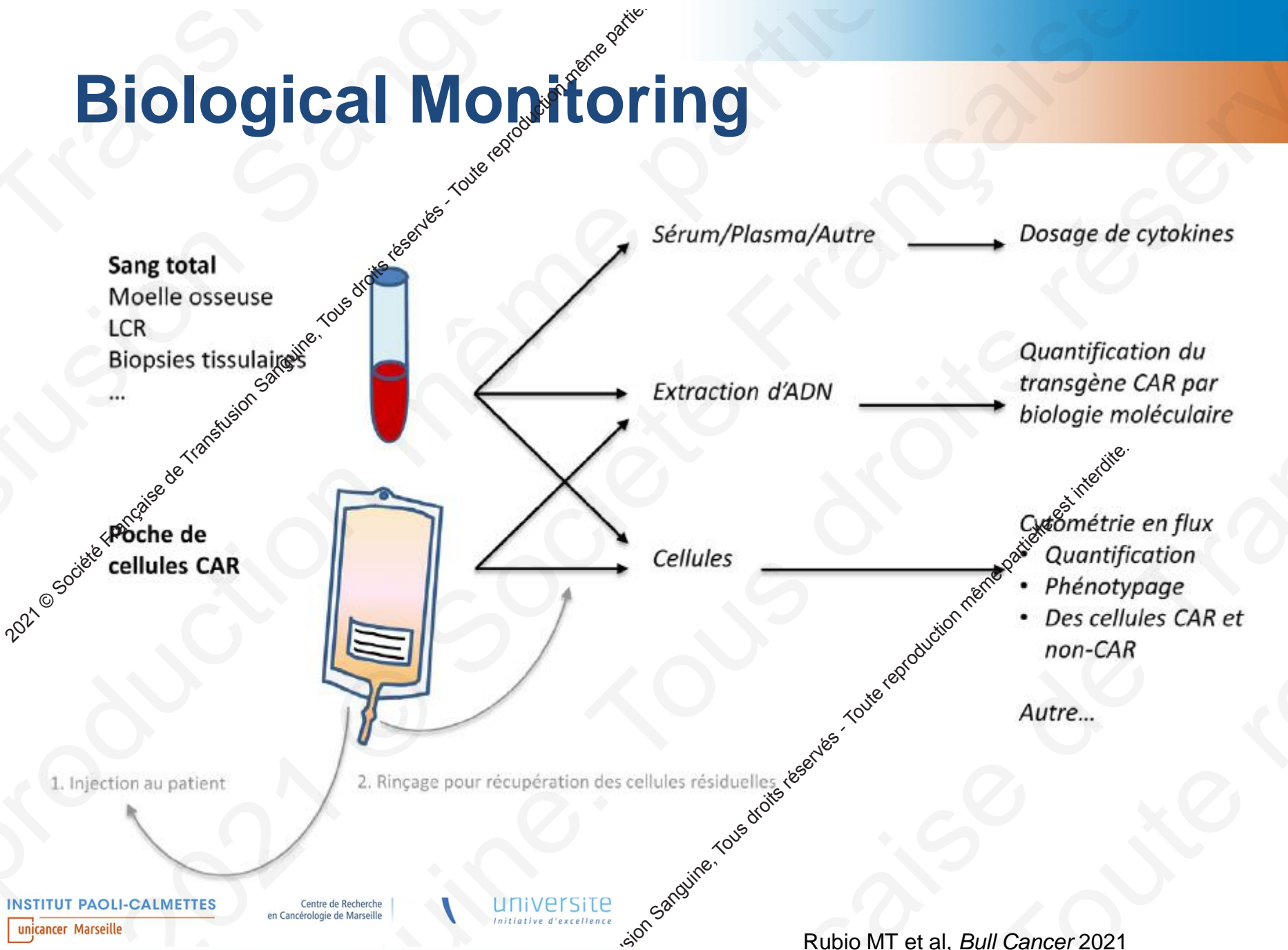


Biological monitoring of CAR-T cell-treated patients

Bechara Mfarrej, PhD
CBT 1409, Centre for Clinical Investigation in
Biotherapy, Marseille

Biological Monitoring



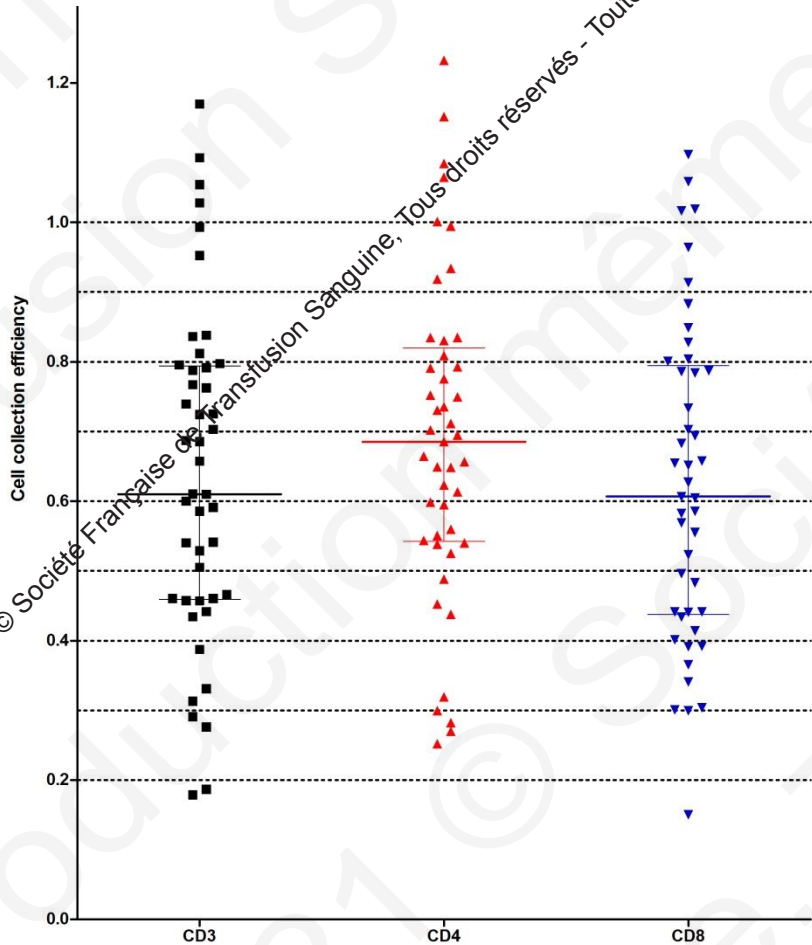
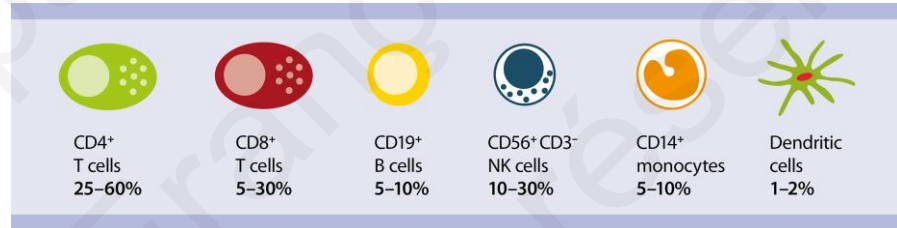
Quality of leukapheresis product

Prior to apheresis	Trials/SPC	EBMT recommendations	Comment
Blood values required for optimal apheresis performance			
Hemoglobin		Hemoglobin >80 g/L Hematocrit >0.24	To establish a good interface during collection
Absolute neutrophil count		>1.0x10 ⁹ /L	Consistent with recovery from prior chemotherapy
Absolute lymphocyte count		> 0.2x10 ⁹ /L*	Higher count required in small children. Of note, 0.2x10 ⁹ /L CD3 ⁺ count is the minimum threshold
Platelet count		> 30x10 ⁹ /L	Transfuse as required
Full blood count		To be repeated at the end of apheresis procedure	Apheresis can remove more than 30% of circulating platelets

SPC: summary of product characteristics; EBMT: European Society for Blood and Marrow Transplantation; ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; HIV: human immunodeficiency virus; HTLV: human T-lymphotropic virus. *This threshold specifically applies to count recovery following corticosteroid therapy where an absolute lymphocyte count >0.2 is a surrogate marker of corticosteroid washout.

Yakoub-Agha I et al, *Haematologica* 2020

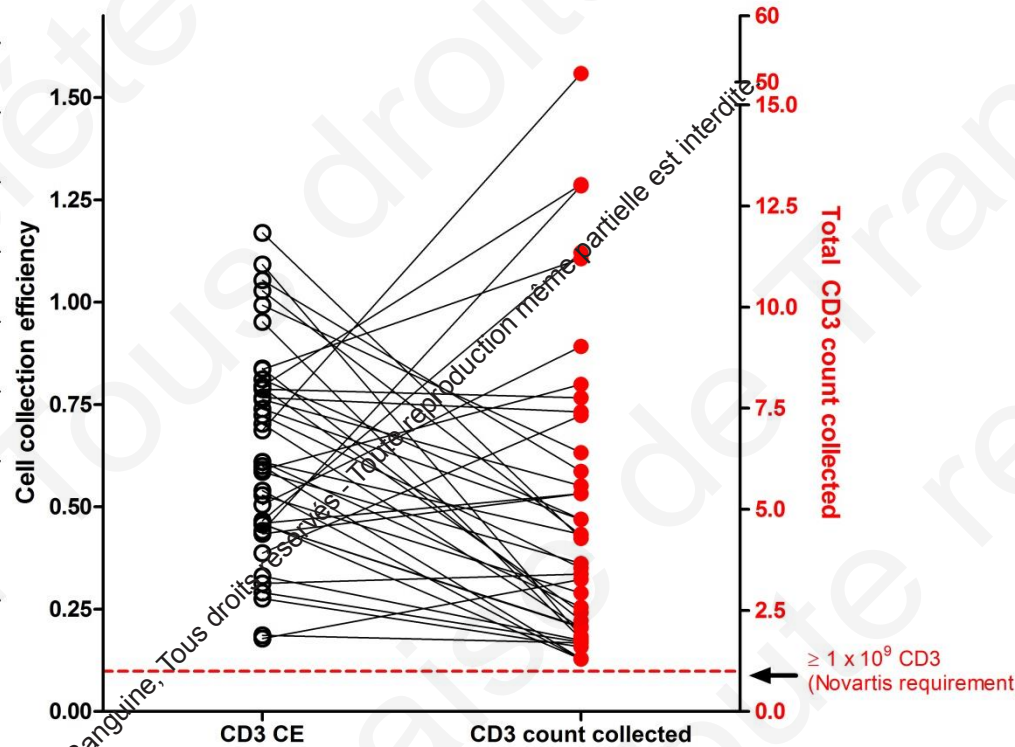
Quality of leukapheresis product



cell collection efficiency = leukapheresis (cells/ul x product volume) / pre leuka WB (cells/ul x processed blood volume)

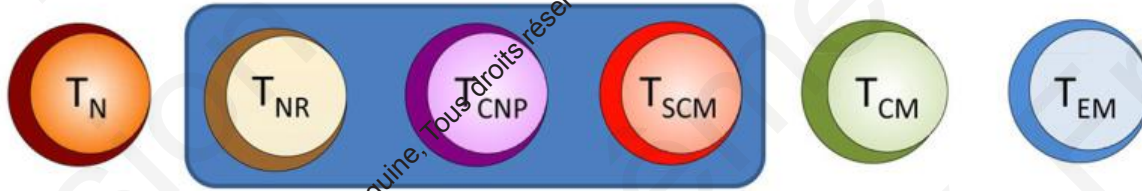
data represents median and interquartile range

n=45 collections

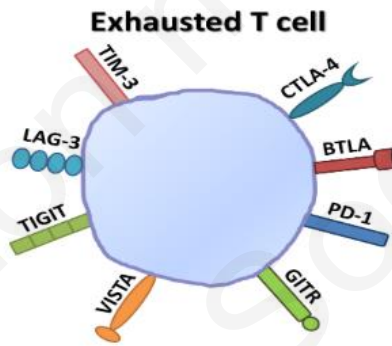


2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Quality of leukapheresis product



Fraietta JA et al, *Nat Med* 2018

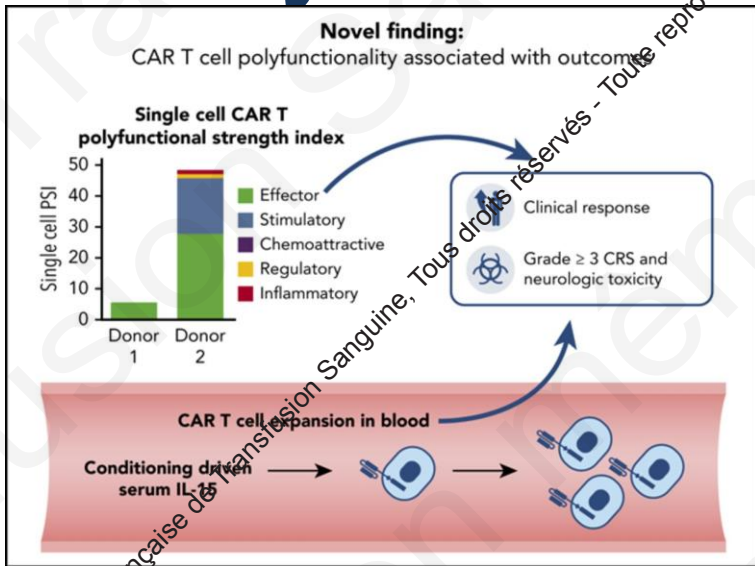


Finney OC et al, *J Clin Invest* 2019

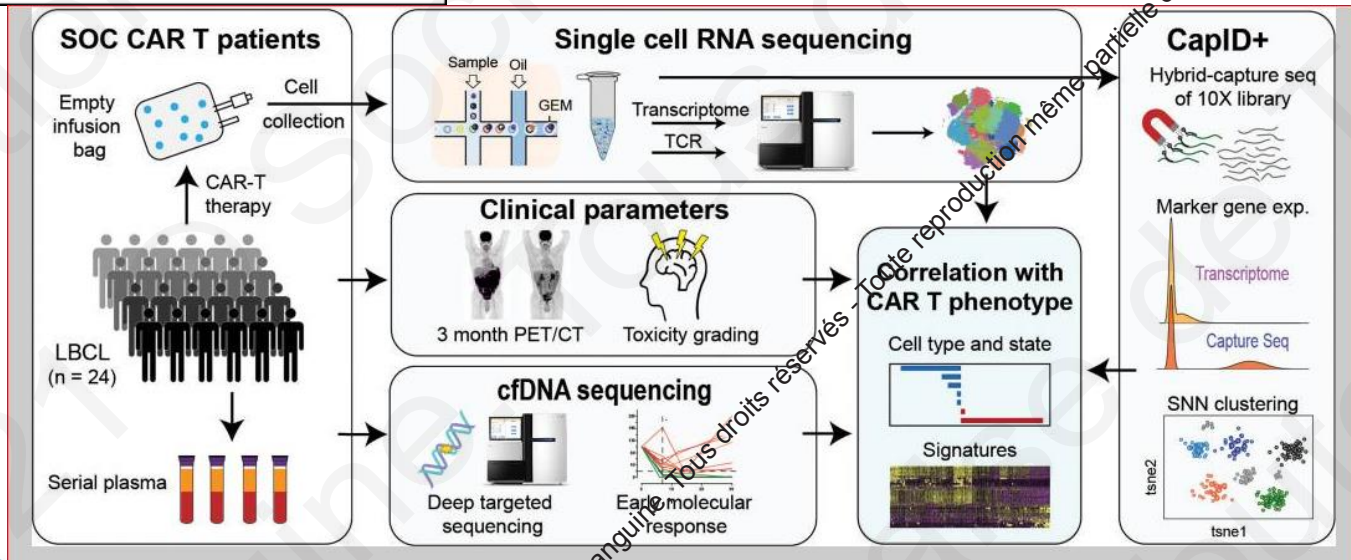
2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Quality of infused CAR-T cell product



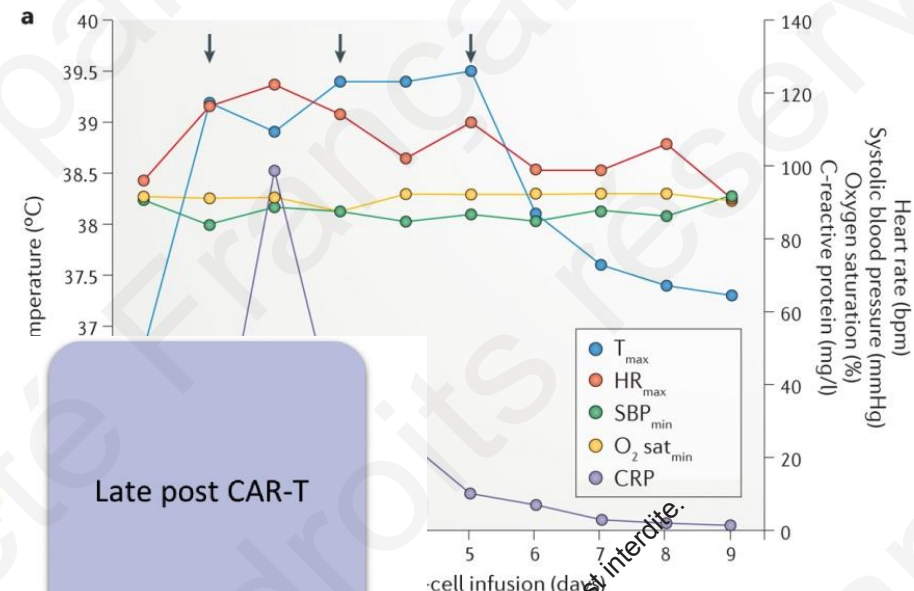
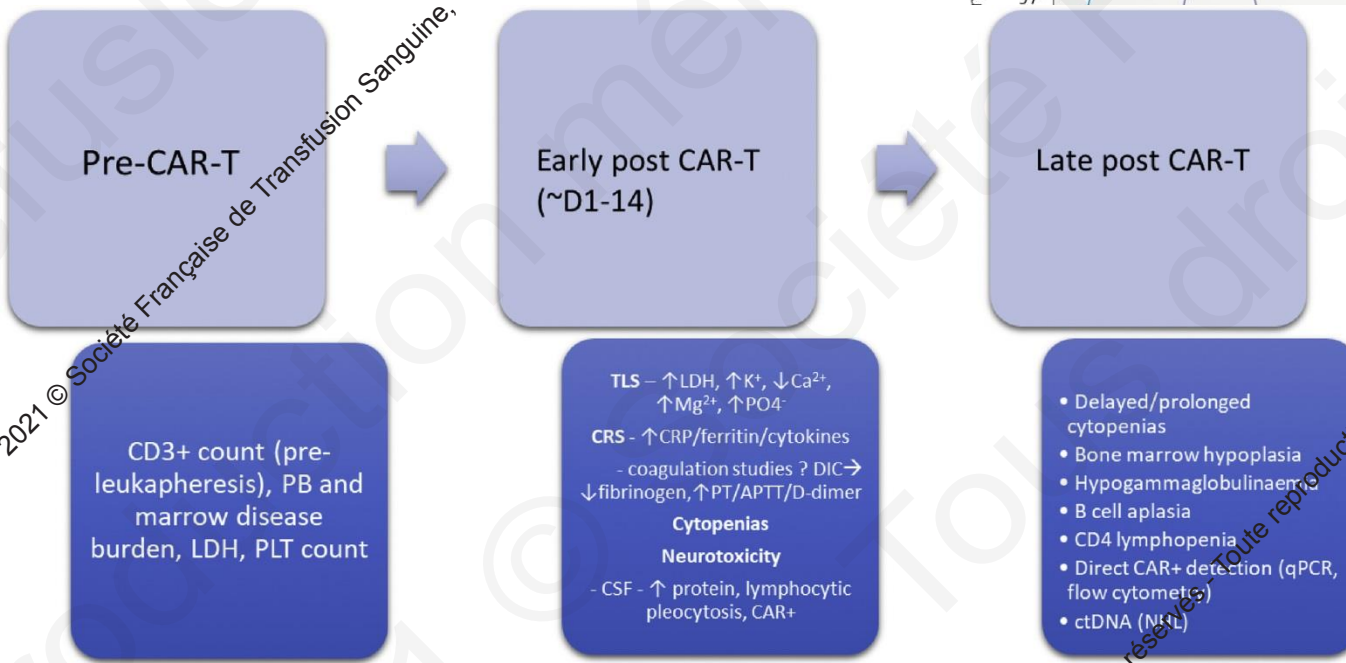
Rossi J et al, *Blood* 2018



Deng Q et al, *Nat Med* 2020

Patient follow-up

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partie.



Pre-CAR-T

CD3+ count (pre-leukapheresis), PB and marrow disease burden, LDH, PLT count

Early post CAR-T (~D1-14)

TLS – ↑LDH, ↑K⁺, ↓Ca²⁺, ↑Mg²⁺, ↑PO₄⁻

CRS - ↑CRP/ferritin/cytokines
- coagulation studies ? DIC → ↓fibrinogen, ↑PT/APTT/D-dimer

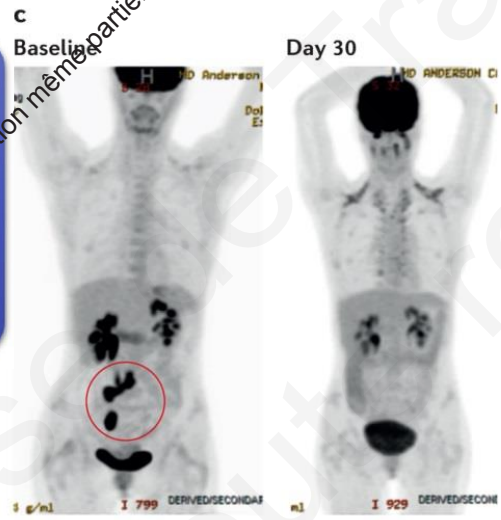
Cytopenias

Neurotoxicity

- CSF - ↑ protein, lymphocytic pleocytosis, CAR+

Late post CAR-T

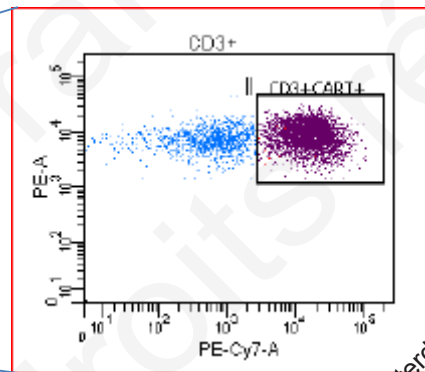
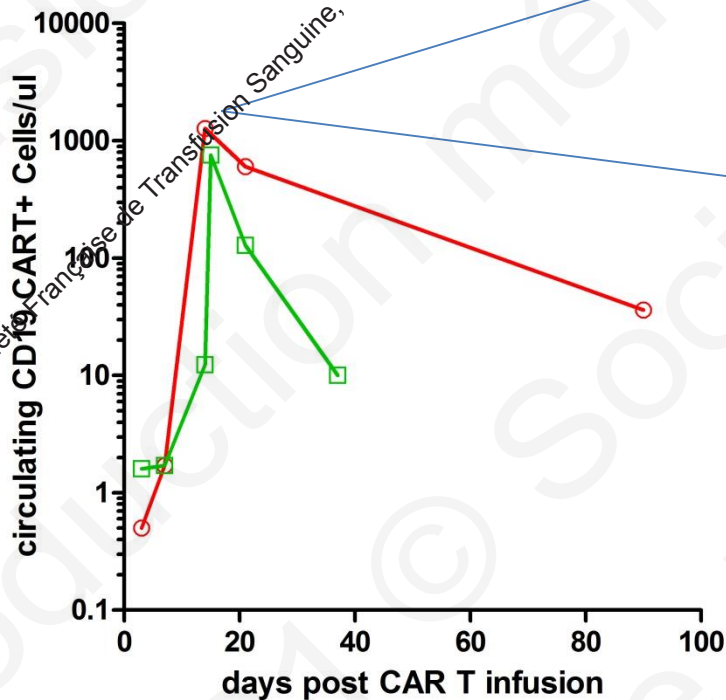
- Delayed/prolonged cytopenias
- Bone marrow hypoplasia
- Hypogammaglobulinaemia
- B cell aplasia
- CD4 lymphopenia
- Direct CAR+ detection (qPCR, flow cytometry)
- ctDNA (NNT)



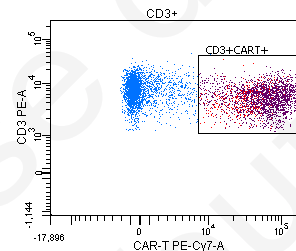
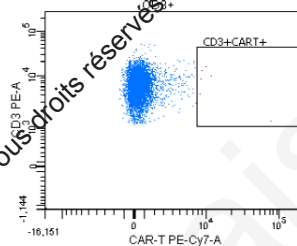
I miss my kids.

Selim AG, Pathology 2021

CAR-T cell persistence in circulation (IPC experience)



Potential:
Dosing BCMA-targeting CAR T cells



Control (no 1° Ab)

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Dosage of circulating B cells

SANG

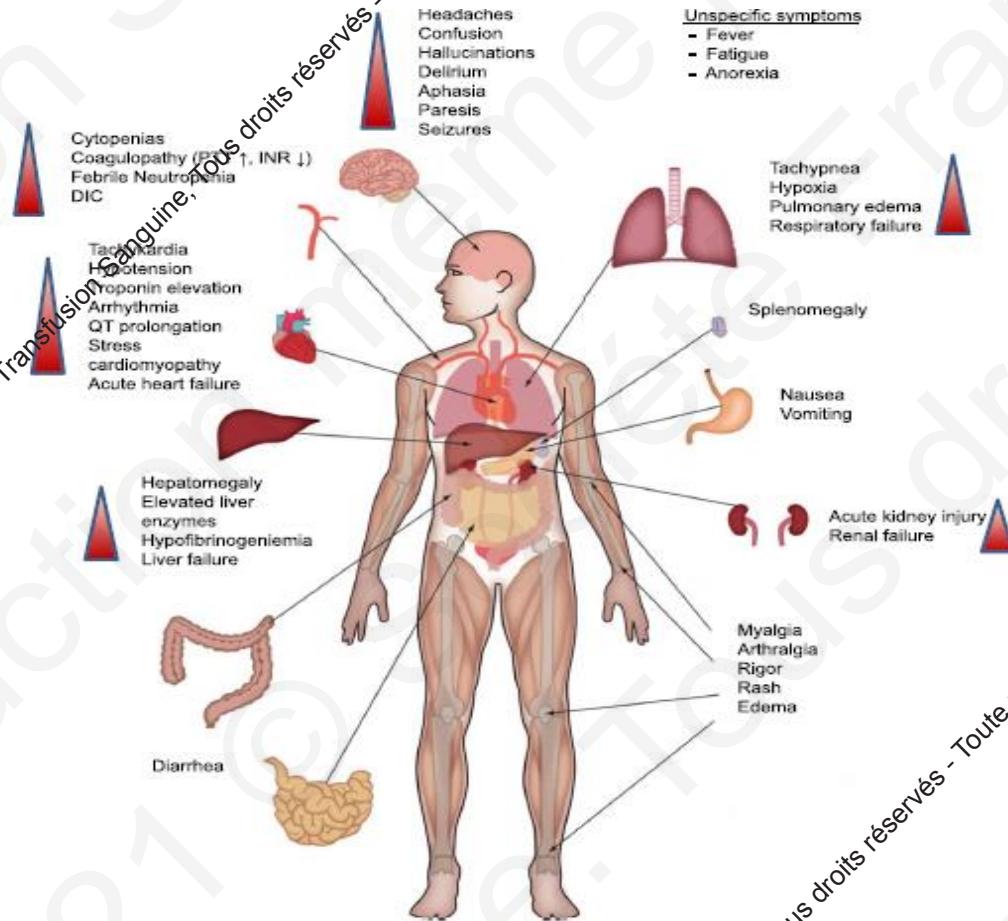
3 | 1/1

DATE PRÉLÈV.	CD3+ / MICROL	CD3+ 4+ / MICROL	CD3+ 8+ / MICROL	CD3- 19+ / MICROL	CD3- 19+ %	CD3- 16+ ET/OU 56+ / MICROL	CD45 / MICROL	CAR-T / MICROL	COMMENTAIRE
30/06/2021	834.6	206	651.5	0	0	158.9	4790.8	19.6	j+1
31/05/2021	968.3	238.9	731.7	0	0	105	1976.6		3 mois
01/04/2021	830.2	234.4	594.6	0	0	117.8	3773.6		JO aphérèse

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

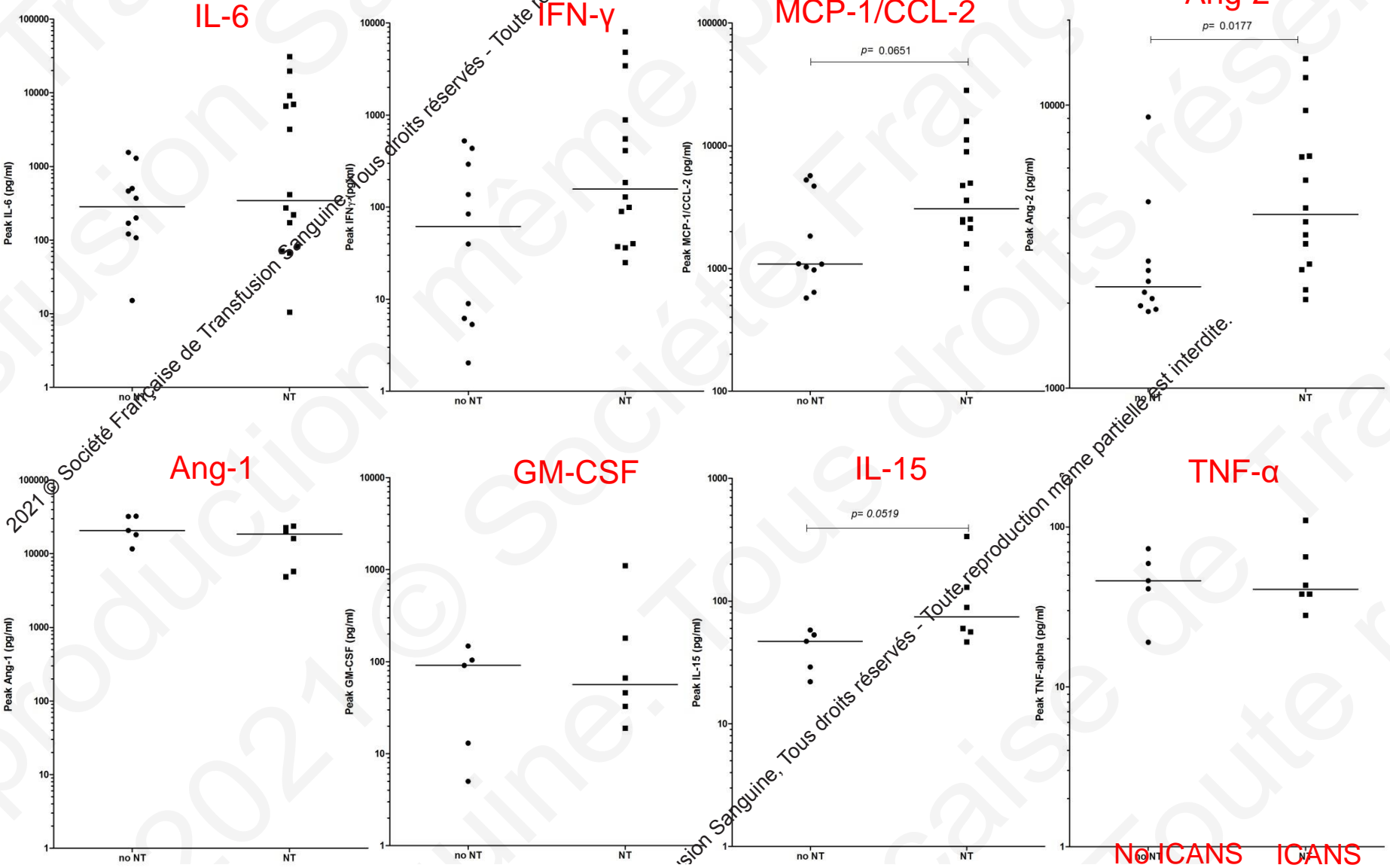
Clinical signs of toxicity



2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partie.

Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Cytokine dosing (CRS and ICANS)






no ICANS ICANS

2021














































Société Française de Transfusion Sanguine
Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Harmonisation of biological monitoring

	<p>Produit d'aphérèse ou sang périphérique</p> 	<p>CART-cells</p>  <p>Sur poche après déperfusion</p>	<p>Patient</p>  <p>Dans le sang périphérique ou autre tissus quand précisé</p>
<p>Analyses Fortement recommandées</p>			<ul style="list-style-type: none"> ✓ Quantification des cellules CAR-T par CMF (% et VA): -à J0, 2 à 3x/sem jusqu'à J21, J28=M1, M2, M3, M6 puis/6 mois (arrêt en cas de disparition du signal) ✓ Quantification des Lymphocytes T (CD3, 4, 8), B et NK: -à chaque point d'analyse des CAR-T ✓ EPP et gammaglobulines : -à M1, M2, M3, M6 puis / 6 mois
<p>Analyses Recommandées</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Phénotypage des lymphocytes: -T CD3, CD4, CD8 -B, NK -T naïfs/mémoires ✓ Congélation de sérum 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Phénotypage des CAR-T: -viabilité et % ✓ Phénotypage T : -CD3/4/8 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Quantification des cellules CAR-T par PCR : -Après disparition du signal en CMF puis M1, M3, M6 puis / 6 mois ✓ Quantification des cellules CAR-T dans la MO et le LCR : -lors de prélèvements dans ces tissus ✓ Congélation de sérum: - Pour dosage de cytokines ou sBCMA à J0 et à chaque point de suivi des CAR-T
<p>Analyses Optionnelles</p>			<ul style="list-style-type: none"> ✓ Phénotypage élargi des lymphocytes T: -à J0 et 1 fois par semaine tant que CAR-T > 1% des T CD3 -T naïfs/mémoires, marqueurs d'activation ((CD25, HLA-DR) et d'épuisement (PD1, Tim3/ LAG3) ✓ A chaque point de suivi des CAR-T : -reconstitution des populations immunes non CAR (T, NK, monocytes...) -dosages de cytokines ou congélation de sérum (protocoles recherche) ✓ Quantification des cellules CAR-T et phénotypage étendu dans d'autres prélèvements que le sang (PL, MO, ganglion..)

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle.

Sample	Aliquot volume & quantity	Apheresis product	Pre lympho depleting Rx	Cellular therapy product	Day 0	Day 2	Day 4	Day 7	Day 10	Day 12	Day 14	Day 21	Day 90	Day 360	Relapse
Product  or PBMC 	5 × 10 ⁶ cells/ 1 mL, 1-7 aliquots														
Plasma (EDTA) 	0.25m x up to 10 aliquots														
Bone Marrow 	5 ml aspirate														
Tumor 	Fresh tissue or FFPE slides 10 × 5µm														
Stool 	TBD														

Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Take home messages

- Biological monitoring can complement clinical and routine laboratory follow-up
- Premature point to use in decision-making
- If to be undertaken, harmonisation of practices is key

Thank you for your attention



2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.