

7<sup>^</sup>

# Conferenza Nazionale dei Servizi Trasfusionali

Vicenza | 24-26 maggio 2023



## Linfocitoaferesi per CAR-T: Caratterizzazione del prodotto

*Ursula La Rocca*

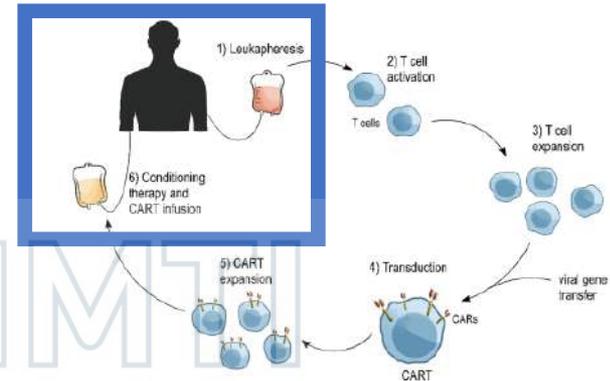
*Centro Nazionale Sangue, ISS*

*Sapienza, Università di Roma*

La sottoscritta, in qualità di Presentatrice  
dichiara che

*nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatrice di interessi commerciali propri o di terzi; e che gli eventuali rapporti avuti negli ultimi due anni con soggetti portatori di interessi commerciali non sono tali da permettere a tali soggetti di influenzare le sue funzioni al fine di trarne vantaggio.*

La **caratterizzazione leucoaferetica** per la produzione del **Chimeric Antigen Receptor T cell therapy (CAR-T)** è un elemento chiave per l'esito di tali terapie, ed una nuova sfida per il trasfusionista.



### Raccomandazioni EBMT-JACIE

- Esperienza del Centro (sistema di qualità/autorizzazioni regolatorie)
- Tempestiva manifattura del prodotto
- Valutazione della “collection efficiency” (CE) per ottimizzare tempi e procedure

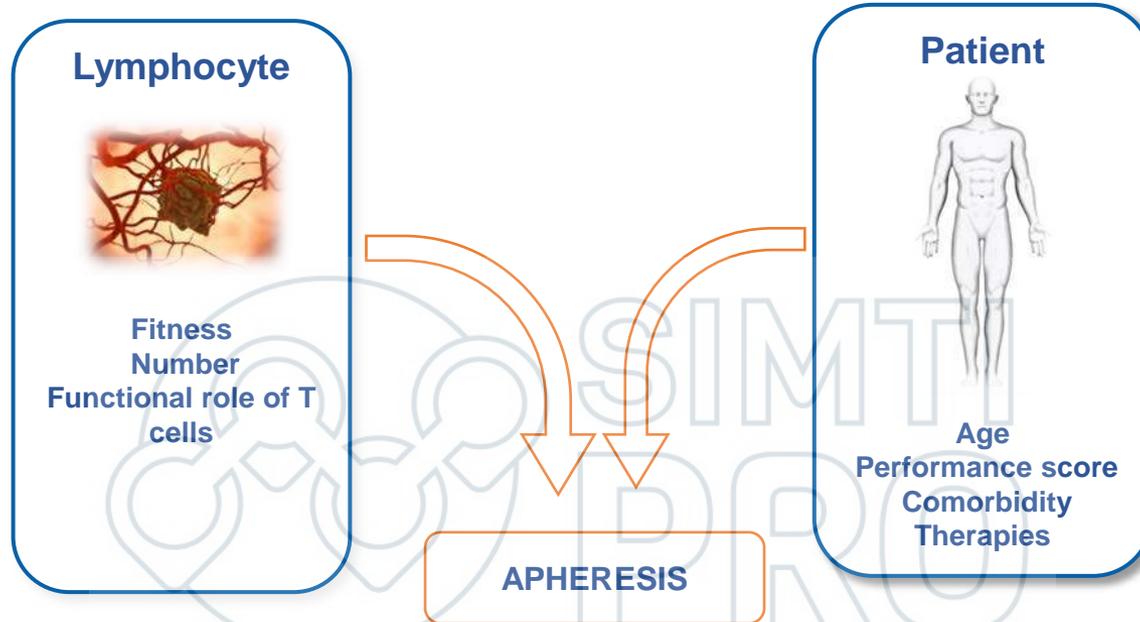
### GUIDELINE ARTICLE



**Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE)**

Ibrahim Yakoub-Agha,<sup>1</sup> Christian Chabannon,<sup>2</sup> Peter Bader,<sup>3</sup> Grzegorz W. Basak,<sup>4</sup> Halvard Bonig,<sup>5</sup> Fabio Ciceri,<sup>6</sup> Selim Corbacioglu,<sup>7</sup> Rafael F. Duarte,<sup>8</sup> Hermann Einsele,<sup>9</sup> Michael Hudecek,<sup>9</sup> Marie José Kersten,<sup>10</sup> Ulrike Köhl,<sup>11</sup> Jürgen Kuball,<sup>12</sup> Stephan Mielke,<sup>13</sup> Mohamad Mohty,<sup>14</sup> John Murray,<sup>15</sup> Arnon Nagler,<sup>16</sup> Stephen Robinson,<sup>17</sup> Riccardo Saccardi,<sup>18</sup> Fermin Sanchez-Guijo,<sup>19</sup> John A. Snowden,<sup>20</sup> Micha Srour,<sup>21</sup> Jan Styczynski,<sup>22</sup> Alvaro Urbano-Ispizua,<sup>23</sup> Patrick J. Hayden<sup>24</sup> and Nicolaus Kröger<sup>25</sup>

*Haematologica* 2018  
Volume 105(2):297-316



*Aspetti relativi alle caratteristiche dei pazienti, al numero di terapie precedenti, allo stato di malattia attiva, nella maggior parte dei casi in recidiva/refrattaria, hanno un potenziale impatto sulla conta e sulla qualità della raccolta.*

1. Das RK et al. Cancer discovery. 2019 2. Finney OC et al. J Clin Invest. 2019 3. Larson et al. Nature Reviews Cancer 2021

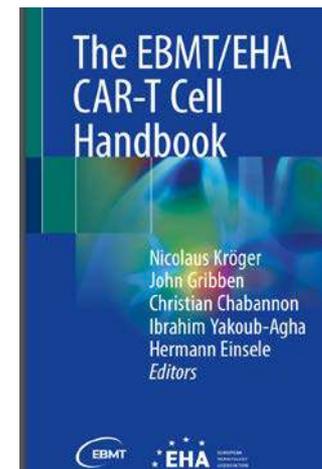
### Linfocitoaferesi per CAR-T

Il calcolo dell'efficienza di raccolta (CE) consente di:

- prevedere il **volume di sangue** da processare per ciascuna procedura
- prevedere il **numero di procedure** di aferesi per ciascun paziente
- **ottimizzare la procedura** stessa

La CE si calcola secondo la seguente formula, raccomandata dalle linee guida EBMT/JACIE:

$$CE(\%) = \frac{\text{CD3+ totali nel prodotto aferetico } (\mu\text{L})}{\text{CD3+ periferiche} \times 10^6 \mu\text{L/L} \times \text{volume totale elaborato(L)}} \times 100$$



### GUIDELINE ARTICLE

#### Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE)



Haematologica 2018  
Volume 105(2):297-316

Ibrahim Yakoub-Agha,<sup>1</sup> Christian Chabannon,<sup>2</sup> Peter Bader,<sup>3</sup> Grzegorz W. Basak,<sup>4</sup> Halvard Bonig,<sup>5</sup> Fabio Ciceri,<sup>6</sup> Selim Corbacioglu,<sup>7</sup> Rafael F. Duarte,<sup>8</sup> Hermann Einsele,<sup>9</sup> Michael Hudecek,<sup>9</sup> Marie José Kersten,<sup>10</sup> Ulrike Köhler,<sup>11</sup> Jürgen Kuball,<sup>12</sup> Stephan Mielke,<sup>13</sup> Mohamad Mohty,<sup>14</sup> John Murray,<sup>15</sup> Arnon Nagler,<sup>16</sup> Stephen Robinson,<sup>17</sup> Riccardo Saccardi,<sup>18</sup> Fermin Sanchez-Guijo,<sup>19</sup> John A. Snowden,<sup>20</sup> Micha Srour,<sup>21</sup> Jan Styczynski,<sup>22</sup> Alvaro Urbano-Ispizua,<sup>23</sup> Patrick J. Hayden<sup>24</sup> and Nicolaus Kröger<sup>25</sup>

CE and a target number allow for the calculation of the blood volume that needs to be processed in order to achieve this target. The formula to calculate target process volume is as follows

Process Volume (Liters) = T-cell target dose/ (CE x T-cell concentration in blood) (Liters)

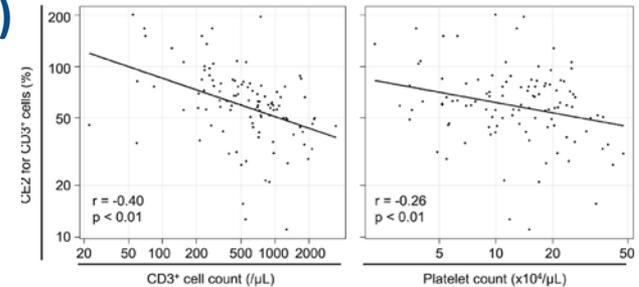
Yakoub-Agha I, et al. *Haematologica*. 2020;105(2):297-316.

*Essenziale per calcolare i volumi da processare  
per una adeguata cellularità*

- Jo et al. (*Transfusion* 2019): CE 59,3% (11-199,8%)

CE ↓ se:

- ↓ Hb pre-raccolta
- ↑ linfociti T CD3+ SVP
- ↑ PLTS pre-aferesi



- Tuazon et al. (*Transfusion* 2019): CE 42% (0,3-252%)  
CE < 40% nel 45% del campione

- età ( $p=0,034$ )
- diagnosi ( $p=0,009$ )
- PLTS pre-aferesi ( $p=0,005$ )

Table 6.  
Multivariable analysis for predictors of lymphocyte collection efficiency less than 40%

	Odds ratio	P-value
Patient factors		
Age (every 10-year increase)	1.51	0.044
Disease factors		
Disease type (CLL vs. ALL)	0.16	0.022
Disease type (NHL vs. ALL)	0.17	0.006
Laboratory factors		
Pre-collection platelet count (every $10 \times 10^3$ / $\mu$ L increase)	1.07	0.022
Pre-collection lymphocyte count (every $0.1 \times 10^3$ / $\mu$ L increase)	1.02	0.107
Pre-collection monocyte count (every $0.1 \times 10^3$ / $\mu$ L increase)	1.06	0.388

ALL = acute lymphocytic leukemia, CLL = chronic lymphocytic leukemia, NHL = non-Hodgkin lymphoma

- Yamanaka et al. (*Int J Haematol.* 2021): CE 51,3% (27,1-95,1%)  
- CD3+ pre-raccolta ha maggior impatto sulla cellularità del prodotto

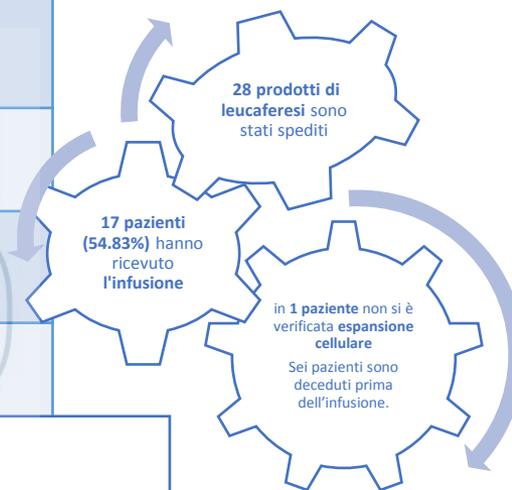
- Harrer et al. (*Transfusion* 2022): CE 63,7 % (9,56-93,6%)

**Agosto 2019- Dicembre 2021**

Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico "Umberto I"

**CE mediana = 60,9%**  
(range: 20-97)

Totale pazienti	31
Età Mediana (range)	52 aa (14-70)
Diagnosi N (%)	LAL 4 (13%) DLBCL 27 (87%)
CD3+ pre-raccolta	<b>572/<math>\mu</math>L (296-1579)</b>
Volume processato Mediana (range)	8,5 L ( 4,4-10,5)
Volemie Mediana (range)	1,8 ( 0,9-3)




**2 pazienti**  
necessità di  
trasfusione  
GR pre-raccolta

**Contenuto mediano di CD3+ nel concentrato finale:**  
 **$2,5 \times 10^9 \mu\text{L}$  ( $0,31-9,5 \times 10^9/\mu\text{L}$ ).**

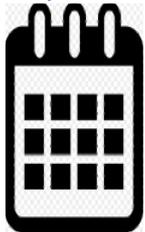


Valutazione della **CE** per la produzione di CAR-T,  
in relazione a:

Caratteristiche dell'emocromo pre-raccolta

Percentuale delle CD3+ pre-raccolta

Intervallo tra diagnosi e raccolta ( $\Delta t_{d-r}$ )



Osservazione e analisi prospettica dell'attività di linfocitoferesi nel periodo

**Settembre 2019- Giugno 2022**



**Spectra Optia®**  
(Terumo, Tokyo, Giappone)

### Pazienti affetti da LNH candidati a CAR-T commerciali

- UOC Ematologia
- UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Sapienza

### Target

TNC  $\geq 2 \times 10^9 / \mu\text{L}$

linfociti T CD3+  $\geq 1 \times 10^9 / \mu\text{L}$

**CE= CD3+ prodotto (cellule)/[ CD3+ periferici x  $10^6 \mu\text{L/L}$  x volume totale elaborato (L)] X 100%**

### Caratteristiche dei pazienti



- 36 raccolte spedite
- 30 analizzate, 28 pazienti
- età mediana di 57 anni (21-72)

DIAGNOSI	N (%)
PMBCL	1 (4%)
tFL	4 (14%)
DLBCL	23 (82%)

### Valori pre-raccolta e volumi processati

<b>Intervallo diagnosi- raccolta (<math>\Delta</math>t<sub>d-r</sub>)</b>	1,54 aa (0,46-18,97)
<b>Emocromo pre-aferesi</b> Valore mediano (range)	<b>Hb 11,4 g/dL (8,2-15,3)</b> <b>Ht 33,95% (26,3-45,4)</b> <b>GB 5,1 x10<sup>3</sup>/mL (1,729-13,810)</b> <b>L 18,45% (3,4-48)</b> <b>M 8,35% (3,2-32,6)</b> <b>N 66,4% (14,8-89)</b> <b>Plts 197,5x10<sup>3</sup>/mL (27-615)</b>
<b>CD3+ pre-raccolta</b> Valore mediano (range)	523,5/ $\mu$ L (44-1576)
- <b>Volume mediano processato</b> (range)	8,5 L (5,6-11,5L)
- <b>Mediana volemie processate</b> (range)	1,89 (1-3L)

### Concentrato aferetico ed efficienza di raccolta

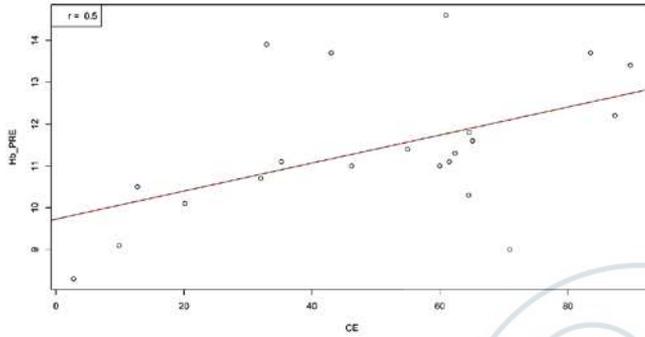
<b>Emocromo concentrato</b> Valore mediano (range)	GB 53,96 x10 <sup>3</sup> /mL (10,340-111,1) L 24,63 x10 <sup>3</sup> /mL (1,58-70,66)
<b>Volume concentrato</b> Valore mediano (range)	125 mL (68-173)
<b>CD3+ nel concentrato</b> Valore mediano (range)	2,59 x 10 <sup>9</sup> μL (0,09-9,5)
<b>CE</b> Valore mediano (range)	63,41% (2,73-1229,97%)

# RISULTATI

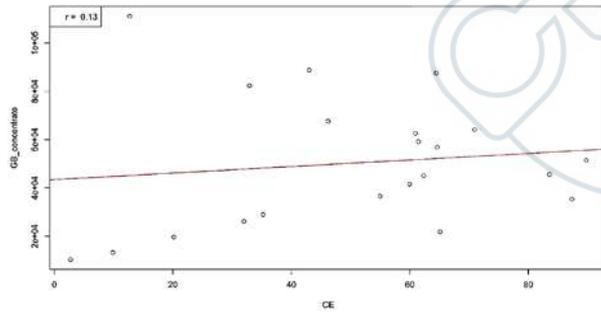


## Linfocitoferesi per CAR-T: Caratterizzazione del prodotto

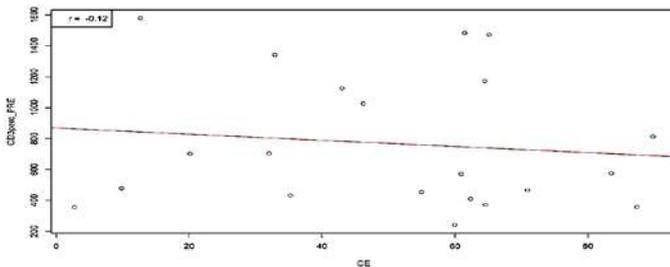
CE ↑



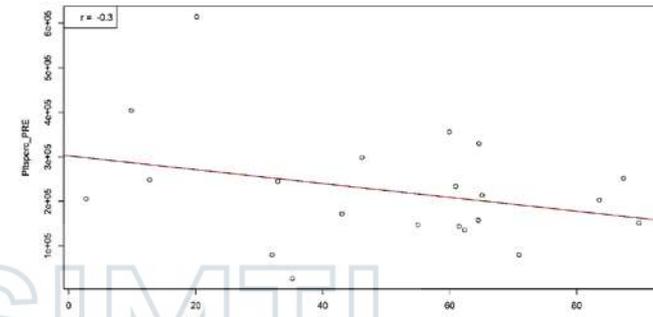
- Hb pre-raccolta ↑ ( $r = 0.5$ )



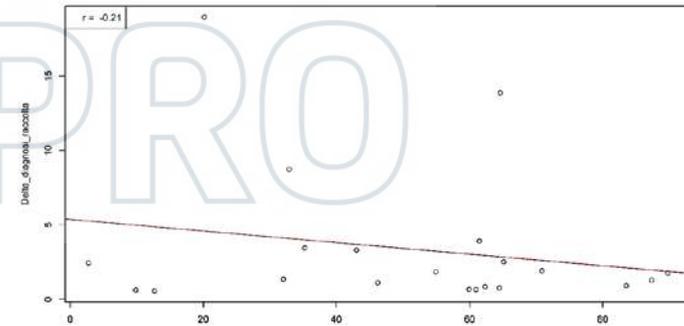
- GB del concentrato ↑ ( $r = 0.13$ )



- % CD3+ pre-raccolta ↓ ( $r = -0.12$ )



- PLTS pre-raccolta ↓ ( $r = -0.3$ )



- Intervallo  $\Delta$ td-r ↓ ( $r = -0.21$ )



*\*Take home message*

- Corretta e tempestiva **pianificazione della linfocitoaferesi**, con **stima della CE e del volume da processare**, per **personalizzare** la procedura, considerando **misure preventive**, quali trasfusioni di concentrati eritrocitari pre-raccolta, fondamentale per massimizzare la possibilità di raggiungere il target.
- Nel futuro, sarà opportuno valutare la **linfocitoaferesi precoce**, a cui candidare **pazienti con malattia rapidamente progressiva**.

Gianluca Giovannetti  
Alessandro Corrente  
Arianna Di Rocco  
Giuseppe Lucania  
Francesca Corona  
Danilo Calandra  
Diana Di Tullo  
Daniela Carmini  
Valentina Schiavo  
Mahnaz Shafii Bafti  
Martina Salvatori  
Antonio Pavan  
Maurizio Martelli  
Alice Di Rocco

Maria Gozzer  
Serelina Coluzzi



***Grazie!***