



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2023

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Cytopénies persistantes chez les patients en réponse après
traitement par axicabtagene ciloleucel pour un lymphome B à
grandes cellules**

Présentée et soutenue publiquement le 17 octobre 2023 à 18h00

Au Pôle Formation

Par NICOLAS GAZEAU

JURY :

Président :

Monsieur le Professeur Ibrahim YAKOUB-AGHA

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Franck MORSCHAUSER

Madame le Docteur Julie DEMARET

Monsieur le Docteur Enagnon Kazali ALIDJINOU

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur David BEAUVAIS

Table des matières

| | |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| REMERCIEMENTS : | Erreur ! Signet non défini. |
| ABRÉVIATIONS : | 5 |
| INTRODUCTION : | 6 |
| A- Lymphome B à grandes cellules : | 6 |
| B- Thérapie par CAR-T cells : | 9 |
| a) Généralité : | 9 |
| b) Histoire : | 9 |
| c) Production : | 12 |
| d) Complications : | 14 |
| C- Cytopénies : | 15 |
| a) Généralités : | 15 |
| b) Facteurs favorisant les cytopénies retrouvées : | 17 |
| c) Physiopathologie : | 19 |
| d) Modèles prédictifs : | 19 |
| e) Prise en charge : | 20 |
| D- Complications hématologiques post CAR-T cells : | 21 |
| a) Cancérisation du CAR-T cell : | 21 |
| b) Hématopoïèse clonale, CHIP, SMD, LAM : | 22 |
| E- Rationnel et objectifs de l'étude | 23 |
| MÉTHODES : | 25 |
| RÉSULTATS : | 29 |
| Population : | 29 |
| Toxicité : | 31 |
| Données de survie et survie sans progression : | 32 |
| Descriptions des cytopénies : | 36 |
| Toxicité hématologique : | 39 |
| Analyses statistiques : | 46 |
| DISCUSSION : | 54 |
| RÉFÉRENCES : | 58 |

AVERTISSEMENT

LA FACULTÉ N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION AUX OPINIONS ÉMISES DANS LES THÈSES : CELLES-CI SONT PROPRES À LEURS AUTEURS.

ABRÉVIATIONS :

ANC : compte absolu de neutrophiles

ASCT : autologous stem cell transplantation (autogreffe de cellules souches hématopoïétiques)

ATU : autorisation temporaire d'utilisation

Axi-cel : axicabtagene ciloleucel

CAR : chimeric antigen receptor (récepteur à antigène chimérique)

CHIP : hematopoiesis of indeterminate potential

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CRS : cytokine release syndrome

ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group

EFS : event free survival

GCS-F : facteurs de croissance granulocytaires

HR: Hazard ratio

LBCL: Large B cell lymphoma (lymphome B à grandes cellules)

ICAHT : Immune Effector Cell Associated Hemato-Toxicity

ICANS : immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome

IC : Intervalle de confiance

IL : interleukine

LAL : leucémie aigüe lymphoblastique

LGL : leucémie à grands lymphocytes granuleux

Liso-cel : lisocabtagene maraleucel

NGS : new generation sequencing

NRM : non relapse mortality (mortalité non liée à la rechute)

PreLD : pré-lympho-dépletion

RC : rémissions complètes

RP : rémissions partielles

SAM : syndrome d'activation macrophagique

VAF : Variant Allele Frequency ou fréquence allélique

Tisa-cel : tisagenlecleucel

TCR : T cell receptor

t-MN : transformed myéloïde néoplasie

INTRODUCTION :

A- Lymphome B à grandes cellules :

Le lymphome B à grandes cellules (large B cell lymphoma ou LBCL) est le sous-type le plus courant de lymphome non hodgkinien, représentant environ 25-30% de tous les cas de lymphomes. Il se caractérise par une croissance rapide et agressive des cellules lymphoïdes B matures. Les patients atteints de LBCL présentent généralement des adénopathies rapidement progressives, avec parfois des atteintes d'organes comme le foie ou un envahissement neuro-méningé ainsi qu'une altération de l'état général.^{1,2}

La dernière évolution majeure dans le traitement du LBCL en première ligne est l'ajout du rituximab, un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre l'antigène CD20, au protocole CHOP (cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone), qui a été largement utilisé pendant de nombreuses années. L'ajout du rituximab à ce protocole (R-CHOP) a conduit à une amélioration significative de la survie. Il permet de guérir 60% des patients, et reste aujourd'hui la norme.³ Plus récemment, l'utilisation du polatuzumab-vedotin, un anticorps monoclonal humanisé ciblant CD79b conjugué à un agent cytotoxique (MMAE), plutôt que la vincristine (pola-R-CHP) a permis une amélioration du traitement des LBCL en première ligne mais n'est actuellement pas recommandé en pratique courante.⁴

En cas d'échec thérapeutique ou de résistance au traitement par R-CHOP, chez les patients âgés de moins de 70 ans, la principale option thérapeutique utilisée jusqu'à peu est l'intensification thérapeutique par autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (autologous stem cell transplantation ou ASCT).^{5,6} Cependant, malgré les progrès thérapeutiques, plus de la moitié des patients rechutent après une

2ème ligne de traitement. C'est pourquoi de nouvelles approches thérapeutiques sont nécessaires. Récemment, les lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T cells) ont révolutionné le traitement des LBCL en rechute ou réfractaires.

Les CAR-T cells sont des lymphocytes T génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur chimérique spécifique à l'antigène CD19 présent sur les cellules cancéreuses du lymphome B. Les résultats des essais cliniques montrent des améliorations significatives en termes de survie et de réponse chez les patients atteints de LBCL réfractaires ou en rechute. L'étude ZUMA-1, une étude de phase 2, réalisée en 2017 comptant 101 patients, rapporte un taux de réponse de 82%, dont 54% de réponse complète (RC) chez les patients traités par axicabtagene ciloleucel (axi-cel), un CAR-T cell dirigé contre le CD19 avec le CD28 comme domaine de co-stimulation. Cette étude montre une survie sans progression médiane de 5,8 mois et une survie globale de 52% à 12 mois.⁷ Lors du suivi à long terme, le taux de survie globale à 5 ans est de 42,6% avec un taux de survie globale des patients en RC de 64,4%.⁸ Par la suite, l'essai de phase 2 JULIET publiée en 2018 avec le tisagenlecleucel (tisa-cel) et son domaine de co-stimulation 4-1BB, montre un taux de réponse globale de 52% avec un taux de réponse complète à 40%.⁹ À long terme, après un suivi médian de 40,3 mois, plus de 60% des patients répondeurs ne rechutent pas.¹⁰ Et enfin, l'essai TRANSCEND avec 269 patients en 2020 qui évalue le lisocabtagene maraleucel (liso-cel), un autre CAR-T cell dirigé contre le CD19, injecté à dose égale entre lymphocytes CD8 et CD4, montre une réponse globale de 73% et 53% de RC.¹¹ Après un suivi de 2 ans, la survie sans progression (event free survival ou EFS) est de 6,8 mois et la survie globale de 27,3 mois.¹²

Face aux résultats remarquables de ces études chez les patients ayant reçu plusieurs traitements d'immunochimiothérapie, les trois CAR-T cells ciblant le CD19 sont

comparées à l'ASCT chez les patients atteints de LBCL en rechute ou réfractaires. Malgré les différences entre ces essais telles que l'hétérogénéité des patients, la gravité des LBCL, l'autorisation ou non de chimiothérapie de "bridging" et les variations de délai avant l'administration de l'injection, l'étude ZUMA-7 avec axi-cel et l'étude TRANSFORM avec le liso-cel montrent une supériorité du traitement par CAR-T cells par rapport à l'ASCT (EFS médiane : 8,3 mois vs 2 mois pour axi-cel ; non atteinte vs 2,4 mois pour liso-cel). En revanche, l'étude BELINDA testant le tisa-cel ne démontre pas de différence significative (EFS médiane : 3 mois vs 3 mois).¹³⁻¹⁵

L'axi-cel et le liso-cel ont maintenant leur place dans la prise en charge des LBCL en 2^{ème} ligne et en accès précoce depuis avril et septembre 2022 respectivement, chez les patients réfractaires ou en rechute moins d'un an après la fin du traitement de 1^{ère} ligne. L'axi-cel et le tisa-cel ont par ailleurs une autorisation de mise sur le marché en France après au moins 2 lignes de traitement. L'autogreffe quant à elle semble ne plus avoir sa place dans le traitement des LBCL en rechute ou réfractaires sauf éventuellement chez les patients jeunes en rechute à plus d'un an. Les questions actuelles se focalisent maintenant sur ; la comparaison d'efficacité et de toxicité entre ces différents CAR-T cells et leur intégration dans les protocoles thérapeutiques avec l'arrivée des anticorps bispécifiques, plus facile d'utilisation. De plus, quelques données préliminaires décrivent l'utilisation des CAR-T cells en première ligne thérapeutique de lymphome.¹⁶⁻²⁰

B- Thérapie par CAR-T cells :

a) Généralité :

La thérapie par CAR-T cells a révolutionné la prise en charge de certaines pathologies en hématologie maligne. Cette nouvelle immunothérapie a d'abord été approuvée dans la leucémie aigüe lymphoblastique B (LAL-B) avec un premier CAR-T cell commercialisé, le tisa-cel, développé à l'Université de Philadelphie.^{21,22} Elle a ensuite été approuvée dans les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBCL) avec axi-cel, liso-cel et de nouveau tisa-cel.^{23-25 26,27} Par la suite d'autres CAR-T cells ont montré leur efficacité dans la LAL-B,²⁸ dans le lymphome folliculaire (LF),²⁹ dans le lymphome à cellules du manteau avec le brexucabtagene autoleucel (brexu-cel),³⁰ et également dans le myélome multiple avec idecabtagene vilcleucel (ide-cel) et ciltacabtagene autoleucel (cilta-cel), tous deux reconnaissant l'antigène de maturation des cellules B (BCMA).^{31,32} Nous allons voir dans cette partie la création, la production, le fonctionnement et les complications de cette nouvelle thérapie en nous concentrant sur les CAR-T cells dirigés contre le CD19 et particulièrement axi-cel.

b) Histoire :

Dans les années 1980, le professeur Zelig Eshhar, scientifique israélien de renom, et son équipe à l'Institut Weizmann des Sciences en Israël, ont réalisé des percées majeures en créant des récepteurs chimériques combinant les domaines de liaison des anticorps afin d'assurer la détection de la cellule cible (single-chain Fv domain ou scFv), avec les sous-unités γ ou ζ des récepteurs T (T cell receptor ou TCR), pour assurer une activation des lymphocytes T. Les premiers récepteurs chimériques basés

sur un anticorps monoclonal ont été décrits au Japon en 1987.³³ Il a fallu attendre 1989 pour que Eshhar et son équipe confèrent aux cellules T, une spécificité anticorps-dépendante, et de ce fait, indépendante de la présentation antigénique au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), tout en conservant le signal transmembranaire et intra-cellulaire lymphocytes T. Ils ouvrent ainsi la voie à la création des CAR-T cells, appelés dans ces premières études : «chimeric scFvR γ / ζ » puis rapidement «T-bodies».³⁴⁻³⁶

Les CAR-T cells combinent donc un domaine de liaison à un antigène, le plus souvent une scFv dérivée d'anticorps monoclonaux, et un domaine de signalisation intracellulaire du TCR. Différentes générations de CAR-T cells ont vu le jour (*figure 1*)³⁷ : la première, démunie de domaine de costimulation intracellulaire, tandis que les CAR-T cells de 2^{ème} génération possèdent un domaine intracellulaire de costimulation mimant le deuxième signal d'activation du lymphocyte T (CD28 ou 4-1BB principalement). Il existe également des CAR-T cells de 3^{ème} génération possédant deux domaines de costimulation, et de 4^{ème} ou 5^{ème} génération avec la même structure mais avec l'association de cytokines ou d'enzymes (non présentes sur la figure ci-dessous).

La première génération testée dans différents cancers n'a pas montré l'efficacité attendue. Cependant, l'arrivée des CAR-T cells de 2^{ème} génération a permis une meilleure prolifération et durée de vie des CAR-T cells après l'injection, et permet d'observer des réponses complètes persistantes.^{38,39}

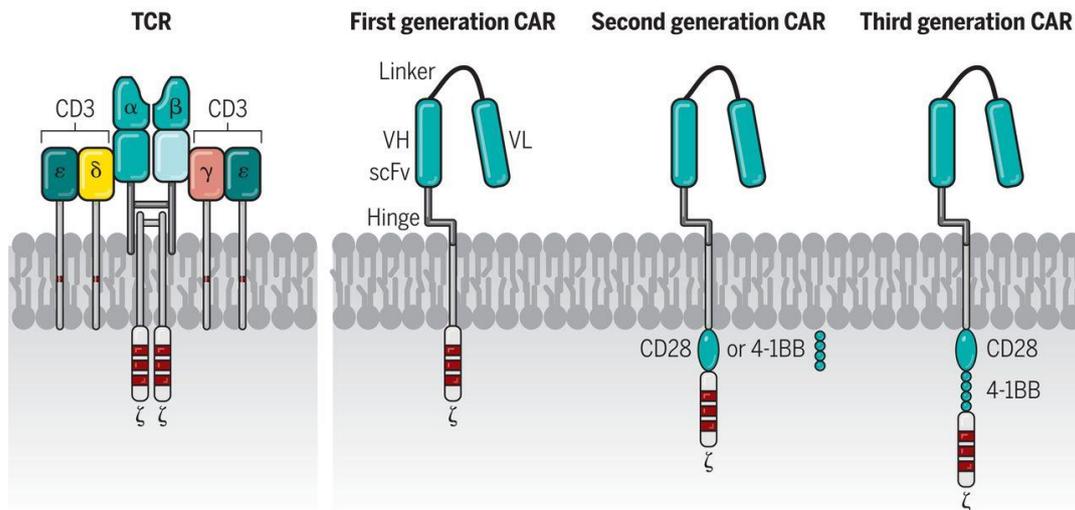


Figure 1 : TCR comparé aux CAR de différentes générations.

De gauche à droite : TCR d'un lymphocyte, CAR de première génération, CAR de seconde génération avec un domaine de co-stimulation (CD28 ou 4-1BB), CAR de 3^{ème} génération avec deux domaines de co-stimulation

Abréviation : scFv, single-chain variable fragment ; VH, variable heavy chain ; VL, variable light chain

Source : *CAR T cell immunotherapy for human cancer ; Science ; C. June et al.*

Il a fallu attendre les travaux de Carl June à l'Université de Pennsylvanie au début des années 2010 pour marquer le début d'une ère révolutionnaire dans l'utilisation clinique des CAR-T cells, bouleversant ainsi le traitement des hémopathies B en rechute et réfractaires. L'équipe du Dr Carl H. June a choisi le CD19 comme cible privilégiée des CAR-T cells, car présents à la surface des cellules de leucémie lymphoïde chronique (LLC), de lymphome agressif et indolent, ainsi que de LAL-B.

En 2010, ils administrent donc un CAR-T cell dirigé contre le CD19 avec comme domaine de stimulation la molécule 4-1BB. Appelée alors CTL019 (qui deviendra tisa-cel), il est administré chez un patient atteint d'une LLC en rechute et réfractaire, et montre pour la première fois une réponse prolongée ainsi qu'une prolifération et persistance in vivo des CAR-T cells.⁴⁰

La véritable révolution est réalisée par la première injection en 2012 du même CAR-T cell chez deux enfants atteints de LAL B, qui ont tous deux connu une rémission complète. Le premier enfant, âgé de 10 ans, a rechuté 2 mois après l'injection et a permis de décrire le principal mécanisme de rechute des LAL B post CAR-T cells, avec l'apparition de blaste ne présentant plus l'antigène CD19 à sa surface.

Quant au deuxième enfant, il s'agit de la première patiente traitée pour une LAL par CAR-T cells, Emily Whitehead, alors en soins palliatifs après 2 ans de traitement. Elle est toujours en rémission lors de l'écriture de cette thèse.⁴¹

c) Production :

La création d'un CAR-T cell suit les mêmes étapes, quel que soit le récepteur chimérique et la maladie visée, mais diffère d'un CAR-T cell à l'autre.

La première étape est la leucaphérèse, qui permet d'obtenir les cellules mononucléées d'un patient (PBMC) (*figure 2*). Ce produit s'appelle « produit d'aphérèse » et peut être utilisé frais ou congelé. Ensuite, il est nécessaire d'activer les cellules T naïves, et de reproduire le premier signal du lymphocytes T avec la cellule présentatrice d'antigènes. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour mimer cette interaction (bille antiCD3/CD28, anticorps monoclonaux, ...). Les lymphocytes T sélectionnés et activés, sont ensuite isolés et transduits à l'aide de vecteurs, lentivirus ou rétrovirus, codant pour la molécule chimérique : le CAR. Afin d'augmenter le nombre de lymphocytes T transduits (appelés à ce stade CAR-T cells), une expansion est nécessaire. De nouveau, plusieurs méthodes peuvent être employées, automatisées ou non (billes, cytokines, cellules CD19⁺ irradiée, ...). Une fois l'expansion terminée et après un contrôle qualité, les CAR-T cells sont prêts à être congelés, puis injectés au

patient après une chimiothérapie de lymphodépletion (LD) comprenant le plus souvent de la fludarabine et du cyclophosphamide. ^{42,43}

La production des CAR-T cells commerciaux ou académiques sont peu standardisés avec un grand nombre de paramètres inconnus. Le produit d'aphérese, la manière dont est produit le CAR-T cell et les produits finaux, peuvent possiblement être des facteurs confondants expliquant des taux de réponse ou de toxicité différents et sont toujours à l'étude. ⁴⁴⁻⁴⁶

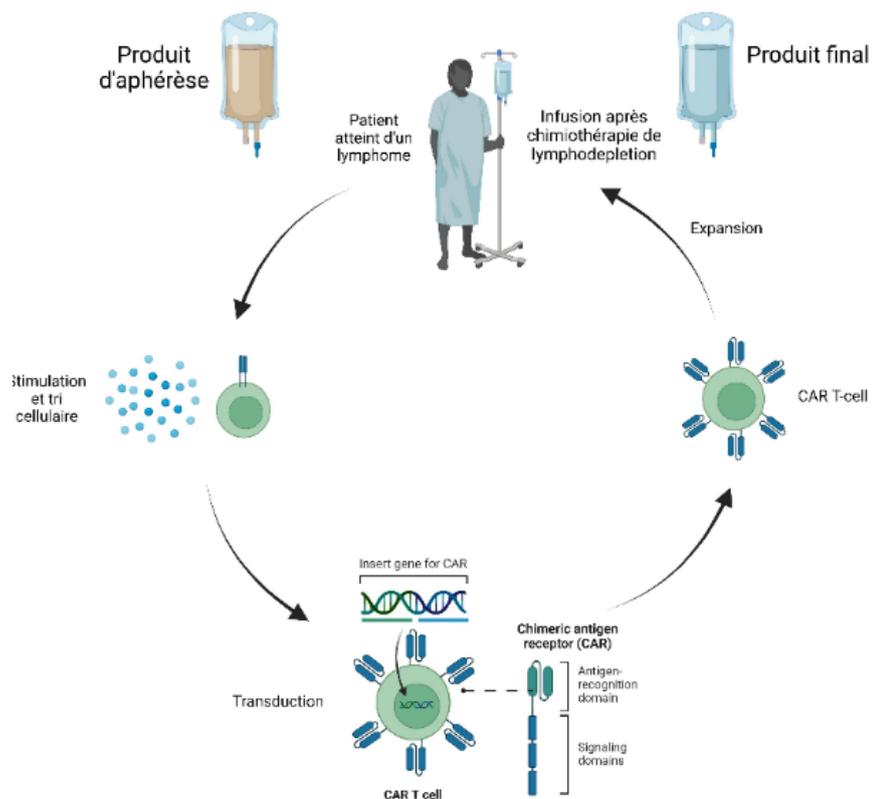


Figure 2 : Production de CAR-T-cells, de la leucaphérèse à l'injection

d) Complications :

Parmi les complications liées à l'injection de CAR-T cells, le syndrome de libération de cytokines (CRS) occupe une place prépondérante. Le CRS est une réaction inflammatoire systémique provoquée par l'activation massive des CAR-T cells qui libèrent une multitude de cytokines pro-inflammatoires. Cette cascade est provoquée par le recrutement et l'activation de cellules myéloïdes qui libèrent certaines des principales cytokines incriminées tel que l'IL-6 et l'IL1.⁴⁷⁻⁴⁹ Les signes cliniques sont typiques : fièvre, hypotension, hypoxémie ainsi que des dysfonctionnements d'organes pouvant aller jusqu'à l'état de choc et la défaillance multiviscérale dans les formes les plus sévères. Les principaux facteurs de risque associés à la sévérité du CRS sont : l'importance de la masse tumorale, le CAR-T cell utilisé, ainsi que différents biomarqueurs comme la CRP et les cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-6 (IL-6) et le TNF- α .

Un autre effet indésirable majeur est la toxicité neurologique appelée immune effector cell-associated syndrome (ICANS). Ce syndrome se manifeste par l'apparition de troubles cognitifs, de troubles du langage et de la coordination, des convulsions et dans les cas graves, un coma secondaire à un œdème cérébral. L'ICANS est souvent lié à la présence et l'intensité du CRS, ce qui suggère une interaction complexe entre les réactions inflammatoires systémiques et le système nerveux central. Le mécanisme physiopathologique de l'ICANS n'est pas complètement résolu mais correspondrait à une altération de la barrière hémato-encéphalique conduisant à la libération de cytokines neuro-inflammatoires dans le système nerveux central. À l'instar du CRS, le type de CAR-T cell utilisé semble influencer l'apparition et la gravité des ICANS.⁵⁰⁻⁵⁵

Un autre effet secondaire lié aux CAR-T cells est le syndrome d'activation macrophagique (SAM). Le SAM est une réaction inflammatoire systémique déclenché par l'activation démesurée des macrophages qui libèrent une quantité excessive de cytokines pro-inflammatoires. Ce syndrome se caractérise par divers symptômes : de la fièvre, une hépatosplénomégalie, des cytopénies et des dysfonctionnements d'organes. Le SAM semble plus rare que le CRS et l'ICANS, mais il reste peut-être sous diagnostiqué et représente une cause de surmortalité.⁵⁶

C- Cytopénies :

a) Généralités :

Bien que le CRS et l'ICANS soient les principales complications aiguës et les plus étudiées, elles ne sont pas les plus fréquentes. La complication sévère la plus fréquente est l'apparition et la persistance de cytopénies comme l'ont montré les recommandations de bonnes pratiques de l'EHA et de l'EBMT.⁵⁷ Les cytopénies associées aux CAR-T cells appelées Immune Effector Cell Associated Hemato-Toxicity (ICAHT) sont plus fréquentes que le CRS (et à fortiori les ICANS et SAM) quel que soit le CAR-T cell utilisé ou la pathologie traitée. L'étude qui utilisait axi-cel ZUMA-1 décrit 14% de CRS de grade 3 ; en comparaison, le taux de neutropénie de grade ≥ 3 à un mois est de 26% ; et de même pour JULIET avec 22%, contre 24% respectivement, et TRANSCEND, 2% contre 60%.^{8,9,11} La première hypothèse voudrait que le nombre de lignes antérieures soit la seule cause responsable mais les études avec le traitement par CAR-T cells en deuxième ligne montrent toujours les mêmes résultats.^{13,14}

La cause des ICAHT et leurs mécanismes restent flous et peuvent être multifactoriels.⁵⁸ Les cytopénies peuvent être séparées en fonction de leur durée : les cytopénies précoces sont définies comme présentes dans les 30 premiers jours après l'injection de CAR-T cells. Les cytopénies prolongées quant à elles sont définies comme présentes entre 30 et 90 jours, et les cytopénies tardives après 90 jours.⁵⁹ Plus récemment, l'EHA et l'EBMT ont défini les cytopénies précoces comme celles survenant avant 30 jours, et les cytopénies tardives comme celles survenant après 30 jours.

En plus de leur fréquence, ces ICAHT ont un véritable impact clinique avec une diminution de la survie globale (overall survival ou OS) chez les patients présentant des cytopénies à 3 mois après l'injection de axi-cel (figure 3).⁶⁰

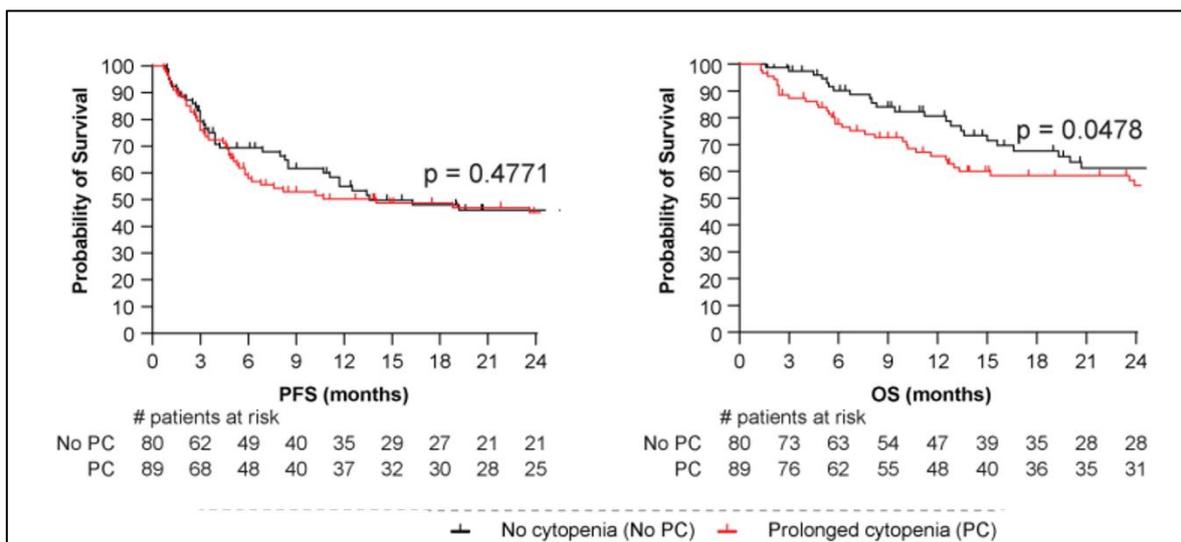


Figure 3 : survie sans progression et survie globale associées aux cytopénies tardives chez les patients ayant reçus axi-cel pour des LBCL en rechute ou réfractaire. Patients avec des cytopénies (n=89 en rouge), patients sans cytopénies (n=80 en noir).

Abbreviations : No PC, no cytopenia ; PC, cytopenia

Source: *Prolonged cytopenia following CD19 CAR T cell therapy is linked with bone marrow infiltration of clonally expanded IFNγ-expressing CD8 T cells, Cell report Medicine, Strati et al.*

b) Facteurs favorisant les cytopénies retrouvées :

Les causes principalement évoquées dans la littérature et la prise en charge sont détaillées en *figure 4*. Les cytopénies précoces sont les plus attendues, et celles avec un mécanisme physiopathologie, le plus évident. Il s'agit majoritairement d'un effet secondaire de la chimiothérapie de LD (le plus souvent par fludarabine et cyclophosphamide). De plus, le nombre de lignes de traitements précédents et la réalisation d'une autogreffe sont parfois retrouvés comme facteurs favorisants.^{61,62} D'autres facteurs propres au patient et à la maladie précédant la lympho-dépletion (preLD) ont été mis en évidence : le type de maladie (LAL>Lymphome), la masse tumorale (LDH élevé, présence d'une infiltration médullaire preLD)^{58,63-65}, la présence de cytopénies présentes preLD et principalement la thrombopénie⁶⁵⁻⁶⁷, la caractéristique inflammatoire biologique du patient avec la présence de cytokines pro-inflammatoires qui inhibent l'hématopoïèse.^{67,68} Le type de CAR-T cell et le type de domaine de co-stimulation (CD28>4-1BB) sont également un facteur important dans la survenues de ces cytopénies.^{61,66,69,70} Après la LD, d'autres facteurs entrent en jeu et peuvent participer aux cytopénies : la gravité du CRS et la présence de cytokine pro-inflammatoire dans le sérum,^{67,69,70,70,71} la présence d'un SAM,⁷² la présence d'infection bactérienne, virale ou fongique et leur sévérité,⁷³ ou encore la toxicité médullaire des prophylaxies anti-infectieuses utilisées en parallèle.⁵⁹

Les cytopénies tardives sont le sujet principal de cette thèse et principalement les cytopénies à plus de 6 mois que nous avons décidé d'appeler cytopénies persistantes. Les causes précédemment évoquées peuvent être des facteurs favorisant les cytopénies tardives, mais expliquent difficilement la persistance de cytopénie à 6 mois

et plus. À ce stade de la prise en charge, les patients sont suivis en ambulatoire et peuvent bénéficier d'une évaluation médullaire par myélogramme afin d'explorer ces cytopénies. La présence d'hématopoïèse clonale, appelée hematopoiesis of indeterminate potential (ou CHIP) ou d'un syndrome myélodysplasique (SMD) est parfois retrouvé. L'apparition plus anecdotique de leucémie à grands lymphocytes à grains (LGL) est une donnée supplémentaire pouvant expliquer ces cytopénies persistantes.^{59,68}

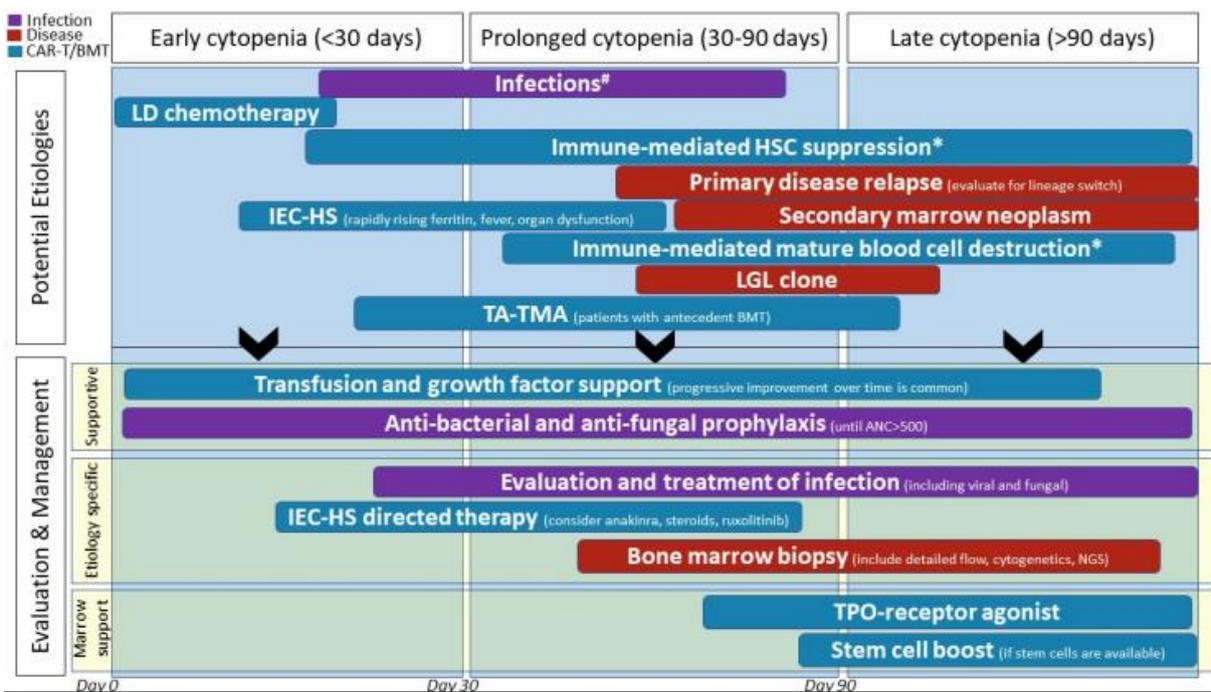


Figure 4 : Etiologies et prise en charge des cytopénies après perfusion de cellules CAR-T.

Abbreviation : ANC, absolute neutrophil count; IEC-HS, hemophagocytic lymphohistiocytosis-like hyperinflammatory syndrome associated with immune effector cells; LD, lympho-dépletion; LGL, large granular lymphocytosis; NGS, next generation sequencing; TA-TMA, transplant-associated thrombotic microangiopathy; TPO, thrombopoietin.

Source: *How I treat cytopenias after CAR T-cell therapy*, BLOOD, Jain et al.

c) Physiopathologie :

En plus des facteurs cliniques précédemment évoqués, il semblerait qu'un taux faible de cellules CD271⁺ dans la moelle osseuse (correspondant à une altération de la niche hématopoïétique), avant l'injection de CAR-T cells, serait associé à une augmentation des cytopénies prolongées et tardives.⁷⁴ Aussi, des hypothèses de mécanisme d'action similaire aux cytopénies post-rituximab sont avancées.^{69,75}

Plus récemment, l'étude moléculaire de moelle osseuse post-injection de CAR-T cells de patients atteints de cytopénies à 3 mois montre la présence plus importante de LT CD8⁺ exprimant fortement CX3CR1. Les auteurs avancent comme hypothèse que ces LT CD8⁺ CX3CR1^{high} sont possiblement résistants à la chimiothérapie de LD et pourraient se développer de manière clonale dans des conditions inflammatoires (CRS, ICANS). Ils montrent que cette sous population exprime des niveaux plus élevés d'IFN- γ et de cytokines associées avec l'altération de l'hématopoïèse.⁶⁰⁻⁷⁶

d) Modèles prédictifs :

Plusieurs biomarqueurs sont décrits comme prédictifs d'ICAHT ; les cytopénies préexistantes, le taux de CRP et la ferritine.^{66,70}

Le score CAR-HEMATOTOX est développé pour identifier les patients présentant un risque élevé de neutropénie prolongée. Ce score intègre des facteurs liés à la réserve hématopoïétique tels que le nombre absolu de neutrophiles (ANC), l'hémoglobine et la numération plaquettaire, ainsi que des marqueurs d'inflammation comme la protéine C-réactive (CRP) et la ferritine (*figure 5*). Ce score est validé pour prédire la neutropénie sévère (ANC <500/ μ L) pendant plus de 14 jours dans les 60 premiers

jours suivant la perfusion de CAR-T cells. Le score CAR-HEMATOTOX est évalué avant la LD, permettant ainsi une stratification précoce du risque en termes de probabilité élevée ou faible de développer des cytopénies sévères après le traitement par les cellules CAR-T. Un calculateur en ligne est disponible sur le site internet de la German Lymphoma Alliance (GLA) : <https://www.german-lymphoma120alliance.de/Scores.html>.⁶⁶

| Baseline Features | 0 Point | 1 Point | 2 Points |
|---------------------------------|--------------------|----------------------------------|-------------------|
| Platelet Count | > 175,000/ μ l | 75,000 – 175,000/ μ l | < 75,000/ μ l |
| Absolute Neutrophil Count (ANC) | > 1200/ μ l | < 1200/ μ l | - |
| Hemoglobin | > 9.0 g/dl | < 9.0 g/dl | - |
| C-reactive protein (CRP) | < 3.0 mg/dl | > 3.0 mg/dl | - |
| Ferritin | < 650 ng/ml | 650 – 2000 ng/ml | > 2000 ng/ml |
| Low: 0-1 | | High: \geq 2 | |

Figure. 5 : CAR-HEMATOTOX score.

Déterminé avant la LD, le score comprend 5 marqueurs d'hématotoxicité. Le score permet de distinguer un risque élevé (score CAR-HEMATOTOX \geq 2) d'un risque faible (score CAR-HEMATOTOX 0-1) d'hématotoxicité.

e) Prise en charge :

La prise en charge des cytopénies diffère s'il s'agit de cytopénies précoces, prolongées, ou tardives. Le traitement des cytopénies précoces relève majoritairement d'un traitement symptomatique par transfusion de concentrés plaquettaires et de culots érythrocytaires. Des facteurs de croissance granulocytaires (G-CSF) peuvent parfois être utilisés, soit en prophylaxie, soit chez les patients présentant une neutropénie sévère et prolongée.^{57,59,64,66} Pour les cytopénies prolongées et/ou tardives, il est nécessaire de considérer l'analyse médullaire afin de ne pas méconnaître une pathologie myéloïde sous-jacente. L'utilisation d'agonistes de la

TPO, ou d'EPO en plus du G-CSF est possible. Pour les cytopénies réfractaires à ces traitements symptomatiques, sans pathologie myéloïde sous-jacente, il peut être envisagé un boost de cellules souches hématopoïétiques, mais cette stratégie n'est possible que si des cellules souches antérieures ont été conservées.^{57,59,77-79} En cas d'échec des traitements ci-dessus après plusieurs mois, une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques peut être envisagée.⁵⁷

D- Complications hématologiques post CAR-T cells :

En parallèle des cytopénies, il a été décrit après les traitements par CAR-T cells l'apparition de nouvelles hémopathies. L'apparition de CHIP et de pathologies myéloïdes liées au traitement (transformed myéloïde néoplasie ou t-MN) comme les SMD (t-SMD) ou bien les leucémies aiguës myéloïdes (t-AML), en sont les principaux exemples.

a) Cancérisation du CAR-T cell :

La cancérisation des CAR-T cells est théoriquement possible avec, par exemple, l'intégration du vecteur au niveau d'un proto-oncogène. Bien que ce phénomène ne soit jamais arrivé avec les CAR-T cells commerciaux mis sur le marché, deux cas de lymphome à cellules CAR-T ont été rapportés, ces CAR-T cells allogéniques dirigés contre le CD19 avaient été manufacturés avec le système piggyBac.⁸⁰ Aussi, une expansion clonale de CAR-T cells due à l'intégration du transgène a déjà été rapportée de façon anecdotique.^{81,82}

b) Hématopoïèse clonale, CHIP, SMD, LAM :

L'hématopoïèse clonale se caractérise par la détection de variations génétiques pathogènes spécifiques dans des gènes associés au développement d'hémopathie maligne. Cette hématopoïèse clonale peut être présente de façon bénigne, elle est définie comme possédant une fréquence d'allèles variants (VAF) d'au moins 2% et est alors appelée hématopoïèse clonale de signification indéterminée (Clonal hematopoiesis of indeterminate potential ou CHIP).⁸³ Cette présence de mutations somatiques se fait en l'absence de manifestations telles que la cytopénie ou la dysplasie de la moelle osseuse. Cette condition prend de l'ampleur avec l'âge et a été observée chez environ 20% des adultes en bonne santé, ce qui suggère une prévalence significative dans la population adulte.⁸⁴ Contrairement au CHIP, les SMD (syndromes myélodysplasiques) et les LAM sont des hémopathies myéloïdes malignes nécessitant pour la plupart un traitement.

Il est possible que les CAR-T cells soient à l'origine de l'apparition d'hématopoïèse clonale de CHIP de SMD et même de LAM. Il est difficile de savoir si ces anomalies clonales sont présentes avant la lymphodépletion.⁸⁵

Certains auteurs ont montré jusqu'à 48% de CHIP chez des patients atteints de myélomes multiples ou de lymphomes avant injection de CAR-T cells, avec pour principales mutations PPM1D, DNMT3A, TP53 et TET2. De façon surprenante chez les patients de moins de 60 ans, la présence d'une CHIP était positivement associée à la réponse complète (77% vs 58%) et à la probabilité d'avoir un CRS de grade ≥ 2 après un traitement par CAR-T cells.⁸⁶ Une autre étude a reporté 35% de cas de CHIP avant l'injection chez 32 patients traités par CAR-T cells dirigés contre le CD19. Les mutations principalement retrouvées sont DNMT3A et TP53. L'association avec la réponse était de nouveau retrouvée mais pas avec le grade du CRS.⁸⁷ Une étude a

reporté 36% de CHIP préexistantes chez 114 patients atteints de lymphome traités par axi-cel ou tisa-cel. Les mutations les plus fréquentes étaient PPMD1, DNMT3A, TP53, TET2 et ASXL1. Parmi les 7 patients ayant développé une t-MN, 2 n'avaient pas d'hématopoïèse clonale préexistante. Dans cette étude, les CHIP n'avaient pas d'impact sur le taux de réponse.⁸⁸ Il est reporté l'apparition de 2 LAM et 1 SMD parmi 420 patients traités par CAR-T cells pour une LAL avec une médiane de survenue de 1,2 an.⁸⁹ Un report de cas décrit l'évolution clonale rapide jusqu'à la LAM après l'injection de CAR-T cells.⁹⁰

L'étude à long terme des 38 patients traités par tisa-cel reporte l'apparition de 1 LAM et 1 SMD (5%).⁹¹ Et l'actualisation de l'étude ZUMA 1 à 5 ans reporte sur 101 patients, 3 (3%) patients avec un SMD.⁹² Le suivi à 5 ans de l'étude ZUMA-7 a mis en évidence 1 patient décédant de LAM après le traitement d'un LBCL toujours en rémission. Ce suivi à plus long terme a également montré l'apparition d'un SMD 33 mois après l'injection. Il n'y avait cependant pas de nouvelle maladie hématologique dans le bras de traitement par ASCT.⁹³

E- Rationnel et objectifs de l'étude

L'indication des traitements par CAR-T cells est en augmentation dans le LBCL, de ce fait le nombre de patients traités augmente. Dans la majorité des cas, les cytopénies semblent ne pas nécessiter de traitement invasif et la persistance de ces dernières survient chez un faible pourcentage de patients traités par CAR-T cells.

Cependant, les essais cliniques et la majorité des études rétrospectives décrivent le taux de cytopénies en fonction de l'effectif de départ, et peu d'études se sont spécifiquement intéressées à ce taux chez les patients en réponse persistante. Avec le suivi à long terme des patients répondeurs, il devient nécessaire de surveiller d'éventuelles complications chroniques du traitement par CAR-T cells. Très peu d'études décrivent les cytopénies à plus de 6 mois chez les patients répondeurs et leurs étiologies.

L'objectif principal de cette thèse est de déterminer des facteurs associés à la présence de cytopénies sévère persistantes après 6 mois.

Les objectifs secondaires de cette thèse sont ; d'étudier la persistance de l'aplasie B chez les patients long-répondeurs, d'identifier les facteurs associés aux cytopénies tardives, de décrire les pathologies hématologiques ou immunologiques diagnostiquées après l'injection d'axi-cel, et de chercher des facteurs pronostics de l'apparitions de ces nouvelles pathologies.

MÉTHODES :

Patients :

Il s'agit d'une étude observationnelle, rétrospective et monocentrique. Tous les patients sont âgés de plus de 18 ans et ont reçu un traitement par axi-cel au centre hospitalier universitaire de Lille. Le traitement par axi-cel a été utilisé dans le cadre de la prise en charge d'un LBCL, en rechute ou réfractaire à au moins une ligne de traitement entre décembre 2018 et décembre 2022.

Les patients pouvaient être traités dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU), dans le cadre d'une autorisation post-ATU, dans le cadre d'un protocole de recherche clinique ou dans le cadre d'une AMM. L'étude a été réalisée conformément à la déclaration d'Helsinki.

Le recueil de données est collecté dans le dossier médical informatisé du patient afin de compléter une base de données locale du service d'hématologie de Lille. Tous les patients ont signé un consentement pour le recueil de leurs données. Le registre DESCAR-T sponsorisé par le LYSARC a permis de compléter certaines données.

Pour la description des cytopénies et l'analyse statistique, seuls ont été pris en compte les patients en vie et en réponse persistante après axi-cel aux différents temps d'analyse. Le patient n°11 a été inclus dans l'analyse statistique et descriptive des patients en réponse persistante compte tenu de sa réponse au nivolumab et la présence de CAR-T cells circulants.

Variables étudiées :

Les données recueillies sont : les caractéristiques clinico-biologiques des patients avant l'injection d'axi-cel, les complications et les cytopénies après axi-cel, les données de survie et de progression, l'apparition de nouvelles pathologies hématologiques ainsi que leurs caractéristiques biologiques.

Les cytopénies (anémie, neutropénie, thrombopénie) sont gradées selon les critères CTCAE 4.3. Les cytopénies sévères sont définies comme de grade 3 ou supérieur. Les cytopénies tardives sont définies comme des cytopénies sévères \geq à 3 mois et les cytopénies persistantes comme des cytopénies sévères \geq 6 mois après l'injection d'axi-cel. L'aplasie B est défini comme l'absence de lymphocyte B détectable par CMF. Le pic de CRS et d'ICANS sont gradés selon les critères de l'ASTCT.⁹⁴

L'évaluation de la réponse au traitement s'est faite par avec la classification de Lugano 2014 pour les patients atteints de LBCL.⁹⁵

Le bilan biologique des patients est analysé selon les méthodes du CHU de Lille et comprend : hémoglobine, plaquettes, polynucléaires neutrophiles (PNN), lymphocytes ferritines, LDH, CRP. Quant à la quantification des sous populations lymphocytaires, elle est réalisée par le laboratoire d'immunologie du CHU de Lille, et développée par Demaret et al. ⁹⁶. Les lymphocytes B sont définis en CMF comme des lymphocytes n'étant pas des CAR-T cells et exprimant le CD19.

Statistiques :

Les variables qualitatives sont présentées en effectif et en pourcentage. Les variables quantitatives sont exprimées par la moyenne ou par la médiane, et par l'écart-type en cas de distribution gaussienne, ou par la médiane et l'intervalle interquartile (25ième

et 75ième percentiles) dans le cas contraire. La normalité des paramètres quantitatifs a été vérifiée graphiquement par le test du Shapiro-Wilk. La survie globale et la survie sans progression sont décrites par les courbes de Kaplan Meier. La mortalité non liée à la rechute, avec comme risque concurrent la rechute, est décrite par une courbe d'incidence cumulée. Les taux des événements et leurs intervalles de confiance à 95% sont précisés. La neutropénie est étudiée par l'analyse du coefficient de corrélation de Spearman sur les paramètres quantitatifs et par le test t de Student ou par le test U de Mann-Whitney sur les paramètres qualitatifs selon la distribution observée. À chaque temps observé (3 mois, 6 mois et 1 an), l'association des données de lymphocytes, d'anémie, de thrombopénie, de neutropénie et des cytopénies est comparée selon les données de PCR à l'aide d'un test du Chi-deux ou de Fisher exact (lorsque les conditions de validité du test du Chi-deux n'étaient pas vérifiées) pour les variables qualitatives, à l'aide d'un test t de Student pour les variables quantitatives gaussiennes et d'un test U de Mann-Whitney pour les variables quantitatives non gaussiennes. Les facteurs de risque de cytopénie, de neutropénie et de toxicité hématologique sont étudiés selon les paramètres d'analyse définis (l'âge, le score d'hémato-toxicité, le grade CRS, le grade ICANS, le LDH et le nombre de lignes de traitement) à l'aide d'un test du Chi-deux ou de Fisher exact pour les variables qualitatives, et par le test t de Student ou le test U de Mann-Whitney pour les paramètres quantitatifs selon la distribution observée. Ces analyses sont réalisées à chacun des temps (3 mois, 6 mois et 1 an). L'incidence cumulée de la survenue d'hémopathie, avec comme risque compétitif la rechute et le décès, est estimée en utilisant l'approche de Kalbfleisch et Prentice, et est comparée aux facteurs de risque définis (l'âge, le score CAR-HEMATOTOX, le grade CRS, le grade ICANS, le LDH et le nombre de lignes de traitement) en utilisant le test de Fine-Gray. Les subhazards ratios (sHR) sont

représentés sous forme de mesures de taille d'effet, avec leurs intervalles de confiance (IC) à 95 %. Les hypothèses de log-linéarité et les hypothèses de risque proportionnel sont évaluées à l'aide des résidus de Martingales et de Schoenfeld. Le seuil de significativité retenu est fixé à 5%. L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel SAS, version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) par l'Unité de Biostatistiques du CHU de Lille.

RÉSULTATS :

Population :

Caractéristiques :

Nous avons inclus 85 patients traités au CHU de Lille par axi-cel pour un LBCL en rechute ou réfractaire. Les caractéristiques des patients sont disponibles dans le *tableau 1*. La majorité des patients sont des hommes (n=59 ; 69,4%) avec un âge médian de 60 ans (range 19 – 77). Parmi ces 85 patients, les différentes histologies sont : DLBCL NOS (n=55, 65%), DLBCL transformé d'une histologie indolente (n=22, 26%), lymphome B du médiastin (Primary mediastinal B-cell lymphoma ou PMBL) (n=2, 2,3%), DLBCL lié à l'EBV (n=1, 1%), LBCL de haut grade (n=2, 2,3%), lymphome primitif cérébral (n=2, 2,3%), et avec IRF4 réarrangé (n=1, 1,1%). Le nombre de lignes de traitement médian avant la LD n'incluant pas la bridging thérapie est de 3 (range 1 – 7), incluant 9 autogreffes (11,5%). La plupart des patients ont reçu une bridging thérapie avant la LD (n=62, 73%), la majorité basée sur un régime de chimiothérapie par VP16 (étoposide) et HOLOXAN (ifosfamide) (n=16, 26%) ou lenalidomide (n=12, 19,3%). Les données preLD montrent un taux de LDH médian de 282U/L, de ferritine de 258ng/mL et de CRP de 5mg/L. Le score CAR-HEMATOTOX médian est de 2 avec 52 patients (67%) ayant un score ≥ 2 considéré comme élevé (high).

Tableau 1 : Description de la population avant la lympho-dépletion

| Caractéristiques pré lympho-dépletion [variable] | Patients n=85 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caractéristiques cliniques et biologiques : <ul style="list-style-type: none"> - Âge ; médiane, (range) - Sexe homme n (%) - ECOG n (%) <ul style="list-style-type: none"> 1 2 3 Données manquantes - LDH ; médiane (IQR) (U/L) - Ferritine médiane (IQR) (ng/ml) - CRP médiane (IQR) (mg/L) - Score CAR-HEMATOTOX <ul style="list-style-type: none"> Mediane (range) High ≥ 2 (%) | 60 (19 ; 77) 59 (69,4) 44 (54) 36 (45) 1 (1) 4 282 (235 ; 347) 358 (11 ; 15291) 5 (0 ; 299) 2 (0 ; 6) 52 (66,7) |
| Histologie n (%) : <ul style="list-style-type: none"> - DLBCL NOS <ul style="list-style-type: none"> GC ABC Non spécifié - DLBCL transformé - PMBL - DLBCL lié à l'EBV - LBCL de haut grade avec MYC and BCL2/BCL6 réarrangement - Primitif cérébral - IRF4 réarrangé | 55 (65) 20 (24) 23 (27) 12 (14) 22 (26) 2 (2,3) 1 (1) 2 (2,3) 2 (2,3) 1 (1,1) |
| Traitements : <ul style="list-style-type: none"> - Nombres de lignes précédents, médiane, (range) - Pre lenalidomide n (%) - Pre autogreffe n (%) - Pre allogreffe n (%) | 3 (1 ; 7) 20 (25) 9 (11,5) 0 (0) |
| Bridging thérapies : <ul style="list-style-type: none"> - Bridging thérapies n, (%) - Type of bridging : <ul style="list-style-type: none"> VP16-HOLOXAN Lenalidomide GEMOX (+/- rituximab) DHAOX PIVER Autres | 62 (73) 16 (26) 12 (19,3) 7 (11,3) 6 (9,5) 5 (8) 16 (26) |
| Temps entre leucaphérèse et injection, médiane (range) (en jours) | 36 (26 ; 66) |
| Abréviations : ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; preLD, pre-lympho-dépletion; DLBCL, diffuse large b cell lymphoma; NOS, not otherwise specified; GC, germinal center; ABC, activated B-cell; PMBL, primary mediastinal b-cell lymphoma; LDH, Lactate déshydrogénase. | |

Toxicité :

Dans les suites du traitement par axi-cel, 80 patients (94%) ont développé un CRS. Le grade médian est de 1 avec une médiane de survenue de 3 jours et une durée médiane de 6 jours. La majorité des patients (n=48, 57%) ont reçu au moins une dose de tocilizumab. Au total, 30 patients (35%) ont développé un ICANS, dont 11 (13%) ICANS de grade 3 ou supérieur. La médiane de survenue de la neurotoxicité était de 6 jours avec une durée médiane de 5 jours. Un séjour en réanimation a été nécessaire pour 27% des patients (n=22) (*tableau 2*).

Tableau 2 : Description des toxicités post axi-cel

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CRS | |
| - CRS, n (%) | 80 (94) |
| - Grade, médian (range) | 1 (0 ; 3) |
| - Grade ≥ 3 , n (%) | 7 (8) |
| - CRS début médian (range) | 3 (0 ; 12) |
| - CRS durée médian (range) | 6 (1 ; 22) |
| ICANS | |
| - ICANS, n (%) | 30 (35) |
| - Grade, médian (range) | 0 (0 ; 4) |
| - Grade ≥ 3 , n (%) | 11 (13) |
| - ICANS début médian (range) | 6 (1 ; 18) |
| - ICANS durée médian (range) | 5 (1 ; 19) |
| SAM | |
| - SAM n (%) | 1 (1,2) |
| Traitement : | |
| - Utilisation de tocilizumab n (%) | 48 (57) |
| - Utilisation de corticoïde n (%) | 32 (40) |
| - Utilisation d'anakinra n (%) | 3 (3,7) |
| - Séjour en réanimation n (%) | 22 (27) |
| Abréviations : CRS, cytokine release syndrome; ICANS, immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome; SAM, syndrome d'activation macrophagique | |

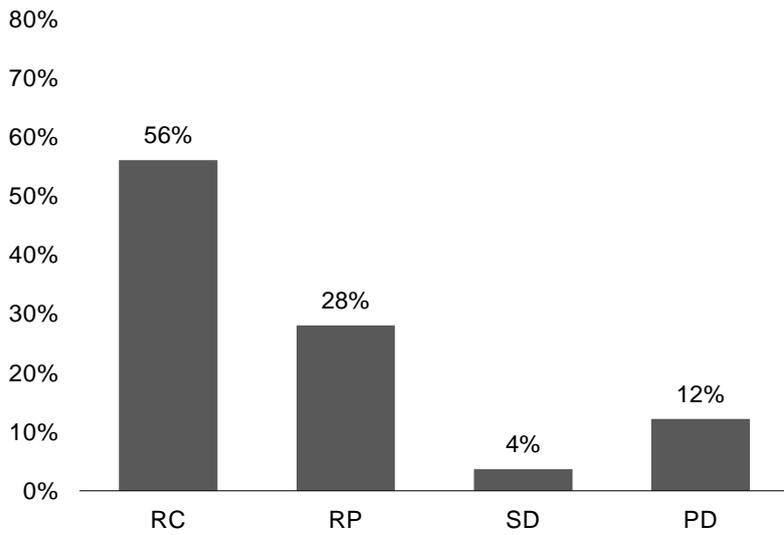
Données de survie et survie sans progression :

Dans notre population initiale de 85 patients, la durée médiane de suivi est de 23 mois (*tableau 3*). Le taux de réponse globale à 1 mois incluant les RC et rémissions partielles (RP) est de 84% (n=69), dont 56% de RC (n=46) (*figure 6a*). Le taux de réponse globale et complète pour les DLBCL NOS est de 78% (n=43) et 60% (n=26) respectivement. La survie globale médiane est non atteinte, avec une survie globale à 6 mois de 85% (IC :75 ; 91) et à 1 an de 73% (IC : 63 ; 83) (*figure 6b*). La survie sans progression médiane est de 13 mois avec une survie sans progression à 1 an de 52% (IC : 41 ; 62) (*figure 6c*).

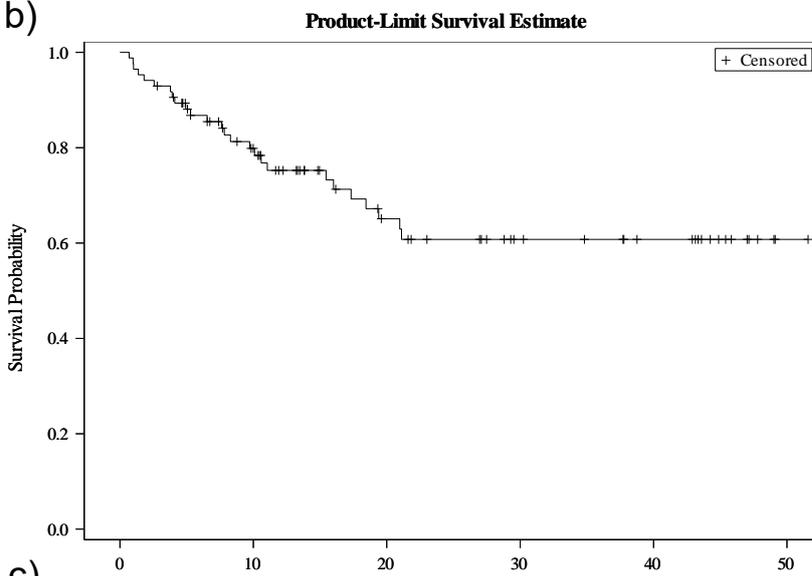
Tableau 3 : Suivi, survie, et survie sans progression

| | |
|----------------------------------------------------------------|--------------|
| Suivi Médiane (en mois) | 23 |
| Survie, % (95 IC) Médiane | Non atteinte |
| - 3 mois | 91 (86 ; 95) |
| - 6 mois | 85 (75 ; 91) |
| - 1 an | 73 (63 ; 83) |
| Survie sans progression, % (95 IC) Médiane (en mois) | 18 |
| - 3 mois | 67 (55 ; 76) |
| - 6 mois | 62 (52 ; 71) |
| - 1 an | 52 (41 ; 62) |

a)



b)



c)

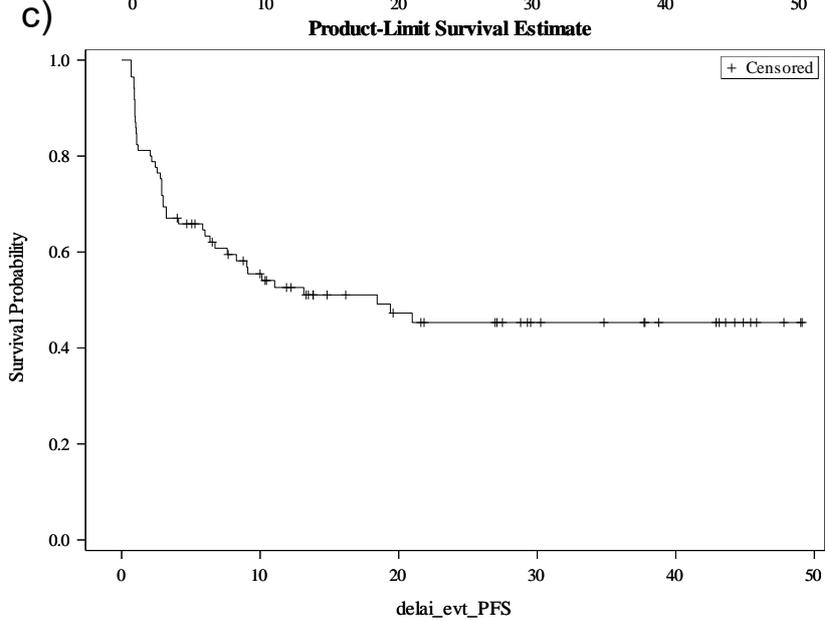


Figure 6 :

a. Réponse au traitement à un mois post-axi-cel.

b. Survie globale.

c. Survie sans progression.

Abréviations : OS, overall survival ; EFS, event free survival ; RC, rémission complète ; RP, rémission partielle ; SD, maladie stable ; PD, maladie progressive

Chez les patients en RC à 1 mois, la survie globale médiane n'est pas atteinte et la survie à 1 an est de 92% (IC 78 ; 97) (figure 7a). Le taux de survie sans progression à 1 an chez ces mêmes patients est de 74% (IC 58 ; 85) (figure 7b).

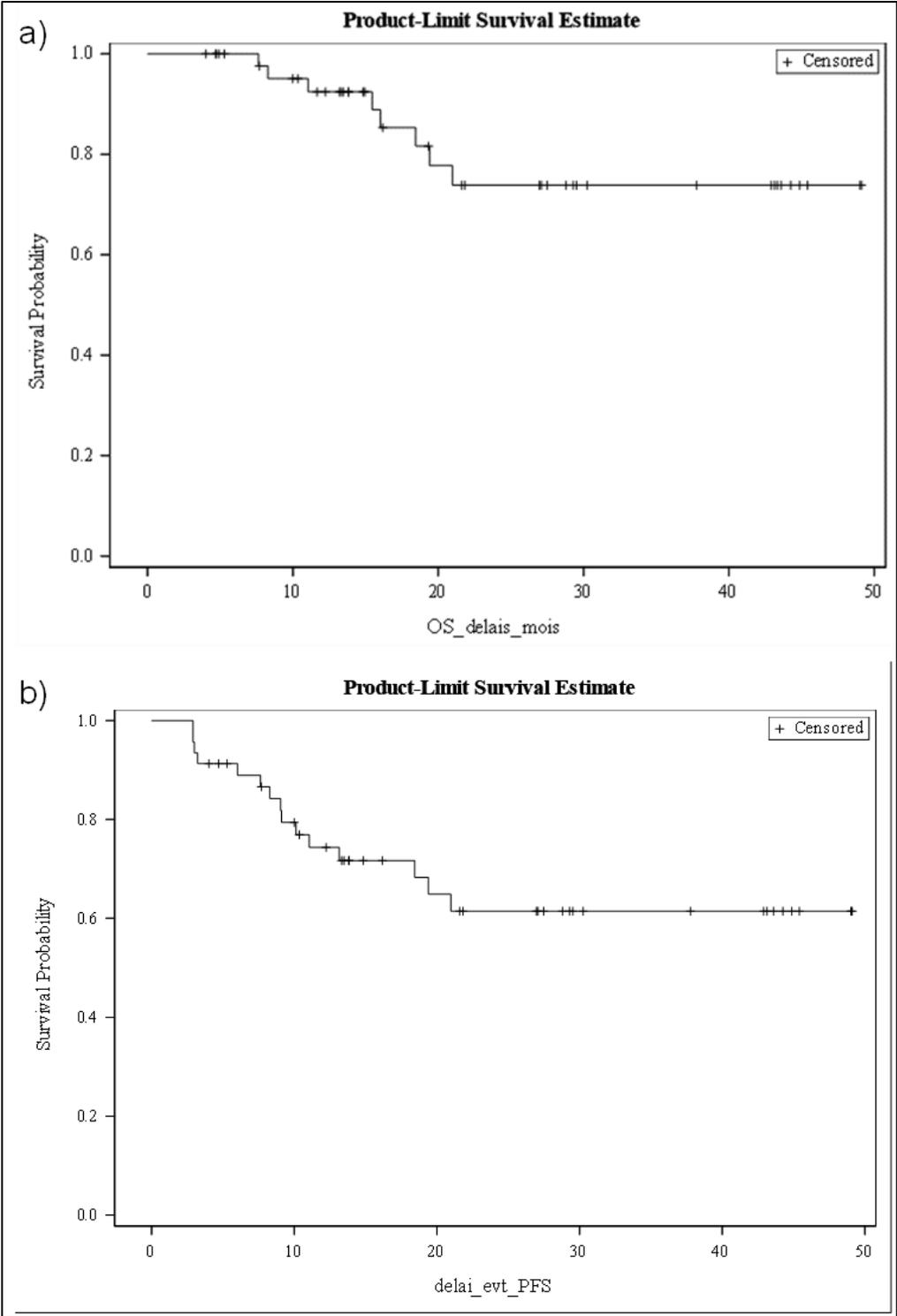


Figure 7 : Survie globale (a) et survie sans progression (b) des patients en RC à un mois.
Axe x : temps en jours, axe y : pourcentage de patients

Le décès non lié à la rechute (non relapse mortality ou NRM) à 1 an est de 8% (n=7) représentant 27% des décès (*figure 8*). Les causes de NRM sont principalement infectieuses pour 71% (n=5) incluant 2 infections fatales à SARS-CoV2 et 1 pneumocystose. Un patient est décédé de leucémie aigüe myéloïde et un autre de complications liées à une allogreffe de CSH post-CAR. Un total de 3 patients sont décédés avant J30, à la suite de : la progression du lymphome (n=1), l'apparition d'une LAM (n=1), une infection (n=1).

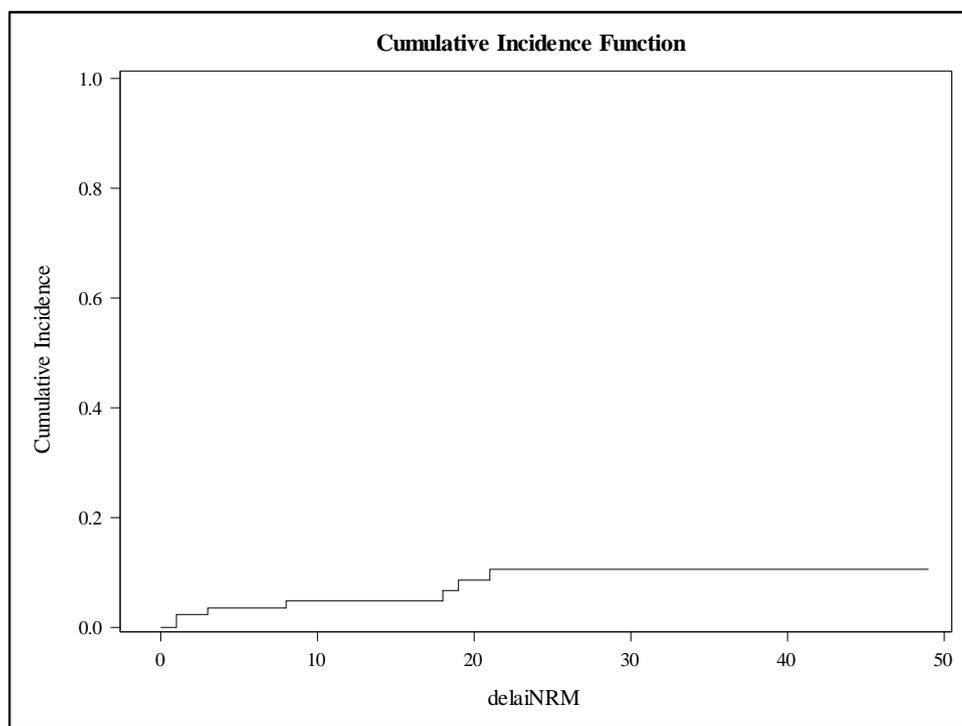


Figure 8 : Mortalité non liée à la rechute

Non relapse mortality (mortalité non liée à la rechute) au cours du temps.

Axe x : temps en jours, axe y : incidence cumulée de NRM

Abréviations : NRM, non-relapse mortality

Descriptions des cytopénies :

Le pourcentage de patients avec une anémie, une neutropénie, une thrombopénie sévère ou une aplasie B sont décrits dans le *tableau 4* en fonction du temps, depuis l'aphérèse jusqu'à 3 ans post injection, chez les patients répondeurs tel que décrit dans le diagramme de flux en *figure 9*.

Parmi ces cytopénies, nous nous sommes intéressés principalement aux cytopénies sévères persistantes (≥ 6 mois). Au total, 15 patients (30% des patients évaluables) présentent des cytopénies persistantes sévères.

En effet, parmi les 85 patients, 50 patients sont en réponse persistante 6 mois après l'injection d'axi-cel. Parmi eux, 9 (18,5%) présentent une cytopénie sévère (grade ≥ 3) dont la majorité une neutropénie sévère (n=8 ; 14,2%). Parmi ces patients, la majorité (n=34 ; 72%) sont en aplasie B (0/mm³). À 12 mois, parmi les 37 patients évaluables, 6 (16%) présentent une cytopénie sévère (grade ≥ 3) dont la majorité une neutropénie sévère (n=3). Parmi eux, la majorité (n=19 ; 57%) présente toujours une aplasie B. À 2 ans, 15% (n=3) présentent une cytopénie sévère et 57% une aplasie B.

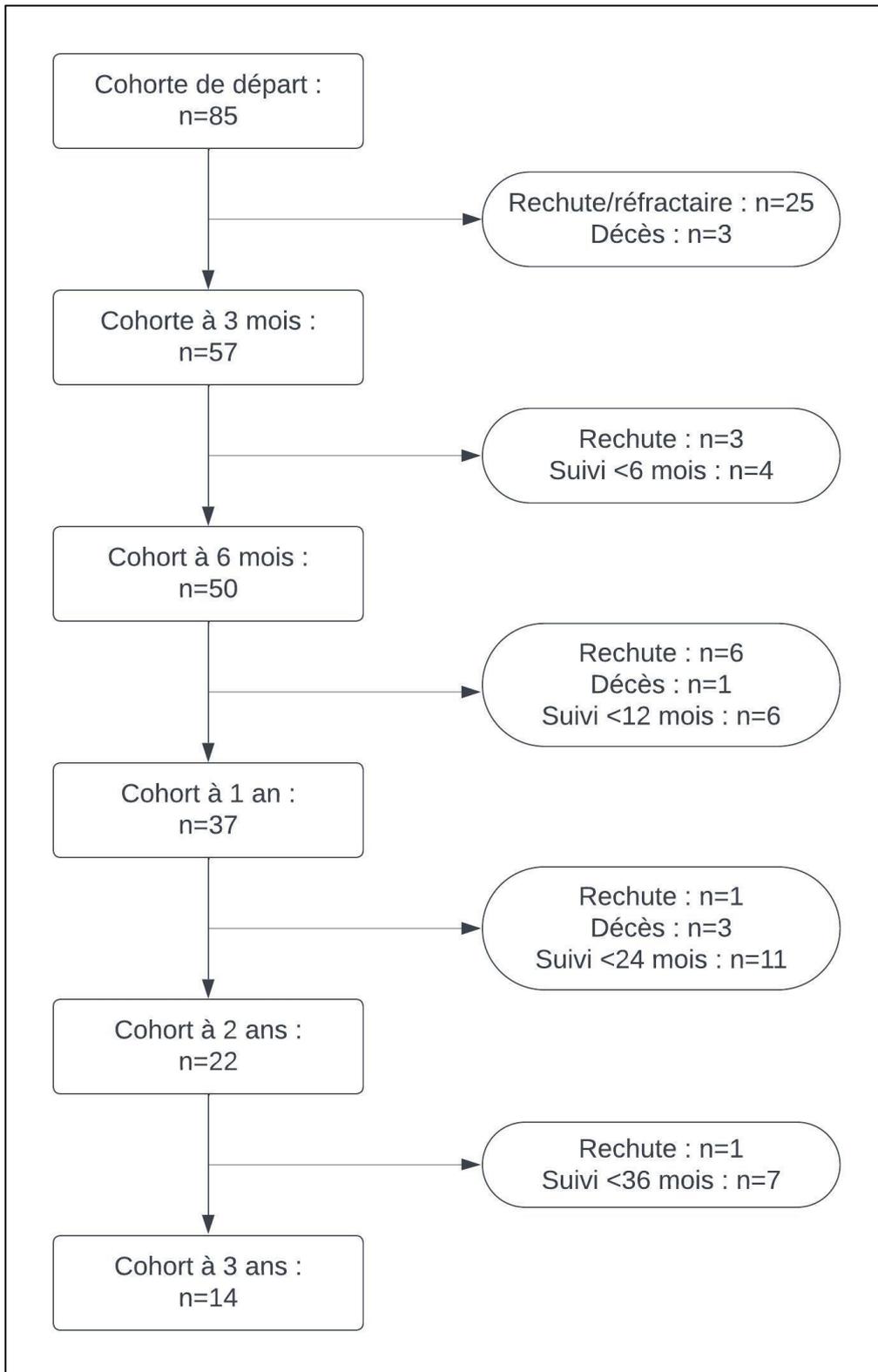


Figure 9 : Diagramme de flux de l'étude.

Chaque patient ayant rechuté ou étant décédé avant l'analyse ont été retiré de l'étude.

Tableau 4 : Cytopénies et aplasie B en fonction du temps chez les patients répondeurs

| | Hémoglobine | Polynucléaire neutrophiles | Plaquettes | Lymphocytes B |
|-------------------------------------|-------------|----------------------------|------------|---------------|
| Pre aphérèse (n = 85) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 2 (2.4) | 7 (8,4) | 4 (4,7) | |
| <i>Données manquantes</i> | 1 | 2 | 0 | |
| Pré lymphodepletion (n = 85) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 2 (2.4) | 6 (7,1) | 4 (4,7) | 55 (71) |
| <i>Données manquantes</i> | 0 | 1 | 0 | 7 |
| J10 (n = 85) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 2 (2.4) | 46 (66,6) | 11 (13) | 79 (94) |
| <i>Données manquantes</i> | 0 | 16 | 0 | 1 |
| J30 (n = 84) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 6 (7) | 28 (36) | 26 (31) | 79 (94) |
| <i>Données manquantes</i> | 2 | 6 | 3 | 1 |
| J90 (n = 57) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 1 (1,7) | 11 (19,6) | 2 (3,5) | 44 (79) |
| <i>Données manquantes</i> | 1 | 1 | 1 | 1 |
| J180 (n = 50) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 2 (4) | 7 (14,2) | 4 (8) | 34 (72) |
| <i>Données manquantes</i> | 1 | 1 | 1 | 3 |
| Un an (n = 37) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 2 (5,5) | 3 (8) | 2 (5,5) | 19 (57) |
| <i>Données manquantes</i> | 1 | 1 | 1 | 4 |
| Deux ans (n = 22) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 0 (0) | 3 (15) | 0 (0) | 11 (57) |
| <i>Données manquantes</i> | 8 | 9 | 8 | 3 |
| Trois ans (n = 14) | | | | |
| Grade ≥3 ou aplasie B n (%) | 0 (0) | 3 (33) | 0 (0) | 4 (33) |
| <i>Données manquantes</i> | 5 | 5 | 5 | 2 |

Toxicité hématologique :

Nous avons défini dans nos méthodes la toxicité hématologique comme toute apparition d'une nouvelle maladie hématologique ou immunologique non présente à l'injection de axi-cel.

Un total de 12 patients répond à ce critère. Parmi ces 12 patients, 11 présentent une cytopénie sévère persistante (≥ 6 mois) (92%) et représentent donc, de ce fait, 73% des patients présentant une cytopénie persistante. Le seul patient n'ayant pas de cytopénie persistante n'est pas évaluable car décédé d'une LAM un mois après l'injection d'axi-cel. Parmi les patients présentant une cytopénie persistante sans diagnostic de toxicité hématologique tel que défini ($n=4$), il a été diagnostiqué chez un patient un SMD avant le traitement par CAR-T cells, et un autre patient présentait une CHIP. Le délai médian d'apparition de ces toxicités hématologiques est de 524 jours.

Nous avons choisi de détailler les pathologies de ces 12 patients avec des exemples représentatifs afin d'expliquer au mieux les cytopénies persistantes et leurs étiologies. Parmi eux, 4 se sont vu diagnostiquer une CHIP lors de l'évaluation médullaire pour cytopénie persistante, 6 une t-MN dont 4 SMD et 2 LAM, 1 une leucémie à grands lymphocytes à grains et une porphyrie (*table 5*).

Complication myéloïde :

CHIP (4 patients) :

Patient 4 :

Le patient 4 est un homme de 66 ans, atteint initialement d'un LF de grade I-II et de stade IV. Il est traité successivement par R-CHOP, R-DHAOX puis ASCT et rechute sous forme de DLBCL. Il est alors traité dans un protocole thérapeutique avec

inhibiteur de EZH2, puis par PIVER. Devant une nouvelle rechute, il bénéficie d'un traitement en ATU par axi-cel. Avant LD, son score CAR-HEMATOTOX est à 4. Le traitement ne se complique pas de CRS ou d'ICANS. À distance du traitement, il présente une pancytopénie profonde avec des besoins transfusionnels, un myélogramme est alors réalisé à 4 mois et montre une moelle désertique. La neutropénie sévère persiste jusqu'à 6 mois. Un NGS est réalisé sur sang et retrouve la présence d'une CHIP avec comme mutation : ATM (VAF 4%), PPM1D (VAF 1% et 3%), et TP53 (VAF 3% et 3%).

SMD (4 patients) :

Patiente 8 :

Diagnostic d'un DLBCL de type GC stade II traité par R-CHOP, R-DHAOX et par PIVER. Devant la progression de la maladie, la patiente bénéficie d'une injection d'axi-cel après une bridging thérapie par radiothérapie. À l'injection, la patiente a 69 ans et son score CAR-HEMATOTOX est de 4. L'injection se complique d'un CRS de grade 2 et d'un ICANS de grade 4. Elle présente par la suite des cytopénies persistantes sévère (≥ 6 mois), pour lesquelles elle bénéficie d'un myélogramme mettant en évidence une CHIP sans excès de blastes, avec mutations de DNMT3A (VAF 3% et 19%), une mutation de PPM1D (VAF 4%) et TP53 (VAF 1%) nécessitant la mise en place d'un traitement par EPO. Devant l'aggravation des cytopénies à plus de 3 ans avec l'apparition de 1,3% de blastes circulant sur un total de 1,1G/L leucocytes, une nouvelle évaluation médullaire est réalisée et retrouve l'apparition d'un SMD avec une dysérythropoïèse et une blastose médullaire à 12%. L'étude de NGS sur sang quant à lui retrouve comme mutation, une mutation DNMT3A (VAF 28%), et une mutation TP53 (VAF 7%).

LAM (2 patients) :

Dans cette cohorte de 85 patients, 2 patients sans antécédent apparent de pathologie myéloïde ont développé une LAM.

Patient 48 :

Il s'agit d'un homme de 57 ans qui a reçu un traitement par axi-cel pour un DLBCL stade IV réfractaire à 4 lignes de chimiothérapie (R-CHOP, R-ACVBP, R-DHAC, ICE). Il bénéficie d'une bridging thérapie par HOLOXAN et VP16. Le score CAR-HEMATOTOX avant injection est de 4. L'injection se complique d'un CRS de grade 2 d'évolution favorable après une injection de tocilizumab et d'un ICANS de grade 1 traité par corticostéroïde. La TEP-TDM à 3 mois montre un aspect de RC sans nouvelle ligne de traitement.

En parallèle, le patient développe des cytopénies et bénéficie d'une exploration médullaire qui retrouve 23% de monocytes anormaux. Devant l'échec des traitements par G-CSF, TPO et EPO, il bénéficie d'une ASCT permettant une sortie d'aplasie et une disparition des cytopénies. Il présente par la suite de nouveau des cytopénies, environ 1 an après l'injection d'axi-cel. Le myélogramme réalisé pose le diagnostic de LAM avec 61% de myéloblaste, une inversion du chromosome 16 au caryotype, et des mutations TP53, ASXL1 en biologie moléculaire. Il est donc traité par aracytine et gemtuzumab-ozogamicin (anticorps monoclonal dirigé contre le CD33).

Patient 71 :

Le patient 71 est un homme de 56 ans traité par axi-cel pour un DLBCL grade IV réfractaire à 2 lignes de traitement (R-CHOP, R-DHAOx). Il bénéficie d'une chimiothérapie de bridge par R-HOLOXAN-VP16 ne permettant pas de diminuer la masse tumorale. Avant l'injection le score CAR-HEMATOTOX est de 1. Le traitement se complique d'un CRS de grade 2 débutant à J1. Après 10 jours de traitement, la prise de sang montre une hyperleucocytose à 150G/L dont 30% de blastes. Un myélogramme est réalisé et retrouve une infiltration de 80% de monoblastes, confirmant le diagnostic de LAM. En CMF, les blastes sont CD11b+, CD36+, CD14+, CD64+ et CD56+, l'étude cytogénétique montre un réarrangement KMT2A. L'étude de biologie moléculaire par NGS retrouve une mutation TET2, et un transcrite KMT2A-MLLT3. Il décède à J29 d'un choc septique, après un traitement successif par hydroxyurée, dexaméthasone initialement puis association d'azacytidine et de venetoclax.

Complication lymphoïde

LGL

Patiente 36 :

La patiente 36 est âgée de 67 ans et traitée pour un LF par une 1ère ligne de traitement par R-CHOP, 6 cures puis rechute 13 ans plus tard sous la forme d'un DLBCL. Une 2ème ligne de traitement par R-DHAC puis une 3ème ligne de traitement par ICE sont réalisés. Elle bénéficie donc d'un traitement par axi-cel après une bridging thérapie par

rituximab, polatuzumab et bendamustine. Avant l'injection, son score CAR-HEMAOTOX est à 5. L'hospitalisation se complique d'un CRS de grade 2. Devant la présence de cytopénie persistante à plus d'un an, elle bénéficie d'un immunophénotypage des lymphocytes qui retrouve un excès de LT CD8⁺ avec au NGS sur sang une mutation STAT5B (VAF 2%) et un réarrangement positif du TCR compatible avec le diagnostic de LGL.

Complication immunologique :

Patiente 11 :

La patiente 11 est âgée de 63 ans et présente un DLBCL. Ses premières lignes de chimiothérapie comprennent R-CHOP, suivi de R-DHAOx et enfin un traitement par anticorps bispécifique (CD3/CD20) dans le cadre d'un protocole thérapeutique. Devant l'absence de réponse, elle bénéficie d'un traitement par axi-cel après bridging thérapie par ibrutinib. Avant l'injection le score CAR-HEMATOTOX est de 2. L'injection se complique d'un CRS de grade 2 et d'un ICANS de grade 3. L'évolution de la maladie à un mois montre un aspect de RP, elle a bénéficié d'un traitement de consolidation par nivolumab permettant rapidement une RC.

Devant l'apparition de cytopénies persistantes profondes, elle bénéficie d'un myélogramme qui retrouve une hypoplasie de la lignée granulocytaire neutrophile avec absence d'excès de blastes ou de cellules lymphoïdes, associées à une dysérythropoïèse modérée avec asynchronisme de maturation ainsi qu'une dysmégacaryopoïèse modérée. La biopsie ostéo-médullaire montre une cellularité évaluée à 40%, une absence d'infiltration lymphomateuse et quelques signes de

dysmyélopoïèse et d'hémophagocytose. Le NGS à la recherche de mutation revient négatif. Les CAR-T cells sont retrouvés positifs à 1,6% des lymphocytes T dans la moelle osseuse soit $7/mm^3$. En parallèle, la patiente présente une pathologie cutanée avec des télangiectasies et un discret infiltrat dermique périvasculaire lymphocytaire. Ces éruptions sont associées à un taux de porphyrine totale dans le plasma fortement augmenté, signant le diagnostic de porphyrie cutanée sporadique.



Atteinte cutanée de la patiente 11 ayant développé à distance de l'injection d'axi-cel une porphyrie cutanée sporadique.

| Patients | 4 | 8 | 11 | 17 | 29 | 31 | 36 | 47 | 48 | 58 | 59 | 71 |
|-------------------------------------------|----------------------|----------------|------------|------------|------------------------------------------------------|------------|------------|------------|-------------------------------|------------|-------------------------------------------|--------------------|
| Âge | 66 | 69 | 63 | 75 | 58 | 72 | 67 | 60 | 56 | 71 | 66 | 56 |
| Sexe | H | F | F | F | F | F | F | F | H | H | H | H |
| CAR-HEMATOTOX | 4 | 4 | 2 | 3 | 5 | 2 | 5 | 2 | 4 | 2 | 2 | 1 |
| Nombres de lignes précédentes (dont ASCT) | 2 (1) | 4 (0) | 3 (0) | 2 (0) | 3 (1) | 4 (0) | 3 (0) | 3 (0) | 4 (0) | 2 (0) | 3 (0) | 2 (0) |
| Bridging thérapie | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Non | Non | Oui |
| Lympho-dépletion | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu | Cy/Flu |
| CRS grade | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| ICANS grade | 0 | 4 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Réponse à un mois | RC | RP | RP | RC | RP | RP | RC | RC | RP | RC | RP | NR |
| Hématotoxicité | CHIP | SMD | Porphyrine | CHIP | SMD | CHIP | LGL | SMD | LAM | CHIP | SMD | LAM |
| Cytopénies persistantes (≥6 mois) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | / |
| Caryotype | NR | DM | NR | NR | DM | NR | NR | 45,XX | Inv.(16) | NR | 46,XY | t (9 ;11) |
| Profil mutationnel | ATM PPM1D TP53 | DNMT3A TP53 | Normal | DNMT3A | CHEK2 C3F3R DNMT3A PPM1AD PTPM11 TP53 | DNMT3A | STAT5B | TP53 | ASXL1 TP53 | PPMD1 | ASXL1 PPM1D SERBP1 TP53 U2AF1 | KMT2A TET2 |
| Hématotoxicité présente avant injection | Inconnu | Inconnu | Inconnu | Inconnu | Oui | Inconnu | Inconnu | Inconnu | Non | Inconnu | Inconnu | Oui |
| Délais d'apparition | 4 ans | 3 ans | 3 ans | 3 ans | 2 ans | 1,5 an | 1,5 an | 1 an | 1 an | 1 an | 6 mois | 10 jours |
| Traitement | Abstention | Abstention | Absentions | Abstention | Abstention | Abstention | Abstention | Allogreffe | Immuno- chimiothér apie | Abstention | Chimiothér apie | Chimiothér apie |
| Décès | Non | Non | Non | Non | Non | Non | Non | Oui | Non | Non | Oui | Oui |

Tableau 5 : Caractéristiques des patients atteints d'hématotoxicité.

Abréviation : H, homme ; F, femme, NR, non réalisé ; DM, data manquante ; LAM, leucémie aigüe myéloïde ; SMD, syndrome myélodysplasique ; CHIP, clonal hematopoiesis of indeterminate potential ; LGL, leucémie à grands lymphocytes granuleux

Analyses statistiques :

Le taux de CAR-T cells circulants en PCR est corrélé à la lymphopénie B à 1 an et n'est pas corrélé aux cytopénies :

Ici, nous avons émis comme hypothèse que le taux de CAR-T cells circulants était corrélée à l'aplasie B (lymphocytes B = 0/mm³). Nous avons donc comparé le taux de CAR-T cells à 3 mois, 6 mois et 1 an, à la présence ou non d'une aplasie B. À 3 mois, le taux de CAR T-cells circulants n'est pas significativement corrélé à l'aplasie B. À 6 mois également, le nombre de patients avec des CAR-T cells détectables et en aplasie B n'est pas significativement supérieur à ceux qui avaient retrouvé une lymphopoïèse B (87,5% versus 12,5% ; p=0,07). À un an, la proportion de patients avec une aplasie B est significativement supérieure chez les patients présentant des CAR-T cells détectables en PCR (89% versus 11%, p=0,02) (illustration figure 10).

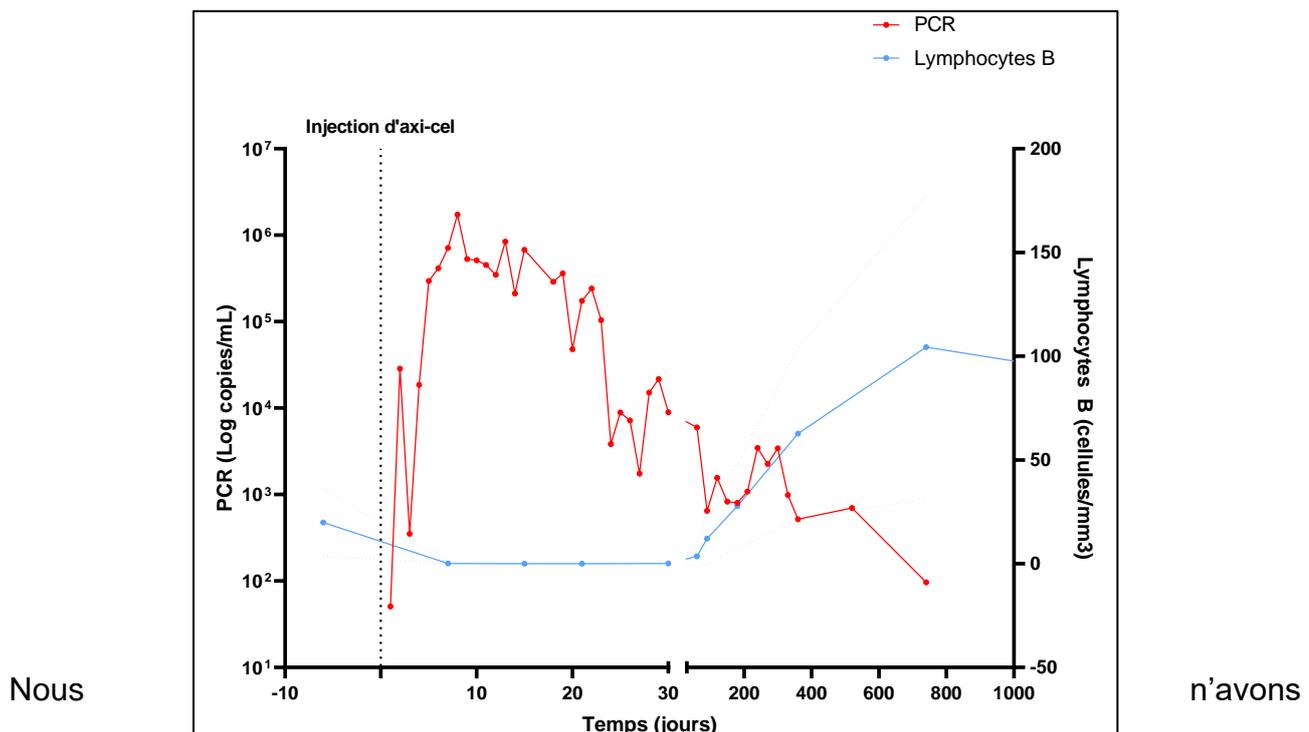


Figure 10 : CAR-T cells et lymphocytes B en fonction du temps.

Comparaison du taux de CAR-T cells par PCR (en rouge) et du taux de lymphocytes B par CMF (en bleu) en fonction du temps en jours des patients répondeurs.

Axe x : temps en jours, axe y : gauche PCR quantitative (copies/mL), axe y à droite : lymphocytose B (/mm³)

cependant pas trouvé de corrélation entre la présence d'une cytopénie sévère (anémie,

thrombopénie ou neutropénie de grade ≥ 3) et le taux de CAR-T cells circulants à 3 mois, 6 mois ou 1 an.

La persistance d'une lymphopénie B n'est pas corrélée avec la persistance d'une réponse :

Une des hypothèses qui expliquerait la réponse prolongée de certains patients est la persistance des CAR-T cells au long cours dans l'organisme. En étudiant le taux de CAR-T cells par PCR au cours du temps dans le sérum des patients répondeurs, nous avons remarqué que la plupart des patients en réponse à plus de 6 mois n'ont pas de CAR-T cells circulants (n=33, 66%). À un an, ce nombre augmente avec 76% des patients qui n'ont pas de CAR-T cells détectables dans le sang. À 2 ans, 95% (n=20) n'ont plus de CAR-T cells circulants, et à 3 ans 100% (n=13) n'en n'ont plus. Une des hypothèses peut être que les CAR-T cells ne sont plus circulants dans le sérum et donc indétectables mais présents dans les organes lymphoïdes secondaires. Nous nous sommes intéressés à la persistance de la lymphopénie B, reflet de la persistance des CAR-T cells. À 3 mois, parmi les patients répondeurs évaluable, 79% présentent une aplasie B (n=44). À 6 mois, parmi les patients répondeurs évaluable, 70% présentent une aplasie B (n=25). À 1 an, 57% présentent une aplasie B et 43% (n=14) ont retrouvé une lymphopoïèse B (médian 42/mm³ ; range : 1/mm³– 450/mm³). À 2 ans, 57% (n=11) sont en aplasie B et 43% ont retrouvé une lymphopoïèse B (médian 279/mm³ ; range : 78/mm³– 435/mm³). À 3 ans le taux de patients en aplasie B diminue à 33%. (*Figure 11*)

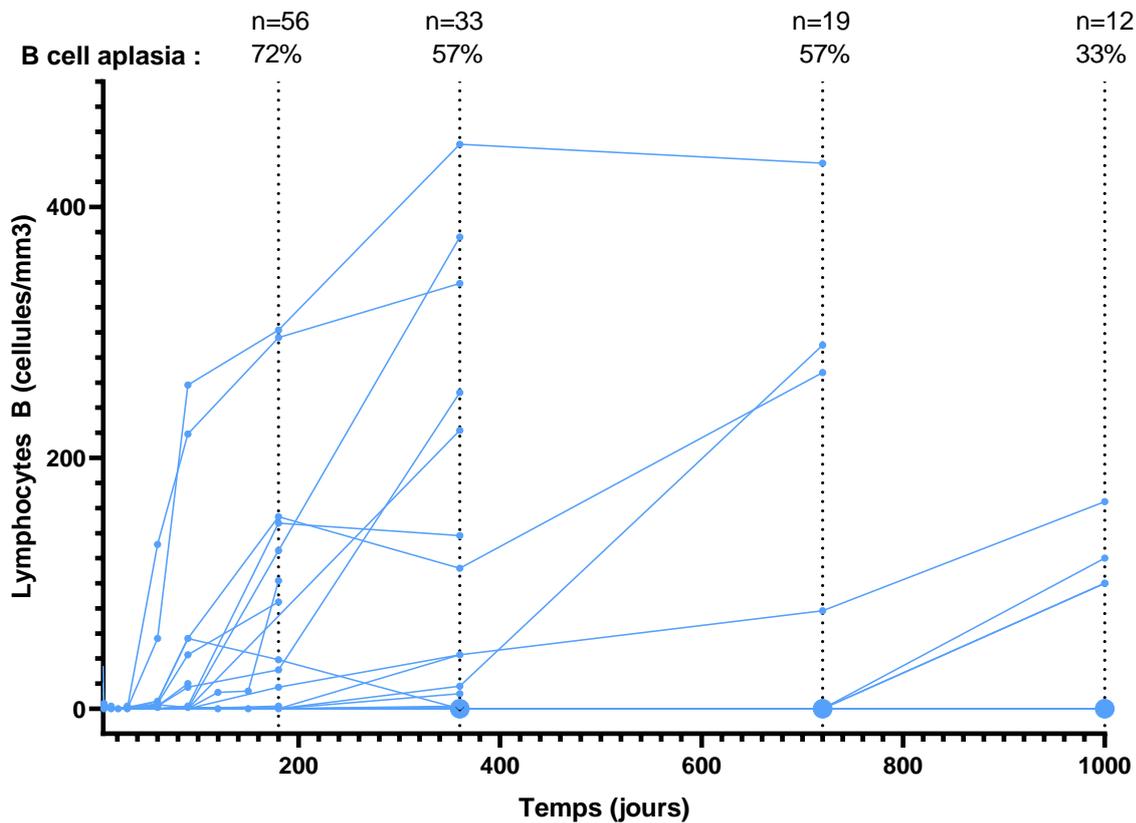


Figure 11 : Evolution de la lymphopoïèse B chez les patients en réponse par cytométrie de flux.

Axe x : temps (en jours) ; axes-y, lymphocytes B (cellules/mm³)

Le score CAR-HEMATOTOX est un facteur de risque de cytopénie sévère :

Nous avons étudié différents facteurs pouvant être directement corrélés avec la toxicité médullaire : l'âge, le score CAR-HEMATOTOX, le grade du CRS et d'ICANS, le taux de LDH preLD, le taux de lymphocytes preLD et le nombre de lignes de traitements précédant l'injection d'axi-cel.

Nous avons trouvé en analyse univariée que le score CAR-HEMATOTOX est significativement plus élevé chez les patients présentant des cytopénies sévères à 3 mois, comparé à ceux n'étant pas cytopéniques (2 [2 ;5] versus 2 [1 ;3] respectivement ; $p < 0,02$), à 6 mois (4 [2 ;4] versus 2 [1 ;3] respectivement ; $p = 0,03$) ainsi que pour les cytopénies sévères persistantes (2 [2 ;4] versus 2 [1 ;3] respectivement ; $p = 0,01$) (figure 10). De plus,

de façon intéressante, le pic d'ICANS est significativement plus élevé chez les patients présentant des cytopénies sévères persistantes comparé aux autres (1 [0 ;3] versus 0 [0 ;1] respectivement ; $p < 0,05$) (tableau 6).

Tableau 6 : Analyse univariée, facteurs associés aux cytopénies persistantes

| Caractéristiques | Cytopénies persistantes | | Pas de cytopénies persistantes | | p-value |
|-------------------------------|-------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|-------------|
| | Médiane | IQR | Médiane | IQR | |
| Âge (ans) | 66 | 59 ; 71 | 61 | 52 ; 71 | 0,18 |
| CAR-HEMATOTOX | 2 | 2 ; 4 | 2 | 1 ; 3 | 0,01 |
| CRS grade | 1 | 1 ; 2 | 1 | 1 ; 2 | 0.09 |
| ICANS grade | 1 | 0 ; 3 | 0 | 0 ; 1 | 0.04 |
| PreLD LDH (UI/L) | 252 | 220 : 353 | 290 | 220 ; 340 | 0,9 |
| Nombres de lignes précédentes | 3 | 2 ; 3 | 2,5 | 2 ; 3 | 0.6 |

IQR = Intervalle inter quartile

Dans la littérature un seuil ≥ 2 du score CAR-HEMATOTOX est fréquemment utilisé pour comparer deux populations. Ici, la proportion de patients présentant des cytopénies sévères est significativement plus élevée chez ceux ayant un score CAR-HEMATOTOX ≥ 2 par

rapport aux autres, à 3 mois (28% versus 5% respectivement ; $p=0,04$) et à 6 mois et plus (cytopénies persistantes) (43% versus 11% ; $p=0,02$).

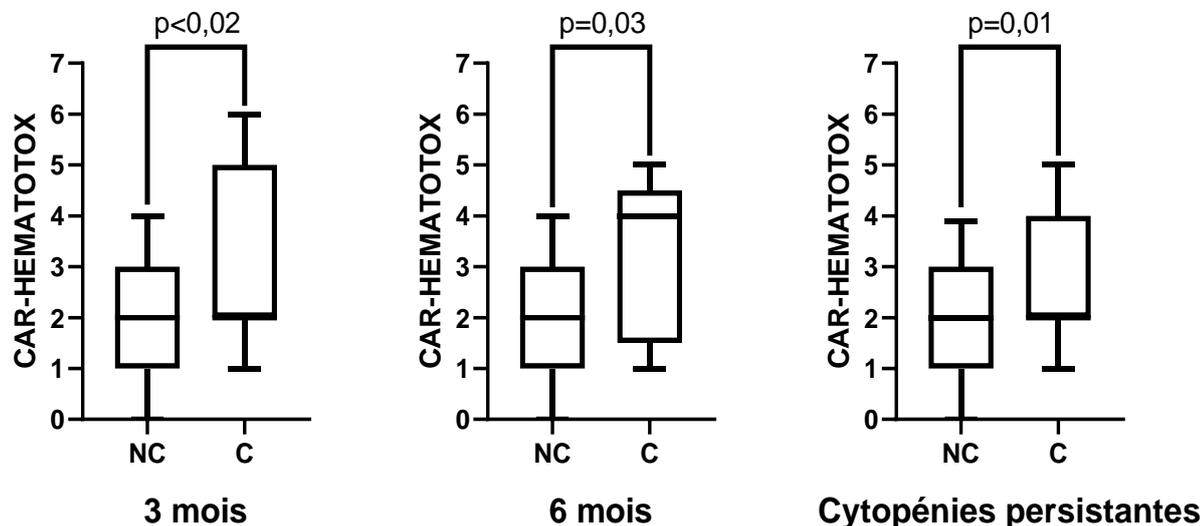


Figure 12 : score CAR-HEMATOTOX en fonction de la présence de cytopénie à 3 mois, 6 mois et de cytopénies persistantes.

Médiane ; moustaches : 5e - 95e Percentile.

Abréviation : NC, non cytopéniques ; C, cytopéniques

Parmi ces différentes variables (âge, CAR-HEMATOTOX, grade du CRS et d'ICANS, taux de LDH preLD, taux de lymphocytes preLD, nombre de lignes de traitements), seul le score CAR-HEMATOTOX est significativement associé à la profondeur de la neutropénie. En effet, la neutropénie est significativement plus profonde chez les patients ayant un score CAR-HEMATOTOX ≥ 2 à 3 mois comparé aux autres (1,6 versus 3,3 respectivement ; $p<0,01$) et à 1 an (2,2 versus 3,6 ; $p=0,03$) (*illustration figure 13*).

Pour les cytopénies sévères persistantes, nous nous sommes intéressés à chaque item composant le score CAR-HEMATOTOX. Seul le taux de PNN preLD est significativement plus bas chez les patients avec des cytopénies persistantes comparés aux autres (1,8 versus 3,2 ; $p=0,03$).

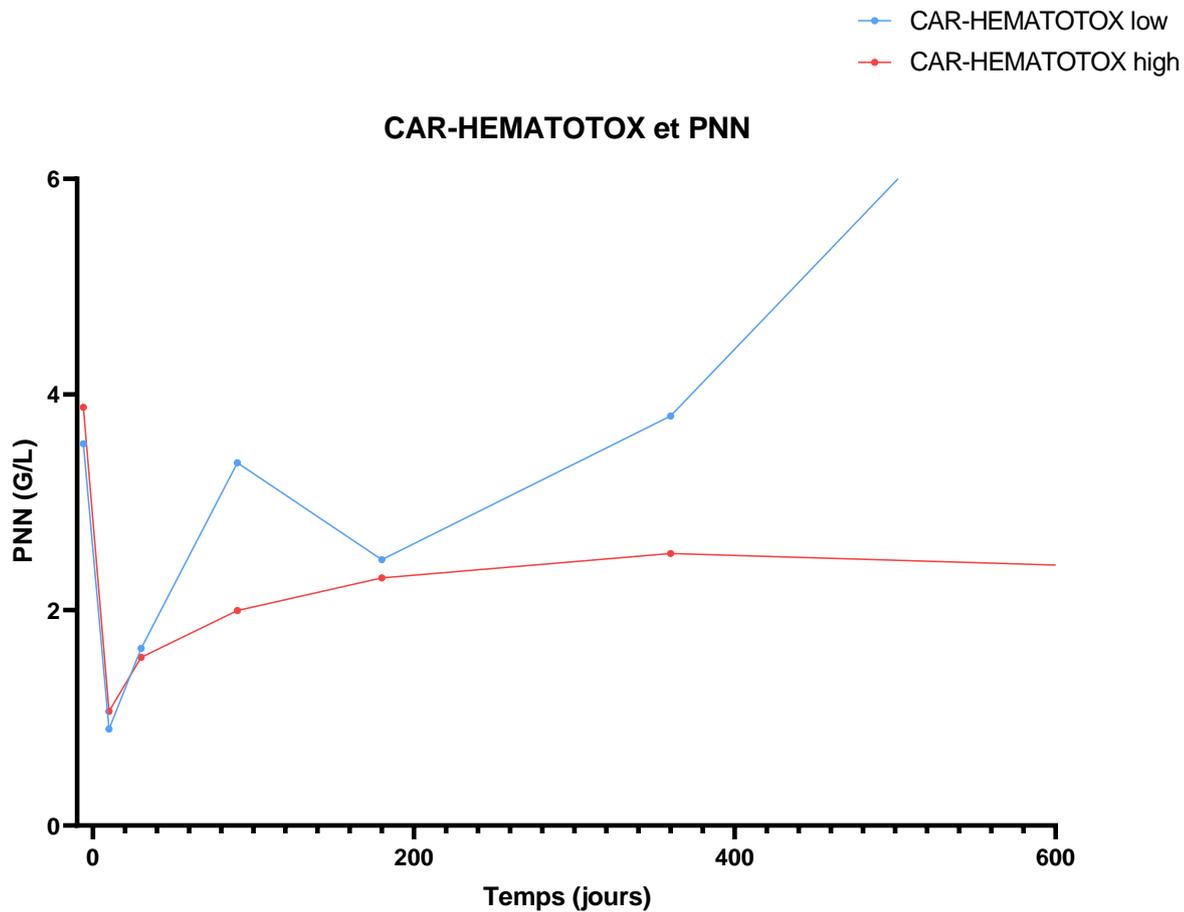


Figure 13 : Evolution de la neutropénie en fonction du score CAR-HEMATOTOX, high versus low.

Axe x, temps (en jours) ; axe y, PNN (G/L) ; moyenne PNN chez patient avec CAR-HEMATOTOX low en bleu ; moyenne PNN chez les patients avec CAR-HEMATOTOX high en rouge.

Abréviation : PNN, polynucléaires neutrophiles.

Les cytopénies à 3 mois ne sont pas liées à la survie et à la survie sans progression :

Il a déjà été démontré que les cytopénies à 3 mois pouvaient avoir un impact sur la survie. Dans notre cohorte, il n'y a pas de différence significative entre les patients cytopéniques à 3 mois et les autres (survie médiane non atteinte pour les deux groupes ; $p=0,6$) (figure 14a). Il n'y a pas non plus de différence en termes de PFS (PFS médian non atteint pour les deux groupes, $p=0,16$) (figure 14b). Ces résultats sont similaires en comparant les patients avec des cytopénies persistantes et les autres.

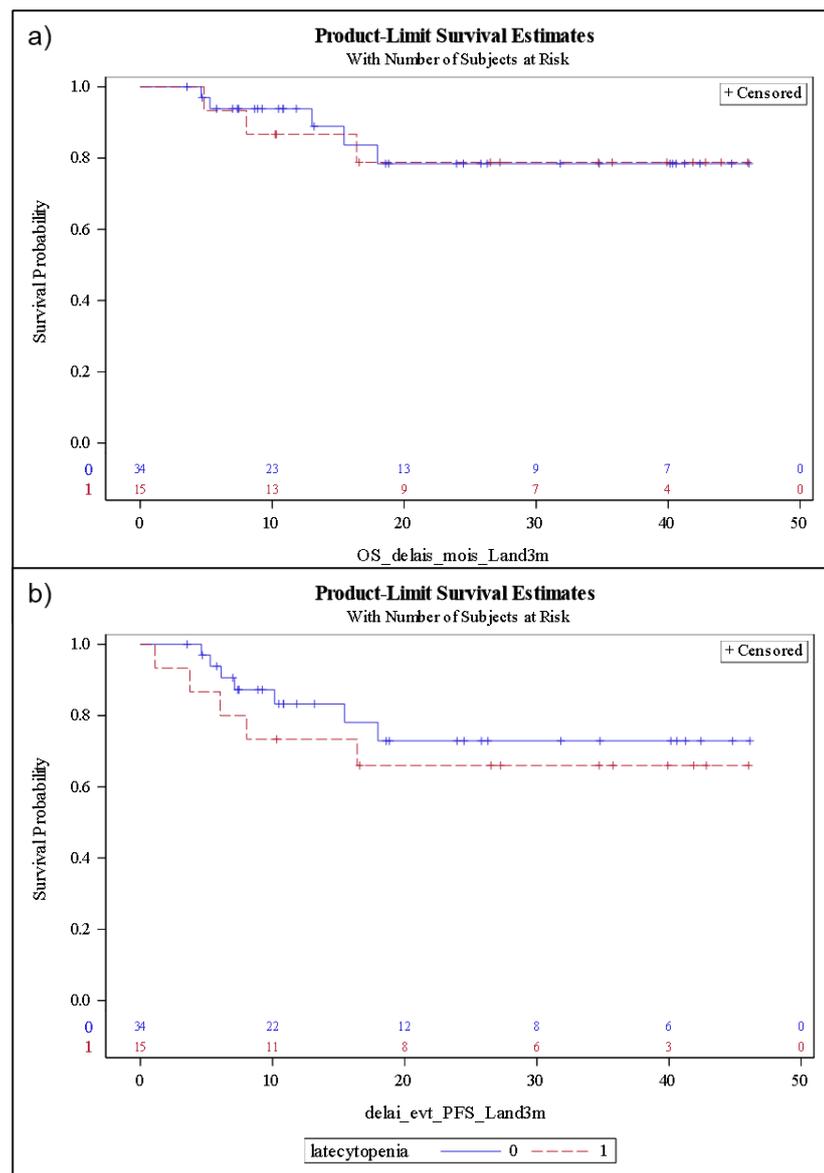


Figure 14 : OS et PFS associé aux cytopénies à 3 mois.

Survie (a) et survie sans progression (b) des patients avec (rouge) ou sans (bleu) cytopénies à 3 mois de l'injection d'axi-cel. La landmark utilisée correspond à 3 mois après l'injection de axi-cel.

L'âge est un facteur de risque de toxicité hématologique :

Parmi les variables précédemment utilisées ; l'âge, le score CAR-HEMATOTOX, le grade de CRS et d'ICANS maximum, les LDH preLD et le nombres de lignes de traitement, seul l'âge est significativement associé à la probabilité de développer une toxicité hématologique (HR : 1,04, IC95 : 1,005-1,082 ; p=0,02) en analyse univariée. L'augmentation du CAR-HEMATOTOX est associée de façon non significative au développement d'une toxicité hématologique (HR 1,3, IC95 : 0,96-1,76 ; p=0,09) (*tableau 7*).

Tableau 7 : Modèle de Cox, analyse univariée pour l'hématotoxicité

| Caractéristiques | HR¹ | 95% CI¹ | p-value |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------|
| Âge | 1.04 | 1,0 ; 1.8 | 0,02 |
| CAR-HEMATOTOX | 1,3 | 0,9 ; 1,7 | 0,09 |
| CRS grade | 0,96 | 0,5 ; 2 | 0.9 |
| ICANS grade | 1,06 | 0,8 ; 1,4 | 0.7 |
| PreLD LDH | 0,99 | 0,9 ; 1 | 0,4 |
| Nombres de lignes précédentes | 0,89 | 0.7, 1,2 | 0.4 |
| ¹ HR = Hazard Ratio, CI = Intervalle de confiance | | | |

DISCUSSION :

Les CAR-T cells dirigés contre le CD19 et particulièrement axi-cel ont modifié ces dernières années le traitement des hémopathies B dont le LBCL.^{7-9,11,13} Les complications initialement décrites avec cette nouvelle thérapie cellulaire sont le CRS et l'ICANS, mais avec le suivi à long terme des patients, les ICAHT sont apparues comme étant la toxicité sévère la plus fréquente.^{57,59} En plus d'être la complication sévère la plus fréquente post CAR-T cells, de récentes études ont mis en évidence une moins bonne survie chez les patients cytopéniques après axi-cel.⁶⁰

La physiopathologie des ICAHT reste mal comprise. Un taux faible de cellules CD271+ dans la moelle avant l'injection, témoin d'une moelle osseuse altérée, et un taux élevé de lymphocytes T CD8+ CX3CR1^{high}, seraient des facteurs associés à la survenue de cytopénies tardives. Ces hypothèses ne prennent pas en compte certains facteurs confondants pouvant agir sur le micro-environnement dans la moelle.⁶⁰⁻⁹⁷

Jusqu'à maintenant, plusieurs facteurs ont été décrits comme facteurs favorisant les cytopénies : la chimiothérapie de LD, la réalisation d'une ASCT, la réalisation d'une bridging thérapie, le type de maladie traitée avec la présence ou non d'une infiltration médullaire, la masse tumorale et son caractère inflammatoire, le type de CAR-T cells utilisé et le domaine de co-stimulation, la sévérité du CRS, ou encore la présence d'un SAM. Certaines étiologies peuvent également expliquer la survenue de ces cytopénies plus tardives, comme l'apparition de nouvelles hémopathies (SMD, LAM, LGL).⁵²⁻⁶⁶

Nous avons décrit ici les cytopénies chez 85 patients traités au CHU de Lille par axi-cel, et cherché des facteurs associés à ces cytopénies ainsi que leurs étiologies. Nous avons exclu progressivement les patients en rechute qui pourraient recevoir de nouvelles immunochimiothérapies susceptibles d'induire des cytopénies. Les sociétés savantes

américaines et européennes définissent les cytopénies comme tardives après 90 ou 30 jours. Aujourd'hui, peu d'études se sont intéressées aux cytopénies sévères après 6 mois de rémission. Nous avons défini ces cytopénies comme persistantes.^{57,59}

D'abord, nous avons montré qu'un taux important de patients conservait des cytopénies persistantes (30%, n=15) et une aplasie B prolongée. De façon concordante avec les données de la littérature, l'aplasie B ne semble pas essentielle à la persistance de la réponse. En effet, la reprise d'une lymphopoïèse B était observée chez des patients long-répondeurs avec une diminution de patients en aplasie B au fil du temps (72% à 6 mois, 43% à 1 et 2 ans et 33% à 3 ans).^{8,98} Aussi, l'aplasie B à long terme était significativement associée à la présence d'axi-cel dans le sang. Afin d'explorer l'étiologie des cytopénies, nous avons analysé si le taux circulant d'axi-cel était aussi corrélé aux autres cytopénies (anémie, neutropénie, thrombopénie), envisageant des mécanismes inflammatoires ou une perturbation de l'hématopoïèse normale. Cependant, aucune corrélation n'a été mise en évidence.

Nous avons testé différentes variables susceptibles d'être associées aux cytopénies persistantes (âge, CAR-HEMATOTOX, grade du CRS et d'ICANS, taux de LDH preLD, taux de lymphocytes preLD, nombre de lignes de traitements). Seul le score CAR-HEMATOTOX était significativement plus élevé chez les patients présentant des cytopénies sévères persistantes ($p=0,01$). De plus, la proportion de patients présentant des cytopénies sévères persistantes était significativement plus élevée chez ceux ayant un score CAR-HEMATOTOX ≥ 2 (43% versus 11% ; $p=0,02$).

Des nouvelles hémopathies diagnostiquées dans les suites d'un traitement par CAR-T cells ont été décrites dans la littérature. Les cellules myéloïdes sont activées durant le traitement par CAR-T cells et relarguent les principales cytokines inflammatoires pourvoyeuses de CRS et d'ICANS.⁴⁷⁻⁴⁹ Une hypothèse suggère que l'apparition de t-MN découlerait de la sélection d'un clone myéloïde secondaire à l'activation de ces dernières ou à

l'immunodépression qui découle du traitement par CAR-T cells.⁹⁹ L'existence d'une hématoïèse clonale augmente le risque de développer ces pathologies mais leur recherche n'est pas faite en routine.^{86-89,91} Nous avons donc cherché des facteurs de risque de la survenue de ces hémopathies dans notre cohorte.

Sur les 15 patients présentant ces cytopénies sévères persistantes, 11 (73%) se sont vu diagnostiquer une maladie hématologique ou immunologique post-injection. Parmi les 4 autres patients, 2 présentaient une maladie hématologique avant l'injection (CHIP et SMD). Nous avons identifié 12 patients développant des complications potentiellement liées aux CAR-T cells : CHIP, SMD, LAM, LGL ainsi qu'une porphyrie survenant en parallèle de la nouvelle expansion d'axi-cel. En utilisant les mêmes facteurs de risques suspects de cytopénie que précédemment mentionnés, seule l'augmentation de l'âge était significativement associée à l'apparition de ces complications (HR : 1,04, IC95 : 1,005-1,082 ; p=0,02). Très récemment, une étude en cours de publication, dont les résultats préliminaires ont été présentés à l'EHA 2023 et au CAR T day 2023 à Lille, montre que l'âge et le score CAR-HEMATOTOX sont significativement prédictifs du développement d'une t-MN post CAR-T cells. Dans notre étude, l'augmentation du CAR-HEMATOTOX était également associée au développement d'une toxicité hématologique (HR 1,3, IC95 : 0,96-1,76 ; p=0,09), bien que ces résultats n'étaient pas significatifs par un potentiel manque de puissance statistique. Dans cette étude, 47% des t-MN présentaient une mutation TP53, contre 60% dans notre étude, et l'âge moyen des patients touchés était de 67 ans contre 65 ans chez nos patients.¹⁰⁰

Notre étude comporte certaines limites inhérentes à sa nature monocentrique et rétrospective. De plus, l'intérêt particulier porté sur les patients en rémission a progressivement réduit la taille de l'échantillon qui était initialement de 85 individus. Il est important de noter que l'âge est apparu comme un facteur prépondérant lié aux complications hématologiques, et est en soit un facteur favorisant ces maladies

indépendamment de l'administration d'axi-cel, tout comme le score CAR-HEMATOTOX qui peut être le reflet d'une pathologie hématologique non diagnostiquée avant la lymphodepletion. La description des 12 patients ayant développé une complication hématologique a permis de montrer que certains possédaient une anomalie médullaire avant le traitement par CAR-T cells. Des études prospectives sont en cours avec une analyse par NGS sanguine ou médullaire avant lymphodepletion.¹⁰¹ Il semble dorénavant important de discuter de l'indication de myélogramme ou d'une analyse NGS sur sang avant un traitement par axi-cel afin de saisir l'évolution clonale d'une éventuelle CHIP.⁹⁰ Cette indication pourrait être pondérée par des facteurs de risque comme un âge élevé et un score CAR-HEMATOTOX élevé pour permettre une prise en charge précoce de ces patients en cas de cytopénies persistantes.

Au total, les cytopénies persistantes sont fréquentes chez les patients en réponse à long terme après un traitement par axi-cel pour un LBCL. La présence de ces cytopénies persistantes doit faire évoquer l'apparition d'une hémopathie nouvelle et faire recourir rapidement à une exploration médullaire.

RÉFÉRENCES :

1. Sehn LH, Salles G. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(9):842-858. doi:10.1056/NEJMra2027612
2. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes - Teras - 2016 - CA: A Cancer Journal for Clinicians - Wiley Online Library. Accessed June 20, 2023. <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21357>
3. Coiffier B, Lepage E, Brière J, et al. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(4):235-242. doi:10.1056/NEJMoa011795
4. Tilly H, Morschhauser F, Sehn LH, et al. Polatuzumab Vedotin in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(4):351-363. doi:10.1056/NEJMoa2115304
5. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al. Autologous Bone Marrow Transplantation as Compared with Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med*. 1995;333(23):1540-1545. doi:10.1056/NEJM199512073332305
6. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M, et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *The Lancet*. 2002;359(9323):2065-2071. doi:10.1016/S0140-6736(02)08938-9
7. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(26):2531-2544. doi:10.1056/NEJMoa1707447
8. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(1):31-42. doi:10.1016/S1470-2045(18)30864-7
9. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(1):45-56. doi:10.1056/NEJMoa1804980
10. Schuster SJ, Tam CS, Borchmann P, et al. Long-term clinical outcomes of tisagenlecleucel in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphomas (JULIET): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2021;22(10):1403-1415. doi:10.1016/S1470-2045(21)00375-2
11. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *The Lancet*. 2020;396(10254):839-852. doi:10.1016/S0140-6736(20)31366-0
12. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Two-Year Follow-up of Transcend NHL 001, a Multicenter Phase 1 Study of Lisocabtagene Maraleucel (liso-cel) in Relapsed or Refractory (R/R) Large B-Cell Lymphomas (LBCL). *Blood*. 2021;138:2840. doi:10.1182/blood-2021-148948
13. Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(7):640-654. doi:10.1056/NEJMoa2116133
14. Kamdar M, Solomon SR, Arnason J, et al. Lisocabtagene maraleucel versus standard of care with salvage chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation as second-line treatment in patients with relapsed or refractory large B-cell lymphoma (TRANSFORM): results from an interim analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *The Lancet*. 2022;399(10343):2294-2308. doi:10.1016/S0140-6736(22)00662-6
15. Bishop MR, Dickinson M, Purtil D, et al. Second-Line Tisagenlecleucel or Standard Care in Aggressive B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(7):629-639. doi:10.1056/NEJMoa2116596

16. Gauthier J, Gazeau N, Hirayama AV, et al. Impact of CD19 CAR T-cell product type on outcomes in relapsed or refractory aggressive B-NHL. *Blood*. 2022;139(26):3722-3731. doi:10.1182/blood.2021014497
17. Bachy E, Le Gouill S, Di Blasi R, et al. A real-world comparison of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel CAR T cells in relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med*. 2022;28(10):2145-2154. doi:10.1038/s41591-022-01969-y
18. Neelapu SS, Dickinson M, Munoz J, et al. Axicabtagene ciloleucel as first-line therapy in high-risk large B-cell lymphoma: the phase 2 ZUMA-12 trial. *Nat Med*. 2022;28(4):735-742. doi:10.1038/s41591-022-01731-4
19. Westin J, Jacobson CA, Chavez JC, et al. ZUMA-23: A global, phase 3, randomized controlled study of axicabtagene ciloleucel versus standard of care as first-line therapy in patients with high-risk large B-cell lymphoma. *JCO*. 2023;41(16_suppl):TPS7578-TPS7578. doi:10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.TPS7578
20. Falchi L, Vardhana SA, Salles GA. Bispecific antibodies for the treatment of B-cell lymphoma: promises, unknowns, and opportunities. *Blood*. 2023;141(5):467-480. doi:10.1182/blood.2021011994
21. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378(5):439-448. doi:10.1056/NEJMoa1709866
22. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(1):45-56. doi:10.1056/NEJMoa1804980
23. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *The Lancet*. 2020;396(10254):839-852. doi:10.1016/S0140-6736(20)31366-0
24. Jaeger U, Worel N, McGuirk JP, et al. Safety and efficacy of tisagenlecleucel plus pembrolizumab in patients with r/r DLBCL: results from the phase Ib PORTIA study. *Blood Advances*. Published online August 31, 2022: bloodadvances.2022007779. doi:10.1182/bloodadvances.2022007779
25. Cj T, La H, C B, et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Science translational medicine*. 2016;8(355). doi:10.1126/scitranslmed.aaf8621
26. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2531-2544. doi:10.1056/NEJMoa1707447
27. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(1):31-42. doi:10.1016/S1470-2045(18)30864-7
28. Research C for DE and. FDA approves brexucabtagene autoleucel for relapsed or refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *FDA*. Published online January 31, 2022. Accessed May 31, 2022. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-brexucabtagene-autoleucel-relapsed-or-refractory-b-cell-precursor-acute-lymphoblastic>
29. Jacobson CA, Chavez JC, Sehgal AR, et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2022;23(1):91-103. doi:10.1016/S1470-2045(21)00591-X
30. Wang M, Munoz J, Goy A, et al. KTE-X19 CAR T-Cell Therapy in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2020;382(14):1331-1342. doi:10.1056/NEJMoa1914347
31. Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *The Lancet*. 2021;398(10297):314-324. doi:10.1016/S0140-6736(21)00933-8

32. Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2019;380(18):1726-1737. doi:10.1056/NEJMoa1817226
33. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, et al. Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1987;149(3):960-968. doi:10.1016/0006-291X(87)90502-X
34. Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(24):10024-10028. doi:10.1073/pnas.86.24.10024
35. Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(2):720-724. doi:10.1073/pnas.90.2.720
36. Eshhar Z. Tumor-specific T-bodies: towards clinical application. *Cancer Immunol Immunother*. 1997;45(3-4):131-136. doi:10.1007/s002620050415
37. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*. 2018;359(6382):1361-1365. doi:10.1126/science.aar6711
38. Sadelain M, Brentjens R, Rivière I. The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors. *Curr Opin Immunol*. 2009;21(2):215-223. doi:10.1016/j.coi.2009.02.009
39. Jena B, Dotti G, Cooper LJJ. Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor. *Blood*. 2010;116(7):1035-1044. doi:10.1182/blood-2010-01-043737
40. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells in Chronic Lymphoid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2011;365(8):725-733. doi:10.1056/NEJMoa1103849
41. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368(16):1509-1518. doi:10.1056/NEJMoa1215134
42. Vormittag P, Gunn R, Ghorashian S, Veraitch FS. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Current Opinion in Biotechnology*. 2018;53:164-181. doi:10.1016/j.copbio.2018.01.025
43. Roddie C, O'Reilly M, Dias Alves Pinto J, Vispute K, Lowdell M. Manufacturing chimeric antigen receptor T cells: issues and challenges. *Cytotherapy*. 2019;21(3):327-340. doi:10.1016/j.jcyt.2018.11.009
44. Fraietta JA, Lacey SF, Orlando EJ, et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med*. 2018;24(5):563-571. doi:10.1038/s41591-018-0010-1
45. Finney OC, Brakke HM, Rawlings-Rhea S, et al. CD19 CAR T cell product and disease attributes predict leukemia remission durability. *J Clin Invest*. 2019;129(5):2123-2132. doi:10.1172/JCI125423
46. Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *J Clin Invest*. 2016;126(6):2123-2138. doi:10.1172/JCI85309
47. Giavridis T, van der Stegen SJC, Eyquem J, Hamieh M, Piersigilli A, Sadelain M. CAR T cell–induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. *Nat Med*. 2018;24(6):731-738. doi:10.1038/s41591-018-0041-7
48. Norelli M, Camisa B, Barbiera G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nat Med*. 2018;24(6):739-748. doi:10.1038/s41591-018-0036-4
49. Sheth VS, Gauthier J. Taming the beast: CRS and ICANS after CAR T-cell therapy for ALL. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(3):552-566. doi:10.1038/s41409-020-01134-4

50. Frey N, Porter D. Cytokine Release Syndrome with Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019;25(4):e123-e127. doi:10.1016/j.bbmt.2018.12.756
51. Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*. 2014;124(2):188-195. doi:10.1182/blood-2014-05-552729
52. Lee DW, Santomaso BD, Locke FL, et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019;25(4):625-638. doi:10.1016/j.bbmt.2018.12.758
53. Sheth VS, Gauthier J. Taming the beast: CRS and ICANS after CAR T-cell therapy for ALL. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(3):552-566. doi:10.1038/s41409-020-01134-4
54. Gust J, Ponce R, Liles WC, Garden GA, Turtle CJ. Cytokines in CAR T Cell–Associated Neurotoxicity. *Frontiers in Immunology*. 2020;11. Accessed August 9, 2023. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.577027>
55. Jain MD, Smith M, Shah NN. How I treat refractory CRS and ICANS after CAR T-cell therapy. *Blood*. 2023;141(20):2430-2442. doi:10.1182/blood.2022017414
56. Major A, Collins J, Craney C, et al. Management of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) associated with chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy using anti-cytokine therapy: an illustrative case and review of the literature. *Leukemia & Lymphoma*. 2021;62(7):1765-1769. doi:10.1080/10428194.2021.1881507
57. Rejeski K, Subklewe M, Aljurf M, et al. Immune Effector Cell-Associated Hematotoxicity (ICAHT): EHA/EBMT Consensus Grading and Best Practice Recommendations. *Blood*. Published online June 10, 2023:blood.2023020578. doi:10.1182/blood.2023020578
58. Sharma N, Reagan PM, Liesveld JL. Cytopenia after CAR-T Cell Therapy—A Brief Review of a Complex Problem. *Cancers*. 2022;14(6):1501. doi:10.3390/cancers14061501
59. Jain T, Olson TS, Locke FL. How I Treat Cytopenias after CAR T-cell Therapy. *Blood*. Published online February 17, 2023:blood.2022017415. doi:10.1182/blood.2022017415
60. Strati P, Li X, Deng Q, et al. Prolonged cytopenia following CD19 CAR T cell therapy is linked with bone marrow infiltration of clonally expanded IFN γ -expressing CD8 T cells. *Cell Reports Medicine*. 2023;4(8):101158. doi:10.1016/j.xcrm.2023.101158
61. Xia Y, Zhang J, Li J, et al. Cytopenias following anti-CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy: a systematic analysis for contributing factors. *Annals of Medicine*. 2022;54(1):2950-2964. doi:10.1080/07853890.2022.2136748
62. Zhou J, Zhang Y, Shan M, et al. Cytopenia after chimeric antigen receptor T cell immunotherapy in relapsed or refractory lymphoma. *Front Immunol*. 2022;13:997589. doi:10.3389/fimmu.2022.997589
63. Logue JM, Peres LC, Hashmi H, et al. Early cytopenias and infections after standard of care idecabtagene vicleucel in relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood Adv*. 2022;6(24):6109-6119. doi:10.1182/bloodadvances.2022008320
64. Rejeski K, Perez Perez A, Iacoboni G, et al. Biphasic Neutrophil Recovery after CD19 CART in R/R LBCL Is Associated with Superior PFS/OS, Robust CAR T-Cell Expansion in Relation to Baseline Tumor Volume, and a Decrease of Systemic Inflammation over Time. *Blood*. 2022;140(Supplement 1):4549-4551. doi:10.1182/blood-2022-167632
65. Panaite L, Gauthier J, Perkins P, et al. Predictors of Cytopenia after Treatment with Axicabtagene Ciloleucel in Patients with Large Cell Lymphoma. *Blood*. 2020;136:1-2. doi:10.1182/blood-2020-134816
66. Rejeski K, Perez A, Sesques P, et al. CAR-HEMATOTOX: a model for CAR T-cell–related hematologic toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood*. 2021;138(24):2499-2513. doi:10.1182/blood.2020010543

67. Juluri KR, Wu QV, Voutsinas J, et al. Severe cytokine release syndrome is associated with hematologic toxicity following CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Advances*. 2022;6(7):2055-2068. doi:10.1182/bloodadvances.2020004142
68. Galli E, Fresa A, Bellesi S, et al. Hematopoiesis and immune reconstitution after CD19 directed chimeric antigen receptor T-cells (CAR-T): A comprehensive review on incidence, risk factors and current management. *European Journal of Haematology*. n/a(n/a). doi:10.1111/ejh.14052
69. Fried S, Avigdor A, Bielorai B, et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(10):1643-1650. doi:10.1038/s41409-019-0487-3
70. Jain T, Knezevic A, Pennisi M, et al. Hematopoietic recovery in patients receiving chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematologic malignancies. *Blood Adv*. 2020;4(15):3776-3787. doi:10.1182/bloodadvances.2020002509
71. Wang L, Hong R, Zhou L, et al. New-Onset Severe Cytopenia After CAR-T Cell Therapy: Analysis of 76 Patients With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol*. 2021;11:702644. doi:10.3389/fonc.2021.702644
72. Hines MR, Keenan C, Maron Alfaro G, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis-like toxicity (carHLH) after CD19-specific CAR T-cell therapy. *Br J Haematol*. 2021;194(4):701-707. doi:10.1111/bjh.17662
73. Pascutti MF, Erkelens MN, Nolte MA. Impact of Viral Infections on Hematopoiesis: From Beneficial to Detrimental Effects on Bone Marrow Output. *Front Immunol*. 2016;7:364. doi:10.3389/fimmu.2016.00364
74. Kitamura W, Asada N, Naoi Y, et al. Bone marrow microenvironment disruption and sustained inflammation with prolonged haematologic toxicity after CAR T-cell therapy. *British Journal of Haematology*. n/a(n/a). doi:10.1111/bjh.18747
75. Dunleavy K, Hakim F, Kim HK, et al. B-cell recovery following rituximab-based therapy is associated with perturbations in stromal derived factor-1 and granulocyte homeostasis. *Blood*. 2005;106(3):795-802. doi:10.1182/blood-2004-08-3198
76. Rejeski K, Wu Z, Blumenberg V, et al. Oligoclonal T-cell expansion in a patient with bone marrow failure after CD19 CAR-T therapy for Richter-transformed DLBCL. *Blood*. 2022;140(20):2175-2179. doi:10.1182/blood.2022017015
77. Rejeski K, Burchert A, Iacoboni G, et al. Safety and feasibility of stem cell boost as a salvage therapy for severe hematotoxicity after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Advances*. 2022;6(16):4719-4725. doi:10.1182/bloodadvances.2022007776
78. Mullanfiroze K, Lazareva A, Chu J, et al. CD34+-selected stem cell boost can safely improve cytopenias following CAR T-cell therapy. *Blood Advances*. 2022;6(16):4715-4718. doi:10.1182/bloodadvances.2022007572
79. Gagelmann N, Wulf GG, Duell J, et al. Hematopoietic stem cell boost for persistent neutropenia after CAR T-cell therapy: a GLA/DRST study. *Blood Advances*. 2023;7(4):555-559. doi:10.1182/bloodadvances.2022008042
80. Bishop DC, Clancy LE, Simms R, et al. Development of CAR T-cell lymphoma in 2 of 10 patients effectively treated with piggyBac-modified CD19 CAR T cells. *Blood*. 2021;138(16):1504-1509. doi:10.1182/blood.2021010813
81. Fraietta JA, Nobles CL, Sammons MA, et al. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells. *Nature*. 2018;558(7709):307-312. doi:10.1038/s41586-018-0178-z
82. Shah NN, Qin H, Yates B, et al. Clonal expansion of CAR T cells harboring lentivector integration in the CBL gene following anti-CD22 CAR T-cell therapy. *Blood Advances*. 2019;3(15):2317-2322. doi:10.1182/bloodadvances.2019000219

83. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015;126(1):9-16. doi:10.1182/blood-2015-03-631747
84. Guermouche H, Ravalet N, Gallay N, et al. High prevalence of clonal hematopoiesis in the blood and bone marrow of healthy volunteers. *Blood Adv*. 2020;4(15):3550-3557. doi:10.1182/bloodadvances.2020001582
85. Liu Y, Derkach A, Lewis N, et al. Clonal hematopoiesis in diffuse large B-cell lymphoma: clinical impact and genetic relatedness to lymphoma and therapy-related myeloid neoplasm. *Haematologica*. 2023;108(3):917-922. doi:10.3324/haematol.2022.281724
86. Miller PG, Sperling AS, Brea EJ, et al. Clonal hematopoiesis in patients receiving chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Blood Advances*. 2021;5(15):2982-2986. doi:10.1182/bloodadvances.2021004554
87. Teipel R, Kroschinsky F, Kramer M, et al. Prevalence and variation of CHIP in patients with aggressive lymphomas undergoing CD19-directed CAR T-cell treatment. *Blood Advances*. 2022;6(6):1941-1946. doi:10.1182/bloodadvances.2021005747
88. Saini NY, Swoboda DM, Greenbaum U, et al. Clonal Hematopoiesis Is Associated with Increased Risk of Severe Neurotoxicity in Axicabtagene Ciloleucl Therapy of Large B-Cell Lymphoma. *Blood Cancer Discov*. 2022;3(5):385-393. doi:10.1158/2643-3230.BCD-21-0177
89. Hsieh EM, Myers RM, Yates B, et al. Low rate of subsequent malignant neoplasms after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Adv*. 2022;6(17):5222-5226. doi:10.1182/bloodadvances.2022008093
90. Falini L, Venanzi A, Tini V, et al. Acute myeloid leukemia development soon after anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell infusion in a patient with refractory diffuse large B-cell lymphoma and pre-existing clonal hematopoiesis. *Haematologica*. 2022;108(1):290-294. doi:10.3324/haematol.2022.281351
91. Chong EA, Ruella M, Schuster SJ. Five-Year Outcomes for Refractory B-Cell Lymphomas with CAR T-Cell Therapy. *N Engl J Med*. 2021;384(7):673-674. doi:10.1056/NEJMc2030164
92. Neelapu SS, Jacobson CA, Ghobadi A, et al. Five-year follow-up of ZUMA-1 supports the curative potential of axicabtagene ciloleucl in refractory large B-cell lymphoma. *Blood*. 2023;141(19):2307-2315. doi:10.1182/blood.2022018893
93. Westin JR, Oluwole OO, Kersten MJ, et al. Survival with Axicabtagene Ciloleucl in Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2023;389(2):148-157. doi:10.1056/NEJMoa2301665
94. Lee DW, Santomaso BD, Locke FL, et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(4):625-638. doi:10.1016/j.bbmt.2018.12.758
95. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):3059-3067. doi:10.1200/JCO.2013.54.8800
96. Demaret J, Varlet P, Trauet J, et al. Monitoring CAR T-cells using flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2021;100(2):218-224. doi:10.1002/cyto.b.21941
97. Hills RK. What drives CAR-T emergent cytopenia? *British Journal of Haematology*. n/a(n/a). doi:10.1111/bjh.18790
98. Neelapu SS, Jacobson CA, Ghobadi A, et al. Five-year follow-up of ZUMA-1 supports the curative potential of axicabtagene ciloleucl in refractory large B-cell lymphoma. *Blood*. 2023;141(19):2307-2315. doi:10.1182/blood.2022018893
99. Vainstein V, Avni B, Grisariu S, et al. Clonal Myeloid Dysplasia Following CAR T-Cell Therapy: Chicken or the Egg? *Cancers*. 2023;15(13):3471. doi:10.3390/cancers15133471

100. Gurney M, Alkhateeb H, Shah S, et al. S263: CYTOPENIAS, AGE AND CAR-HEMATOTOX SCORE PREDICT THE DEVELOPMENT OF POST CAR T-CELL THERAPY-RELATED MYELOID NEOPLASMS. *Hemasphere*. 2023;7(Suppl):e6718317. doi:10.1097/01.HS9.0000967964.67183.17
101. Accorsi Buttini E, Farina M, Lorenzi L, et al. High risk-myelodysplastic syndrome following CAR T-cell therapy in a patient with relapsed diffuse large B cell lymphoma: A case report and literature review. *Front Oncol*. 2023;13:1036455. doi:10.3389/fonc.2023.1036455

AUTEUR : Nom : GAZEAU

Prénom : NICOLAS

Date de soutenance : 17 octobre 2023

Titre de la thèse : Cytopénies persistantes chez les patients en réponse après traitement par axicabtagene ciloleucel pour un lymphome B à grandes cellules

Thèse - Médecine - Lille « 2023 »

Cadre de classement : Hématologie

DES + FST/option : Hématologie

Mots-clés : CAR-T Cells, toxicité, cytopénie

Résumé :

Les CAR-T cells dirigés contre le CD19 ont révolutionné la prise en charge des lymphomes B à grandes cellules. La complication sévère la plus fréquente est la présence de cytopénies. Ces cytopénies présentent plusieurs facteurs de risque en fonction de leur délai d'apparition. Peu d'études se sont intéressées à la présence de cytopénies après 6 mois de traitement chez les patients en réponse persistante. Nous avons défini ces cytopénies comme persistantes et nous sommes intéressés à 85 patients traités par axicabtagene-ciloleucel (axi-cel) au CHU de Lille. Chez les patients répondeurs à long terme, la reprise d'une lymphopoïèse B était observée avec une diminution du nombre de patients en aplasie B au fil du temps (72 % à 6 mois, 43 % à 1 et 2 ans, et 33 % à 3 ans) et ne semble pas essentielle à la persistance de la réponse. L'aplasie B à long terme était significativement associée à la présence d'axi-cel dans le sang, contrairement aux cytopénies persistantes. Nous avons testé différentes variables susceptibles d'être associées aux cytopénies persistantes (âge, score CAR-HEMATOTOX, grade du CRS et de l'ICANS, taux de LDH prétraitement, taux de lymphocytes prétraitement, nombre de lignes de traitement). Seul le score CAR-HEMATOTOX était significativement plus élevé chez les patients présentant des cytopénies sévères persistantes ($p=0,01$). De plus, la proportion de patients présentant des cytopénies sévères persistantes était significativement plus élevée chez ceux ayant un score CAR-HEMATOTOX ≥ 2 (43 % versus 11 % ; $p=0,02$). Nous avons identifié 12 patients développant une complication potentiellement liée au CAR, (CHIP, SMD, LAM, LGL, porphyrie.) En utilisant les mêmes facteurs de risque que précédemment mentionnés, seule l'augmentation de l'âge était significativement associée à l'apparition de ces complications ($p=0,02$). En somme, les cytopénies persistantes sont fréquentes chez les patients en réponse à long terme après un traitement par axi-cel pour un LBCL. La présence de ces cytopénies persistantes doit faire évoquer l'apparition possible d'une nouvelle hémopathie et doit inciter rapidement à une exploration médullaire.

Composition du Jury :

JURY :

Président :

Monsieur le professeur Ibrahim YAKOUB-AGHA

Assesseurs :

Monsieur le professeur Franck MORSCHHAUSER

Madame le docteur Julie DEMARET

Monsieur le docteur Enagnon Kazali ALIDJINO

Directeur de thèse :

Monsieur le docteur David BEAUVAIS