

# Influence of co-transplanted mesenchymal stem cell upon immunological recovery after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children

Yuliya E. Mareika, Tatiana V. Shman, Yanina I. Isaikina, Nina V. Minakovskaya, Natalia P. Kirsanova, Olga V. Aleynikova  
Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Contact: Dr. Yuliya E. Mareika  
Phone: +375 29 336 35 77

Fax: +375 17 265 42 22  
E-mail: mue@inbox.ru

The aim of this study was to evaluate effects of mesenchymal stem cells (MSCs) co-transplantation upon dynamics of immunological reconstitution during post-transplant period after allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HSCT) in children.

## Patients and Methods

Twenty-two patients aged 3 to 18 years were included into the single randomised study. Ten patients comprised a MSC+ group, having been transplanted with HSC and co-transplanted with mesenchymal stem cells (acute lymphoblastic leukemia, 5 children; acute myeloid leukaemia, 2 patients; acquired aplastic anemia, 3 cases). The median number of MSCs infused was  $1,56 \pm 0,4 \times 10^6/\text{kg}$ . Twelve patients (acute lymphoblastic leukemia, 5 children; acute myeloid leukaemia, 2; acquired aplastic anemia, 4; severe congenital neutropenia, 1) were transplanted with HSC without MSC cotransplantation (MSC- group). Patients from the both groups were identical by nosological forms of the disease, age, sex, donors type, conditioning regiment, graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis and graft composition. MSCs were derived from donors bone marrow. Immunological recovery was evaluated: B-cells by expression CD19+; natural killers (NK) cells – by CD3-/CD16CD56+, T-cells - by CD3+, T helper cells – by CD3+CD4+, cytotoxic T-cells – by CD3+CD8+; activated T-cells – by CD3+HLA-DR+ with flow cytometry. Assessment of immunological parameters in both groups was performed on +30, +60, +100 +180 и +365 days after allogeneic HSCT.

## Results

Previously we have shown that the recovery of leukocytes, neutrophils and platelets was significantly faster in the patients co-transplanted with MSCs. The incidence of acute GVHD stage II-IV in the «MSC+» group was 20% (2 patients of 10) versus 58% in the «MSC-» group (7/12). The incidence of chronic GVHD in the «MSC+» group was 30% (3/10), being diagnosed as limited forms only, whereas in the «MSC-» group, 25% (3/12), all of them exhibited extensive chronic GVHD. We have found lower percentages of T-cells in the group of patients co-transplanted with MSCs from day +30 to day +100, as compared with the «MSC-» group. The quantity of activated T-cells in the «MSC+» group was also lower at all observation terms. Similarly, a decreased level of cytotoxic T-cells was revealed in the «MSC+» group when compared with «MSC-» group up to day +180. The NK cell quantity was also increased from +30 to +180 days in the «MSC+» group. I.e., the NK absolute counts at +30 day in the «MSC+» group were  $0,06 (0,06-0,17) \times 10^9/\text{l}$ , whereas in the «MSC-» group,  $0,037 (0,02-0,04) \times 10^9/\text{l}$  ( $p=0,03$ ). The group of patients with MSC co-transplantation differs by earlier recovery of B-cells that it got significant up to +100 day. B-cells absolute count at +100 day in the «MSC+» group was  $0,1 (0,06-0,2) \times 10^9/\text{l}$ , whereas in the «MSC-» group –  $0,02 (0,002-0,1) \times 10^9/\text{l}$  ( $p=0,05$ ) due to lower volume immunosuppressive therapy in «MSC+» group. Conclusion. Over the early period after HSCT, the MSCs co-transplantation prevents excessive activation of immune system and leads to lower rates of grade II-IV acute GVHD. At the later post-transplant period, it results into earlier reconstitution of humoral immunity and prevents severe extensive chronic GVHD.

## Keywords

Allogeneic hematopoietic cell transplantation, children, immunological recovery, mesenchymal stem cells.

# Влияние котрансплантации мезенхимальных стволовых клеток на показатели иммунологического восстановления после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей

Юлия Е. Марейко, Татьяна В. Шман, Янина И. Исайкина, Нина В. Минаковская, Наталья П. Кирсанова, Ольга В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Целью исследования явилось изучение влияния котрансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на восстановление иммунологических показателей в посттрансплантационном периоде при выполнении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у детей.

## Пациенты и методы

В простое рандомизированное исследование были включены 22 пациента в возрасте 3–18 лет, из них 10 пациентов (острый лимфобластный лейкоз 5 детей, острый миелоидный лейкоз – 2, приобретенная апластическая анемия – 3) получили аллогенную ТГСК и котрансплантацию МСК в средней дозе  $1,56 \pm 0,4 \times 10^6/\text{кг}$  («МСК+» группа), а 12 пациентов (острый лимфобластный лейкоз 5 детей, острый миелоидный лейкоз – 2, приобретенная апластическая анемия – 4, врожденная нейтропения – 1) – аллогенную ТГСК без использования МСК («МСК-» группа). Пациенты обеих групп были сопоставимы по нозологическим формам, возрасту, полу, типу донора, режимам кондиционирования, профилактике РТПХ и составу трансплантата. МСК получали из костного мозга доноров. Иммунологическое восстановление оценивали: В-клеток по экспрессии CD19+; естественных киллерных (ЕК) клеток – по CD3-/CD16CD56+, Т-клеток – по CD3+, Т-хелперных клеток – по CD3+CD4+, Т-цитотоксических клеток – по CD3+CD8+; активированных Т-клеток – по CD3+HLA-DR+ методом проточной цитофлуориметрии. Исследования иммунологических показателей у пациентов обеих групп проводились на +30, +60, +100 +180 и +365 сутки после ТГСК.

## Результаты

Ранее нами было показано, что пациенты, получившие котрансплантацию МСК, достоверно быстрее восстанавливают лейкоциты, нейтрофилы и тромбоциты (Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2013; 12 (4): 13-18.). Частота проявлений острой реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) 2-4 стадий в группе «МСК+» составила 20% (у 2 пациентов из 10), в группе «МСК-» – 58,3% (у 7 детей из 12). Частота проявлений хронической РТПХ в группе

«МСК+» составила – 30% (у 3 реципиентов из 10), причем диагностирована только ограниченная форма, в группе «МСК-» – 25% (у 3 из 12 пациентов), у всех наблюдалась распространенная форма. При сравнении иммунологических показателей в группе пациентов, получивших котрансплантацию МСК, отмечается сниженный процент Т-клеток по сравнению с группой без МСК с +30 по +100 дни. При этом количество активированных Т-клеток в группе «МСК+» также ниже на всех исследуемых точках. Аналогично, при сравнении групп «МСК+» и «МСК-» выявлено снижение процента цитотоксических Т-клеток в группе пациентов с МСК до +180 дня. В группе пациентов «МСК+» также увеличено содержание ЕК-клеток с +30 по +180 дни по сравнению с группой пациентов «МСК-». Так, абсолютное содержание ЕК-клеток на +30 сутки в группе «МСК+» составило  $0,06 (0,06-0,17) \times 10^9/\text{л}$ , тогда как в «МСК-» группе –  $0,037 (0,02-0,04) \times 10^9/\text{л}$  ( $p=0,03$ ). При этом группа пациентов «МСК+» отличается более ранним восстановлением В-лимфоцитов, что становится особенно заметным к дню +100. Абсолютное содержание В-клеток в группе с котрансплантацией МСК на +100 день составляло  $0,1 (0,06-0,2) \times 10^9/\text{л}$ , тогда как в группе без нее –  $0,02 (0,002-0,1) \times 10^9/\text{л}$  ( $p=0,05$ ), что может быть связано с меньшим объемом иммуносупрессивной терапии в группе пациентов «МСК+».

## Заключение

Таким образом, исследование показало, что в ранние сроки после ТГСК котрансплантация МСК предотвращает избыточную активацию иммунной системы, что приводит к меньшей частоте развития острой РТПХ, а в позднем посттрансплантационном периоде ведет к более раннему восстановлению гуморального иммунитета, что предупреждает развитие тяжелых распространенных форм хронической РТПХ.

## Ключевые слова

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, дети, иммунологическое восстановление, мезенхимальные стволовые клетки.