



Efficacia della terapia con infusione di Linfociti T citotossici EBV correlati e Rituximab in paziente trapiantato di polmone affetto da Leiomiosarcoma e Linfoma B a grandi cellule EBV-associati: descrizione di un caso

Silvia Di Stasi, Rita Di Domenica, Valentina Conio, Alessandro Cascina,
Federica Meloni, Tiberio Oggionni

*Clinica delle Malattie dell'Apparato Respiratorio, Università degli Studi di Pavia,
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Efficacia della terapia con infusione di Linfociti T citotossici EBV correlati e Rituximab in paziente trapiantato di polmone affetto da Leiomiosarcoma e Linfoma B a grandi cellule EBV-associati: descrizione di un caso

Il leiomiosarcoma EBV correlato è una rara complicanza del trapianto di organo solido. Fino ad ora sono stati riportati solo 4 casi in pazienti trapiantati di polmone o di cuore/polmone. Presentiamo ora il caso di un uomo di 69 anni sottoposto a trapianto bipolmonare per UIP che ha sviluppato metastasi multifocali da leiomiosarcoma EBV-correlato con interessamento polmonare, epatico e intestinale e, successivamente, un linfoma B diffuso a grandi cellule. Il decorso è stato caratterizzato da un buon controllo dell'evoluzione delle neoplasie grazie all'infusione di linfociti T citotossici autologhi e Rituximab. I CTL EBV-specifici policlonali derivati dal paziente sono stati espansi *in vitro* e attivati usando linee cellulari linfoblastoidi autologhe. Il loro utilizzo non ha dato luogo a significative complicanze correlate a fenomeni di autoreattività o di rigetto.

Epstein Barr Virus Related-Leiomyosarcoma (EBV-LMS) and diffuse large B-cell lymphoma efficaciously treated with autologous EBV specific T cell infusions(a-CTL) and Rituximab

EBV-LMS is a rare complication of solid-organ Transplant (Tx). Only 4 cases have been reported up to now in heart/lung or lung Tx recipients. We here report a case of a 68Ys old male recipient of a double lung Tx for UIP developing multifocal/methastatic EBV-LMS leiomyosarcoma (lung/liver/intestinal involvement) and diffuse large B-cell lymphoma. After a few months of treatment the clinical course is characterized by a good control of the health status due to infusion of autologous cytotoxic T lymphocytes and Rituximab. The infusion of autologous cytotoxic T lymphocytes treatment consists of EBV-specific polyclonal CTL derived from patients who have been expanded and activated *in vitro* using autologous lymphoblastoid cell lines. Their use has not given rise to important complications as the autoreactivity or rejection.

Introduzione

L'immunocompromissione nei pazienti trapiantati di organo solido comporta un aumento del rischio di neoplasie maligne infatti tra il 5% e il 40% circa di tutti i trapiantati sviluppa, dopo una latenza di qualche decennio dal trapianto, neoplasie dovute all'immunosoppressione. L'incidenza di neoplasie post-trapianto di organi solidi è fortemente dipendente dall'intensità delle terapie antirigetto; è stato documentato che l'utilizzo di anticorpi monoclonali o policlonali per indurre un'azione antilinfocitaria associata ad elevati livelli di ciclosporina e di tacrolimus, comporta un aumentato rischio di sviluppare neoplasie[1]. I tumori più frequentemente diagnosticati in pazienti trapiantati sono linfomi, carcinomi a cellule squamose della pelle, cancro gastrico, e carcinoma uroteliale.

La stragrande maggioranza dei linfomi associata ad Epstein-Barr virus (EBV) viene classificata come disordine linfoproliferativo post-trapianto (PTLD) [2]. L'EBV è stato anche implicato nell'induzione di tumori leiomiomatosi in pazienti trapiantati di un organo solido, anche se questa correlazione è di assai raro riscontro. Finora ne sono stati documentati solo pochi casi e la maggior parte di questi è stata osservata in bambini o giovani adulti. Come già dimostrato nelle PLTD, il fatto che questi tumori mesenchimali compaiano dopo il trapianto di organo solido e contengano il genoma di EBV, suggerisce che i virus abbiano un ruolo cruciale nello sviluppo di queste neoplasie [3]. I meccanismi esatti dell'oncogenesi non sono ancora noti. I leiomiiosarcomi associati ad EBV sono tumori con cattiva prognosi: sono stati riportati alcuni casi, oltre ai suddetti, in pazienti affetti da AIDS, in pazienti affetti da altre sindromi da immunodeficienza, e in trapiantati di cellule staminali. Inoltre sono già noti alcuni quadri di associazione tra leiomiiosarcoma e PTLD come il nostro.

Discutiamo la gestione di successo di un trapiantato di polmone di 69 anni che ha sviluppato recidive di leiomiiosarcoma EBV-associato poi stabilizzatosi e, in seguito, un linfoma diffuso a grandi cellule B.

Caso clinico

S.P. uomo di 69 anni.

In anamnesi il paziente presenta ipertensione arteriosa sistemica lieve in trattamento con Ramipril, gastrite cronica, insufficienza renale cronica, osteoporosi metasteroidea, ipoplasia midollare, cerebrovasculopatia cronica. La complessa storia clinica di questo paziente inizia il 19/8/2006 quando viene sottoposto a trapianto bipolmonare sequenziale per fibrosi polmonare idiopatica. La broncoscopia di sorveglianza eseguita a 3 mesi dal trapianto evidenzia la presenza istologica di bronchiolite severa, BOS, indice di rigetto acuto, trattata con corticosteroidi e con modificazione della terapia immunosoppressiva, sostituendo la ciclosporina con tacrolimus. La Tc di controllo a 3 mesi mostra una lesione nodulare del LIS non presente precedentemente. L'unico dato emerso dagli ulteriori accertamenti è stata la presenza di una elevata carica virale di EBV a livello del sangue periferico, del BAL e dell'agoaspirato su nodulo polmonare. Tuttavia, i vari esami effettuati come l'esame istologico del suddetto nodulo, la mancanza di *contrast-enhancement* e l'assenza di captazione alla PET depongono per la benignità della lesione che tra l'altro si mostra ridotta al controllo TC del mese successivo. Viene riscontrata però alla PET, la presenza di due lesioni nodulari metabolicamente attive identificate come linfonodi mediastinici inferiori- controlaterali rispetto alla lesione polmonare, non tipizzate citoistologicamente alla biopsia-TC guidata, ma caratterizzate dalla presenza di EBV ad alta carica. La presenza del virus in queste lesioni depone per un quadro di PTLD EBV-correlato che viene trattato con riduzione della terapia immunosoppressiva. Il successivo controllo HRCT Torace a 9 mesi dal

trapianto mostra la completa risoluzione del quadro radiologico non essendo più osservabili né la lesione nodulare del LIS né le tumefazioni patologiche linfonodali.

A 51 mesi dal trapianto, il paziente riferisce dolore addominale, vomito biliare e febbre e viene ricoverato in chirurgia. Gli accertamenti qui effettuati, sia radiologici che endoscopici, sono risultati tutti negativi ma, dopo circa 20 giorni, la HRCT torace evidenzia, in corrispondenza della porzione infero-laterale del segmento anteriore del LSD in sede periferica, piccoli noduli di addensamento parenchimale peribroncocentrico, di dimensioni subcentimetriche, il maggiore in contatto con il piano pleurico della piccola scissura e circoscritto da un tenue alone a vetro smeriglio. Successivamente si effettua la broncoscopia che mostra a livello dell'emisistema di destra, la presenza di una lesione vegetante nel segmentario dorsale del lobare superiore, di circa 4 mm di diametro, e, a livello dell'emisistema di sinistra, si apprezza una lesione vegetante nel lobare superiore propriamente detto di circa 5 mm di diametro. L'esame istologico sui noduli depone per quadro di leiomiomasarcoma metastatico con indice proliferativo basso (15%) e positività per EBV-DNA. La PET total body di ristadiatione della patologia proliferativa a 52 mesi dal trapianto ha documentato la presenza di lesioni ipercaptanti al fianco sinistro e al fegato (segmento caudato). Visto l'esito di questi esami e sulla base della consulenza specialistica oncologica, si è provveduto alla completa sospensione dell'immunosoppressione e, esclusa la possibilità di attuare una terapia antiproliferativa, si è richiesto un trattamento con linfociti T EBV-specifici citotossici autologhi. Sempre a 52 mesi dal trapianto viene eseguita la prima infusione di linfociti citotossici, ben tollerata. La rivalutazione broncoscopia ha documentato un incremento dimensionale della lesione a carico del bronco lobare superiore sinistro. Dopo circa 1 mese il paziente viene ricoverato per seconda infusione di linfociti T EBV-specifici citotossici autologhi, avvenuta senza complicanze. Inoltre come ulteriore supporto a questa terapia il paziente veniva sottoposto a resezione meccanica laser assistita delle note vegetazioni neoplastiche endobronchiali presso il servizio di Endoscopia Bronchiale, Spedali Civili di Brescia.

A 54 mesi dal trapianto il paziente viene ricoverato di nuovo presso la Nostra Clinica per la terza infusione di linfociti T citotossici autologhi EBV-specifici. La ristadiatione oncologica con PET evidenzia la regressione delle lesioni epatica e polmonari con riduzione della captazione in regione del fianco sinistro. Il quadro endoscopico appare migliorato per la riduzione di volume della lesione sinistra. Dopo un mese si effettua la quinta infusione di linfociti T citotossici autologhi EBV-specifici. Anche la TC addome completo eseguita qualche giorno dopo la terapia infusiva, non mostra lesioni focali significative degli organi parenchimatosi dell'addome superiore.

A 58 mesi dal trapianto il paziente riferisce episodi di vomito associato a diarrea e febbre con temperatura corporea max di 37.7°C. Ricoverato di nuovo presso la Nostra Clinica, durante la degenza, si verificavano due episodi di occlusione intestinale risolti con terapia medica. Gli accertamenti eseguiti quali la biopsia US guidata e la PET (22/05/2011), hanno dimostrato un'ulteriore progressione della patologia neoplastica con comparsa di localizzazioni secondarie a livello epatico, dei linfonodi addominali e della parete addominale, mentre il quadro Tc ha invece dimostrato la totale assenza di reperti patologici a livello del parenchima polmonare. È stata effettuata ulteriore infusione di linfociti autologhi EBV-specifici e programmato un ciclo di chemioterapia. A distanza di un solo mese il paziente veniva ricoverato presso il reparto di Chirurgia per un ulteriore episodio di occlusione intestinale da stenosi ileale per infiltrazione metastatica di un possibile leiomiomasarcoma. È stato quindi sottoposto ad intervento chirurgico di resezione ileale con anastomosi latero-laterale tenue-tenue, asportazione del diverticolo di Meckel, asportazione del nodulo parietale, ma l'esame istologico su pezzo operatorio mostra una localizzazione ileale da linfoma B diffuso a grandi cellule, varietà centroblastica, variabile espressione della proteina EBV-correlata LMP-1, facente parte del disordine linfoproliferativo del post-trapianto PLTD. Viene quindi ricoverato presso la Nostra Clinica per una rivalutazione diagnostica; all'ago biopsia percutanea si rileva un quadro compatibile con localizzazione di malattia linfoproliferativa.

ferativa. Inoltre, in accordo con i colleghi ematologi, si stabilisce di iniziare l'immunoterapia con Rituximab settimanale per attuale prevalenza della malattia linfoproliferativa.

A 61 mesi il paziente viene di nuovo ricoverato nel Nostro Reparto per il completamento della stadiazione e inizio della terapia con Rituximab; viene eseguita una TC torace di controllo in cui appaiono ridotte le dimensioni dei piccoli noduli di addensamento parenchimale peribroncocentrico rispetto alla TC dell'8/11/2010, anche se permane apprezzabile un piccolo ispessimento a livello della diramazione bronchiolare ventrale e basale al LSD, e micronoduli adiacenti, per lenta risoluzione di focolai flogistici. Permane sostanzialmente invariato lo spessore del versamento pleurico a sinistra. Inoltre, sono presenti minime chiazze a vetro smerigliato, in sede apicale al LSD. Non sono comparse ulteriori lesioni focali dei restanti organi parenchimatosi dell'addome superiore. Alla Tc addome completo la lesione focale epatica al lobo sinistro appare sostanzialmente invariata. Non sono comparse ulteriori lesioni focali dei restanti organi parenchimatosi dell'addome superiore. Si osserva però un aumento del versamento ascitico già presente alla Tc. Dopo 15 giorni, sempre in regime di ricovero, viene eseguita una Tc *total body* di rivalutazione dove rimangono invariati sia la falda di versamento pleurico saccato postero-basale sinistro sia l'abbondante versamento peritoneale sopra e sottomesocolico. Risultano invariati i caratteri della nota piccola lesione secondaria del segmento epatico IVa e la millimetrica cisti biliare del VI segmento; non sono comparse lesioni né nei restanti organi parenchimali superiori né a livello delle stazioni addomino-pelviche.

Discussione

Grazie all'enorme progresso nella decade scorsa delle tecniche trapiantologiche e delle nuove terapie immunosoppressive, il tasso di sopravvivenza dopo trapianto si è enormemente accresciuto. Purtroppo la comparsa di neoplasie in questi pazienti rappresenta uno dei fattori più importanti condizionanti negativamente la prognosi. Nella ricerca di una strategia per limitare questa evoluzione maligna, la riduzione dell'immunosoppressione sembra promettente. Si è visto infatti che, i pazienti trapiantati di solito, assumendo steroidi nei 5 anni precedenti il trapianto, apportano una drastica riduzione alle difese immunitarie che comporta precoci complicanze infettive [4]. È documentato in letteratura di come il virus di Epstein Barr sia il principale fattore di rischio per lo sviluppo di PLTD e di altri tumori associati, quali il leiomioma. La riattivazione dell'infezione da EBV dopo il trapianto, con tutte le complicanze associate, è legata all'immunosoppressione che comporta la mancata produzione di anticorpi EBV specifici; tuttavia l'infezione latente risultava essere resistente a questo trattamento. Solo in seguito, con lo sviluppo di un clone T citotossico, è stato possibile controllare l'infezione da EBV [4]. Infatti è noto [5-6] di come l'infusione di EBV-CTL specifiche non solo migliori i sintomi clinici nelle infezioni croniche da EBV, ma appaia una procedura sicura senza complicanze documentate.

Ripercorrendo la storia del nostro soggetto è evidente di come l'infusione di cellule T citotossiche EBV-specifiche in aggiunta alla terapia chirurgica per via endoscopica di resezione delle vegetazioni neoplastiche polmonari sia stata fondamentale per la remissione totale del leiomioma a livello toracico. Come si evidenzia dalla storia clinica del paziente a 51 mesi dal trapianto sono presenti delle infiltrazioni neoplastiche da leiomioma EBV-correlato a livello sia dell'emisistema bronchiale di destra sia dell'emisistema bronchiale di sinistra. Per quanto detto prima, si sospende la terapia immunosoppressiva e si sceglie di iniziare la terapia con l'infusione di cellule T citotossiche EBV-specifiche. La PET a 52 mesi mostra un'ulteriore progressione della patologia con la presenza di lesioni ipercaptanti al fianco sinistro e al fegato. A distanza di tre me-

si viene eseguita una ristadiatione oncologica con PET che evidenzia la regressione delle lesioni epatica e polmonare e riduzione della captazione in regione del fianco sinistro.

Questo è il primo caso di leiomioma EBV correlato in remissione a 3 mesi dopo trattamento con linfociti T EBV-specifici citotossici autologhi verificatosi dopo tre infusioni.

Purtroppo la PET a 6 mesi dalla diagnosi di leiomioma dimostra una parziale ripresa della patologia neoplastica a livello epatico, dei linfonodi addominali e della parete addominale mentre il parenchima polmonare appare libero da malattia. Dopo la comparsa del linfoma a grandi cellule B diffuse sempre EBV-associato, si ritiene necessario iniziare la terapia immunosoppressiva con Rituximab per la prevalenza della malattia linfoproliferativa rispetto a quella leiomiomatosa. Inoltre la Tc a 10 mesi dalla diagnosi di leiomioma mostra una sostanziale stabilità di questa neoplasia, rimanendo invariate sia la lesione a livello epatico e sia quelle a localizzazione addominale. Dopo 5 cicli di Rituximab con buona risposta clinica consistente nel miglioramento delle condizioni generali e riduzione del versamento ascitico, a 61 mesi dal trapianto viene ripetuta una PET di ristadiatione che mostra l'assenza sia dell'adenopatia al ventaglio mesenterico sia della nota lesione epatica.

Concludendo questo studio mostra innanzitutto che, per trattare le neoplasie EBV-associate, il primo step terapeutico consiste nella sospensione della terapia immunosoppressiva. Questo comporta la ricomparsa degli anticorpi antivirali che in alcuni casi è sufficiente per la risoluzione della PLTD EBV-associata come si evidenzia nella prima parte del nostro caso clinico.

Questo è il primo quadro di leiomioma EBV correlato in remissione a 3 mesi che evidenzia l'efficacia della terapia con linfociti T EBV-specifici citotossici autologhi. Infatti a livello polmonare non si assiste più ad una ripresa della patologia leiomiomatosa.

Dopo circa 6 cicli di terapia con anticorpi monoclonali e la prosecuzione dell'infusione con linfociti T citotossici, la PET di rivalutazione a circa 61 mesi dal trapianto, mostra un eccezionale miglioramento del quadro clinico con assenza sia delle adenopatie al ventaglio mesenterico (a livello di L3-L4) sia delle lesioni epatiche prima presenti. Questa è la dimostrazione dell'efficacia della terapia con infusione di linfociti T citotossici EBV-specifici in associazione al Rituximab che ha apportato al paziente un sostanziale miglioramento del quadro clinico con riduzione del linfoma diffuso a grandi cellule B a livello addominale.

Bibliografia

1. Aseni P. De novo cancers and post-transplant lymphoproliferative disorder in adult liver transplantation. *Pathol Int* 2006;56(11):712-715.
2. Vikas R. Post-transplant lymphoproliferative disease. *Pediatr Nephrol* 2009;24:731-736.
3. Brichard E. Unusual evolution of an Epstein-Barr virus-associated leiomyosarcoma occurring after liver transplantation. *B Pediatr Transplant* 2001;5(5):365-369.
4. Bonatti H. Successful management of recurrent Epstein-Barr virus-associated multilocular leiomyosarcoma after cardiac transplantation. *Transplant Proc* 2005;37(4):1839-1844.
5. Savoldo B. Autologous Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T cells for the treatment of persistent active EBV infection. *Blood* 2002;56(11):712-715.
6. Timmons C. Epstein-Barr Virus-Associated Leiomyosarcomas in Liver Transplantation Recipients. *Origin from Either Donor or Recipient Tissue* 2005;37(4):1839-1844.