

# La thérapie cellulaire pour la prévention et le traitement des infections virales post-greffe

Centre intégré  
universitaire de santé  
et de services sociaux  
de l'Est-de-  
l'île-de-Montréal

Québec 

Université   
de Montréal

Jean-Sébastien Delisle MD, FRCPC, PhD  
Hématologue et chercheur, HMR-CIUSSS-EMTL  
Directeur médical adjoint, CETC, HMR-CIUSSS-EMTL  
Professeur agrégé de clinique, Université de Montréal  
[js.delisle@umontreal.ca](mailto:js.delisle@umontreal.ca)

 **SQT** Société  
Québécoise de  
Transplantation

# Divulgations

Co-fondateur scientifique, détenteur de brevets, bénéficiaire d'un contrat de recherche – SpecificiT Pharma

*Aucun lien avec la présentation d'aujourd'hui*

REPRODUCTION INTERDITE

# Remerciements

 **Fondation  
de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont**  
Centre affilié à l'Université de Montréal

  
Stem Cell Network  
Réseau de cellules souches

  
Fondation  
Cole  
Foundation

  
HÉMA-QUÉBEC

Fonds de la recherche  
en santé

Québec 

  
BioCanRx  
Biotherapeutics for Cancer Treatment  
Biothérapies pour le traitement du cancer

The Canadian  
**DONATION** and  
**TRANSPLANTATION**  
Research Program

Julie Orio, MSc

Valérie Janelle, PhD

Cédric Carli, PhD

Caroline Lamarche, MD, MSc

Guillaume Bonnaure, PhD

Cécile Grange, PhD

Shirin Lak

Thomas Pincez, MD, MSc

Gabrielle Boudreau, MSc

Béatrice Portier MD

Victoria George-Tobar, BSc

Julie Taillefer, MSc

Martin Giroux, PhD

Manon Richaud, MSc

Denis-Claude Roy, MD

Cynthia Therrien, MSc

Isabelle Fleury, MD

Silvy Lachance, MD

Suzon Collette, MD

Lynne Sénécal, MD

Stéphanie Thiant, PhD

Véronic Proulx, RN

## Collaborateurs externes

Ann Leen, Adrian Gee, Cath  
Bollard

Baylor College of Medicine

Jonathan Bramson, Ronan

Foley, McMaster University

Atul Humar, University of

Toronto

Sonia Néron, Héma-Québec

 **SQT** Société  
Québécoise de  
Transplantation

# Les infections virales post-greffe

**Adénovirus**

Infections acquises  
Répertoire mémoire T  
Présent ou non  
Primo infection et  
Immunosuppression  
– mauvaise équation.

**HHV6**

**JC virus**

**BK  
virus**

**VZV**

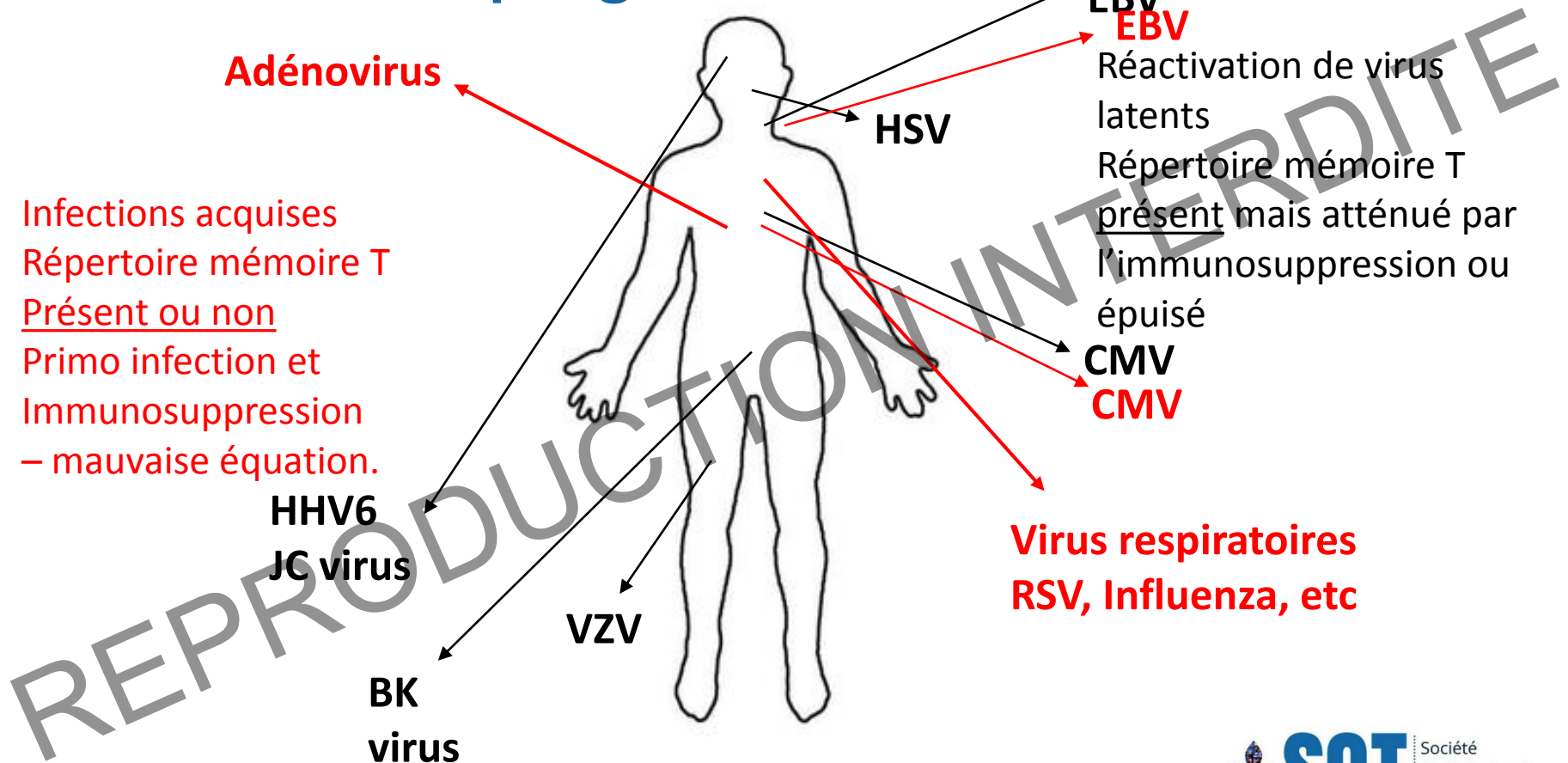
**HSV**

**EBV  
EBV**

Réactivation de virus  
latents  
Répertoire mémoire T  
présent mais atténué par  
l'immunosuppression ou  
épuisé

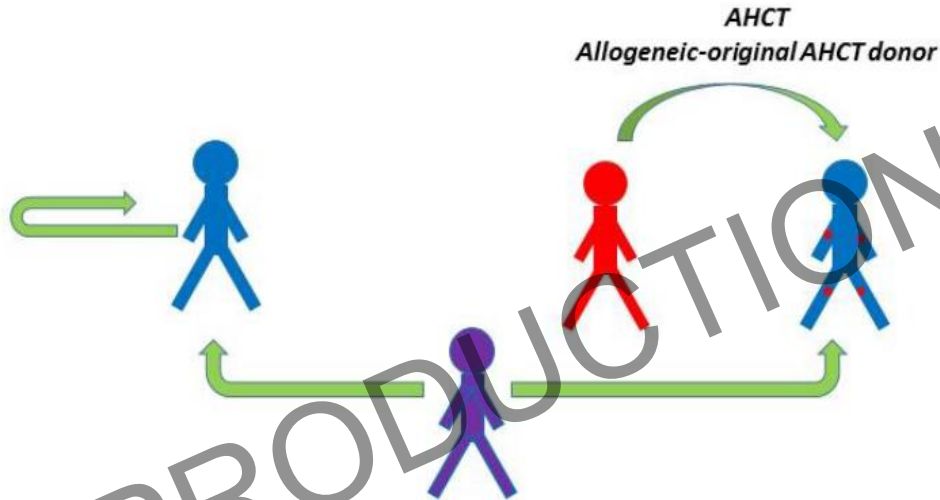
**CMV  
CMV**

**Virus respiratoires  
RSV, Influenza, etc**



# Immunothérapie adoptive

– Transfert (injection) de cellules immunitaires manipulées *ex vivo*



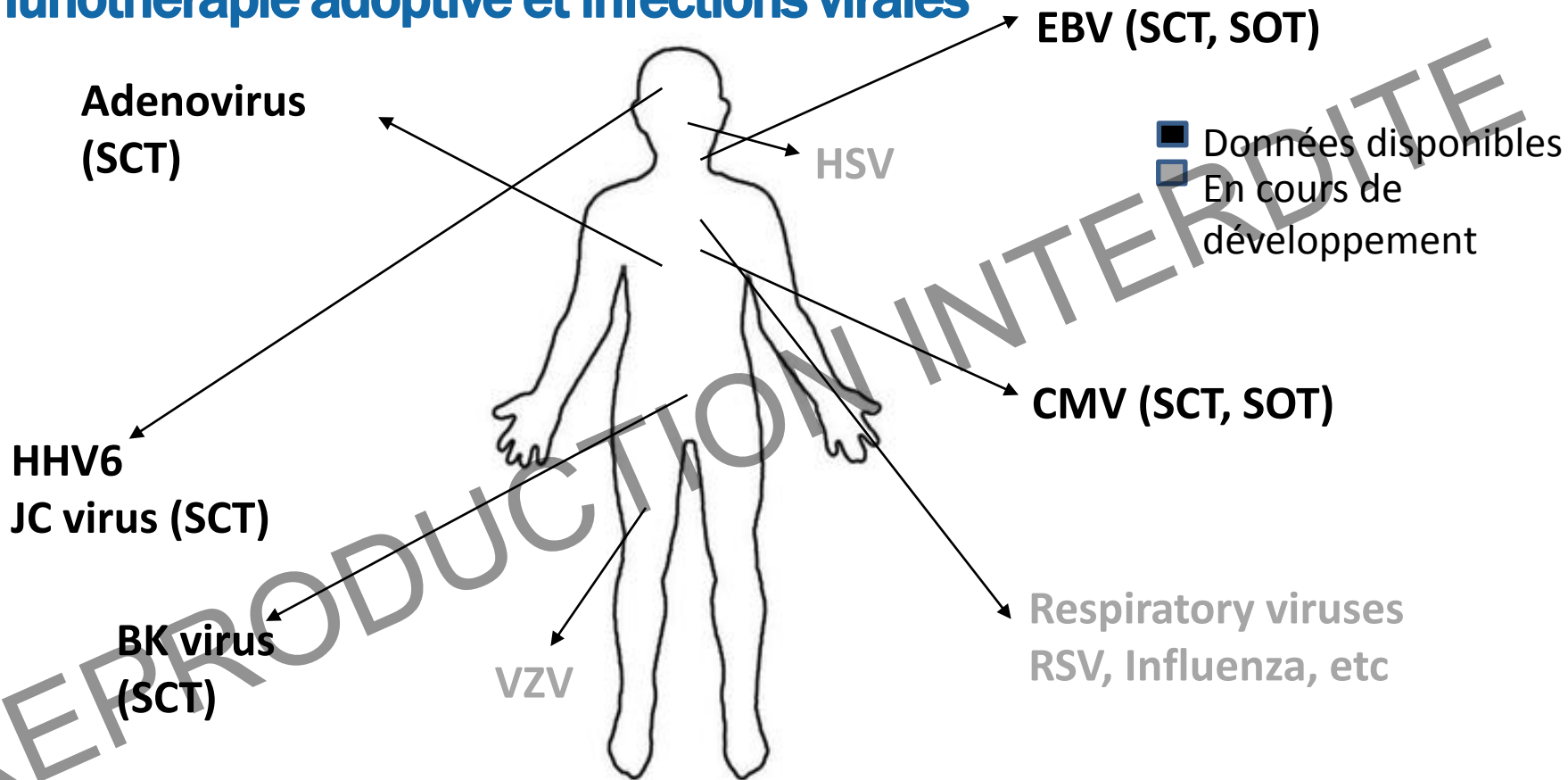
**Best HLA matched Allogeneic – « third party »**

- Non-availability of the original AHCT donor
- Urgency
- Failure to generate an allogeneic/autologous T-cell line

Laboratoires spécialisés requis  
Réglementation  
Expertise médicale particulière

IA utilisée pour traiter des cancers réfractaires, infections résistantes – sauf exception sous couvert expérimental

# Immunothérapie adoptive et infections virales



**SCT** – « stem cell transplant »

**SOT** – « solid organ transplant »

# Résultats cliniques

Petites séries, populations hétérogènes, types de manipulations *ex vivo* variables

Taux de réponse (EBV, CMV, Adenovirus, BK) – 60-70%

Patients réfractaires, la majorité sont des réponses complètes

Prophylaxie en greffe de moelle (cellules obtenues du donneur) et sevrage éventuel de l'immunosuppression (persistance à long terme) – Excellent (100% pour EBV dans la plus grande étude – 100 patients – données prometteuses mais plus fragmentaires en CMV, BK, etc).

Cellules « tierce partie » - 50-60% de réponse, persistance limitée.

Utilisation concomitante d'immunosuppresseurs est possible (sauf anticorps déplétants et cortico à  $>0.5\text{mg/kg}$  équivalent prednisone) mais peut affecter la persistance des cellules transférées

## En greffe d'organes...

Les résultats (plus fragmentaires) sont similaires – cas d'infections/PTLD réfractaires

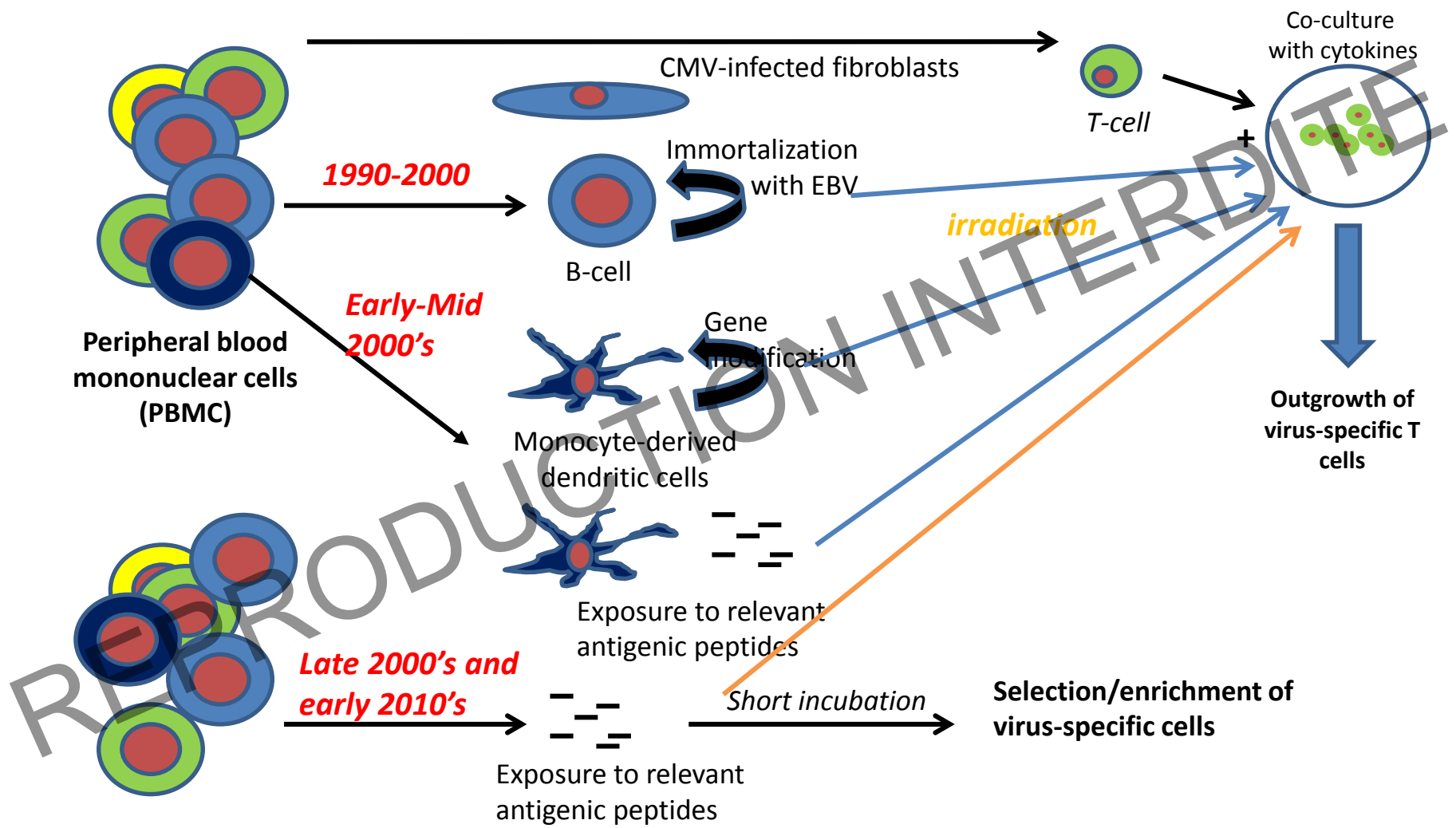
Données disponibles en CMV et EBV

Lignées autologues et « tierce partie » - challenge de stimuler un répertoire naifs ou immunosupprimé/post-chimio, etc

Approche préemptive ?

Autre virus/pathogènes ?

Enjeux de persistance et fonctionnalité dans un contexte d'immunosuppression



# Prevention et traitement des lymphomes EBV+ réfractaires

## Active (NCT 02580539)

Inspiré de Gerdemann, *Mol Ther* 2012  
Orio, *Cytotherapy* 2015

Overlapping peptide pools

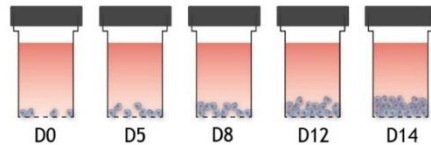


viral peptide pool



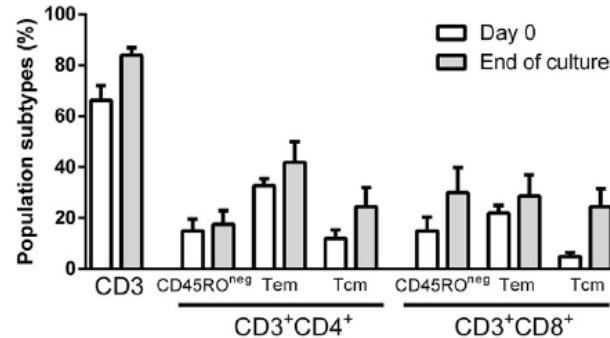
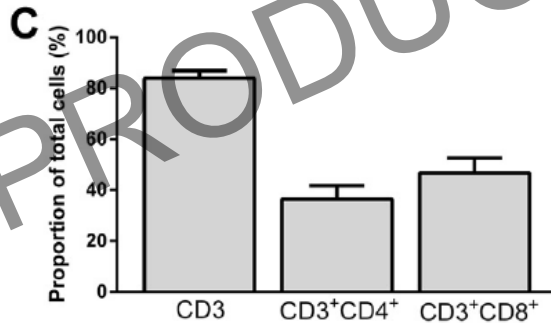
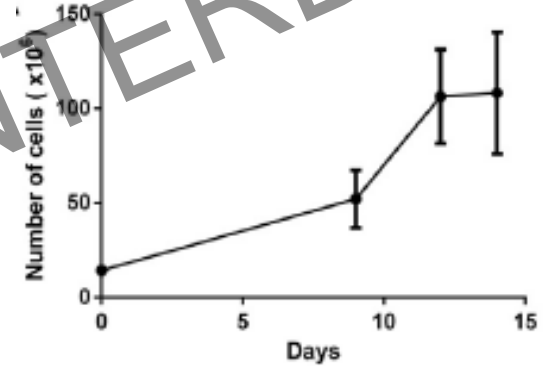
PBMC  
( $15 \times 10^6$  cells)  
30min, 37 °C

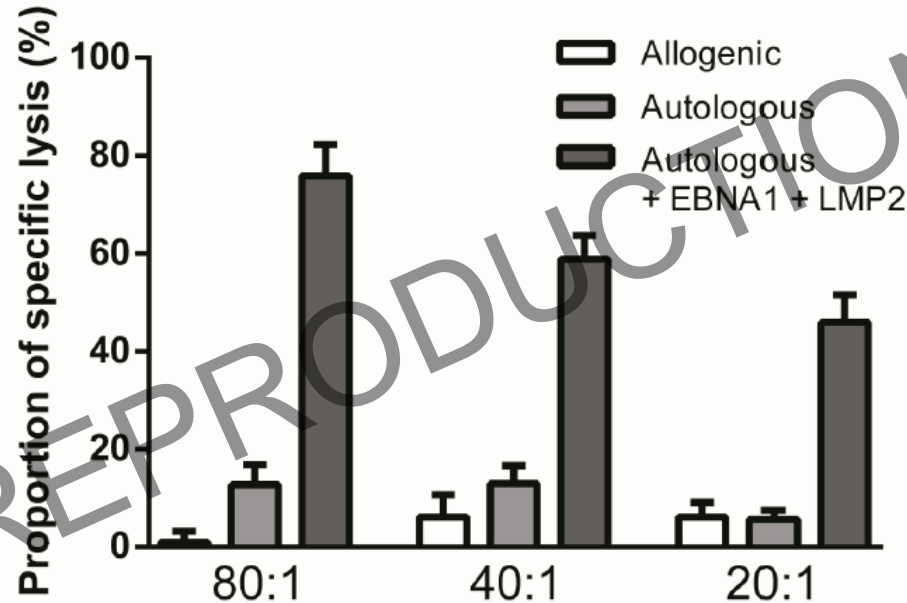
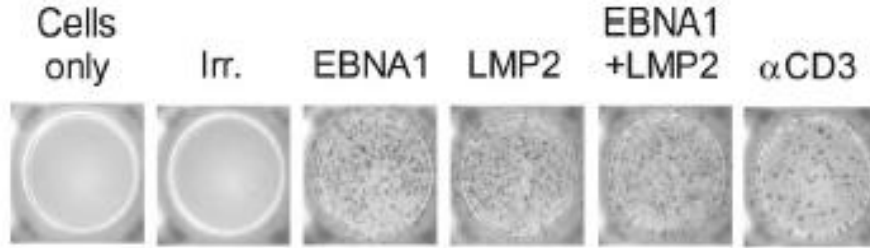
T-CELL CULTURE MEDIA +IL-7 AND IL-4



Media + cytokine change Cell count

Media + cytokine change





Réactivité restreinte aux antigènes des virus ciblés

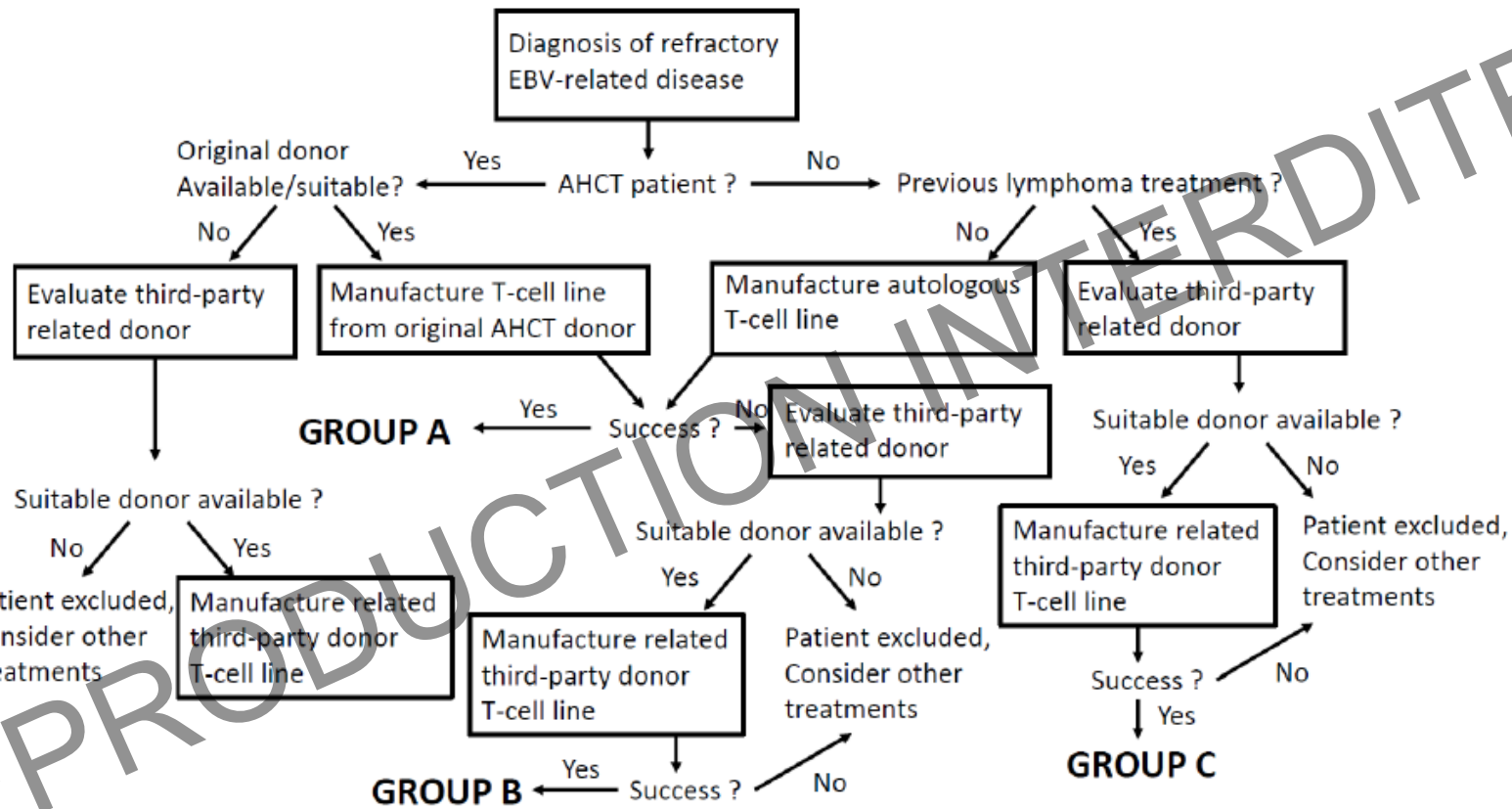
Aucun effet secondaire à ce jour (10 patients)

Possibilité de multiplexer – plusieurs virus à la fois

Papadopoulou et al. Sci Transl med 2014

Vasileilou et al. Haematologica 2019

Ne fonctionne que pour des répertoires T mémoires et en santé



EBV – Epstein-Barr virus

AHCT – Allogeneic hematopoietic cell transplantation

# Traitement de PTLD réfractaires par immunothérapie adoptive

63F

Greffée du foie (R-EBV-, D-EBV+) sous Advagraft

PTLD réfractaire à 6 cycles de R-CHOP

Infusion de cellules d'un tier (frère haploidentique, EBV+)

2 infusions à 2 mois d'intervalle.

Pré-infusion



Post-infusion



# Nouveaux défis

Stimulation de répertoires naifs

Étendre vers d'autres indications

Améliorer les produits cellulaires T

Possible – protocole long,  
stimulations multiples

Janelle et al J Trans med 2015

Boudreau et al. Transfusion 2019

BK virus – thérapie autologue  
pour prévenir et traiter la  
néphropathie au polyomavirus

Lamarche et al. Transplantation 2017

Biologie fondamentale de la  
réponse du lymphocyte T  
(différenciation et destins  
cellulaires)

Modifications génétiques



Société  
Québécoise de  
Transplantation

REPRODUCTION INTERDITE



# Clinical-Scale Rapid Autologous BK Virus-Specific T Cell Line Generation From Kidney Transplant Recipients With Active Viremia for Adoptive Immunotherapy

Caroline Lamarche, MD,<sup>1,2</sup> Julie Orio, MSc,<sup>1</sup> Victoria Georges-Tobar,<sup>1</sup> Thomas Pincez, MD, MSc,<sup>1</sup> Mathieu Goupil, PhD,<sup>1</sup> Amina Dahmani, MSc,<sup>1</sup> Cedric Carli, PhD,<sup>1</sup> Ann Brasey, PhD,<sup>1</sup> Lambert Busque, MD,<sup>1,3</sup> and Jean-Sébastien Delisle, MD, PhD<sup>1,3</sup>

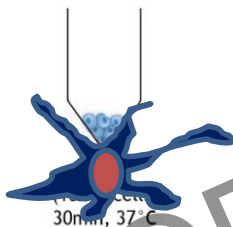
Pour la première fois – établir un protocole pour générer des lignées BK-spécifiques chez des patients greffés du rein à risque ou souffrant de PVAN

Caractérisation des lignées produites

Overlapping peptide pools

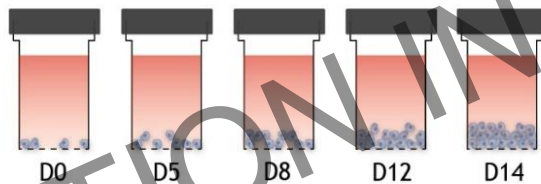


viral peptide pool



Monocyte-derived dendritic cells

T-CELL CULTURE MEDIA +IL-7 AND IL-4



Media + cytokine change Cell count

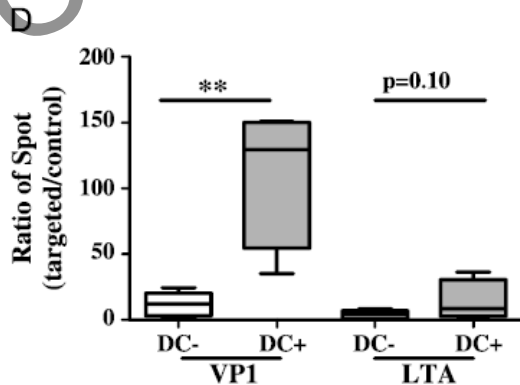
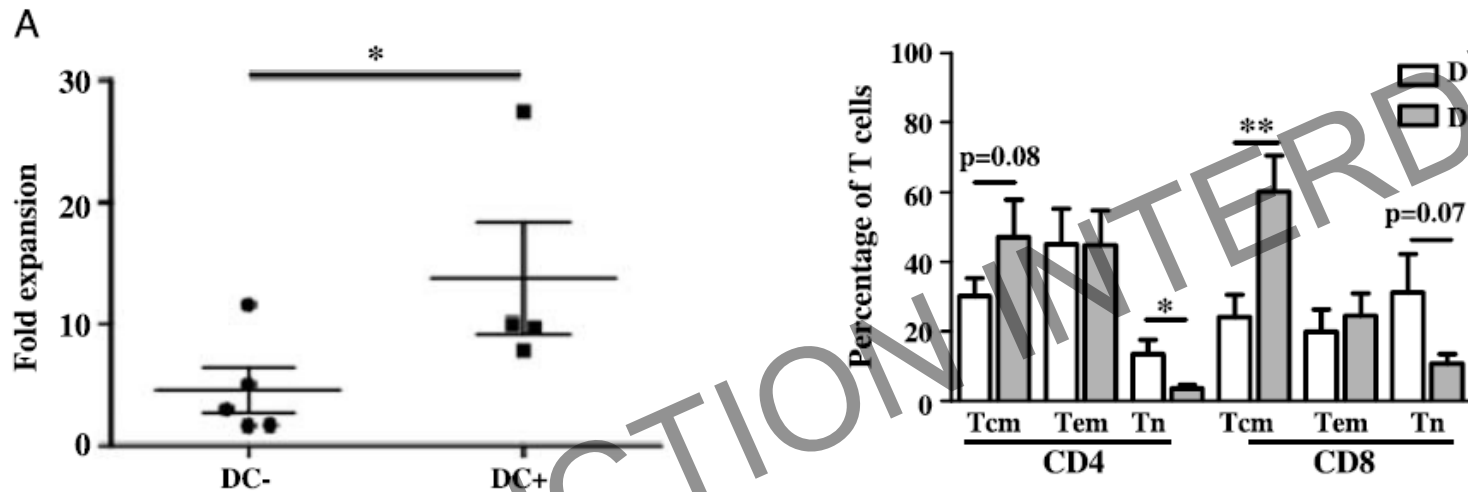
Media + cytokine change

Répertoire ?  
diffonctionnel

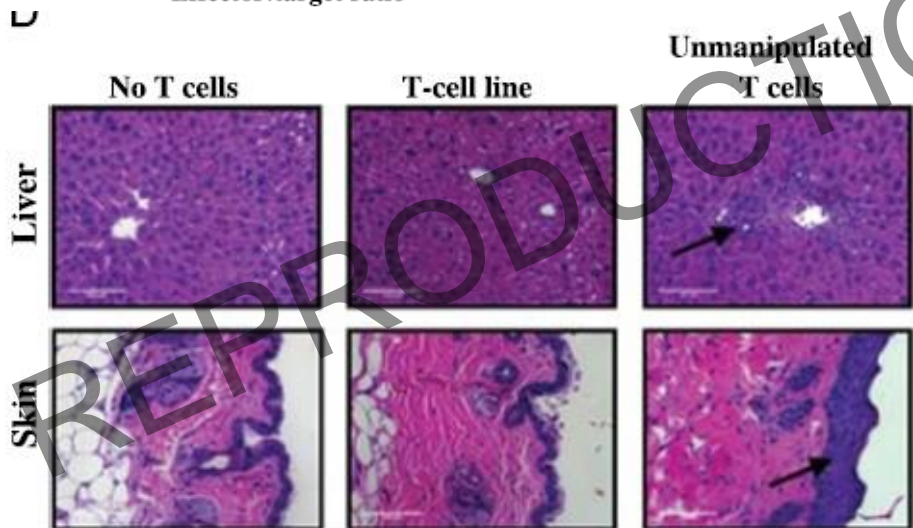
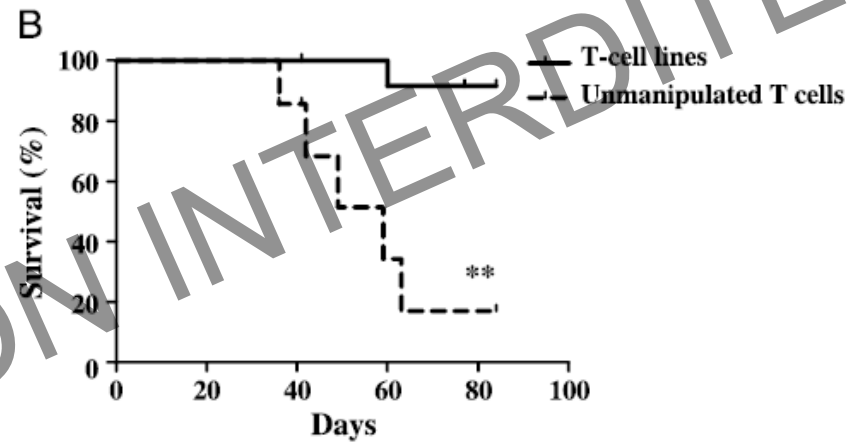
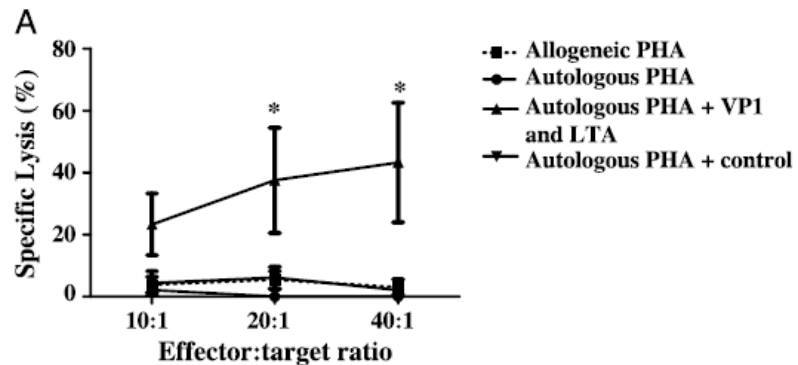
Échec d'expansion  
Réactivité spécifique  
limitée

REPRODUCTION INTERDITE

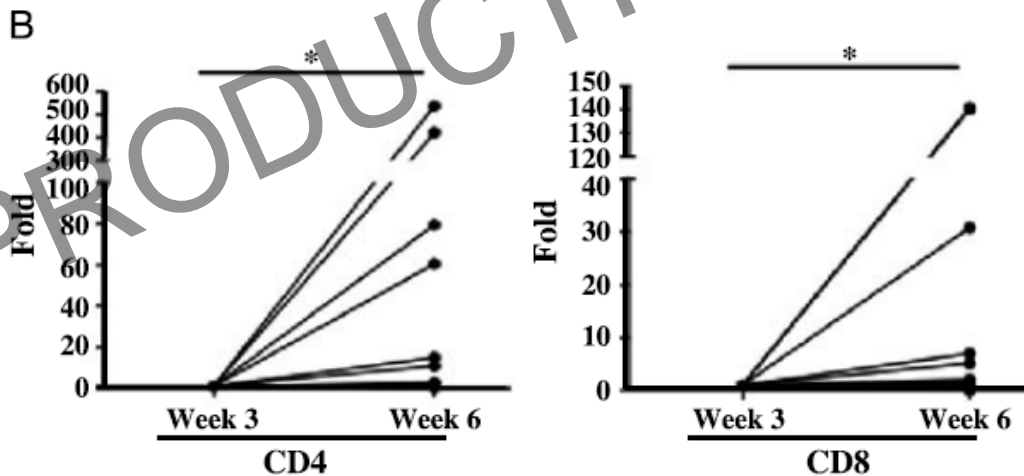
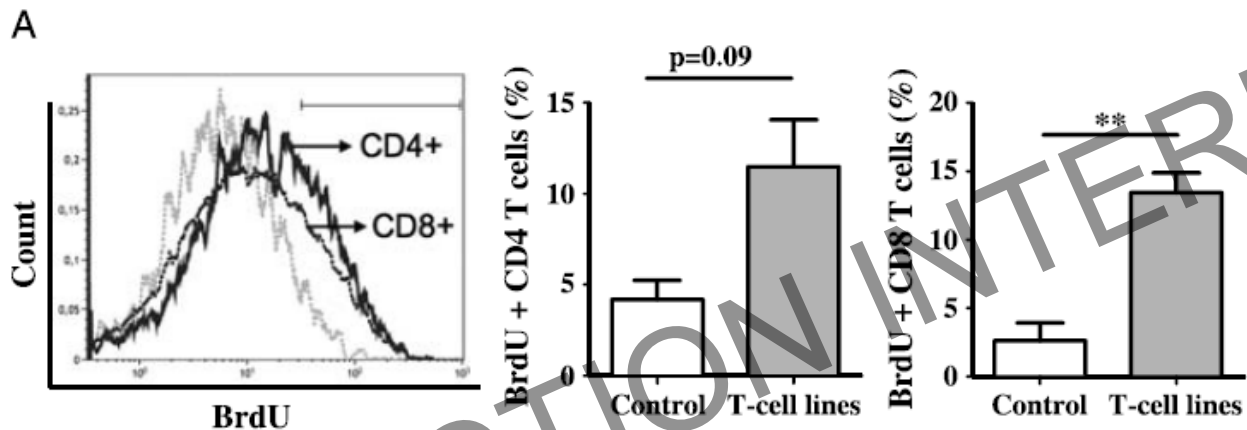
# Expansion, differentiation et réactivité améliorée suite à une stimulation DC



# Cytotoxicité BK-spécifique et absence de xenoreactivité



# Expansion et persistance des cellules transférées chez les souris

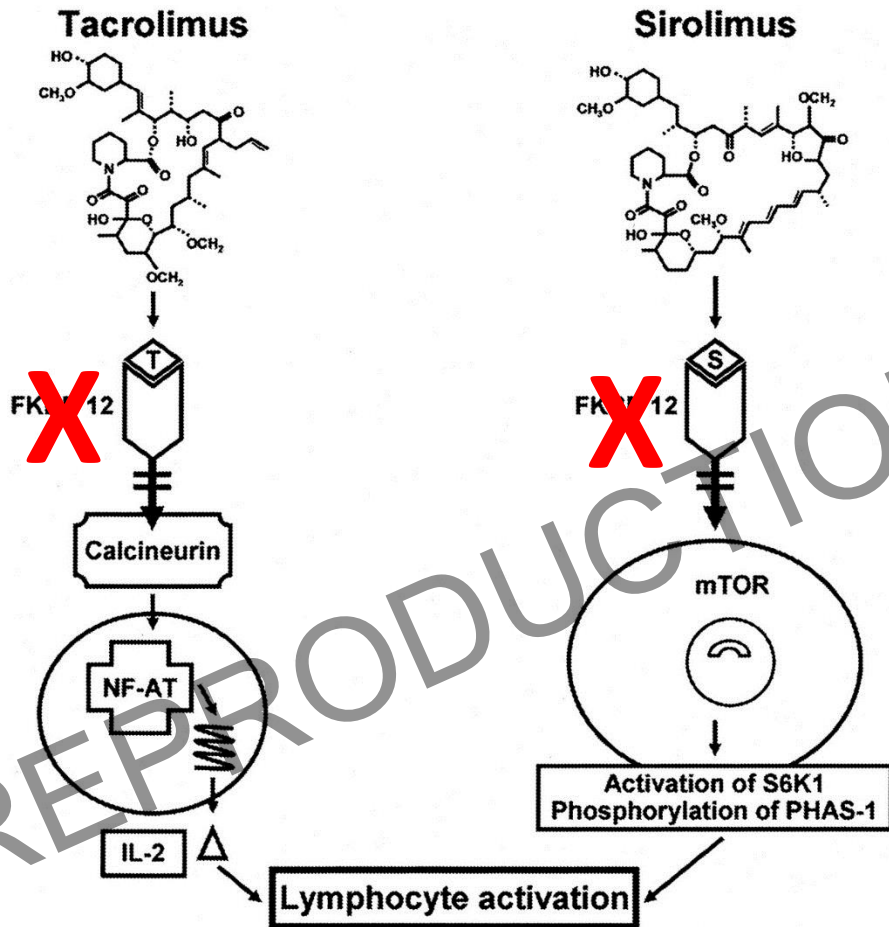


## Et maintenant ?

Préparer une étude de phase clinique pour la prévention et le traitement de la PVAN chez les greffés rénaux

Préparer les prochaines générations d'immunothérapies adoptives  
L'exemple des thérapies modifiées génétiquement

REPRODUCTION INTERDITE



Pouvons-nous rendre les cellules virus-spécifiques insensibles à l'immunosuppression ?

Préserver l'organe et établir une immunosurveillance anti-virale persistante ?

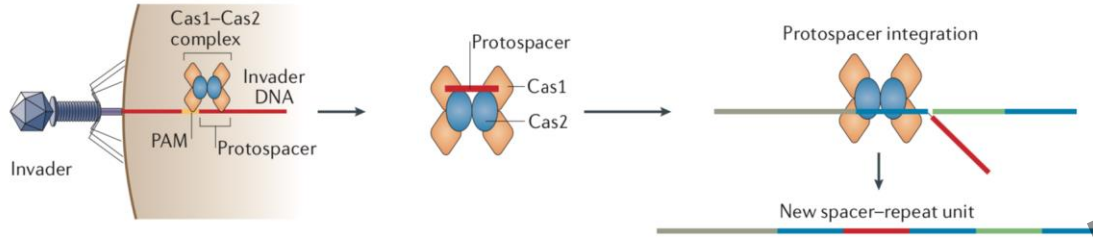
Preuve de concept que la suppression de FKBP12 n'affecte pas les lymphocytes T négativement

De Angelis, blood 2009 (shRNA)

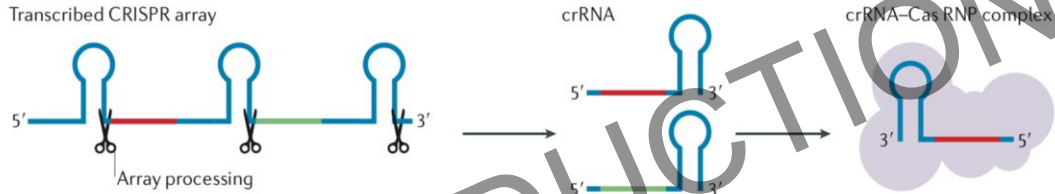
Approche via édition CRISPR/Cas9

# Le système CRISRP/Cas9

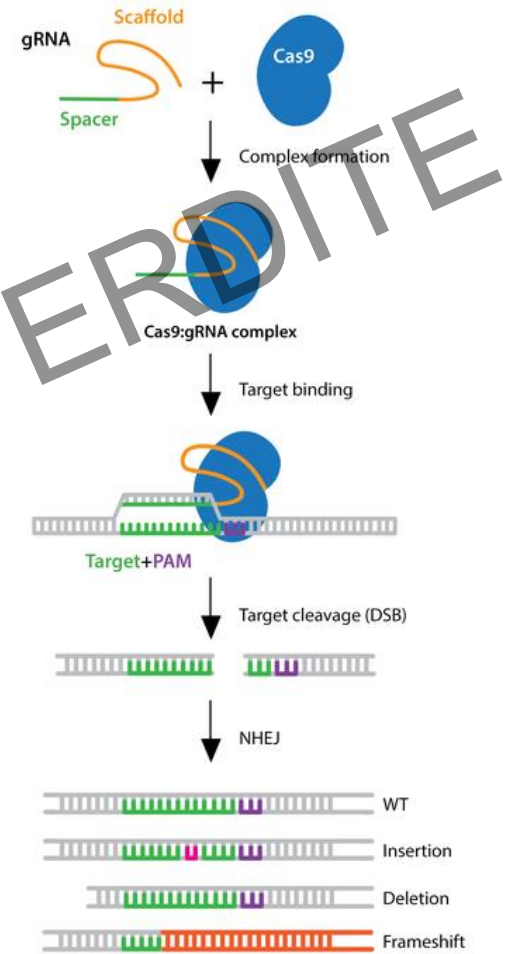
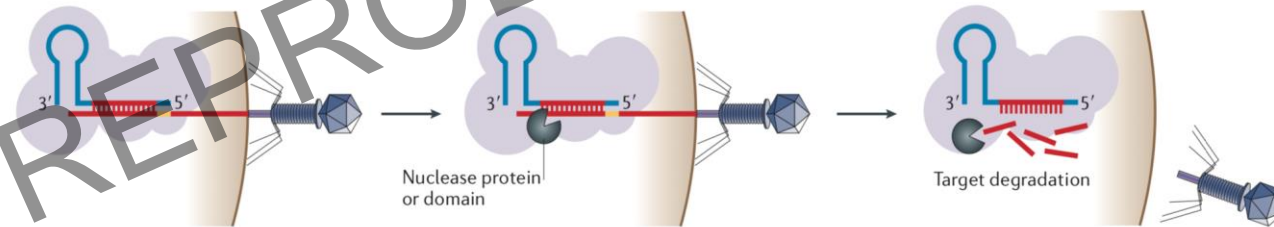
## b Adaptation



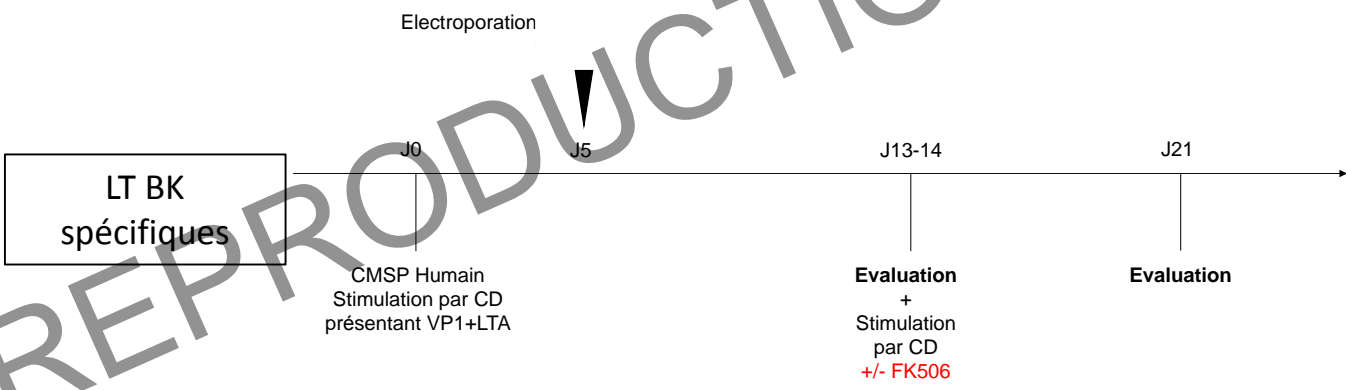
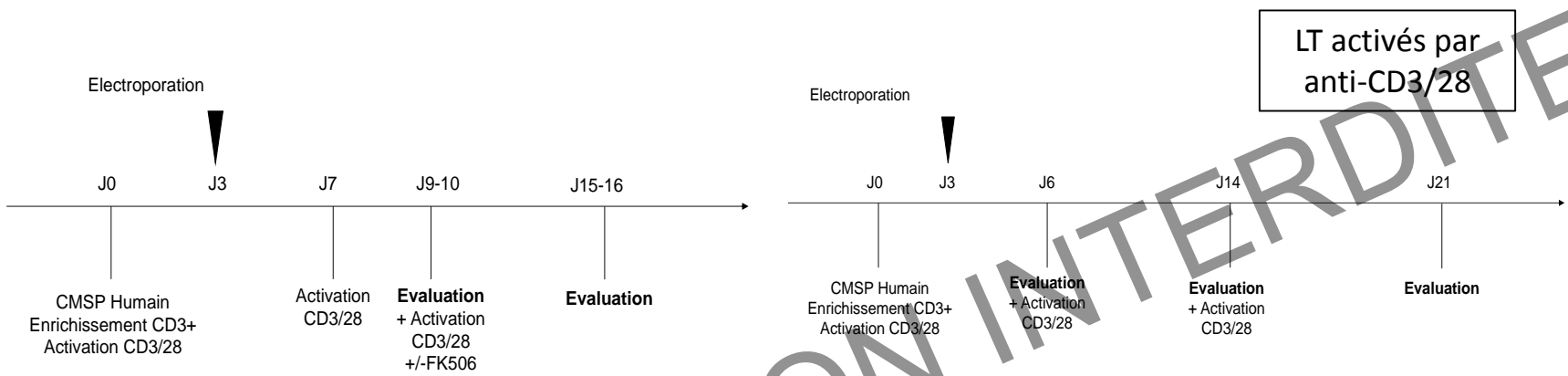
## c Expression and maturation



## d Interference



REPRODUCTION INTERDITE



# Édition génétique précise

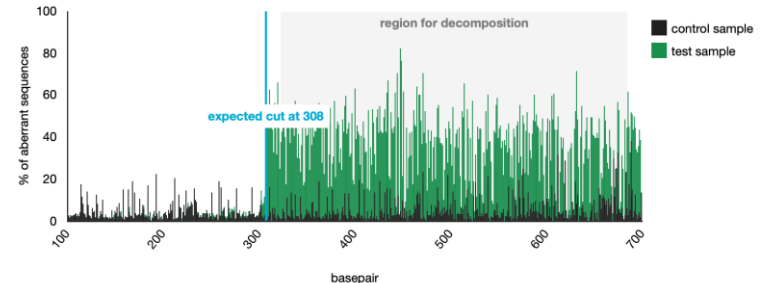
> LT CD3/28 J9 Cas9

CCTCCAAGTCCTGCACAAGGAGGTGGTGTATGCCTGGGCAGCTGCAAAGTCACTGGAAAGTCAATACCATCCTGGCCAAG  
GAACACCTAGGTA AACAGCTCTTTTTCTTACAGAGACAGTTGGGGCATGTGTCCAGCTGAGTCTGTCTTCCTTGTTCTTTT  
CACAGATGAGTGTGGGTCAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATC  
ATCCCACCACA **TGCCACTCTCGTCTTCGATGTGG** AGCTTCTAAAAGTGAATGACAGGAATGGCCTCCTCCCTTAGCTCC  
CTGTTCTTGGGTAAGGAAATGGAATACTGAAGGGCCCTTCACTGCCTTTGCTCCTCCCATGTTATGCCAGCGTTTGATG  
GGTAGCAGAGAGAACAAAAACACCACAAGGCTATTTTTCCCCCTGCATTCTTTCTGTATTGAGTATCCTTTCAGTGTATT  
AGTGTATGCTTTGAATGTAAAAATTGGTCACCCTAAGGAAAGGAATTGGCATGTGTATGTTCCCAGTTCAACTCATGGAGA  
TGGCAGCTGTTTAAATGTTTTCTATGTAGTTTATAAATTAAGAACTGAATTGAGGACTATGGAATGTANGCCAAATTTGTAG  
TGCCAACATTTTAGTTCTTTGGAAATAAGACTCTTAATGAATGACTTTGTTCTACCCTGTGTTTCTAGAANCTAGAGA

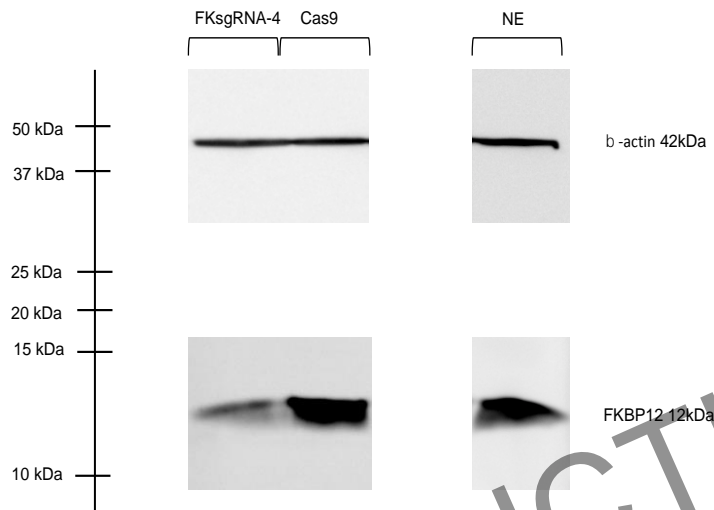
>LT CD3/28 J9 FKsgRNA-4

CCTCCNAGTCCTGCACAAGGAGGTGGTGTATGCCTGGGCAGCTGCAAAGTCACTGGAAAGTCAATACCATCCTGGCCAAG  
GAACACCTAGGTA AACAGCTCTTTTTCTTACAGAGACAGTTGGGGCATGTGTCCAGCTGAGTCTGTCTTCCTTGTTCTTTT  
CACAGATGAGTGTGGGTCAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATC  
ATCCCACCACA **TGCCACTCTCGTCTTCN** **ANNNNN** **AGNTTCN** **AAAANN** **GGAATGACNN** **GAATGGCCN** **CCTCCCN** **TAGCTCC**  
CTGTTCTTGG **NN** **AAGGAAAN** **GN** **AACTGAAN** **GGNCCN** **TCCCTGCCTTTGCTCCTCCCATGTT** **NNNNCN** **ANNGN** **TAGATG**  
**G** **NNAACAAAN** **NAN** **AAACAAAAACACC** **NC** **NNGGNT** **TATTTTCCCCCTGCN** **TTCTTTCTGTATTGAGTATCCN** **TTCCNN** **TGTTATT**  
**AN** **TGTAN** **GC** **TTTGAAN** **GNN** **AAAANT** **GGN** **CACCCTAAN** **GAAAGGAATT** **GCN** **TGTGN** **ATGTTCCC** **NNNN** **CNN** **CTCN** **TGGAN**  
**ANN** **GN** **NN** **CTGTTTAAATGTTTTCTAT** **NN** **ANN** **TAN** **AAAT** **NNN** **ANN** **TGAN** **TTGAGGAC** **N** **ANGGAAATGTAN** **GN** **CN** **AA** **TTG**  
**T** **NN** **GN** **C** **N** **ACATTTTAN** **NNNN** **TTG** **AAATA** **NNNN** **CTTAN** **TGN** **ATGACGT** **NG** **TTCTACC** **NN** **GTG** **NNNNNN** **ANN** **CTANAG**

A



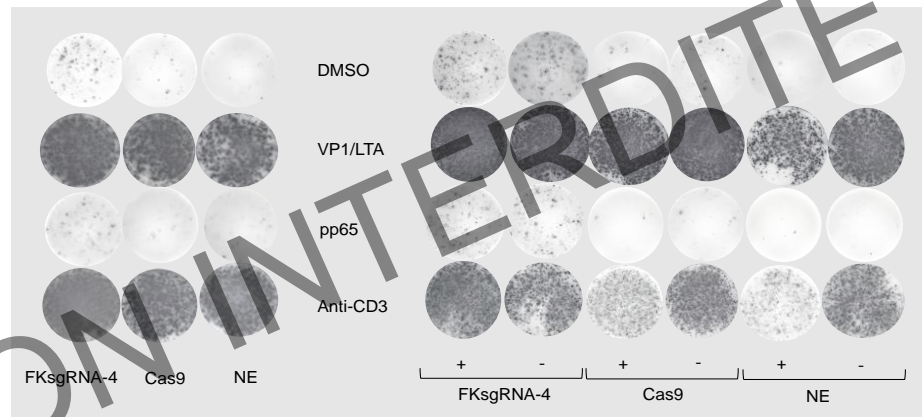
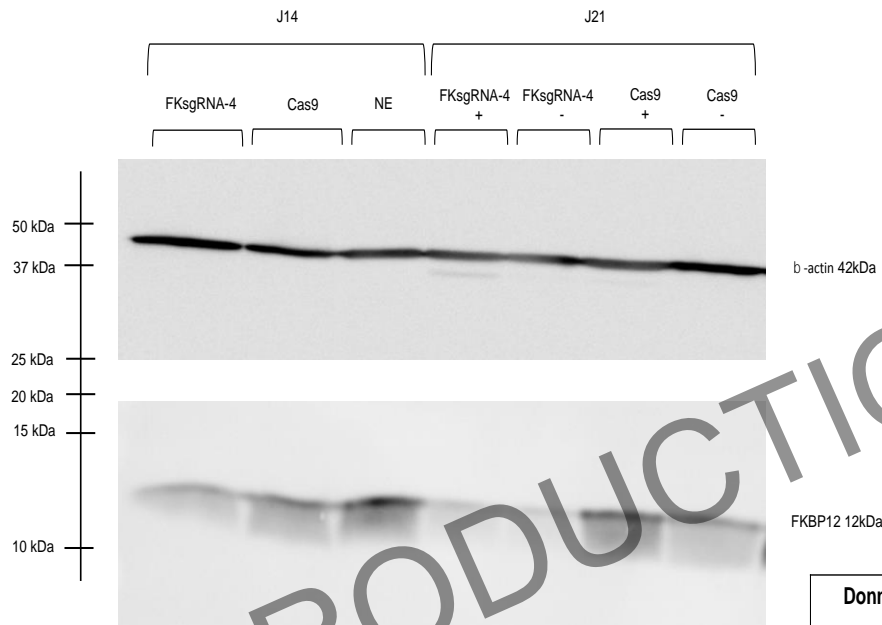
# Édition suite à une activation par anti-CD3/CD28



FKsgRNA4 + FK506	FKsgRNA4 - FK506	Cas9 + FK506	Cas9 - FK506	NE + FK506	NE - FK506
2,1	2,5	0,8	2,7	0,76	3
2,8	3,5	0,9	2,8	0,89	2,9

Results expressed  
as T-cell  
concentration  
 $\times 10^6/\text{ml}$

# Lignées BK-reactive FKBP12 déficientes



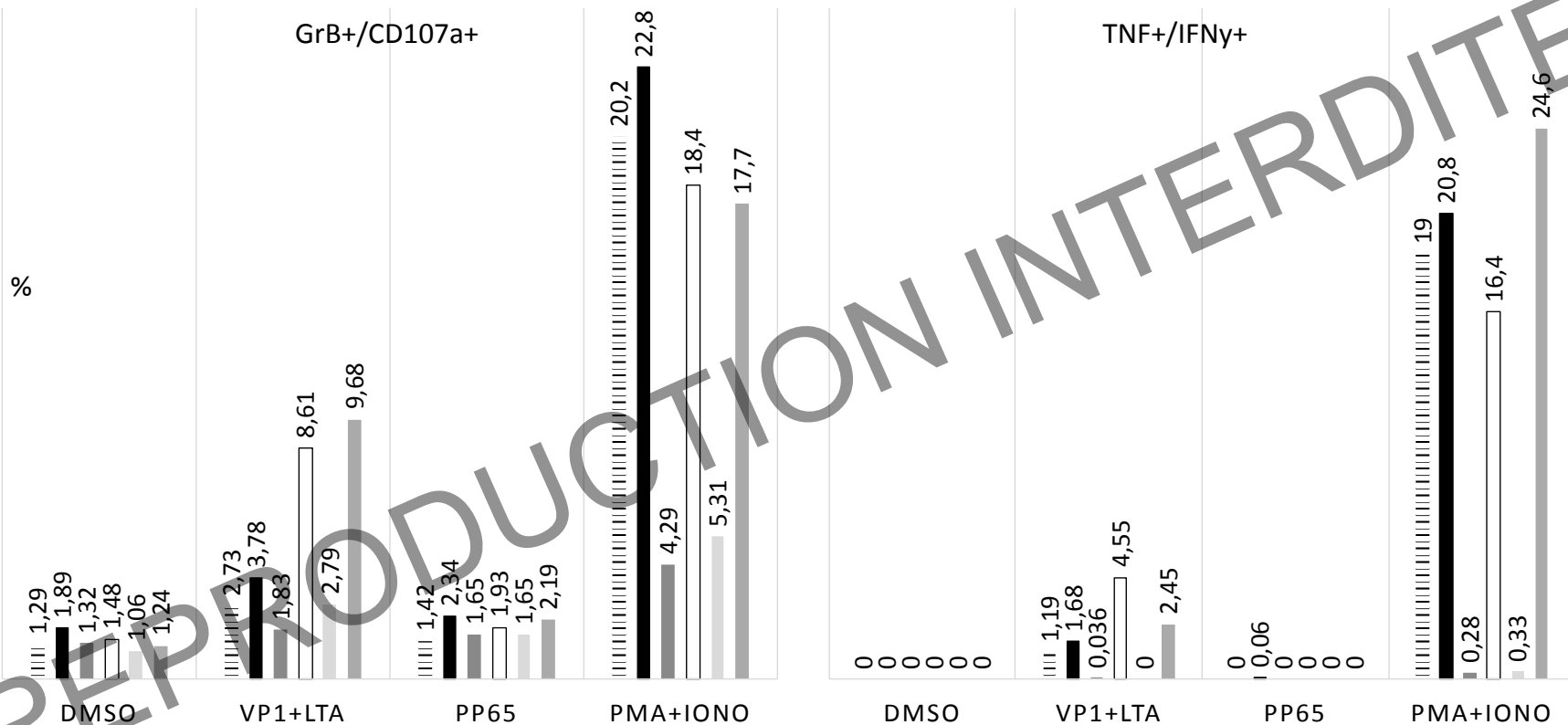
Donneur	FKsgRNA-4 + FK506	FKsgRNA-4 - FK506	Cas9 + FK506	Cas9 - FK506	NE + FK506	NE - FK506
D3	4,1	4,9	4,8	6,6	6,7	6,4
D4	1,9	1,5	5	9,8	1,8	6,5



REPRODUCTION INTERDITE

≡ FKsgRNA-4 + ■ FKsgRNA-4 - ■ Cas9 + □ Cas9 - ■ NE + ■ NE-

≡ FKsgRNA-4 + ■ FKsgRNA-4 - ■ Cas9 + □ Cas9 - ■ NE + ■ NE-



REPRODUCTION INTERDITE

## Conclusions

L'immunothérapie adoptive anti-virale s'est révélée efficace dans de nombreuses situations (parfois désespérées)

La place de l'immunothérapie adoptive en greffe est encore à faire

*Culture médicale, logistique, production cellulaire*

Plateforme modulable (modifications génétiques, protocoles de culture)

REPRODUCTION INTERDITE

**Merci !**

**DES QUESTIONS?**

---

REPRODUCTION INTERDITE