывод

Таким образом, описанный случай резистентности В-ОЛЛ к анти-CD19 CAR T-терапии можно объяснить выявленными особенностями лейкоэмических клеток пациента: смешанный иммунофенотип (В/Му), наличие перестройки с участием гена *MLL*, сниженный уровень (отсутствие) экспрессии CD58.

Ключевые слова

CAR T-клеточная терапия, В-ОЛЛ, первичная резистентность, CD58.