

16

Thérapie cellulaire

16-01 Résultats cliniques et caractéristiques des patients atteints de leucémie aiguë myéloïde FLT3-ITD en rechute ou réfractaire ayant bénéficié d'une allogreffe après un traitement par quizartinib ou chimiothérapie de rattrapage dans l'essai QuANTUM-R

CE. Bulabois^{*1}, S. Ganguly², J. Cortes³, A. Kramer⁴, M. Levis⁵, G. Martinelli⁶, A. Perl⁷, N. Russell⁸, M. Arunachalam⁹, G. Gammon⁹, H. Pham⁹, L. Xu⁹, A. Lesegretain⁹, DE. Mires⁹, S. Khaled¹⁰

¹ Hématologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble ; ² Department of Hematology, University of Kansas Medical Center, Kansas City, États-Unis ; ³ Department of leukemia, University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, États-Unis ; ⁴ Klinische kooperationsvereinbarung molekularer hämatologie/onkologie, Universität Heidelberg et German Cancer Research Center, Heidelberg, Allemagne ; ⁵ Department of Hematology, The Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Baltimore, États-Unis ; ⁶ IRST, Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori IRCCS, Meldola, Italie ; ⁷ Abramson cancer Center, Abramson Cancer Center, Philadelphia, États-Unis ; ⁸ Department of Hematology, Université de Nottingham, Nottingham, Royaume Uni ; ⁹ Daiichi sankyo, Daiichi Sankyo, Inc., Basking Ridge, États-Unis ; ¹⁰ Department of Hematology/hct, City of Hope National Medical Center, Duarte, États-Unis

Introduction. Le quizartinib (Q), inhibiteur puissant et sélectif de FLT3, administré per os une fois par jour, a montré dans l'essai de phase III QuANTUM-R une amélioration des bénéfices cliniques comparative à la chimiothérapie de rattrapage (CT) chez 367 patients (pts) atteints de leucémie aiguë myéloïde (LAM) FLT3-ITD en rechute ou réfractaire (R/R) [survie globale médiane (SGm) : 6,2 vs 4,7 mois [m] [HR, 0,76 $p = 0,02$]; rémission complète composite [Rcc] : 48 % vs 27 % ; durée médiane de Rcc : 12,1 vs 5,0 semaines] (Cortes et al. *Lancet Oncol*, 2019 ; NCT02039726). Avant randomisation, 25 % (Q) et 23 % (CT) des pts avaient reçu une greffe de cellules souches (GCSH). Une analyse de sensibilité de la SG, censurant les pts recevant une greffe pendant l'étude, soutenait les résultats globaux de l'essai (SGm, 5,7 m vs 4,6 m [HR, 0,79 $p = 0,05$]). Des analyses post-hoc sur les caractéristiques et les résultats cliniques des pts ayant bénéficié d'une GCSH dans l'essai QuANTUM-R ont été réalisées.

Patients et méthodes. La présente analyse porte sur les pts atteints de LAM FLT3-ITD R/R traités dans l'essai QuANTUM-R par Q (60 mg [dose initiale de 30 mg]) ou par un des trois protocoles de CT présélectionnés selon le choix de l'investigateur (intensif [I] ou non intensif [NI]) et ayant bénéficié après traitement d'une GCSH. Les pts greffés dans le bras Q pouvaient reprendre Q en maintenance 30 à 100 jours après la GCSH. La décision de greffer et de reprendre le traitement par Q était à la discrétion de l'investigateur et fonction des pratiques locales.

Résultats. Sur 367 pts randomisés, 85 et 19 pts ont bénéficié d'une GCSH après traitement dans les bras Q et CT respectivement. L'âge médian était plus bas chez les pts avec GCSH (Q, 49 ans ; CT, 44 ans) vs sans GCSH (Q, 58 ans ; CT, 58 ans). Les données poolées sur Q + CT montrent une SGm plus longue chez les 104 pts avec GCSH vs 263 pts sans GCSH (12,2 m vs 4,4 m ; $p < 0,0001$). Les probabilités de SG à un an s'élevaient à 50 % vs 13 % avec et sans GCSH respectivement. Parmi les pts présélectionnés pour un traitement I, la SGm était de 11,9 m pour les pts greffés vs 4,6 m pour les pts non greffés. Parmi les pts présélectionnés pour un traitement NI, 13/57 dans le bras Q et 0/29 dans le bras CT ont reçu une GCSH ; la SGm dans le groupe NI était de 32,4 m avec GCSH vs 4,1 m sans GCSH. Les analyses poolées Q + CT montrent que la SGm était plus longue chez les patients en Rcc avant la greffe vs absence de Rcc. La SGm était plus longue chez les patients ayant reçu une GCSH vs ceux n'ayant pas reçu une GCSH et ce, quel que soit le bras de traitement (Q, 11,9 m vs 4,5 m ; CT, 12,7 m vs 4 m). Dans le bras Q, la SGm était plus élevée chez les pts (Rcc) ayant repris Q après GCSH vs ceux n'ayant pas repris Q (27,1 m vs 5,4 m). Chez les 48 pts qui ont repris Q après GCSH dans le bras Q (62 %), le temps médian entre la greffe et la reprise du traitement était de 65 jours. Dans le bras Q, quatre pts (5 %) sont décédés < 30 jours après la GCSH. La fréquence des événements indésirables survenus sous traitement était généralement plus faible chez les pts ayant repris Q après GCSH que pour l'ensemble des pts traités par Q. Les données des longs survivants seront également présentées.

Conclusion. Dans l'essai QuANTUM-R, indépendamment de la GCSH, Q a permis d'allonger la survie vs CT chez les pts atteints de LAM FLT3-ITD R/R. Les données poolées Q + CT ont montré un allongement de la SG chez les pts avec GCSH vs ceux sans GCSH et chez les pts en Rcc avant GCSH. Un plus grand nombre de pts dans le bras Q a pu recevoir une GCSH probablement en raison du taux et de la durée plus élevés de Rcc. La reprise du traitement par Q après la greffe était bien tolérée et associée à de meilleurs résultats.

16-02 Nouvelle alternative thérapeutique dans le traitement de la leucémie aiguë myéloïde : une immunothérapie cellulaire par lymphocytes à récepteur chimérique à l'antigénique ciblant la protéine accessoire au récepteur de l'interleukine 1

R. Trad¹, W. Walid², M. Neto Da Rocha¹, V. Alcazer³, A. Berceanu⁴, C. Nicod², R. Harderbach¹, F. Renosi¹, F. Larosa⁵, C. Roumier⁶, L. Bouquet⁷, C. Preudhomme⁷, S. Biichle², F. Garnache Ottou², S. Depil⁸, M. Deschamps¹, C. Ferrand^{*2}

¹ Timc, UMR1098, EFS BFC, Université de Franche Comté, Besançon ; ² Laboratoire hématologie, UMR1098, EFS BFC, Université de Franche Comté, Besançon ; ³ Hematology, CH Lyon Sud Jules Courmond, Pierre-Bénite ; ⁴ Hématologie, CH Univ, Besançon ; ⁵ CHU de Dijon, Service d'hématologie, Dijon ; ⁶ Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie - Pathologie, Lille ; ⁷ Laboratoire d'hématologie, CHU Lille, Lille ; ⁸ Hematology, Centre Léon Bérard, Lyon

Introduction. Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent des pathologies graves dont le pronostic reste péjoratif. Les thérapies ciblées associées à la chimiothérapie et la greffe de moelle osseuse ont permis d'améliorer le pronostic. L'immunothérapie [anticorps monoclonaux/bispécifiques, inhibiteurs de *check-point*, lymphocytes à récepteur chimérique à l'antigénique (CAR-T)] permet de fonder beaucoup d'espoir dans l'amélioration du traitement. La protéine accessoire au récepteur de l'interleukine 1 (IL-1RAP) a été identifiée comme étant impliquée dans la voie oncogénique de la LAM, mais également comme une cible potentielle pour l'élimination cytotoxique des blastes. Nous avons précédemment établi la preuve de concept *in vitro* et *in vivo*, qu'un CART-cell de troisième génération ciblant IL-1RAP était capable d'éliminer des cellules souches leucémiques (CSL) dans la leucémie myéloïde chronique (LMC). Les objectifs de ce travail sont 1/Évaluer l'expression d'IL-1RAP sur des lignées cellulaires LAM et des cellules primaires de patients atteints de LAM et 2/ Valider la cytotoxicité des IL-1RAP CART-cells sur les blastes LAM.

Matériels et méthodes. Analyse *in silico* de données publiées de RNA-seq ou de transcriptomique Affymetrix afin de valider l'intérêt de la cible IL-1RAP. Par RT-qPCR ou à l'aide de notre propre anticorps anti-IL-1RAP, nous avons mesuré les niveaux d'expression d'IL-1RAP de différentes lignées cellulaires LAM et des cellules primaires de patients atteints de LAM par western blot et cytométrie en flux. Nous avons ensuite testé l'efficacité des IL-1RAP CART-cells contre les lignées LAM *in vitro* et *in vivo*, mais aussi contre des blastes autologues de patients.

Résultats. La comparaison des profils d'expression RNA-seq, de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) normales et de CSL LAM, ou de différentes sous-populations, montre que l'expression d'IL-1RAP discrimine les blastes et CSL LAM des cellules normales avec un *fold change* et une probabilité nettement supérieurs aux autres marqueurs de surface LAM (CD33, CD123, CD44...). L'analyse des données Affymetrix montre qu'IL-1RAP est surexprimée dans la quasi-totalité des sous-types de LAM (classification FAB). Nous n'avons pas observé de différence significative d'expression d'ARN, ni du nombre de sites antigéniques, en fonction des groupes pronostiques cytogénétiques. Par cytométrie en flux et mesure des sites antigéniques, nous avons défini trois niveaux d'expression d'IL-1RAP à la surface des cellules LAM et modélisé ces niveaux par trois lignées cellulaires LAM. *In vitro*, après coculture des IL-1RAP CART-cells en présence de ces cibles LAM, nous avons montré que les CART-cells prolifèrent [Effecteurs : cibles (E:T) = 3, 80 ± 2 % de cellules CFSE+, $n = 3$], qu'elles sécrètent de l'IFN γ (ratio E:T = 1:5, 59,2 ± 8,2% de cellules IFN γ +, $n = 4$) et qu'elles étaient hautement cytotoxiques (> 98 ± 1,5 % de cytotoxicité, à ratio E:T 3:1, $n = 3$) indépendamment du niveau d'expression d'IL-1RAP. *In vivo*, dans un modèle murin NSG de xélogreffe HL60 (IL-1RAP faible exprimeurs) l'injection des CART-cells provoque une diminution rapide puis complète de la masse tumorale.

Conclusion. La protéine IL-1RAP, surexprimée à la surface des blastes LAM est un antigène très intéressant pour un ciblage par une immunothérapie CART-cells. A l'aide de notre CART de troisième génération, dont la preuve de concept a été établie dans la LMC, nous avons confirmé que cette approche pourra être testée dans la LAM dans un futur essai clinique de phase I.

16-03 Le profil métabolomique au cours de la réaction du greffon contre l'hôte chez l'homme révèle des modifications des métabolites du receveur et dérivés du microbiote

D. Michonneau^{*1}, E. Latis², E. Curis³, L. Dubouché⁴, S. Ramamoorthy⁵, B. Ingram⁵, R. Peffault De Latour⁶, M. Robin⁷, F. Sicre De Fontbrune¹, S. Chevret⁸, L. Rogge², G. Socie⁹

¹ Service d'hématologie greffe, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ² Unité immunorégulation, Institut Pasteur, Paris ; ³ Biomathématiques, Université Paris Descartes, Paris ; ⁴ Inserm u976, Université de Paris, Paris ; ⁵ Metabolon, Metabolon, Morrisville, États-Unis ; ⁶ Hématologie-greffe, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁷ Service d'hématologie greffe, Hôpital Saint-Louis, Paris, France, Paris ; ⁸ Service de biostatistique et information médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁹ Hématologie et transplantation, Inserm umr976, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris

Introduction. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (allo-HSCT) est un traitement majeur des hémopathies malignes et des anomalies de l'hématopoïèse. Cependant, elle reste associée à des complications immunologiques sévères comme la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD). De nombreuses études ont porté sur le rôle de différentes sous-populations de lymphocytes T au cours de la GVHD. Cependant, il a été récemment démontré que la réponse immunitaire allogénique pouvait être influencée par le microenvironnement tissulaire ou le microbiote de l'hôte. Récemment, la métabolomique est apparue comme un nouveau domaine majeur de la biologie de systèmes qui reflète la façon dont la génétique, les facteurs environnementaux ou le microbiote affectent les processus biochimiques de l'hôte. Au cours de la greffe, les patients sont soumis à des chimiothérapies, des antibiotiques ou des antiviraux qui peuvent modifier la biologie des tissus et le microbiote. De nombreux métabolites peuvent réguler la réponse immunitaire par leur influence directe sur l'activation, la prolifération ou la survie des cellules immunitaires. Néanmoins, il n'existe pas de vue d'ensemble de la façon dont les voies métabolomiques sont influencées par le processus de transplantation et des changements qui sont plus spécifiquement associés à la GVHD aiguë au début de la maladie.

Patients et méthodes. Deux cohortes de patients qui ont reçu une allo-HSCT géno-identique ont été étudiées, l'une monocentrique de l'hôpital Saint-Louis (cohorte 1, n = 43) et l'autre multicentrique issue de 13 centres français (cohorte 2, n = 56). Les échantillons de plasma des donneurs ont été obtenus avant le recueil de cellules souches et considérés comme un groupe de référence sain. Les échantillons des receveurs ont été recueillis au début de la GVHD aiguë avant tout traitement par corticostéroïdes ou au jour+90 après la transplantation pour ceux qui n'ont pas développé de GVHD. En utilisant la chromatographie liquide à ultra-haute performance et la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS), nous avons détecté 801 et 927 métabolites en circulation dans les cohortes 1 et 2, respectivement, dont 653 métabolites sont communs aux deux cohortes.

Résultats. L'allo-HSCT est associée à une modification des profils métabolomiques des receveurs par rapport à ceux des donneurs sains, caractérisée par une augmentation significative des lipides complexes, en particulier les mono et diacylglycérols et les acides biliaires primaires. Le métabolisme des acides aminés était également modifié par la transplantation. Les métabolites dérivés du tryptophane et la production de taurine sont diminués après la greffe, tandis que les métabolites de la voie des polyamines sont augmentés chez les receveurs sans GVHD. Au début de la GVHD aiguë, en plus des métabolites dérivés de l'hôte, il existe une variation significative des métabolites dérivés du microbiote, en particulier des dérivés indoles du tryptophane, qui sont des ligands du récepteur d'aryl hydrocarboné, des acides biliaires secondaires et des plasmalogènes.

Conclusion. Nos résultats montrent que la réponse immunitaire allogénique durant la GVHD aiguë pourrait être influencée par les acides biliaires et par la production réduite de plasmalogènes et de ligands d'AHR par le microbiote, qui pourrait limiter l'induction de l'indoleamine 2,3-dioxygénase et influencer la réactivité des lymphocytes T allogéniques. Ces résultats offrent potentiellement de nouvelles cibles thérapeutiques pour la prévention et le traitement de la GVHD aiguë.

16-04 La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques est un traitement curatif chez les adultes avec un déficit immunitaire héréditaire sévère

M. Cheminant^{*1}, T. Fox², M. Alligon³, O. Bouaziz⁴, JP. Jais⁵, C. Fieschi⁶, A. Guffroy⁷, S. Blanche⁸, D. Moshous⁹, B. Neven⁸, T. Comont⁹,

D. Nouar¹⁰, C. Goujard¹¹, L. Siproudhis¹², M. Daveni¹³, N. Schleinitz¹⁴, A. Servettaz¹⁵, L. Luca¹⁶, A. Perlat¹⁷, H. Sylvain¹⁸, F. Fanny¹⁹, P. Coughoul²⁰, C. Nunes Gomes²¹, PS. Rohrlrich²², A. Marçais²³, V. Barlogis²⁴, JF. Viillard²⁵, M. Malphettes²⁶, R. Chakraverty², O. Hermine²⁷, A. Fischer²⁸, S. Burns², N. Mahlaoui³, E. Morris², F. Suarez¹

¹ Service d'hématologie, Hôpital Universitaire Necker, Université René Descartes, Institut Imagine, Paris ; ² Institute of immunity and transplantation, University College de Londres, Londres, Royaume Uni ; ³ Ceredih, CEREDIH, Paris ; ⁴ Laboratory map5, University Paris Descartes and CNRS, Sorbonne Paris Cité, Paris ; ⁵ Inserm umrs 872, AP-HP Hôpital Necker, Paris ; ⁶ Immunologie clinique, CHU Saint-Louis, Paris ; ⁷ Department of Clinical immunology and Internal Medicine, National Reference Center for Autoimmune Diseases, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg ; ⁸ Service d'hématologie-immunologie et rhumatologie pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris ; ⁹ Médecine Interne et Immunopathologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ¹⁰ Service d'allergologie et d'immunologie clinique, chru de tours, Tours ; ¹¹ Service de médecine interne et immunologie clinique, CHU Bicêtre, AP-HP, Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; ¹² Department of hepato-gastroenterology, CHU Rennes - Hôpital Pontchaillou, Rennes ; ¹³ Service d'hématologie, CHRU Nancy, Nancy ; ¹⁴ Department of Internal Medicine, AP-HM, Hôpital Conception, Marseille ; ¹⁵ Service de médecine interne, maladies infectieuses et immunologie clinique, Faculté de médecine de Reims, Reims ; ¹⁶ CHU poitiers, Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, Poitiers ; ¹⁷ Service de médecine interne, CHU Rennes - Hôpital Pontchaillou, Rennes ; ¹⁸ Service de médecine interne, Centre hospitalier régional universitaire de Besançon, Besançon ; ¹⁹ Hématologie oncologie pédiatrique, CHU de Nancy - Hôpitaux de Brabois, Nancy ; ²⁰ Immunopathologie-médecine interne, IUCT Oncopole, Toulouse ; ²¹ Hématologie, CHU - CHU Angers, Angers ; ²² Hématologie, Hôpital l'Archet, Nice ; ²³ Service d'hématologie, Hôpital Universitaire Necker, Université René Descartes, Paris ; ²⁴ Oncohématologie pédiatrique, AP-HM, Hôpital La Timone, Université Aix-Marseille, Marseille ; ²⁵ Médecine interne, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac ; ²⁶ Service d'immunohématologie, CHU Saint-Louis, Paris ; ²⁷ Hématologie/centre de référence de l'hémophilie, AP-HP, Paris ; ²⁸ Immunohématologie pédiatrique et rhumatologie, Hôpital Necker, Paris

Introduction. Les déficits immunitaires héréditaires (DIH) sont des maladies rares et hétérogènes. La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (alloCSH) est un traitement curatif mais n'est pas toujours réalisée dans l'enfance. L'incidence des complications sévères augmente avec l'âge. La décision d'alloCSH chez un adulte avec un DIH est difficile en raison d'une mortalité toxique plus élevée due à l'immunodéficience et aux lésions d'organes sous-jacentes. Afin de mieux identifier les patients qui pourraient bénéficier de l'alloCSH, nous avons effectué une analyse rétrospective franco-britannique avec appariement des patients allogreffés pour DIH avec des patients porteurs d'un DIH sévère.

Patients et méthodes. Entre 2008 et 2018, 79 patients de plus de 15 ans ont été allogreffés pour une granulomatose septique chronique (CGD, n = 20) ou un déficit immunitaire combiné (CID, n = 59) à Londres et en France. Les patients non allogreffés ont été identifiés à partir du registre français CEREDIH et inclus dans une analyse cas-témoins. Les contrôles ont été appariés sur les critères suivants : décennie de naissance, âge aux dernières nouvelles, DIH de type CGD ou CID (y compris déficit immunitaire commun variable_DICV et syndromes de dérégulation immuno_IDS) et sévérité du DIH (cancers et/ou complications auto-immunes). Un à trois contrôles ont pu être identifiés pour chaque patient allogreffé. Au total, l'étude a évalué 281 patients (79 patients allogreffés, 202 patients non allogreffés).

Résultats. Les patients non allogreffés avaient un DIH moins sévère que les patients allogreffés avec plus de DICV et moins de CID/IDS (31 % vs. 1 % et 45 % vs. 73 % respectivement, P < 0,001) et en moyenne moins d'infections sévères (P < 0,001). La majorité des patients ont été allogreffés pour une hémopathie lymphoïde (n = 23), une complication auto-immune (n = 33) ou une infection (n = 19) à un âge médian de 21 ans (IQR [17-28]). Trente-six patients (46 %) ont reçu un conditionnement à intensité réduite et 43 (54 %) un conditionnement standard. Avec un recul médian de 4,8 ans (IQR [2,5-7,2]), 57 % des patients sont vivants sans complication liée à l'alloCSH ou au DIH, y compris huit patients gardant un chimérisme partiel. L'alloCSH a conduit à une rémission des symptômes du DIH chez la majorité des patients vivants (97 %). Dix-huit patients sont décédés après l'allogreffe, dont 15 d'une toxicité liée à l'alloCSH (15/79, 19 %). L'analyse de la survenue des événements récurrents a montré qu'il existe un risque accru d'événements graves chez les patients non allogreffés par rapport aux patients allogreffés (P < 0,001).

Conclusion. L'alloCSH est un traitement curatif chez les patients adultes atteints de CGD ou de CID graves mais présente encore, dans cette population de patients très fragiles, un risque de mortalité précoce liée à l'alloCSH et doit probablement être envisagé plus précocement chez des patients moins sévèrement atteints.

16-05 Optimisation et développement clinique de lymphocytes T exprimant un récepteur chimérique à l'antigène CD123 pour le traitement des patients atteints de leucémie dérivée des cellules dendritiques plasmacytoïdes

M. Fredon^{*1}, E. Bole-Richard¹, F. Anna², M. Poussard¹, S. Biichle³, JM. Certoux¹, J. Caumartin², M. Loustau², O. Adotevi¹, F. Angelot-Delettre³, F. Garnache Ottou³

¹ Tim-c, UMR1098, EFS BFC, Université de Franche Comté, Besançon ;

² Discovery Department, Invecys, Paris ; ³ Laboratoire hématologie, UMR1098, EFS BFC, Université de Franche Comté, Besançon

Introduction. La leucémie dérivée des cellules dendritiques plasmacytoïdes (LpDC) est une hémopathie de très mauvais pronostic caractérisée par des rechutes fréquentes pour les patients qui n'ont pas pu être allogreffés. Nos précédents travaux ont permis de montrer une surexpression de l'antigène CD123 (récepteur à l'IL3) sur 100 % des blastes pour tous les patients : CD123 est donc identifié comme l'antigène cible pour le développement de thérapies ciblées dans les LpDC. En conséquence, nous avons développé une immunothérapie CAR-T anti-CD123 permettant de rediriger les lymphocytes T (LT) exprimant un récepteur chimérique à l'antigène (CAR) de troisième génération anti-CD123. Cependant, bien que les thérapies CAR-T soient largement décrites dans la littérature, la conception d'un CAR-T est un processus complexe nécessitant de nombreuses optimisations pour la construction pour assurer (i) une expression forte et stable du CAR à la surface des cellules T et (ii) la reconnaissance efficace et spécifique de l'antigène cible. Ces optimisations sont cruciales pour conserver les effets de la thérapie CAR-T sur le long terme et éviter les effets secondaires liés à l'effet *on target*, *off tumor*.

Matériels et méthodes. Nous avons produit, grâce à des vecteurs lentiviraux, cinq CAR-T anti-CD123 (CAR 1 à 05) contenant le même promoteur mais différenciés par l'expression de cinq paratopes présentant des affinités plus ou moins fortes pour l'antigène CD123. L'efficacité de transduction des vecteurs a été suivie par l'expression du gène rapporteur (DCD19) et l'expression du CAR à la membrane a été confirmée en cytométrie de flux par la fixation de la protéine CD123 biotinylée à la surface des T transduits. La fonction cytotoxique des différents CAR-T anti-CD123 a été évaluée *in vitro* contre une lignée de LpDC CD123High (CAL-1) pour différents ratios effecteurs/cibles (E : T). La mort cellulaire des LpDC cibles a été déterminée par le marqueur de viabilité 7-AAD. Dans toutes nos expériences, les résultats ont été comparés à des lymphocytes T du même donneur ayant subi les mêmes étapes de culture mais sans incubation avec le vecteur lentiviral (CO). Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ ET.

Résultats. L'efficacité de transduction des LT est excellente pour quatre des cinq CAR-T générés (CAR01 : 97,6 % $\pm$ 1,0 % ; CAR03 : 98,6 % $\pm$ 0,6 % ; CAR04 : 97,0 % $\pm$ 1,1 % ; CAR05 : 96,6 % $\pm$ 0,9 % ; n = 5 pour chaque CAR) et plus faible pour le CAR02 (67,6 % $\pm$ 6,8 %). L'expression du CAR à la membrane est très élevée pour les CAR01 (98,8 % $\pm$ 0,6 %), CAR03 (99,2 % $\pm$ 0,2 %), CAR04 (98,4 % $\pm$ 0,9 %) et CAR05 (98,3 % $\pm$ 1,4 %). En revanche, l'expression est plus faible pour le CAR02 (61,5 % $\pm$ 4,3 %) (n = 3 pour chaque CAR). La cytotoxicité des CAR-T face à CAL-1 est élevée pour les quatre CAR-T exprimant fortement le CAR à la membrane (99,6 % $\pm$ 0,3 %, E : T de 1:1, n = 3) alors qu'elle est plus faible pour le CAR02 (14,9 % $\pm$ 2,5 %, n = 3).

Conclusion. Nous démontrons que le choix du paratope et les optimisations de la construction sont essentielles pour la génération d'un CAR-T ayant une forte cytotoxicité contre les blastes ciblés (LpDC dans notre étude). La fonctionnalité des quatre CAR-T sera évaluée face à des cellules saines exprimant des niveaux plus faibles de l'antigène CD123 (cellules endothéliales, monocytes et une fraction des cellules CD34+). Cette dernière validation permettra de déterminer la construction CAR-T assurant le meilleur différentiel entre les cellules CD123low (cellules saines) et CD123high (blastes) *in vitro* et *in vivo* permettant d'abroger les effets *on target*, *off tumor* en application thérapeutique clinique.

16-06 Disparition des symptômes chez des patients atteints de drépanocytose traités par la thérapie génique LentiGlobin : nouveaux résultats du groupe C de l'essai de phase 1/2 HGB-206

J. Kanter^{*1}, J.F. Tisdale², MY. Mapara³, J. Kwiatkowski⁴, L. Krishnamurti⁵, M. Schmidt⁶, M. Alexandra⁷, F.J. Pierciey⁷, W. Huang⁷, JA. Ribeil⁷, T. Alexis⁸, M. Walters⁹

¹ Université d'Alabama, Birmingham, al, USA, Tuscaloosa, États-Unis ;

² National Institutes of Health, MD, USA, NHLBI/NIDDK, Bethesda, États-Unis ; ³ Columbia University Medical Center, Columbia Center for Translational Immunology, New York, États-Unis ; ⁴ Children's Hospital of Philadelphia, Division of Hematology, Philadelphia, États-Unis ; ⁵ Children's Healthcare of Atlanta, Emory University, Atlanta, GA, USA, Aflac Cancer and Blood Disorders Center, Atlanta, États-Unis ; ⁶ Genewerk, GmbH,

Heidelberg, Allemagne ; ⁷ Bluebird, bio, Cambridge, États-Unis ; ⁸ Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, États-Unis ; ⁹ Benioff Children's Hospital, UCSF, Oakland, États-Unis

Introduction. Le transfert du gène de la β -globine dans des cellules souches hématopoïétiques (CSH) peut réduire ou éliminer les manifestations de la drépanocytose. LentiGlobin SCD, thérapie génique de la drépanocytose, contient des cellules CD34+ transduites par le vecteur lentiviral BB305 codant le gène d'une β -globine humaine dotée de la mutation anti-drépanocytaire T87Q (β A-T87Q). La sécurité et l'efficacité de LentiGlobin SCD est en cours d'évaluation dans l'essai de phase 1/2 HGB-206 (NCT02140554). Le protocole initial a été modifié pour améliorer la production d'hémoglobine T87Q (HbAT87Q) en incluant des transfusions de globules rouges avant le prélèvement, en accroissant l'exposition au busulfan et en recourant à une méthode de fabrication de LentiGlobin SCD perfectionnée. Aujourd'hui, la collecte de CSH se fait par aphérèse après mobilisation cellulaire par plerixafor. Les données décrites ici viennent du Groupe C de patients ayant bénéficié de ces améliorations.

Résultats. Au 7 mars 2019, 19 patients du Groupe C (âge moyen : 26 ans [18 à 36 ans]) ont débuté la mobilisation cellulaire/aphérèse dont 13 avaient été traités par LentiGlobin SCD. Le nombre médian des copies du vecteur, le pourcentage de cellules transduites et la dose de CD34+ chez ces 13 patients ont été respectivement de 3,8 (2,8-5,6) copies par génome diploïde (c/dg), 80 (71-88) % et 4,5 (3,0-8,0) $\times$ 10⁶ cellules CD34+/kg. La durée médiane de suivi était de 9,0 (1,0-15,2) mois. Les lignées des neutrophiles et de plaquettes, des 12 premiers patients se sont reconstituées en 19 (15-24) et 28 (19-136) jours en moyenne. La prise de greffe n'était toujours pas évaluable chez le 13^e patient, un mois après l'injection du LentiGlobin. Tous les patients ont cessé les transfusions de globules rouges durant les trois mois suivant la thérapie génique LentiGlobin. La médiane des niveaux d'HbS était égale ou inférieure à 50 % ou moins chez les huit patients ayant un suivi d'au moins six mois. Lors de leur dernière visite, la concentration médiane de Hb totale était de 11,5 (10,2-15,0) g/dL dont une concentration médiane de HbAT87Q de 5,3 (4,5-8,8) g/dL et de 5,7 (4,8-8,0) g/dL de HbS. Parmi eux, six avaient des antécédents de CVO ou d'STA. La médiane annualisée du taux CVO+STA chez ces derniers était de 5,3 (3-14) avant traitement pour tomber à 0 (0-2) après traitement. Un CVO de grade 2 a néanmoins été observé 3,5 mois après le traitement. Mais aucun STA ni CVO sévère n'a été observé après traitement. Le taux de lactate déshydrogénase, le décompte des réticulocytes et la bilirubine totale sont en voie de normalisation. Neutropénie fébrile (n = 10) et stomatite (n = 7) sont les effets secondaires (ES) non hématologiques (grade $\geq$ 3) les plus fréquents post-perfusion. Parmi les autres ES sévères, les plus communs étaient la nausée et le vomissement (six patients). A ce jour, aucun ES lié au produit ni aucun échec de greffe n'a été noté. Aucun vecteur compétent pour la réplication ni de dominance clonale n'a été observé.

Conclusion. Le profil de sécurité de LentiGlobin SCD, reste cohérent avec celui d'un conditionnement par busulfan seul sur un terrain pathologique. Les patients du Groupe C de l'essai HGB-206 ont tous atteint un niveau soutenu et élevé d'Hb thérapeutique et réduit à 50 % ou moins leur taux médian d'HbS pour un taux médian de Hb totale de 11,5 g/dL après six mois traitement. En conclusion, la disparition des complications cliniques (ni STA ni CVO sévères) et la diminution de l'hémolyse démontrent la puissance de l'effet thérapeutique du LentiGlobin.

16-07 Développement et évaluation d'un récepteur chimérique à l'antigène de troisième génération dans la leucémie à cellules dendritiques plasmacytoïdes

E. Bole-Richard^{*1}, M. Fredon¹, S. Biichle¹, F. Anna², JM. Certoux¹, M. Poussard¹, F. Renosi¹, F. Tsé¹, C. Molimard³, S. Valmary-Degano³, A. Jenvrin¹, W. Warda¹, JR. Pallandre¹, F. Bonnefoy¹, M. Deschamps¹, T. Petrella⁴, C. Roumier⁵, E. Macintyre⁶, F. Féger⁷, E. Brissot⁸, M. Mohty⁸, KY. Howangyin⁹, P. Langlade-Demoyen², M. Loustau², J. Caumartin², Y. Godet¹, D. Binda¹⁰, M. Pagadoy¹⁰, E. Deconinck¹¹, E. Daguindau¹¹, P. Saas¹, C. Ferrand¹, F. Angelot-Delettre¹, O. Adotevi¹, F. Garnache Ottou¹

¹ Tim-c, UMR1098, EFS BFC, Université de Franche Comté, Besançon ;

² Discovery Department, Invecys, Paris ; ³ Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU Besançon, Besançon ; ⁴ Département de pathologie, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, Canada ; ⁵ Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie - Pathologie, Lille ; ⁶ Hématologie, Hôpital Necker, Paris ; ⁷ Service d'immunohématologie biologique, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; ⁸ Service d'hématologie et de thérapie cellulaire, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; ⁹ Transcure, TransCure Bioservices, Archamps ; ¹⁰ Inserm CIC1431, CHU Besançon, Besançon ; ¹¹ Hématologie, CHU Besançon, Besançon

Introduction. La leucémie à cellules dendritiques plasmacytoïdes (LpDC) est une hémopathie rare de très mauvais pronostic et pour laquelle les chimiothérapies utilisées ne permettent pas d'éviter les rechutes. Les

approches de thérapie cellulaire adoptive utilisant des récepteurs chimériques à l'antigène (CAR) sont un succès dans les hémopathies malignes de l'adulte et de l'enfant. La stratégie CAR permet de combiner la spécificité antigénique d'un anticorps et la fonction effectrice cytotoxique des lymphocytes T (LT). Ainsi, nous avons développé une approche d'immunothérapie en reprogrammant des LT pour exprimer un CAR dirigé contre l'antigène CD123 toujours fortement exprimé dans les LpDC.

Matériels et méthodes. Nous avons développé un CAR CD123 de troisième génération à partir d'un anticorps que nous avons généré et sélectionné pour sa forme d'affinité pour les cellules leucémiques de LpDC. Le domaine de reconnaissance de cet anticorps a été fusionné aux molécules de co-stimulation CD28, 4-1BB ainsi qu'à la chaîne CD3 ζ et cloné dans un vecteur lentiviral. Nous avons alors généré par transduction lentivirale des LT exprimant ce CAR CD123. Des LT issus du même donneur subissant les mêmes étapes de culture sans la transduction sont utilisés comme contrôle (C0) dans toutes les expériences. La fonctionnalité et la cytotoxicité des LT CAR CD123 ont été évaluées dans des modèles *in vitro* et *in vivo* en utilisant des lignées cellulaires de LpDC (CAL-1 et GEN2.2) et des PDX. Nous avons également réalisé une étude de l'effet *on-target/off-tumor* en utilisant des cellules présentant un faible niveau d'expression de CD123 (la lignée de cellules endothéliales HMEC-1, des cellules CD34+, des monocytes primaires) *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de souris humanisées.

Résultats. Les LT CAR CD123 activent des fonctions cytotoxiques suite à la reconnaissance de leur cible CD123 conduisant à la sécrétion d'IFN- γ , leur dégranulation (expression de CD107a) et menant à la mort des lignées LpDC et PDX utilisées comme cellules cibles (CAL-1 : 94,6 % $\pm$ 6,1 % pour les LT CAR CD123 versus 16,6 % $\pm$ 18,7 % pour les C0 ; $n = 5$, $p < 0,0001$; GEN 2.2 : 96,7 % $\pm$ 4,9 % versus 49,7 % $\pm$ 11,9 %, $n = 3$, $p = 0,0215$; PDX : 68 % $\pm$ 22,2 % versus 13 % $\pm$ 29,5 %, $n = 15$, $p < 0,0001$). *In vivo*, la thérapie CD28/4-1BB CD123 CAR est efficace et permet un contrôle de la leucémie (OS : 41 jours pour les souris traitées par LT CAR CD123 versus 26 pour les souris traitées par C0 ; $p = 0,0017$). De plus, nous avons pu générer, *in vitro*, des LT CAR CD123 à partir de LT d'un patient atteint de LpDC et nous avons montré dans ce modèle autologue, l'élimination des cellules leucémiques (élimination de 95 % des blastes CD123+ sans cytotoxicité contre les cellules CD123- (lymphocytes T et B). Enfin, nous avons étudié la toxicité des LT CAR CD123 contre les cellules saines présentant un faible niveau d'expression de CD123 dans différents modèles *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de souris humanisées. Les résultats obtenus montrent une absence ou une faible cytotoxicité des LT CAR CD123 contre les cellules saines et donc potentiellement un faible effet *on-target/off-tumor*.

Conclusion. Les LT CAR CD123 sont capables de cibler et d'éliminer spécifiquement les cellules leucémiques CD123+ *in vitro* et *in vivo* avec un faible effet *on-target/off-tumor*. Ces données offrent des données précliniques solides permettant d'envisager le développement d'un futur protocole clinique utilisant des cellules autologues CAR CD123 pour les patients atteints de LpDC.

16-03 Impact d'une chimiothérapie de type bridging dans le lymphome B diffus à grandes cellules en rechute ou réfractaire traité par cellules T à récepteur antigénique chimérique anti-CD19 : expérience de vie réelle

J. Paillassa^{*1}, L. Vercellino², R. Di Blasi³, V. Allain⁴, S. Bernard¹, E. Galli⁴, H. Moatti⁵, F. Morin⁶, V. Meignin⁷, S. Caillat-Zucman⁸, S. Chevet⁹, C. Thieblemont¹⁰

¹ Service hématologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ² AP-HP, hôpital Saint Louis, service de médecine nucléaire, Paris, France, AP-HP, Paris ; ³ Service d'hématologie-oncologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ⁴ Hématologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ⁵ UMRS 938 Équipe Prolifération et différenciation des cellules souches, Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie, Paris ; ⁶ Laboratoire d'immunologie-histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ⁷ Laboratoire de pathologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁸ Laboratoire d'immunologie et d'histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁹ Service de biostatistique et information médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ¹⁰ Hématologie-oncologie, Assistance Publique Hôpitaux de Paris - Hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. Le traitement par CAR-T cells a montré son efficacité dans le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) en rechute ou réfractaire (R/R) mais nécessite, en vie réelle, quatre semaines entre l'aphérèse et la réinjection. Durant cette période *bridging*, les patients sont à risque de progression. Nous avons caractérisé les stratégies thérapeutiques de *bridging*.

Patients et méthodes. Nous avons réalisé une revue rétrospective des patients LBDGC R/R traités par CAR-T cells anti-CD19 commerciales, axicabtagène ciloleucel ou Tisagenlecleucel. Le traitement de *bridging* (TB) est défini comme tout traitement donné entre l'inclusion et la réinjection des CART. Nous avons distingué deux types de TB : haute intensité (HI), incluant chimiothérapie $\pm$ immunothérapie) et faible intensité (FI, incluant

rituximab, brentuximab, dexaméthasone, lénalinomide, ou pas de traitement). Nous avons évalué la toxicité (syndrome de relargage cytokinique = CRS, toxicité neurologique centrale = CRES, infections), l'efficacité (survie globale = SG, survie sans progression = SSP), et l'expansion des CAR T après réinjection selon l'intensité du TB.

Résultats. 46 patients ont été inclus (Axicabtagène = 21, Tisagenlecleucel = 25) pour LBDGC (35), lymphome folliculaire transformé (5), ou lymphome B primitif du médiastin (6) entre juin 2018 et avril 2019. L'âge médian est de 57 ans (IQR 42-64). Le nombre médian de lignes thérapeutiques avant CART est de trois (rang 3-5), 15 patients ont reçu une autogreffe, deux une allogreffe. Le délai médian entre aphaérèse et réinjection est de 40 jours (32-90). 30 (65 %) patients ont reçu un TB HI, 16 (35 %) un TB FI. Le nombre médian de cycles de TB est de deux (rang 1-4). 13 patients ont reçu plusieurs TB à cause d'une maladie progressive sous TB. Les patients recevant un TB HI ont, à l'inclusion, des LDH plus élevées (60 % vs 31 %), plus d'atteintes extraganglionnaires (≥ 2 sites, 32 % vs 0 %), un IPI plus élevé (≥ 2 , 77% vs 43 %, $p = 0,049$), et un volume tumoral métabolique total (TMTV) plus élevé au TEP (médian, 90 vs 10, $p = 0,002$). Après TB, 44 patients ont été réinjectés. Deux patients (groupe HI) sont décédés avant réinjection : pneumopathie (1), progression (1). Avant réinjection, 25 (57 %) patients ont progressé durant le TB, sans différence entre groupe HI et groupe FI (61 % vs 50 %). Après réinjection, 14 patients (32 %) ont une complication infectieuse (groupe HI 7, groupe FI 7, $p = 0,31$). La durée médiane de la neutropénie $< 1\ 000$ est de huit jours (groupe HI 9, groupe FI 7, $p = 0,21$). Dans les groupes FI et HI, 11 et 19 patients ont un CRS (0 grade 3-4), un et 11 un CRES (un et trois grade 3-4), respectivement. L'intensité du TB a un impact sur la survenue du CRES ($p = 0,03$), pas sur celle du CRS ($p = 1,00$). L'élévation des LDH ($p = 0,02$), le nombre de lignes thérapeutiques ($p = 0,03$) et un PS > 0 ($p = 0,049$) favorisent la survenue du CRS ; un IPI élevé ($p = 0,03$), une CRP élevée ($p = 0,02$) et une hypoalbuminémie ($p = 0,008$) celle du CRES. L'impact de l'expansion des CAR T est en cours d'analyse. Après réinjection, avec un suivi médian de 5,7 mois, la SSP médiane n'est pas atteinte dans le groupe FI versus trois mois dans le groupe HI ($p = 0,06$). La SG médiane n'est pas atteinte dans le groupe FI versus 12,5 mois dans le groupe HI ($p = 0,09$). En analyse multivariée, un IPI faible prédit une meilleure SSP ; un IPI faible et un TMTV faible prédisent une meilleure SG. Il n'y a pas d'impact de l'intensité du TB sur la SSP ou la SG.

Conclusion. Il n'y a pas de différence significative entre les groupes HI et FI en termes d'efficacité, mais nous observons plus de CRES dans le groupe HI.

16-09 Suivi ambulatoire des patients traités par cellules T à récepteur antigénique chimérique (CARAMA), dépistage des complications retardées et évaluation du ressenti des patients

A. Moignet^{*1}, F. Colin², C. Garraud³, P. Daufresne⁴, B. Lorne⁵, T. Lamy⁵, S. De Guibert⁶, L. Ysebaert⁷, R. Houot⁸

¹ Hématologie clinique adulte, Centre hospitalier universitaire de Pontchaillou, Rennes ; ² Hématologie clinique adulte, CHU Rennes - Hôpital Pontchaillou, Rennes ; ³ Cerpps (centres d'études et de recherches en psychopathologie et psychologie de la santé) ea7411, Université Toulouse - Jean Jaurès, Toulouse ; ⁴ Hématologie clinique adulte, CHU Rennes, Rennes ; ⁵ Hématologie clinique adulte, CHU Rennes Pontchaillou, Rennes ; ⁶ Hématologie clinique adulte, Centre Hospitalier Pontchaillou, Rennes ; ⁷ Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁸ Hématologie clinique adulte, CHU de Rennes, Rennes

Introduction. Deux cellules T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T), Yescarta[®] et Kymriah[®], ont désormais une AMM pour le traitement des lymphomes diffus à grandes cellules B (DLBCL) en échec après deux lignes de traitement systémique. Ces traitements représentent une avancée thérapeutique majeure. Ils permettent en effet d'obtenir des rémissions prolongées, et possiblement des guérisons, chez 35 à 40 % des patients. Cependant, l'impact à moyen et long terme de ces traitements reste mal connu. Des complications retardées peuvent survenir après la sortie de l'hôpital, notamment des cytopénies et des infections. Ces complications posent le problème de leur dépistage et de leur gestion précoce alors que le patient est généralement loin de l'hôpital. D'autres dimensions restent à évaluer. Notamment l'impact de ces traitements sur le plan social (aides nécessaires lors du retour à domicile et possibilité de réinsertion socio-professionnelle), sur le plan psychologique (qualité de vie, ressenti du patient, symptomatologie psychopathologique) et sur le plan biologique (sexualité et conséquences neurologiques). Pour répondre à ces questions, nous avons choisi d'utiliser une approche de type AMA (accompagnement des patients ambulatoires) telle que développée par le CHU de Toulouse pour les patients traités par chimiothérapie.

L'objectif de ce projet est la mise en place d'un suivi de type AMA des patients après CAR-T cells pour : 1) dépister et prendre en charge « à distance » les complications médicales retardées ; 2) évaluer l'impact à moyen et long terme pour le patient et son entourage d'un traitement par CAR-T cells.

Matériels et méthodes. Étude prospective, bicentrique (CHU Rennes et CHU Toulouse), visant à réaliser un suivi des patients par une infirmière AMA après le traitement par CAR-T cells. Les patients seront inclus avant le début du traitement puis suivis de manière prospective par l'infirmière AMA pendant cinq ans. Cet accompagnement AMA sera effectué grâce à des appels téléphoniques sortant, programmés selon un calendrier bien défini. Ces appels viseront à : 1) Dépister et traiter précocement d'éventuelles complications médicales ; 2) Évaluer l'impact du traitement dans une dimension biopsychosociale par le biais de questionnaires psychométriques : Considérations biologiques : sexualité (SQoL) et impact neurologique (FACT Cog), Considérations psychologiques : qualité de vie (QLQ-C30, FACT Lym), satisfaction de vie (Oxford Happiness Questionnaire), anxiété/dépression/stress (échelles HAD et ESP), Considérations sociales : aides nécessaires et impact pour les aidants naturels (échelle de ZARIT).

Résultats. L'étude CARAMA va débuter en janvier 2020. Les premiers résultats de cette étude seront présentés lors du congrès de la SFH. Cette étude devrait permettre : 1) de mieux connaître les effets secondaires retardés liés aux traitements par CAR-T cells ; 2) d'évaluer une nouvelle forme d'organisation pour le suivi des patients ; 3) de mieux connaître l'impact des traitements par CAR-T cells sur le patient (qualité de vie, ressenti, réinsertion socio-professionnelle...) et son entourage (aides et mesures de soutien).

Conclusion. D'une manière générale, cette étude devrait permettre de mieux apprécier l'impact des traitements par CAR-T cells à moyen et long terme sur le plan médical, organisationnel, financier, psychologique, et socioprofessionnel.

Ce projet a reçu le prix France-Lymphome Espoir.

16-10 Suivi au long cours après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques au Maroc : étude monocentrique de 28 cas

S. Ahchouch*, S. Haidouri, K. Zine Filali, M. Ababou, EM. Mahtat, M. Mikdame, K. Doghmi

Hématologie Clinique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V, Rabat, Maroc

Introduction. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (Allo-HCT) représente un traitement curatif des hémopathies malignes et certaines maladies auto-immunes. Elle est néanmoins associée à une morbidité élevée qui gêne le pronostic du patient due à la réaction immunologique entre le donneur et le receveur : GVHD (*Graft Versus Host Disease*). Nous rapportons notre expérience dans la gestion des complications post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective, menée entre 2007 et 2018 et incluant 28 patients ayant bénéficié d'une allo-HCT. Le suivi post-allo-HCT des patients s'est effectué au sein de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat, l'allogreffe de CSH ayant été réalisée initialement à l'hôpital d'instruction des armées Percy à Paris.

Résultats. Dans notre étude étalée sur 12 ans (de 2007 à 2018 inclus), tous nos patients ont bénéficié d'une allo-HCT à l'hôpital militaire de Percy. La médiane d'âge des patients était de 32 ans [15, 60], dont 55 % étaient de sexe masculin. Dix-sept patients étaient suivis pour une leucémie aiguë, de type myéloïde dans neuf cas, quatre pour un syndrome lympho-prolifératif (un LMC ; trois MFP), un syndrome myélodysplasique, trois pour une aplasie médullaire idiopathique et trois pour un syndrome lympho-prolifératif (lymphome de Hodgkin, lymphome T et un myélome multiple). La durée médiane entre le diagnostic et l'allo-HCT était de 12 mois [2 ; 18]. 75 % des sujets ont bénéficié d'une allogreffe géno-identique, 17 % d'une allo-HCT phéno-identique 10/10 par des donneurs volontaires, tandis que seul un patient a reçu une allogreffe haplo-identique et une patiente une allogreffe par unités de sang placentaire. L'allo-HCT par des cellules souches périphériques été réalisée dans 75 % des cas, conditionnée par le busulfan-endoxan dans 30 % (leucémies aiguës) et la fludarabine-busulfan-SAL dans 28 %. Cinquante-huit pour cent des patients ont bénéficié d'une prophylaxie contre la GVHD par le méthotrexate associé à la ciclosporine, 22 % par la ciclosporine seule et par l'association ciclosporine-mycophénolate mofétil dans 18 % des cas. En post-allogreffe immédiat, 71 % des patients ont présenté une infection bactérienne et neuf patients une réactivation d'une infection à CMV. Au cours du suivi, une GVH aiguë cutanée corticostéroïde a été retrouvée dans 38 % des cas. 35 % des patients ont montré des signes de GVHD chronique dont 35 % des patients présentaient initialement une GVHD aiguë. Plusieurs localisations ont été recensées : cutanée et orale (71 %), pulmonaire (58 %), oculaire (58 %), hépatique (28 %), musculaire (28 %), GVHD digestive et gynécologique (14 %). Un traitement par ciclosporine et des corticostéroïdes ont été utilisés en 1^{re} ligne chez tous les patients avec une réponse inférieure à 30 %. En deuxième ligne, le rituximab a été utilisé chez 71 % des patients, les ITK (imatinib) chez 28 % des patients (GVH pulmonaire) et la photophérèse extracorporelle chez un patient atteint de GVHD musculo-squelettique. Le suivi médian était de 45 mois avec une survie globale de 67 % et une SSE de 60 %.

Conclusion. La gestion de l'allo-HCT reste un défi majeur dans les pays en voie de développement. Le suivi post-allo-HCT nécessite une approche multidisciplinaire et reste onéreuse dans notre contexte. 10 % de nos patients sont décédés d'une GVHD chronique, ceci implique la nécessité d'une meilleure compréhension et maîtrise de cette complication létale.

16-11 L'autogreffe des cellules souches périphériques sans congélation dans le myélome multiple : à propos de 55 cas

S. Jennane*, N. El Hassnaoui¹, EM. Mahtat¹, S. Ahchouch¹, A. Hammani¹, M. Ababou¹, H. El Maaroufi¹, M. Mikdame², K. Doghmi¹

¹ Hématologie clinique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V, Rabat, Maroc ; ² Hématologie clinique, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Rabat, Maroc

Introduction. Dans le myélome multiple, l'autogreffe de cellules souches périphériques (CSP) non congelées représente une alternative moins coûteuse et aussi efficace que la technique classique.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la toxicité de cette procédure dans une population marocaine.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude prospective, bi centrique, réalisée dans le service d'hématologie clinique de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V et dans la clinique Al Madina de Casablanca. La période de l'étude s'étale entre janvier 2015 et juin 2019.

Les patients sont tous porteurs d'un myélome multiple et candidats à une autogreffe de CSP. La mobilisation a été réalisée par du lenograstim seul et les CSP collectées ont été stockées pendant 24 à 48 h dans un réfrigérateur de banque de sang standard à une température de 4°C. Après un conditionnement standard par du melphalan à haute dose les CSP ont été ré injectées 24 h après le conditionnement.

Résultats. Sur la période de l'étude, 55 patients ont été autogreffés. Afin d'obtenir une richesse minimum de 2×10^6 CD34+/kg, 29 % des patients ont nécessité deux séances de cytophérèse et 71 % n'ont eu besoin que d'une seule séance. Le taux médian de cellules CD34 + collecté est de $4,5 \times 10^6$ CD34+/kg avec des extrêmes entre 2 et $12,2 \times 10^6$ CD34+/kg. Le temps nécessaire à la récupération neutrophile est de 12 jours (extrêmes entre sept et 19 jours). Le temps nécessaire à la récupération plaquettaire est de 14 jours (extrême entre neuf et 32 jours). Le taux de mortalité dans les 100 jours post-greffe est de 3,6 % (soit deux patients sur 55). Nous n'avons constaté aucun cas d'échec de prise de greffe.

Conclusion. Notre étude confirme la faisabilité et la bonne tolérance de l'autogreffe de CSP sans congélation chez les patients porteurs d'un myélome multiple. L'avantage de cette technique est qu'elle soit moins coûteuse et qu'elle permette la réalisation de l'autogreffe dans des centres non équipés de moyens de congélation.

16-12 Étude de l'impact clinicobiologique de la réactivation du virus l'herpès de type 6 dans de cadre de la greffe de cellules souches autologue

P. Seignères*, S. Assaad², A. Belhabri², L. Gilis², Y. Guillermin², L. Lebras², E. Nicolas-Virelizier², P. Rey², AS. Michallet²

¹ Centre Léon Bérard, Lyon ; ² Hématologie, Centre Léon Bérard, Lyon

Introduction. La greffe de cellules souches hématopoïétiques autologue représente une option thérapeutique de choix lors du traitement de certaines hémopathies malignes telles que les lymphomes et les myélomes. La lymphodéplétion induite par le conditionnement expose à de nombreuses complications infectieuses. Parmi ces complications infectieuses, la réactivation du virus de l'herpès de type 6 (HHV-6) peuvent induire des thrombopénies compliquant la récupération hématopoïétique post-greffe (Scordo et al., 2018). Cependant, l'impact exact et son retentissement clinique à long terme n'a encore jamais été étudié dans le contexte des greffes autologues. Dans le contexte de cette étude, nous avons étudié l'impact clinique, biologique et immunologique de la réactivation du virus de l'herpès de type 6 (HHV-6) dans un contexte de greffe de cellules souches autologue.

Patients et méthodes. Nous avons suivi une cohorte rétrospective de 79 patients ayant reçu une greffe de cellules souches autologue dans le cadre de la prise en charge de leur hémopathie lymphoïde (23 lymphomes et 56 myélomes). Parmi ces 79 patients, 29 patients ont réactivé le virus.

Résultats. Les traitements fortement lymphodépresseurs induisent plus de réactivations HHV-6. Les patients atteints de lymphome présentent plus de réactivation à HHV6 que les patients ayant un myélome. Une des principales différences entre ces deux indications est l'utilisation dans le cadre des lymphomes d'un traitement souvent plus lymphodépresseur, tel que la Bendamustine ou le Thiotépa, comparé à l'utilisation plus habituelle du Melphalan. Nous avons observé dans les conditionnements fortement lymphodépresseurs une forte proportion de réactivation HHV-6 comparé au groupe Melphalan. Pour approfondir, nous nous sommes intéressés aux caractéristiques de la réactivation virale en fonction du

traitement inducteur. Nous n'avons pas pu observer de différence de délai entre la greffe et la réactivation virale. Cependant, nous avons observé une différence de titre viral, avec une augmentation significative dans le groupe avec les traitements plus lymphodépresseurs. **La réactivation de HHV-6 induit une thrombopénie mais n'impacte pas la survie.** Afin d'explorer l'impact de la réactivation HHV-6 sur les patients et la prise de greffe nous avons exploré la durée de prise de greffe en fonction de la réactivation. Nous pouvons observer une différence significative de six jours (figure 2) pendant lesquels les patients sont exposés à des complications hémorragiques nécessitant une augmentation du nombre de transfusion plaquettaire chez les patients HHV-6+. Nous n'avons pas observé d'impact de la réactivation virale sur la durée de prise de greffe. Nous avons également étudié la survie des patients. Il est à noter que tous les patients réactivant le virus HHV-6 ont été traités avec des immunoglobulines polyvalentes. Dans ces conditions, la réactivation de HHV-6 n'induit pas de différence de survie à deux ans (figure 3).

Conclusion. Cette étude met en évidence une augmentation des réactivations virales HHV-6 lors de l'utilisation de conditionnement fortement lymphodépresseur à base de Thiotépa ou de Bendamustine. Les virus HHV-6 sont également inducteurs d'une thrombopénie conduisant à une augmentation des besoins transfusionnels et à un risque hémorragique accru. La réactivation de HHV-6 suivie d'un traitement par immunoglobulines polyvalentes n'induit pas de différence de survie. Ce travail met en évidence l'importance de la recherche de HHV-6 lors d'une fièvre associée à l'aggravation d'une thrombopénie.

16-13 Expression de l'interleukine 26 dans la maladie du greffon contre l'hôte en postallogreffe de cellules souches hématopoïétiques

C. Nunes Gomes^{*1}, B. Brilland², C. Miot³, C. Beauvillain⁴, B. Morvant⁵, C. Orvain¹, S. Thepot¹, S. François¹, M. Hunault-Berger¹, P. Jeannin³, A. Schmidt¹

¹ Maladie du sang, CHU Angers, Angers ; ² Néphrologie, CHU Angers, Angers ; ³ U1232 équipe immunité innée et immunothérapie, Inserm, Angers ; ⁴ Immunologie, CHU Angers, Angers ; ⁵ Département de pathologies tissulaires et cellulaires, CHU Angers, Angers

Introduction. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue le traitement curatif de nombreuses hémopathies malignes. Néanmoins, les cellules immunitaires du donneur peuvent être responsables de lésions des tissus sains du receveur. Cette complication, grevée d'une morbidité majeure, s'appelle la maladie du greffon contre l'hôte (GVH). Bien que sa physiopathologie ne soit pas totalement établie, elle est marquée par une inflammation chronique médiée par les lymphocytes Th17. L'interleukine (IL)-26 est impliquée dans la physiopathologie de multiples pathologies inflammatoires chroniques. Cette molécule se comporte comme une molécule cargo de l'ADN libéré par les cellules mortes. Elle permet l'internalisation de l'ADN extracellulaire dans les cellules myéloïdes et, conséquemment, leur activation, objectivée par la production de cytokines pro-inflammatoires et d'IFN de type I (IFN-I). L'objectif de cette étude était d'évaluer l'expression d'IL-26 chez les patients présentant une GVH après une allogreffe de CSH.

Matériels et méthodes. Nous avons dosé les taux d'IL-26 par ELISA dans le sérum de 20 sujets sains et 25 patients ayant présenté une GVH. L'expression tissulaire d'IL-26 a été évaluée par immunohistochimie sur des biopsies cutanées de neuf patients présentant une GVH avec atteinte cutanée avec évaluation semi-quantitative comparativement à des biopsies de peau saine.

Résultats. Les taux d'IL-26 sont significativement plus élevés dans les sérums des patients atteints de GVH avec une médiane de 415 pg/mL par rapport aux taux des sujets sains (IL-26 indétectable ; $p = 0,0001$). L'immunohistochimie met en évidence un marquage plus intense d'IL-26 au niveau des atteintes cutanées de GVH par rapport au signal sur peau saine. Le signal est particulièrement important au niveau de la couche basale de l'épiderme.

Conclusion. L'expression d'IL-26 est augmentée dans la GVH survenant après une allogreffe de CSH. À terme, il nous faudra préciser le rôle de l'IL-26 dans le processus de GVH. Ces données permettront d'améliorer nos connaissances sur cette pathologie et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans une maladie où l'obtention de nouvelles options thérapeutiques constitue un enjeu majeur.

16-14 Évaluation des cellules souches hématopoïétiques du sang périphérique après leur mobilisation par le facteur de stimulation des colonies de granulocytes seul ou en association au plerixafor

M. Mombled¹, L. Rodriguez¹, M. Avalon¹, P. Duchez¹, M. Vlaski-Lafarge¹, C. Debeissat², B. Perard¹, K.M. Sawai³, J.M. Pasquet⁴, F. Bijou⁵, F. Thevenot⁶, T. Cabantous⁶, Z. Ivanovic¹, P. Brunet de la Grange^{*1}

¹ Département recherche, Établissement française du sang - Nouvelle Aquitaine/Inserm U1035, Bordeaux ; ² Équipe cshnl, BMGIC - Inserm U1035 - Université de Bordeaux (Bordeaux, France), Bordeaux ; ³ Université de Bordeaux, Inserm U1218, Bordeaux ; ⁴ Université de Bordeaux, Inserm Unité U1035, Bordeaux ; ⁵ Hématologie, Institut Bergonié, Bordeaux ; ⁶ Centre de santé, Établissement français du sang - Nouvelle Aquitaine/Inserm U1035, Bordeaux

Introduction. Dans le contexte de la transplantation de cellules hématopoïétiques, les progéniteurs hématopoïétiques (PH) et les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont usuellement collectés par aphérèse suite à leur mobilisation dans le sang périphérique par le G-CSF seul ou en association avec le Plerixafor selon la qualité de la réponse des patients à la mobilisation par le facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF) seul. En pratique médicale, la qualité des greffons hématopoïétiques est basée sur leur contenu en cellules CD34+ qui permet de définir des patients « bons mobilisateurs » (BM) ou « mauvais mobilisateurs » (MM). Afin d'affiner cette approche qui ne rend pas compte du contenu des greffons en vraies CSH, nous avons étudié le contenu et les caractéristiques des CSH des greffons hématopoïétiques suite à leur mobilisation.

Matériels et méthodes. Nous donnons reposent sur l'analyse des greffons hématopoïétiques issues de patients « bons mobilisateurs » ayant reçu uniquement du G-CSF (BMG-CSF) et patients « mauvais mobilisateurs » ayant reçu du G-CSF seul (MMG-CSF) ou en association avec du Plerixafor (MMG-CSF+P). Afin de cibler au mieux les CSH au sein de la population CD34+ des greffons, nous utilisons une stratégie d'approche directe appelée *side population* (SP).

Résultats. Nos résultats indiquent une proportion plus faible de cellules CD34+/SP chez les MMG-CSF que chez les BMG-CSF mais qui est restaurée chez les MMG-CSF+P. Le même phénomène est observé pour les sous-populations de cellules CD34+/SP de phénotype CD38low/CD133+/CD90+. Les cellules CD34+/SP des patients MMG-CSF ont également une activité mitochondriale diminuée par rapport aux patients BMG-CSF restaurée chez les patients MMG-CSF+P.

Sur le plan fonctionnel, les cellules CD34+/SP des greffons ont une capacité équivalente, quelles que soient les conditions de mobilisation, à produire *in vitro* des cellules érythroïdes, myéloïdes et lymphoïdes B. En revanche la capacité de greffe (test Scid Repopulating Cells) des cellules CD34+/SP des patients BMG-CSF et MMG-CSF+P diffère en fonction de la pathologie initiale des patients, et la capacité de homing semble impactée chez les patients mauvais mobilisateurs.

Conclusion. Nos résultats indiquent donc que l'association du phénotype SP au critère CD34 permet une évaluation plus précise du contenu en CSH des greffons et de leur efficacité.

16-15 Empowerment du patient allogreffé de cellules souches

C. Celine*, I. Babouche

Paris, Gustave Roussy, Villejuif

Introduction. La thérapie par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques connaît un fort progrès, tant dans le nombre de patients traités, que la qualité des soins. Ceci est favorisé notamment par l'évolution des soins de support. Néanmoins, le traitement implique une longue hospitalisation, en isolement, dans une unité de soins intensifs hématologiques. Les traitements sont lourds car ils entraînent beaucoup d'effets secondaires et les complications sont nombreuses. Alors que les consignes de la SFGM-TC1 en post-greffe sont exhaustives, le parcours post-allogreffe est envisagé différemment d'un centre à un autre. C'est pourquoi en tant qu'infirmières sur le parcours du patient allogreffé, il nous a semblé important de se positionner sur l'acquisition d'un empowerment du patient au service d'une meilleure qualité de vie en post-greffe.

Patients et méthodes. (Mémoire DUSCSC1/Master 2 de pratiques avancées). Des entretiens semi-directifs avec l'ensemble des professionnels, qui travaillent avec les patients allogreffés sur tout leurs parcours, ont permis d'extraire un ensemble de conduites à tenir. Des entretiens semi-directifs auprès de patients a mis en lumière l'impact de l'après greffe ainsi que l'importance de les préparer au plus tôt.

Résultats. Conduite à tenir :

- mise en place des soins de supports nécessaires,
- préparer l'hospitalisation à l'aide des consultations à J-30 et J-8 avant la greffe et du suivi continu du parcours de soins,
- anticiper le retour à domicile : envisager les aides adaptées, identifier les aidants ressources,
- pour mieux appréhender les changements (la fatigue, la prise des médicaments, la surveillance des symptômes de GVH...), l'éducation thérapeutique doit être précoce : se préparer au plus tôt pour mieux s'adapter,
- accompagner le patient tout en préservant l'autonomie,

- **assouplissement des restrictions** d'isolements avec élargissement des régimes alimentaires protégés,
- maintien d'une forme physique et un état nutritionnel satisfaisant du patient pendant et après l'hospitalisation,
- un suivi post-greffe ambulatoire à renforcer d'une **expertise infirmière** (consultation IPA, télé-suivi),
- poursuite d'un suivi à distance de la greffe même plusieurs années après (chronicité des effets...).

Conclusion. Dans le but d'améliorer le maintien d'autonomie des patients allogreffés, le travail en équipe pluridisciplinaire est la clé d'un *empowerment* efficace. Le retour du patient à domicile dans de bonnes conditions passe par une approche personnalisée dès l'indication de greffe afin de mieux appréhender le parcours du post-greffe et une résilience efficace. Enfin l'agence de biomédecine, qui encadre l'activité des établissements greffeur, a pour projet d'étudier le lien entre l'action des soignants et la survie globale des patients.

16-16 Allogreffes de cellules souches hématopoïétiques sans décontamination digestive antibactérienne Expérience de l'EHU 1^{er}-Novembre d'Oran

N. YAFOUR^{*1}, F. Bouamama², F. Serrad², S. Osmani³, M. Brahimi³, R. Bouhass³, A. Arabi³, MA. Bekadja²

¹ Hématologie et thérapie cellulaire, établissement hospitalier universitaire 1^{er}-Novembre d'Oran, Oran, Algérie ; ² Hématologie et thérapie cellulaire, EHU 1^{er}-Novembre, Oran, Algérie ; ³ Hématologie et thérapie cellulaire, Établissement hospitalier universitaire 1^{er}-Novembre, Oran, Algérie

Introduction. L'utilisation de la décontamination digestive antibactérienne non absorbable après allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) reste controversée. Des études récentes du séquençage du gène bactérien (ARNr 16S) suggèrent que la diversité bactérienne peut moduler l'inflammation de l'hôte et favoriser la tolérance immunitaire, et représente un facteur important pour réduire l'incidence de la GVHD aiguë intestinale après allo-CSH.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact de la non décontamination digestive antibactérienne sur les résultats de l'allo-CSH à savoir ; l'incidence et la sévérité de la GVHD digestive aiguë et chronique, l'incidence des complications infectieuses, et sur une nouvelle composite de survie sans GVHD/sans rechute (GRFS), chez les patients (pts) ayant bénéficiés d'une allo-CSH préparée par un conditionnement incluant le SAL.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude prospective chez des pts atteints de maladies hématologiques ayant reçu une allo-CSH entre février 2013 et mai 2016. Pendant la période de l'aplasie, tous les pts ont été hospitalisés en secteur protégé, dans des chambres à flux laminaire. Ils recevaient une alimentation protégée. Depuis décembre 2015, la lévofloxacine a été administrée en tant que prophylaxie antibactérienne. La recherche de portage de BMR (bactéries multi-résistantes) était réalisée à l'entrée en hospitalisation, puis durant toute la durée d'aplasie (écouvillonnage triple nasal, pharyngé et rectal de façon hebdomadaire).

Résultats. Au total 39 pts ont été inclus. Les pts atteints d'hémopathies malignes (n = 33) ont reçu un conditionnement myéloablatif incluant le busulfan (130 mg/m²) pendant quatre jours, associé soit à la fludarabine (160 mg/m²/J) (LAM = 26, LAL = 3, LMC = 1), soit au melphalan 140 mg/m² (LAL = 3). Six pts atteints d'une aplasie médullaire (AM) ont reçu un conditionnement de type cyclophosphamide/SAL. La prophylaxie de la GVHD a inclus le SAL 5 mg/kg pour les hémopathies malignes, et 12 mg/kg pour les AM, associée à la ciclosporine et le méthotrexate. Tous les pts ont reçu un greffon de CSP à partir d'un donneur génodentique. Au moment de la greffe 13 pts (33 %) avaient une colonisation digestive et/ou nasale positive par des BMR. L'incidence de la GVHD aiguë digestive était de six (15 %), dont seulement 5 % de grade III, et celle de la GVHD chronique digestive (modérée et sévère) était de 8 %. L'incidence des infections à point de départ digestive était de 15 %. La survie sans GVHD et sans rechute est estimée à 50 % à 20 mois et 32 % à 43 mois. 11 pts (28 %) sont décédés : deux pts (5 %) suite à une GVHD aiguë, un pt (2,5 %) lié à une infection à CMV, un pts a présenté un PRES et sept pts (18 %) à cause de la rechute de la maladie.

Discussion. Dans notre étude seulement 5 % des pts ont présenté une GVHD aiguë digestive sévère. En parallèle la mortalité liée aux infections est très faible 2,5 %. Enfin l'impact de l'utilisation du SAL dans un contexte d'allo-CSH génodentique a été démontré sur la faible incidence de la GVHD chronique digestive (8 %), et sur l'amélioration de la GRFS, comparable à celle des greffes génodentiques avec conditionnements standard.

Conclusion. Ces résultats confirment que l'allo-CSH sans décontamination digestive antibactérienne, et les conditionnements incluant le SAL, étaient associés à une faible incidence de la GVHD digestive, sans augmenté le risque d'infections. La diversité bactérienne du tractus gastro-

intestinal est un facteur important pour la tolérance immunitaire après l'allo-CSH.

16-17 Toxicité du conditionnement et risque de maladie du greffon contre l'hôte évalués par la cinétique du dosage de citrulline

C. Nunes Gomes^{*1}, V. Seegers², A. Schmidt¹, A. Villate³, A. Bouvier⁴, G. Simard⁵, C. Orvain¹, S. Francois¹, A. Giltat¹, M. Hunault-Berger¹, S. Thepot¹

¹ Maladie du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ² Biométrie, Institut De Cancérologie De L'ouest, Angers ; ³ Hématologie, CHRU Hôpitaux de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours ; ⁴ Département d'hématologie biologique, CHU - CHU Angers, Angers ; ⁵ Laboratoire de biochimie, CHU - CHU Angers, Angers

Introduction. La citrulline est un acide aminé non essentiel impliqué dans la synthèse de la L-arginine et constitue un biomarqueur de la viabilité des cellules épithéliales intestinales. La radiothérapie et/ou la chimiothérapie induisent une baisse de la citrulline corrélée à leur toxicité digestive. Chez les patients ayant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) le taux de citrulline plasmatique pré greffe est prédictif de la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVH). Il existe cependant peu de données disponibles concernant l'évolution de la citrulline comme biomarqueur de la toxicité du conditionnement et le risque de GVH associé. L'objectif de cette étude est d'évaluer la cinétique d'évolution de la citrulline sous forme de trajectoire et son influence sur l'incidence de la GVH.

Patients et méthodes. Des analyses de citrulline plasmatique par chromatographie en phase liquide ont été réalisées chez les patients ayant eu une allogreffe de CSH pour une hémopathie maligne entre juillet 2014 et novembre 2019 dans notre centre. Les prélèvements étaient réalisés en pré-greffe (J-7, J-3), le jour de la greffe (J0) et en post-greffe (J7, J15, J21). Un modèle de mélange semi paramétrique (Najin et al) a permis de modéliser des trajectoires de l'évolution de la citrullinémie et de comparer la survenue de GVH dans les différents groupes obtenus.

Résultats. Entre juillet 2014 et novembre 2019, 161 patients greffés pour une hémopathie maligne ont été inclus. Le conditionnement était myéloablatif (5,6 %), myéloablatif à toxicité réduite (23 %), séquentiel (10,5 %) ou atténué (RIC) chez 60,9 % des patients. Les donneurs étaient génodentique (22 %), phéno-identique (52 %) ou haplo-identique (25 %). Le nombre médian de dosage de citrulline par patients était de sept [3-16]. L'analyse des résultats de citrulline a permis d'individualiser quatre trajectoires de cinétique distincte. L'appartenance à ces trajectoires n'étaient pas corrélée à la survenue de GVH aiguë (p = 0,29) ou chronique (p = 0,34). Par contre il existait une corrélation entre la trajectoire de citrulline et le type de conditionnement reçu (p < 0,001).

En analysant les patients ayant eu un conditionnement RIC (n = 98), trois trajectoires distinctes ont été individualisées. La survenue de GVH aiguë (grade II-IV) était de 18 %, 38 % et 44 % dans les trois groupes respectivement (p = 0,06). Il existe également une tendance dans la survenue de GVH chronique différente dans ces trois groupes (p = 0,06). Le type de donneur est associé à des trajectoires spécifiques (p = 0,02) notamment en rapport avec la toxicité digestive du cyclophosphamide post-greffe donné pour les haplo identiques.

Conclusion. La cinétique d'évolution du taux plasmatique de citrulline est directement associée à l'intensité du conditionnement lors d'une allogreffe de CSH. Chez les patients ayant reçu un conditionnement RIC, il existe une tendance à une survenue de GVH aiguë plus fréquente dans les cinétiques les plus basses de citrullinémie. De même dans cette population, il existe un impact significatif du cyclophosphamide reçu en post-greffe sur le taux de citrulline.

16-18 Évaluation de la qualité de vie et du décrochage scolaire après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pendant l'enfance ou l'adolescence

R. Elfatmi^{*1}, E. Azza², O. Hrizi², N. Ben Abdeljelil², A. Lakhal², D. Belloumi², L. Torjeman², S. Ladab², T. Ben Othman²

¹ Centre national de greffe de moelle osseuse, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse et de transfusion sanguine, Tunis, Tunisie ; ² Hématologie, Centre national de greffe de la moelle osseuse, Tunis, Tunisie

Introduction. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est un traitement potentiellement curateur de nombreuses hémopathies malignes et bénignes. Plusieurs études ont analysé l'impact de cette procédure sur la qualité de vie (QV) des patients greffés à l'âge adulte. Cependant, son impact sur la QV des patients greffés pendant l'enfance ou l'adolescence a été moins bien étudié.

Patients et méthodes. Nous avons mené une étude descriptive pour évaluer la QV des patients allogreffés pendant l'enfance ou l'adolescence

(< 18 ans) au centre national de greffe de moelle osseuse. Les patients ont répondu lors de la consultation externe au questionnaire SF-36 entre mars et mai 2018. SF-36 comporte 36 questions réparties en huit domaines formant trois sous-catégories. Leurs scores varient entre 0 et 100, des scores plus élevés indiquent une meilleure qualité de vie. Nous avons également utilisé un entretien en face à face pour identifier le décrochage scolaire et nous avons consulté le dossier médical du patient pour rechercher les complications post-greffe.

Résultats. Cette étude a inclus 51 patients (sex-ratio : 29/22 = 1,3). L'âge médian au diagnostic et au moment de l'enquête était respectivement de 12 ans (5-18 ans) et de 16 ans (6-28 ans). Le délai médian entre l'allogreffe et le questionnaire était de trois ans (0,2 à 15 ans). Les patients habitaient à plus de 100 Km du centre de greffe dans 57 % des cas. De bons scores ont été signalés dans les trois sous-catégories : perception générale de la santé (moyenne SF36 : 79,8), bien-être (moyenne SF36 : 68) et état fonctionnel (moyenne SF36 : 70,4). Cependant, le domaine le plus altéré était le fonctionnement social (moyenne SF36 : 47,5). Les facteurs de risque associés à une mauvaise QV étaient le sexe féminin ($p = 0,03$), l'éloignement géographique du centre de greffe ($p = 0,032$) et le délai entre la greffe et l'étude < 2 ans ($p = 0,04$). Le décrochage scolaire était de 31 %.

Conclusion. La QV des patients allogreffés pendant l'enfance ou l'adolescence était satisfaisante. Cependant, le fonctionnement social était altéré et le décrochage scolaire était élevé. L'éducation thérapeutique, la prise en charge psychologique ainsi que la réinsertion sociale et sociale sont nécessaires.

16-19 Association entre taux de fibrinogène et de ferritine et neurotoxicité grave chez les patients traités par cellules T à récepteur antigénique chimérique anti-CD19 à l'hôpital Lyon Sud

F. wallet^{*1}, P. Sesques², A. Geay³, E. Comte³, P. Sujobert³, E. Ferrant², V. Safar², M. Darien¹, M. Vercasson², V. Schwietz⁴, M. Choquet², P. Devic⁵, C. Simard⁵, S. Viel⁶, F. Venet⁶, V. Mialou⁷, O. Hequet⁸, H. Ghesquieres², E. Salles², E. Bachy²

¹ Service de réanimation, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ;

² Hématologie clinique, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ; ³ Laboratoire d'hématologie cellulaire, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ; ⁴ URCC, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ; ⁵ Neurologie, hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ; ⁶ Immunologie, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ;

⁷ Banque de tissus et cellules, EFS Aura, hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite ; ⁸ EFS, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite

Introduction. Les CART ont modifié la prise en charge des patients atteints de lymphome B diffus à grandes cellules depuis deux ans. La toxicité associée, qu'elle soit systémique (CRS) ou neurologique (ICANS), reste un enjeu majeur diagnostique et thérapeutique lors de l'administration de ce médicament. Actuellement il n'existe pas de marqueur biologique simple, utilisable en routine, pour le dépistage des ICANS.

Patients et méthodes. Nous avons évalué différents paramètres biologiques simples en routine sur une cohorte prospective de 76 patients atteints de lymphomes non hodgkiniens (LNH) ayant reçu un traitement par CART entre janvier 2017 et décembre 2019. Nous avons catégorisé la survenue d'un ICANS selon la classification de Société Américaine de Greffe de Moelle Osseuse (ASTCT). Sur la base de données expérimentales et de notre expérience clinique, nous avons évalué l'association des taux de fibrinogène et de ferritine dosés entre J8 et J14 postinjection ainsi que de la variation par rapport au taux de base (i.e. entre J-2 et J0 pré injection) avec la survenue d'un ICANS. Nous avons également évalué le taux de ferritine et la variation du taux de fibrinogène avec le grade de l'ICANS.

Résultats. Sur les 76 patients, 17 ont présenté une neurotoxicité (22 %), avec 58 % de grades 1, 12 % de grades 2, 29 % de grades 3 et 6 % de grade 4. La médiane de survenue de l'ICANS était de huit [5,75 ; 13,00] jours. La totalité des patients ayant présenté un ICANS ont développé un CRS au préalable [71 % de grade 1, 18 % de grade 2, 6 % de grade 3 et 6 % de grade 4]. Le taux médian de fibrinogène est significativement plus bas à J8 dans le groupe ICANS comparé au groupe sans neurotoxicité [2,42 mg/L [1,34 ; 2,68] vs 3,49 mg/L [2,81 ; 4,39] $P = 0,0160$). Le taux médian de ferritine est significativement plus élevé à J8 dans le groupe ICANS comparé au groupe sans trouble neurologique [2160 µg/L [897 ; 4004] vs 523 µg/L [272 ; 1371] $P = 0,0114$). Le taux médian de ferritine 24 h avant l'ICANS est significativement plus élevé dans le groupe ICANS grave (grade 3-4) vs ICANS peu graves (grade 1-2) : 3231 µg/L [2335 ; 34269] vs 984 µg/L [324 ; 1541] $P = 0,0023$. Un taux de ferritine supérieur à 2000 µg/L (Nle : 22-275) 24 h avant un ICANS semble ainsi associé à un grade plus élevé. Le taux médian de fibrinogène 24 h avant la survenue d'un ICANS est significativement plus bas dans le groupe ICANS grave (grade 3-4) vs ICANS peu graves (grade 1-2) : 3,01 g/L [2,40 ; 3,81] vs 4,91 µg/L [4,09 ; 5,31] $P = 0,0278$. La décroissance importante du taux de fibrinogène par rapport à la valeur pré infusion est associée à un ICANS plus sévère : -31 % [-49 ; -24] grade

3-4 vs +5 % grade 1-2 [-24 ; +51] $P = 0,0388$. Une diminution du fibrinogène supérieure à 25 % 24 h avant la survenue d'un ICANS semble associé à un risque plus grave de neurotoxicité. La performance diagnostique (pour la survenue d'un grade sévère d'ICANS en cas d'apparition de signe de neurotoxicité) de l'association d'une baisse de plus de 25 % du fibrinogène par rapport au taux de base et d'une ferritine > 2000 µg/L dans les 24 h précédentes est la suivante : VP 92 %, VP 100 %, Se 80 %, Sp 100 %.

Conclusion. Nos données suggèrent que les dosages du fibrinogène (diminution de plus de 25 %) et de la ferritine (> 2000 µg/L) seraient associés à un risque plus élevé de développer un ICANS grave, permettant ainsi d'optimiser leur prise en charge. Ces données nécessitent d'être consolidées par une cohorte de validation.

16-20 Les antioxydants protègent les cellules souches hématopoïétiques contre la perte de leurs potentiels fonctionnels liée au stress oxydant

E. Henry^{*1}, V. Barroca², D. Caroline², F. Pflum¹, M.L. Arcangeli¹

¹ Lshl, CEA Fontenay-aux-Roses, Fontenay-aux-Roses ; ² Ircm, Inserm/CEA, Fontenay-aux-Roses

Introduction. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) permettent la production de toutes les cellules du système sanguin tout au long de la vie. De plus, elles possèdent la capacité de s'auto-renouveler, ce qui en font d'excellentes candidates pour la thérapie cellulaire et génique. Les protocoles impliqués dans ces thérapies comprennent des étapes de culture, importantes pour l'expansion et/ou la modification génique des CSH. Toutefois ces étapes diminuent le potentiel des CSH, et ce malgré la présence de facteurs de croissance tels que SCF, FLT3L et TPO. En effet, pendant la culture des CSH, des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées et peuvent altérer leurs propriétés d'autorenouvellement, compromettant ainsi la qualité des greffons. Dans ce travail, nous avons étudié comment les ROS affectent les propriétés fonctionnelles des CSH, et si l'ajout d'antioxydants permet d'améliorer ces étapes de culture.

Matériels et méthodes. Cette étude a été réalisée avec des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques (CSPH) humains de sang de cordon de phénotype CD34+CD38lowCD45RA-CD90+. Leur fonctionnalité a été évaluée directement après traitement avec des antioxydants (NAC, Tempol) ou après deux jours de culture en milieu de transduction virale en utilisant les tests de CFU-C, de LTC-IC en dilution limite et des transplantations en série en souris immunodéficientes (NSG). Le phénotype, le cycle cellulaire, l'activité mitochondriale, la quantité de ROS et l'activation de plusieurs voies de signalisation ont été évalués par cytométrie en flux. Une analyse transcriptomique à large spectre (microarray Affymetrix) a été réalisée pour identifier des gènes impliqués dans les effets fonctionnels observés.

Résultats. Après deux jours de culture, nous avons observé une augmentation significative du nombre de CFU-C secondaires et tertiaires générées par les CSPH traitées par des antioxydants, de même que de la fréquence des LTC-IC après cinq à 10 semaines de culture, indiquant une préservation des propriétés fonctionnelles des CSPH à long terme. Les antioxydants ont aussi induit une augmentation de la capacité de reconstitution hématopoïétique en souris NSG des CSPH humaines traitées *ex vivo*. *In vitro*, nous avons constaté que le Tempol maintient le phénotype immature des CSPH en culture. Par ailleurs, l'activation de p38MAPK est significativement diminuée après traitement par les antioxydants NAC et Tempol, ainsi que l'activité mitochondriale, en lien potentiel avec la diminution de la quantité de ROS après les deux jours de culture. Enfin, nous avons observé que la signature transcriptomique de CSPH maintenues deux jours en culture est très différente de celle de CSPH fraîches. En particulier le cycle cellulaire, les dommages à l'ADN, le stress oxydant ainsi que certaines voies de signalisation sont modifiés. Les CSPH traitées avec les antioxydants présentent également des différences d'expression sur certains gènes par rapport aux CSPH non traitées après les deux jours de cultures, par exemple VEGF ou des gènes impliqués dans la réponse au calcium, indiquant de potentiels candidats pour expliquer les effets fonctionnels observés.

Conclusion. Dans l'ensemble, ces résultats montrent que les antioxydants protègent la fonctionnalité des CSH dans les protocoles de thérapie cellulaire et génique. Des expériences complémentaires (qPCR, analyse du flux calcique, analyse épigénétique) permettront de mieux caractériser les mécanismes moléculaires impliqués dans la protection des fonctions des CSH humaines et de prévenir leur perte lors de leur manipulation *ex vivo*.

16-21 Procédures et résultats de collecte de cellules mononucléées par aphérèse dans le cadre de l'autogreffe

MR. Abbadi¹, F. Talbi^{*2}, M. Rahali², S. Menouer², S. Belakehal², K. Djouadi²

¹ Hématologie, Hôpital Mohamed Seghir Nekkache, Alger, Algérie ;

² hématologie, hôpital Central De l'Armée DR Mohamed Seghir Nekkache, Alger, Algérie

Introduction. L'utilisation des cellules souches périphériques (CSP), comme source quasi exclusive de CSH (98 % des cas), l'efficacité des facteurs de croissance hématopoïétiques (steady state), la faible incidence des complications graves, expliquent en partie l'impressionnante augmentation du nombre d'autogreffes ces dernières années. Le prélèvement de CSH sanguines utilise des séparateurs de cellules, dont le rendement en CSH sanguines dépend du volume de sang total traité dans le séparateur. Dans ce cadre nous présentons notre expérience en matière de collecte de CSP dans le cadre de l'activité d'autogreffe initiée à notre niveau depuis janvier 2019.

Résultats. Après une mobilisation par des facteurs de croissance ($12 \mu\text{g/kg/j}$ pendant 5 j), le recueil de souches se fait par aphérèse (sur système Spectra Optia) à partir du sang périphérique (Voie périphérique) en suivant les différentes étapes de la sélection de la procédure de collecte CCMN jusqu'à la restitution et déconnexion. Sur une période de 10 mois, Nous avons proposé 16 patients pour l'autogreffe dont 15 patients étaient greffés et un échec de mobilisation, ils étaient suivis pour myélome multiple en rémission complète ou en VGPR, taux moyen de plasmocytes par CMF est de 1,04 % (0,000004-6 %), dose de granulocytes moyenne par jour 3,96 mL (2,6-5), tous nos patients ont bénéficié de deux mobilisations (J5 et J6).

– J1 Mobilisation : les taux moyens de GB 6305 ; Hb 13,1 ; Ht 39 % ; Plq 211625

– J5 Mobilisation : les taux moyen de GB 42260 ; Hb 12,9 ; Ht 38 % ; Plq 178062

– J6 Mobilisation (après 1^{ère} cytophérèse) : (les taux moyens de GB 43890 ; Hb 12,4 ; Ht 37 % ; Plq 126187)

– 1^{ère} cytophérèse (durée moyenne 231 mn ; nombre de masse moyen 2,26 ; VST moyen

– 10196 ; Nombre de cycles moyen 11 ; quantité d'ACD moyenne infusée : 939,3 mL ; Débit de prélèvement moyen 54 mL/min ; quantité de poches moyenne 197,9 mL ; Nombre de $\text{CD34}^+ \times 10^6/\text{kg}$ moyen 2,95, 1,2 amp en moyenne de Ca injectée)

– 2^{ème} cytophérèse (durée moyenne 169 mn ; nombre de masse moyen 1,6 ; VST moyen 6721 ; Nombre de cycles moyen 7 ; quantité d'ACD infusée moyenne : 680 mL ; Débit de prélèvement moyen 52 mL/min ; quantité de poche moyenne 124 mL ; Nombre de $\text{CD34}^+ \times 10^6/\text{kg}$ moyen 1,73, un amp en moyenne de Ca injectée).

Taux de Melphalan moyen injecté est de 339,3 mL. La durée moyenne d'aplasie observée est de 12,75 jours. Le greffon de CSP obtenu par système séparateur de cellules est le greffon de référence. L'optimisation de son prélèvement passe par une anticipation de l'indication de greffe de façon à réaliser le recueil dans une phase précoce du traitement du patient.

Conclusion. Le greffon de CSP obtenu par système séparateur de cellules est le greffon de référence. L'optimisation de son prélèvement passe par une anticipation de l'indication de greffe de façon à réaliser le recueil dans une phase précoce du traitement du patient.