

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par Esther HAZANE LEROYER

Le 11/04/2023

**Analyse de la sécurité et de l'efficacité du transfert adoptif de lymphocytes T-spécifiques antiviraux chez des patients ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, présentant une infection virale à Adénovirus, Cytomégalovirus ou Epstein-Barr virus, résistante à un traitement antiviral standard.**

Membres du jury :

Président : M. le Professeur Pierre FEUGIER

Juge : M. le Professeur Jean-Hugues DALLE

Juge et co-directrice de thèse : Mme le Professeur Danièle BENSOUSSAN

Juge et Directrice de thèse : Mme le Docteur Maud D'AVENI-PINEY

Juge : Mme le Docteur Nadine PETITPAIN

**Présidente de l'Université de Lorraine :**  
**Madame Hélène BOULANGER**

**Doyen de la Faculté de Médecine**  
**Professeur Marc BRAUN**

**Vice-doyenne**  
Pr Louise TYVAERT

**Assesseurs :**

- *Premier cycle* : Pr Thomas SCHWITZER et Dr Nicolas GAMBIER
- *Deuxième cycle* : Pr Antoine KIMMOUN
- *Troisième cycle hors MG* : Pr Marie-Reine LOSSER
- *Troisième cycle MG* : Pr Paolo DI PATRIZIO
- *Finances* : Prs Eliane ALBUISSON et Louise TYVAERT
- *Vie hospitalo-universitaire* : Pr Stéphane ZUILY
- *Relations avec la Grande Région* : Pr Thomas FUCHS-BUDER
- *Relations Internationales* : Pr Jacques HUBERT
- *Valorisation* : Pr Pascal ESCHWEGE
- *Interface avec les métiers de la santé* : Pr Céline HUSELSTEIN
- *Docimologie* : Pr Jacques JONAS
- *ECOS* : Pr Patrice GALLET, Dr Eva FEIGERLOVA
- *Service sanitaire* : Pr Nelly AGRINIER
- *Lecture critique d'articles* : Drs Jonathan EPSTEIN et Aurélie BANNAY
- *Interface HVL & Réseau Nasce* : Prs Nicla SETTEMBRE, Fabienne ROUYER-LIGIER et Pablo MAUREIRA
- *Etudiant* : Mehdi BELKHITER

**Chargé de mission**

- *PASS Médecine* : Dr Nicolas GAMBIER

**Présidente du Conseil Pédagogique** : Pr Louise TYVAERT  
**Président du Conseil Scientifique** : Pr Abderrahim OUSSALAH

=====  
**DOYENS HONORAIRES**

Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====  
**PROFESSEURS HONORAIRES**

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Marc-André BIGARD  
Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Louis BOUTROY - Serge BRACARD  
Laurent BRESLER - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - François CHERRIER  
Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE - Gilles DAUTEL - Jean-Pierre DESCHAMPS - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE  
Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Pierre GAUCHER - Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD  
Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - Philippe HARTEMANN - Dominique HESTIN  
Bruno HOEN - Gérard HUBERT - Claude HURIET - Jean-Pierre KAHN - Gilles KARCHER - Michèle KESSLER - François KOHLER  
Pierre LANDES - Pierre LASCOMBES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE  
Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Bruno LEHEUP - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - François MARCHAL  
Jean-Claude MARCHAL - Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Thierry MAY - Michel MERLE - Daniel MOLÉ - Pierre MONIN  
Pierre NABET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Francis PENIN - Claude PERRIN - François PLENAT - Jacques POUREL  
Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT  
Jean-Luc SCHMUTZ - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Jean-François STOLTZ  
Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET  
Jean-Pierre VILLEMOT - Denis ZMIROU - Faïez ZANNAD

=====  
**PROFESSEURS ÉMÉRITES**

Serge BRACARD - Laurent BRESLER - Serge BRIANÇON - Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE - Gilbert FAURE -  
Bruno HOEN - Jean-Pierre KAHN - Gilles KARCHER - Michèle KESSLER - Alain LE FAOU - Bruno LEHEUP - Thierry MAY - Patrick  
NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Michel SCHMITT - Jean-Luc SCHMUTZ - Faïez ZANNAD

=====

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

### 42<sup>e</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Anatomie

Professeur Marc BRAUN - Professeure Manuela PEREZ

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Histologie, embryologie et cytogénétique

Professeur Christo CHRISTOV

#### 3<sup>e</sup> sous-section : Anatomie et cytologie pathologiques

Professeur Guillaume GAUCHOTTE – Professeur Hervé SARTELET

### 43<sup>e</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Biophysique et médecine nucléaire

Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER - Professeur Antoine VERGER

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Radiologie et imagerie médicale

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeure Valérie CROISÉ - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Benjamin GORY - Professeur Damien MANDRY - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

### 44<sup>e</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Biochimie et biologie moléculaire

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur David MEYRE - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER - Professeur Abderrahim OUSSALAH

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Physiologie

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Mathias POUSSEL - Professeur Jacques JONAS

#### 3<sup>e</sup> sous-section : Biologie cellulaire

Professeure Véronique DECOT-MAILLERET

#### 4<sup>e</sup> sous-section : Nutrition

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

### 45<sup>e</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière

Professeur Alain LOZNIIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Parasitologie et Mycologie

Professeure Marie MACHOUART

#### 3<sup>e</sup> sous-section : Maladies infectieuses ; maladies tropicales

Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

### 46<sup>e</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Épidémiologie, économie de la santé et prévention

Professeure Nelly AGRINIER - Professeur Francis GUILLEMIN - Professeur Cédric BAUMANN

#### 4<sup>e</sup> sous-section : Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

### 47<sup>e</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Hématologie ; transfusion

Professeur Pierre FEUGIER – Professeur Thomas LECOMPTE - Professeur Julien BROSEUS

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Cancérologie ; radiothérapie

Professeur Thierry CONROY - Professeur Frédéric MARCHAL - Professeur Didier PEIFFERT

#### 3<sup>e</sup> sous-section : Immunologie

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

#### 4<sup>e</sup> sous-section : Génétique

Professeur Philippe JONVEAUX

### 48<sup>e</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER  
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Philippe GUERCI

#### 2<sup>e</sup> sous-section : Médecine intensive-réanimation

Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY - Professeur Antoine KIMMOUN

#### 3<sup>e</sup> sous-section : Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

#### 4<sup>e</sup> sous-section : Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie

Professeur Nicolas GIRERD

#### 5<sup>e</sup> sous-section : Médecine d'urgence

Professeur Tahar CHOUHED

#### **49<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Neurologie**

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Sébastien RICHARD - Professeur Luc TAILLANDIER  
Professeure Louise TYVAERT

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Neurochirurgie**

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

##### **3<sup>e</sup> sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)**

Professeur Vincent LAPREVOTE - Professeur Raymund SCHWAN - Professeur Thomas SCHWITZER -  
Professeure Fabienne ROUYER-LIGIER

##### **4<sup>e</sup> sous-section : Pédiopsychiatrie ; addictologie**

Professeur Bernard KABUTH

##### **5<sup>e</sup> sous-section : Médecine physique et de réadaptation**

Professeur Jean PAYSANT

#### **50<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Rhumatologie**

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie orthopédique et traumatologique**

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Dermato-vénéréologie**

Professeure Anne-Claire BURSZTEJN

##### **4<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie**

Professeur François DAP - Professeur Etienne SIMON

#### **51<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Pneumologie ; addictologie**

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Cardiologie**

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET – Professeur Olivier HUTTIN  
Professeur Batric POPOVIC - Professeur Nicolas SADOUL

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie thoracique et cardiovasculaire**

Professeur Juan-Pablo MAUREIRA - Professeur Stéphane RENAUD

##### **4<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire**

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY - Professeure Nicla SETTEMBRE

#### **52<sup>e</sup> Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie**

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie viscérale et digestive**

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeure Adeline GERMAIN

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Néphrologie**

Professeur Luc FRIMAT

##### **4<sup>e</sup> sous-section : Urologie**

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

#### **53<sup>e</sup> Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie**

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY  
Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Médecine générale**

Professeur Jean-Marc BOIVIN - Professeur Paolo DI PATRIZIO

#### **54<sup>e</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Pédiatrie**

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET -  
Professeur Cyril SCHWEITZER

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie infantile**

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale**

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

##### **4<sup>e</sup> sous-section : Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale**

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

#### **55<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**

##### **1<sup>re</sup> sous-section : Oto-rhino-laryngologie**

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER - Professeure Cécile RUMEAU -  
Professeur Patrice GALLET

##### **2<sup>e</sup> sous-section : Ophtalmologie**

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Jean-Baptiste CONART

##### **3<sup>e</sup> sous-section : Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie**

Professeure Muriel BRIX

=====

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

### 61<sup>e</sup> Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

### 64<sup>e</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

### 65<sup>e</sup> Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

### 66<sup>e</sup> Section : PHYSIOLOGIE

Professeur Nguyen TRAN

=====

## PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

### 53<sup>e</sup> Section, 3<sup>e</sup> sous-section : *Médecine générale*

Professeure associée Sophie SIEGRIST - Professeur associé Olivier BOUCHY

=====

## MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

### 42<sup>e</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : *Anatomie*

Docteur Bruno GRIGNON

### 44<sup>e</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

#### 1<sup>re</sup> sous-section : *Biochimie et biologie moléculaire*

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN –  
Docteure Catherine MALAPLATE - Docteur Marc MERTEN

#### 2<sup>e</sup> sous-section : *Physiologie*

Docteure Iulia-Cristina IOAN

### 45<sup>e</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : *Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Héléne JEULIN - Docteure Véronique VENARD

#### 2<sup>e</sup> sous-section : *Parasitologie et mycologie*

Docteure Anne DEBOURGOGNE

### 46<sup>e</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

#### 1<sup>re</sup> sous-section : *Epidémiologie, économie de la santé et prévention*

Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Arnaud FLORENTIN - Docteur Jonathan EPSTEIN – Docteur Abdou OMOROU

#### 2<sup>e</sup> sous-section *Médecine et Santé au Travail*

Docteure Isabelle THAON

#### 4<sup>e</sup> sous-section : *Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*

Docteure Aurélie BANNAY (stagiaire)

### 47<sup>e</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

#### 1<sup>re</sup> sous-section : *Hématologie ; transfusion*

Docteure Maud D'AVENI

#### 2<sup>e</sup> sous-section : *Cancérologie ; radiothérapie*

Docteure Lina BOLOTINE

#### 3<sup>e</sup> sous-section : *Immunologie*

Docteure Alice AARNINK

#### 4<sup>e</sup> sous-section : *Génétique*

Docteure Céline BONNET - Docteure Mathilde RENAUD

### 48<sup>e</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

#### 3<sup>e</sup> sous-section : *Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie*

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteur Julien SCALA-BERTOLA -

Docteure Élise PAPE (stagiaire)

### 49<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

#### 2<sup>e</sup> sous-section : *Neurochirurgie*

Docteur Fabien RECH

### 50<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

#### 4<sup>e</sup> sous-section : *Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

### 51<sup>e</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

#### 3<sup>e</sup> sous-section : *Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*

Docteur Fabrice VANHUYSE

**54<sup>e</sup> Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**1<sup>e</sup> sous-section : Pédiatrie**

Docteure Cécile POCHON – Docteur Amandine DIVARET-CHAUVEAU

**3<sup>e</sup> sous-section : Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale**

Docteur Charline BERTHOLD

**4<sup>e</sup> sous-section : Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; Gynécologie médicale**

Docteure Eva FEIGERLOVA

**5<sup>e</sup> sous-section : Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale**

Docteur Mikaël AGOPIANTZ

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES**

**5<sup>e</sup> Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES**

Monsieur Vincent LHUILLIER

**63<sup>e</sup> Section : GÉNIE ÉLECTRIQUE, ÉLECTRONIQUE, PHOTONIQUE ET SYSTÈMES**

Madame Pauline SOULET LEFEBVRE

**64<sup>e</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

**65<sup>e</sup> Section : BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Nathalie AUCHET – Madame Rümeyza BASCETIN - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ –

Monsieur Christophe NEMOS – Monsieur Simon TOUPANCE

**69<sup>e</sup> Section : NEUROSCIENCES**

Madame Sylvie MULTON

**90<sup>e</sup> Section : MAÏEUTIQUE**

Madame Gaëlle AMBROISE (stagiaire)

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE**

**53<sup>e</sup> Section, 3<sup>e</sup> sous-section : (Médecine générale)**

Docteur Antoine CANTON - Docteur Jean-Charles VAUTHIER

=====

**DOCTEURS HONORIS CAUSA**

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)  
*Brown University, Providence (U.S.A)*  
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)  
*Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)*  
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)  
*Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)*  
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)  
*Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)*

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)  
*Université d'Helsinki (FINLANDE)*  
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)  
*Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*  
Professeur Daniel G. BICHET (2001)  
*Université de Montréal (Canada)*  
Professeur Marc LEVENSTON (2005)  
*Institute of Technology, Atlanta (USA)*

Professeur Brian BURCHELL (2007)  
*Université de Dundee (Royaume-Uni)*  
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)  
*Université de Wuhan (CHINE)*  
Professeur David ALPERS (2011)  
*Université de Washington (U.S.A)*  
Professeur Martin EXNER (2012)  
*Université de Bonn (ALLEMAGNE)*

## **REMERCIEMENTS**

**A Notre Maître, Président du Jury,**

**Monsieur le Professeur Pierre FEUGIER, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de service du service d'Hématologie Adulte.**

Nous vous remercions de nous faire l'honneur de présider cette thèse. Nous vous remercions pour votre soutien dans nos projets professionnels, vos enseignements et votre bienveillance à notre égard. Puisse ce travail être l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre respect.

**A Madame le Professeur Danièle BENSOUSSAN, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef du service de l'Unité de Thérapie Cellulaire et Thérapeutique.**

Nous vous remercions de l'honneur que nous faites en acceptant de juger ce travail portant sur une thématique que vous nous avez permis de découvrir, avec beaucoup de sensibilité et de délicatesse. Nous vous remercions d'avoir accepté de partager votre immense expertise dans ce domaine et de nous avoir accordé la chance de participer à un projet de semblable envergure. Nous vous remercions également pour vos précieux enseignements, votre encadrement juste, ainsi que pour le soutien et l'implication sans failles qui furent les vôtres tout au long de ce travail, dont nous espérons qu'il sera le reflet de notre admiration et de notre profonde estime à votre endroit.



**A Monsieur le Professeur Jean-Hugues DALLE, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier en Onco-hématologie Pédiatrique à l'hôpital Robert Debré.**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail relevant d'un domaine dont vous êtes l'un des experts. La lecture de vos publications dans la littérature scientifique, ainsi que les corrections que vous avez bien voulu apporter à notre manuscrit, nous ont beaucoup appris et fait progresser. Nous vous remercions pour votre implication et votre aide tout au long de la collecte des données en de multiples lieux, et sommes honorée d'avoir pu bénéficier de vos lumières de scientifique et de clinicien tout au long de ce parcours de thèse.

**A Madame le Docteur Maud D'AVENI-PINEY, Maître de Conférence des Universités,  
Praticien Hospitalier d'Hématologie Adulte, Directrice de cette thèse.**

Nous vous remercions du grand honneur que vous nous faites en ayant accepté de diriger cette thèse. Aussi, tenons-nous à vous témoigner notre profonde gratitude de nous avoir permis de participer à ce travail scientifique : nous avons été honorée de pouvoir bénéficier de votre précieuse expertise théorique et clinique, de bénéficier également de votre encadrement constant qui nous a permis de gagner en rigueur, et de votre soutien indéfectible au cours de ce projet. Nous tenons à vous remercier tout particulièrement pour votre grande gentillesse comme pour votre grande bienveillance, votre disponibilité et vos encouragements généreux. Puisse ce travail refléter notre admiration et notre profond respect à votre égard.

**A Madame le Docteur Nadine PETITPAIN, Chef du service de Pharmacovigilance.**

Nous vous remercions de l'honneur que nous faites en acceptant de juger ce travail, ainsi que pour votre implication dans sa partie la plus ardue, toujours accompagnée d'une réflexion fine et juste. Nous vous remercions pour votre enthousiasme qui a su constamment nous encourager.

## SERMENT D'HIPPOCRATE

« Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les Hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

## TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS .....	14
I. INTRODUCTION .....	15
A. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques .....	15
B. Problématique des infections virales dans le contexte de l'allogreffe de CSH .....	17
1. L'adénovirus. ....	17
2. Le CMV. ....	18
3. L'EBV.....	19
C. Les lymphocytes T cytotoxiques anti-virus ou VST .....	20
II. PRESENTATION DE L'ARTICLE .....	29
III. ARTICLE.....	32
Abstract.....	34
Background.....	35
Materials and methods.....	36
Results .....	40
Discussion.....	45
Conclusions .....	49
Declarations.....	51
Acknowledgments .....	51
References .....	52
Tables .....	57
IV. LEGENDES des TABLEAUX et FIGURES .....	64
V. TABLEAUX et FIGURES .....	66
VI. DISCUSSION et PERSPECTIVES.....	74
VII. CONCLUSION .....	78
VIII. BIBLIOGRAPHIE .....	79

## LISTE DES ABREVIATIONS

AdV : adénovirus

ANSM: Agence Nationale de Sécurité du Médicament

CMV : cytomégalovirus

CSH : cellules souches hématopoïétiques

EBV : Epstein-Barr virus

GVH : maladie du greffon contre l'hôte

IFN- $\gamma$ : interféron gamma

MAC : *myeloablative conditioning regimen* = conditionnement myéloablatif

NMA : *non myeloblative conditioning regimen* = conditionnement non myéloablatif

PTLD : *post-transplant lymphoproliferative disorder* = lymphoprolifération B ou T post transplantation

RC : réponse complète

RIC : *reduced intensity contioning regimen* = conditionnement d'intensité réduite

RP : réponse partielle

TRM : toxicity related mortality

VST : *virus-specific T-cells* = lymphocytes T spécifiques d'un virus

## I. INTRODUCTION

### A. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

La greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (allogreffe de CSH) demeure le traitement de référence de certaines hémopathies malignes de mauvais pronostic et de rares hémopathies non malignes telles que l'aplasie médullaire, les hémoglobinopathies et certains déficits immunitaires primitifs ou autres maladies constitutionnelles. L'allogreffe consiste à remplacer le système hématopoïétique et immunitaire du patient receveur par celui d'un donneur sain. Ces cellules immunocompétentes permettent, dans les hémopathies non malignes ou les déficits immunitaires, de remplacer un tissu hématopoïétique défectueux par un tissu hématopoïétique sain. Dans l'indication des hémopathies malignes, l'allogreffe de CSH permet surtout le développement d'une réaction immunitaire anti-tumorale cellulaire ciblant potentiellement différents antigènes tumoraux et permettant l'instauration d'une mémoire immunologique et un contrôle à long terme de la maladie sous-jacente. Malheureusement, les antigènes reconnus par les cellules du donneur ne sont pas spécifiques des cellules tumorales et la réaction allogénique de la greffe peut conduire à une réaction du greffon contre l'hôte (GVH), responsable de morbidité et de mortalité. Cette procédure est lourde et la mortalité liée à la toxicité de la greffe (*toxicity related mortality*, TRM) a pendant longtemps été la première cause d'échec de l'allogreffe de CSH. Toutefois, l'avancée vers la diminution de la toxicité extra-hématologique des conditionnements, l'avènement de différentes plateformes de prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte (*graft versus host disease*, GVH) mais aussi l'avènement de nombreuses prophylaxies anti-infectieuses ont considérablement réduit la TRM durant les dix dernières années.

Par ailleurs, la cinétique de la reconstitution immunitaire post-allogreffe de CSH dépend de la chimiothérapie de conditionnement utilisée, du type de donneur, du type d'immunosuppression

post-transplantation utilisé, de la déplétion T éventuelle (*in vivo*, par sérum anti-lymphocytaire, alemtuzumab, ou cyclophosphamide ou *ex-vivo* par T-déplétion du greffon). Il existe en effet un déficit de l'immunité humorale et cellulaire persistant à la sortie d'aplasie : la récupération de l'immunité innée observe un délai de reconstitution d'environ un mois, au maximum (s'il s'agit d'une greffe réalisée avec du sang de cordon) mais la reconstitution de l'immunité adaptative est beaucoup plus lente et peut durer jusqu'à un an post-greffe, notamment pour les lymphocytes T CD4 (1). Brièvement, il existe deux contingents de lymphocytes T dans le greffon de CSH : les lymphocytes T matures et les précurseurs T naïfs. Les lymphocytes T matures sont détruits partiellement par la chimiothérapie de conditionnement puis par les différentes techniques de déplétion T *in vivo* en fonction du type de greffon. Ils circulent et s'expandent dans le sang périphérique mais possèdent un répertoire T réduit, donc une activité anti-infectieuse faible. Les précurseurs T naïfs, eux, vont migrer dans le thymus dont l'involution avec l'âge et les chimiothérapies de conditionnement augmentent le temps du processus d'éducation, mais permet la reconstitution d'un pool de lymphocytes T polyclonaux.

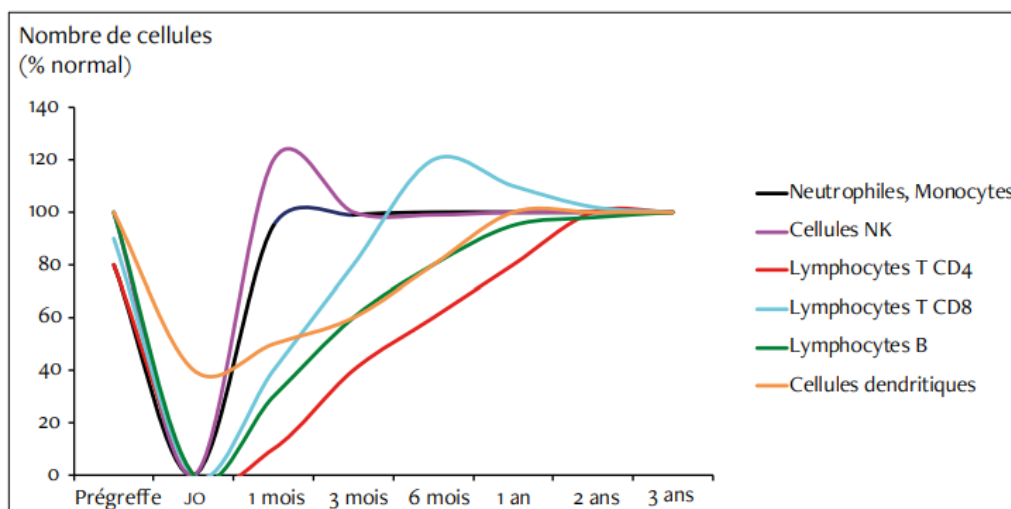


Figure 1: Reconstitution immuno-hématologique après allogreffe de CSH. Dans la période pré-greffe, la chimiothérapie de conditionnement est définie comme myéloablatrice, d'intensité réduite ou non myéloablatrice et produit une pancytopenie plus ou moins réversible en l'absence d'allogreffe de CSH. Elle permet la prise de greffe. La reconstitution de l'immunité innée survient plus rapidement que celle de l'immunité adaptative. Schéma tiré du "Handbook de greffe".



## B. Problématique des infections virales dans le contexte de l'allogreffe de CSH

A cause de cela, les infections opportunistes représentent toujours une cause non négligeable de mortalité avec une incidence cumulative de 0.25% dans les 100 premiers jours post-greffe à 0.5% dans l'année post-greffe (2) et une morbidité certaine. Les principales complications infectieuses virales sont dominées par cinq virus : l'adénovirus (AdV), le cytomégalovirus (CMV), l'Epstein-Barr virus (EBV), le BK virus et l'Human-Herpes-6 (HHV-6). Nous détaillerons les trois premiers (Tableau 1).

### 1. L'adénovirus.

L'adénovirus est un virus à ADN double brin, dont la primo-infection se fait généralement dans l'enfance, par voie respiratoire. Le virus peut persister ensuite dans les lymphocytes T localisés notamment dans la région oropharyngée (amygdales et végétations adénoïdes) ou dans le système digestif et ainsi, présenter une réactivation à la faveur d'une immunodépression persistante. La réactivation de l'adénovirus chez un patient ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH est plus fréquente chez l'enfant (32 %) que l'adulte (6 %) (3). La différence d'incidence du virus entre les populations adultes et pédiatriques allogreffées pourrait être expliquée par la recirculation du virus parmi les enfants, mais également par la persistance plus importante du virus dans l'enfance qu'à l'âge adulte, offrant une source de réactivation constante (4). Du fait de la déplétion en lymphocytes T CD4 et CD8, le risque de réactivation est majeur dans les 100 jours post-greffe (3). Les facteurs identifiés comme majorant le risque de réactivation comprennent l'origine du donneur (toutes autres que géno-identique), la lymphodéplétion T *ex vivo* et l'utilisation d'alemtuzumab (anti-CD52), l'âge du donneur (incidence moins élevée chez les adolescents jeunes adultes et chez les adultes) et la GVH aiguë sévère (5–7). Le seul facteur semblant diminuer le risque de réactivation est la séroposativité du donneur à l'AdV. L'attitude pré-emptive par administration de Cidofovir ou Brincidofovir est importante pour diminuer l'incidence d'une maladie disséminée (4,5). Celle-ci est estimée à 1-7 % avec une mortalité

élevée > 50 % (8). La symptomatologie est diverse : infection respiratoire sévère, hépatite, colite, cystite hémorragique, ou kérato-conjonctivite. Parmi les thérapeutiques anti-virales, les effets secondaires (insuffisance rénale aiguë, toxicité hématopoiétique entraînant des cytopénies, insuffisance hépatique aiguë...) sont très fréquents et limitent l'utilisation optimale de ces médicaments chez des patients fragiles (5). Le Brincidofovir, prodrogue du Cidofovir, présente cependant moins d'effets secondaires néphrotoxiques (9). D'autre part, en l'absence de reconstitution immunitaire anti-virale, le contrôle effectif du virus est parfois compliqué malgré l'administration de thérapie anti-virale optimale. Dans ce contexte, l'utilisation de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'un virus (*virus-specific T-cells*, VST) a été développée depuis les années 1990.

## 2. Le CMV.

Le CMV est un bêta herpès virus. L'infection à CMV était pendant longtemps une problématique majeure de l'allogreffe de CSH puisqu'elle affectait 30 à 50% des receveurs de CSH (10). L'infection à CMV était principalement observée au décours des 3-4 premiers mois post-greffe. Les thérapies anti-virales préventives pendant les premiers mois de la greffe avec notamment l'utilisation du letermovir ont drastiquement diminué l'incidence des réactivations/infections par le CMV. Le statut sérologique avant la greffe du couple donneur/receveur est le facteur de risque majeur de la réactivation CMV (11). Les autres facteurs affectant la reconstitution immunitaire post-greffe sont également importants : l'âge élevé du receveur (fonction thymique altérée), l'incompatibilité HLA (les greffes haplo-identiques), l'irradiation corporelle totale, le sérum antilymphocytaire et le type de greffon (sang de cordon placentaire). L'attitude prophylactique consiste à débiter un traitement par Letermovir chez les receveurs séropositifs. Il est à noter que le Letermovir a permis une diminution drastique du nombre d'infection à CMV, administré de manière systématique chez les receveurs séropositifs (12). L'attitude préemptive consiste, elle, à débiter un traitement dès la détection d'une virémie à

CMV, ce qui permet de diminuer le risque d'évolution vers une maladie à CMV. Elle repose sur la détection de la charge virale par méthode de PCR quantitative dont aucun seuil n'est reconnu mais dont la cinétique guide le début du traitement. Le traitement antiviral recommandé en première intention repose sur le recours au Ganciclovir ou au Foscavir (10), les deux traitements ayant montré la même efficacité sur la diminution de la charge virale et la survenue de maladies à CMV. Un test de résistance aux antiviraux est souhaitable dès qu'il est envisagé une deuxième ligne thérapeutique. Les principales formes de maladies à CMV chez le patient ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH sont majoritairement pulmonaires et digestives et parfois, cérébrales. La pneumopathie à CMV (10-30 %) présente une clinique peu spécifique, des images radiologiques associées à une virémie ou à une détection du CMV par PCR dans le lavage broncho-alvéolaire ou dans la biopsie pulmonaire. Les infections gastro-intestinales (2 %), souvent ulcérales, peuvent survenir tout le long du tractus digestif (oesophagite, gastrite, colite) et doivent être confirmées par endoscopie digestive avec analyse histologique de la présence d'inclusion de CMV dans les cellules infectées. L'affection du système nerveux central est observée tardivement dans l'allogreffe avec un tableau de déficit cognitif rapidement progressif et une atteinte des paires crâniennes. Le diagnostic repose sur l'imagerie et la détection du CMV par technique PCR dans le LCR. Les autres manifestations (cystite, pyélonéphrite, myocardite, pancréatite, rétinite à CMV) sont plus rares (10).

### 3. L'EBV.

Le virus Epstein Barr est un gamma herpes virus ubiquitaire, qui infecte les cellules épithéliales de l'oropharynx et investit les lymphocytes B. Chez l'immunocompétent, l'infection ou les réactivations sont contrôlées par les lymphocytes T CD4 et CD8. Chez l'immunodéprimé, et notamment chez le receveur de CSH, la multiplication des lymphocytes B peut aboutir à une lymphoprolifération B ou T appelée « *Post-Transplant Lympho-Proliferative Disorder* » (PTLD), dont la majorité survient dans l'année qui suit la greffe (13,14). La T-déplétion du

greffon *ex vivo* par manipulation du greffon ou *in vivo* par des thérapies telles que le sérum antilymphocytaire (SAL) ou l'alemtuzumab est le principal facteur de risque de PTLD (15). La survenue d'une GVH aiguë sévère, la disparité HLA entre le donneur et le receveur, la séropositivité du receveur avec un donneur séronégatif ainsi qu'une charge EBV initialement élevée sont également des facteurs de risque (16). L'incidence du PTLD augmente de 1,1 %, 3,6 % ou 8 % en présence d'1, 2 ou 3 facteurs de risque, respectivement (15). La prévention de la survenue d'un PTLD repose sur l'administration préemptive d'une immunothérapie anti-lymphocytaire B (anti-CD20), le Rituximab, lorsqu'une répllication EBV sanguine est objectivée (17).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de l'incidence et du traitement recommandé pour l'infection à AdV, CMV ou EBV.

Patients	Virémie	Maladie	Prophylaxie	Traitement pré-emptif	Taux de réponse†
<b>AdV</b>					
Enfants	23%	7%	Non	Cidofovir, Brincidofovir	60% (5,8)
Adultes	3%	1%			80% (9)
<b>CMV</b>					
Enfants	68%* (18)	5-10%	Letermovir	Ganciclovir/Valganciclovir,	70-80% (19,20)
Adultes			Efficacité : 60% (12)	Foscavir	
<b>EBV</b>					
Enfants	0,1-63%	1,2-11%	Non	Rituximab	70% (14)
Adultes					

Pour chaque infection, incidence dans les 6 mois post-allogreffe de CSH. † : défini en fonction de chaque infection – diminution de la charge virale pour l'AdV et le CMV et réponse clinique pour l'EBV.

\* Résultats datant de l'ère pré-Letermovir.

### C. Les lymphocytes T cytotoxiques anti-virus ou VST

Il s'agit d'une technique développée initialement par le Pr. Steven Riddell et son équipe en 1992, de manière prophylactique contre la réactivation du CMV chez des patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH. Dans cette publication, trois patients ont été traités par des doses croissantes de cellules T-CD8<sup>+</sup> spécifiques du CMV expandus *ex-vivo* à partir de

lymphocytes prélevés chez le donneur initial de la greffe. Aucun des patients n'a développé de réactivation ou d'infection à CMV et aucune toxicité n'avait été rapportée (21). Plus tard, en 1994, Papadopoulos *et al.* produisent des VST contre l'EBV, dérivés de cellules mononuclées périphériques provenant du donneur de la greffe, stimulées par des cellules de la lignée B autologue irradiées, elles-mêmes infectées par l'EBV chez des patients atteints d'une maladie à EBV (PTLD). Parmi les 5 patients traités, 3 obtiennent une réponse complète et 2 décèdent des complications pulmonaires de l'infection. Dans cette cohorte, 2 patients ont développé une GVH aiguë cutanée de grade II, résolutive après un traitement par corticoïdes (22). En 2006, Tobias Feuchtinger et son équipe, réussissent la réinjection de VST spécifiques de l'AdV, isolés de manière immunomagnétique, provenant du donneur de la greffe, sans expansion préalable, chez 9 patients présentant une réactivation/infection par l'AdV. Sur les 5 patients évaluables, 4 éliminent le virus, 1 patient décède de l'infection à AdV et 1 patient présente une recrudescence d'une GVH aiguë cutanée (23). Malgré les différentes techniques et leur évolution au fil des ans et depuis environ 25 ans, dans la littérature, le contrôle du virus est rapporté dans 70-75% des patients traités par VST. La survenue de GVH aiguë *de novo* concerne moins de 10% des patients et reste limitée à un grade I-II et on observe parfois la recrudescence d'une GVH aiguë antérieure répondant la plupart du temps à un traitement par corticoïdes, témoignant d'une grande spécificité des VST.

Désormais, la nécessité d'une mise à disposition rapide et efficace d'un traitement pour les infections précoces post-allogreffe de CSH a mené au développement de VST issues d'un donneur différent du donneur de la greffe. En effet, grâce à leur faible alloréactivité, le recours aux VST issues d'un donneur dit en « tierce partie » élargit les possibilités de traitement. Dans ce cas, les VST sont générées, soit par culture, afin de constituer une banque de VST ou par isolement immunomagnétique. Afin de s'affranchir du délai de production des VST et de garantir leur disponibilité quasi-immédiate (« *off-the-shelf* »), le regroupement en banque de

VST est développé depuis 2007. La figure 2 présente un récapitulatif des différentes techniques de production.

Les doses de VST injectées ne dépassent pas les recommandations émises par la SFGM-TC concernant les doses autorisées pour l'injection de DLI (*donor leucocyte infusion*) qui sont de  $1 \times 10^5$  CD3/kg dans le cadre d'une greffe géno-identique,  $5 \times 10^4$  CD3/kg pour une greffe phénoïdique 10/10 et  $1 \times 10^4$  CD3/kg pour une greffe phénoïdique avec une compatibilité HLA <10/10 et une greffe haplo-identique (24). Dans la littérature, les doses recommandées pour les VST ont été obtenues à partir d'étude d'escalade de doses et sont comprises entre  $1 \times 10^4$  cellules/kg et  $1 \times 10^6$  cellules/kg ou encore  $1 \times 10^7$  cellules/m<sup>2</sup> (25). Le tableau 2 présente les principales études réalisées à ce jour.

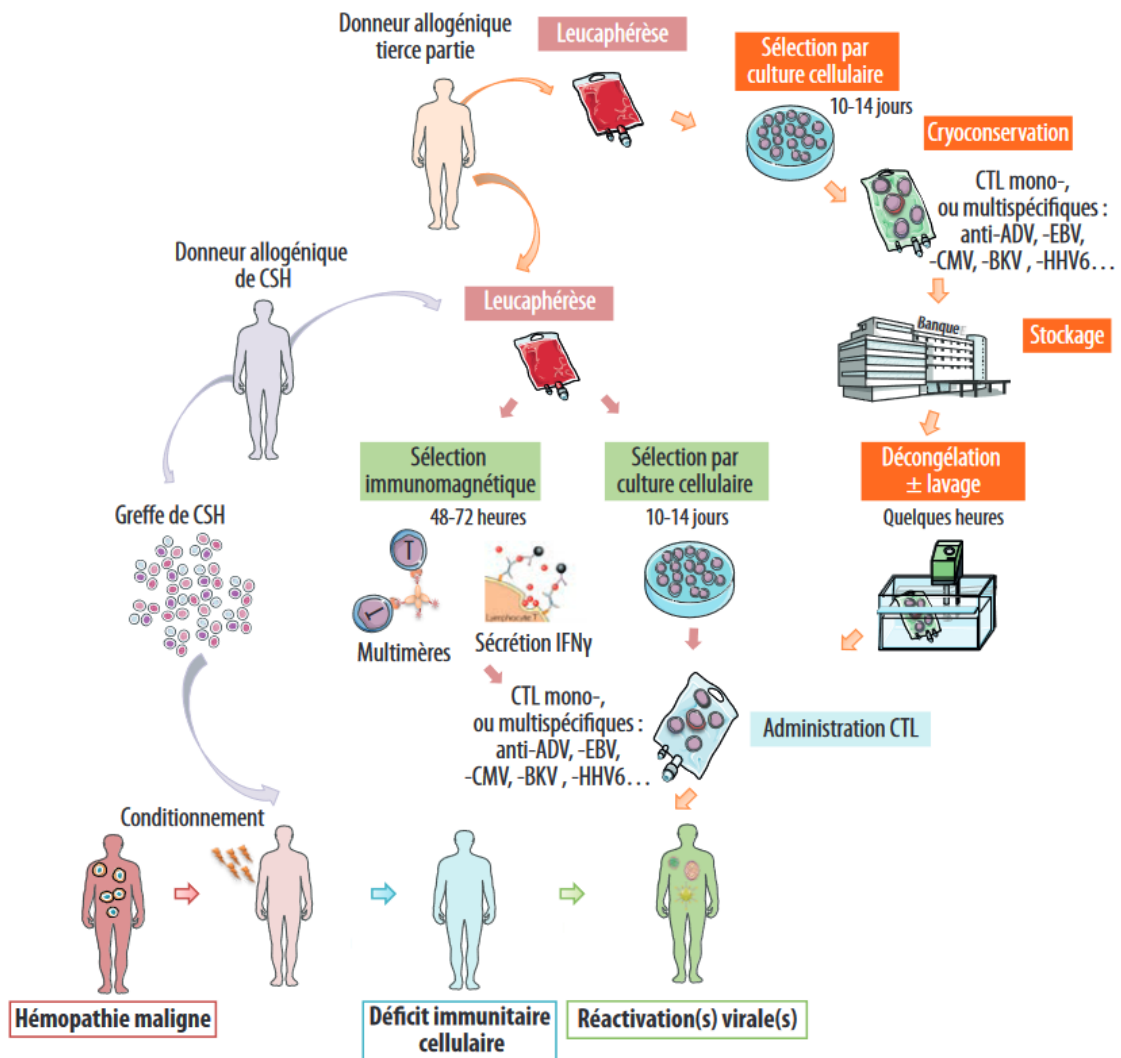


Figure 2 : Schéma récapitulatif des différentes méthodes de production des VST et de leur utilisation. (26).

Tableau 2 : Vue d'ensemble des publications concernant les études des VST depuis 1992.

Auteurs	Journal	Année de publication	Indication	Critère de jugement principal	Population	Origine du donneur	Dose injectée	Effets indésirables	Résultats
<b>AdV-VST</b>									
Feuchtinger et al (23)	British Journal of Haematology	2006	Curative	Efficacité	n=9 Population pédiatrique.	Donneur de la greffe	1,2– 50 · 10 <sup>3</sup> /kg T cells	1 aggravation d'une GVHD préexistante (cutanée)	RC : 4/5 patients. Décès : 1/5 patients.
Leen et al.(27)	Blood	2009	Curative	Sécurité et toxicité	n=13 Population pédiatrique.	Donneur de la greffe	5 x 10 <sup>6</sup> to 1.35 x 10 <sup>8</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	Pas de GVHD	RC : 5/13 patients.
Qasim et al. (28)	British Journal of Haematology	2013	Curative	Identifier et sélectionner les VST à partir d'un donneur de tierce partie.	n=1 Population pédiatrique.	Tierce-partie	1 x 10 <sup>4</sup> T-cells/kg	aGVHD (stade III cutané et IV hépatique)	RC : 100%. Décès secondaire à une pneumonie à CMV.
Feucht et al.(29)	Blood	2015	Curative	Sécurité et efficacité	n=30	Donneur de la greffe	4.1 x 10 <sup>3</sup> CD3+T-cells/kg (de 0,3 to 24)	2 aGHVD modérées (cutanées) <i>de novo</i>	RC 21/30 patients. Décès de l'infection à AdV : 9/30.
Qian et al.(30)	Journal of Immunotherapy	2015	NA	Identifier les différents sous-types de lymphocytes T parmi les donneurs sains avant et après sélection immunomagnétique par IFN- $\gamma$ pour production d'AdV-VST.	n=10	NA	NA	NA	Mise en évidence de la présence de toutes les sous-populations de lymphocytes T dans les VST produites, <i>in vivo</i> .
Qian et al.(31)	Journal of Hematology and Oncology	2017	Curatif	Sécurité et efficacité.	n=11	Donneur de la greffe (n=5), tierce-partie (n=6) donc UCB	5,83+/- 8,23 x10 <sup>3</sup> CD3+ IFN- $\gamma$ + T-cells/kg	Réactivation d'une aGVHD chez 3/10 patients.	RC : 9/10 patients
Rubinstein et al.(32)	Blood advances	2021	Curatif	Efficacité	n=30	Donneur de la greffe (n=7), tierce-partie (n=21), les deux (n=2)	5 x 10 <sup>7</sup> VST per m <sup>2</sup>	1 aGVHD <i>de novo</i> (grade II cutané)	15 RC, 6 RP parmi 26 patients évaluable.
<b>EBV-VST</b>									
Papadopoulos et al.(22)	New England Journal of Medicine	1994	Curatif	Sécurité et efficacité.	n=5 EBV PTLT	Donneur de la greffe	1x10 <sup>6</sup> CD3+T-cells/kg	2 aGVHD (skin, grade II)	RC : 3/5 patients. 2 morts de complications pulmonaires de l'EBV.
Rooney et al.(33)	Lancet	1995	Curatif et prophylactique	Efficacy	n=10 3 réplifications EBV	Donneur de la greffe	1x10 <sup>7</sup> CD3+T cells/m <sup>2</sup> 4 injections chez patients	Aucune <i>de novo</i> GVHD	RC 3/3. Pas de répllication pour les patients ayant reçu une injection prophylactique.



					7 injections prophylactiques Population pédiatrique		présentant une réplication EBV. 0,4 to 1,2 x10 <sup>8</sup> CD3+T cells/m <sup>2</sup> for others		
Rooney et al.(34)	Blood	1998	Curatif et prophylactique.	Efficacy	n=39 6 réplifications EBV sans PTLD. 33 injections prophylactiques . Population pédiatrique n=9	Donneur de la greffe	6 patients : 4 doses d'1x 10 <sup>7</sup> T-cells /m <sup>2</sup> 6 patients : 2 doses d'1 x 10 <sup>7</sup> T cells/m <sup>2</sup> + 2 doses de 5x 10 <sup>7</sup> cells/m <sup>2</sup> . 27 patients : 2 doses de 2 x 10 <sup>7</sup> cells/m <sup>2</sup> . 4 doses hebdomadaires (1x10 <sup>7</sup> cells/m <sup>2</sup> )	Aucune <i>de novo</i> GVHD	RC : 6/6. Pas de réactivation EBV pour les autres.
Gustafsson et al.(35)	Blood	2000	Curatif	Examiner les rapports entre les charges virales EBV chez les patients allogreffés tôt après la greffe, le type de greffe reçu, la présence d'une immunodépression sous-jacente, et les résultats après les EBV-VST.	n=8 PTLD en progression malgré traitement standard. 7 post-transplantation d'organes solides (SOT). 1 post-allogreffe de CSH (HSCT)	Tierce partie	10 <sup>6</sup> T-cells/kg toutes les 2 semaines, jusqu'à régression complète de la tumeur (RC) ou progression. 1 à 6 injections.	Aucune <i>de novo</i> GVHD	RP : 4/9 5 sans réponses.
Haque et al.(36)	Lancet	2002	Curatif	Efficacité	n=33 31 SOT, 2 HSCT	Tierce partie (banque)	2 x 10 <sup>6</sup> VST/kg hebdomadaire pendant 4 semaines. 1x10 <sup>6</sup> CD3+ EBV-VST/kg IV hebdomadaire pendant 3 semaines ou une injection de 0.2-1 x10 <sup>6</sup> CD3+ T cells non spécifiques.	Aucune <i>de novo</i> GVHD	RC : 3/8 3 décès de progression. 2 décès d'autres causes.
Haque et al.(37)	Blood	2007	Curatif	Sécurité et efficacité	n=33 31 SOT, 2 HSCT	Tierce-partie (banque)	2 x 10 <sup>6</sup> VST/kg hebdomadaire pendant 4 semaines. 1x10 <sup>6</sup> CD3+ EBV-VST/kg IV hebdomadaire pendant 3 semaines ou une injection de 0.2-1 x10 <sup>6</sup> CD3+ T cells non spécifiques.	Aucun effet indésirable	21/33 à 5 semaines post-injection 79% OS à 6 mois.
Dobrovina et al.(38)	Blood	2012	Curative	Comparaison des injections de lymphocytes du donneur (DLI) et d'injection d'EBV-VST.	n=49 30 DLI 19 EBV-VST	Donneur de la greffe (n=14), tierce-partie (n=5)	1x10 <sup>6</sup> CD3+ EBV-VST/kg IV hebdomadaire pendant 3 semaines ou une injection de 0.2-1 x10 <sup>6</sup> CD3+ T cells non spécifiques.	Aucune <i>de novo</i> GVHD	DLIs : - RC : 17 patients - RP : 1 patient - 12 non répondeurs EBV-VST : - RC : 12 patients - 4 patients non répondeurs - 1 non évaluable

Prockop et al.(39)	J Clin Invest	2020	Curative	Sécurité et efficacité	n=46 HSCT (n = 33) ou SOT (n = 13)	Tierce-partie	EBV-VST 3 injections hebdomadaires	1 aGVHD (cutanée, grade I)	HSCT : RC/RP : 22/33 patients SOT : RC/RP : 7/13 patients
<b>CMV-VST</b>									
Riddell et al. (21)	Science	1992	Prophylactique	Sécurité et efficacité	n=3	Donneur de la greffe	Hebdomadaire pendant 4 semaines consecutives avec escalade de dose : 3.3 x 10 <sup>7</sup> cells/m <sup>2</sup> , 1 x 10 <sup>8</sup> cells/ m <sup>2</sup> , 3.3 x 10 <sup>8</sup> cells/ m <sup>2</sup> , and 1 x 10 <sup>9</sup> cells/ m <sup>2</sup>	Pas d'effet indésirable	Aucun patient n'a développé de réplication ou d'infection.
Walter et al.(40)	NEJM	1995	Prophylactique	Sécurité et efficacité	n=14	Donneur de la greffe	1x10 <sup>12</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	3 de novo aGVHD	RC : 14/14
Einsele et al (41)	Blood	2002	Curatif	Efficacité	n=8	Donneur de la greffe	1x10 <sup>7</sup> VST/m <sup>2</sup> une fois – une dose supplémentaire pour un patient	Pas d'effet indésirable	RC : 6/8 Décès : 2/8
Peggs et al. (42)	Lancet	2003	Curatif	Sécurité et efficacité	n=16	Donneur de la greffe	1x10 <sup>5</sup> VST/kg	aGVHD grade I	RC : 14/16 Réactivation chez 2 patients.
Cobbold et al (43)	Journal of Experimental Medicine	2005	Curatif	Efficacité	n=9	Donneur de la greffe	8.6 x 10 <sup>3</sup> /kg (moyenne)	2 aGVHD de grade II	RC : 8/8
Peggs et al (44)	Clinical Infectious Disease	2009	Prophylactique et curatif	Sécurité et évaluation de la restauration de l'immunité antivirale	n=30	Donneur de la greffe	1x10 <sup>5</sup> VST/kg	8 aGVHD grade I-II 3 aGVHD grade III 10 cGVHD limitées 2cGVHD extensives	RC : 23/30 avec traitement antiviral curative associé.
Feuchtinger et al (45)	Blood	2010	Curatif	Sécurité et efficacité	n=18	Donneur de la greffe (n=16) Tierce-partie (n=2)	21 × 10 <sup>3</sup> VST/kg (moyenne)	cGVHD (n=1)	RC : 15/18
Blyth et al (46)	Blood	2013	Prophylactique et curatif	Efficacité	n=50	Donneur de la greffe	2 × 10 <sup>7</sup> VST/m <sup>2</sup>	8 aGVHD grade I-II 4 aGVHD grade III-IV	Pas de réactivation : 24/50 En prophylaxie : 26 patients ont développé une infection CMV 9 traités par antiviraux 1 décès rapport au CMV
Koehne et al (47)	Bio. Blood Marrow Trans.	2015	Curatif	Sécurité et efficacité	n=17	Donneur de la greffe (n=16), tierce-partie (n=1=	Groupe 1 (n=3) : 5x10 <sup>5</sup> T-cells/Kg; Groupe 2 (n=4), 1x10 <sup>6</sup> T-cells/Kgx1;	Aucune <i>do novo</i> aGVHD	RC : 12/17 RP : 1/17

Neuenhahn et al (48)	Leukemia	2017	Curatif	Sécurité et efficacité	n=16	Donneur de la greffe et tierce-partie	Groupe 3 (n=3), 2×10 <sup>6</sup> T-cells/Kgx1; Groupe 4 (n=6), 1×10 <sup>6</sup> T-cells/Kgx3 doses hebdomadaires 6.34–14.2 x10 VST/kg	1 aGVHD 1 cGVHD 1 épisode de fièvre à 24h de l'injection	RC : 17/28 RP : 15/28
Pei et al (48)	American Journal of Hematology	2022	Curatif	Sécurité et efficacité	n=190	Donneur de la greffe	De 10 <sup>3</sup> /kg à 10 <sup>9</sup> VST/m <sup>2</sup>	28 aGVHD grade I-II	RC (incidence cumulée) : 90% 8/190 ont développé une infection à CMV
Wang et al (49)	Bone Marrow Transplantation	2022	Curatif	Efficacité	n=10 Population pédiatrique	Donneur de la greffe	1 <sup>ère</sup> dose : 0.5 × 10 <sup>8</sup> VST/kg 2 <sup>ème</sup> dose : 1x10 <sup>8</sup> VST/kg	Pas d'aggravation des aGVHD existantes.	RC : 9/10

---

**ADV-VST, EBV-VST, CMV-VST**

---

Uhlir et al.	Clinical Infectious Diseases	2012	Curative	Survie globale	n=8 6 CMV, 1AdV, 1 EBV	Donneur et Tierce partie	0,8-24,6 x 10 <sup>4</sup> T-cells/kg	Non mentionné	Survie globale : 87% à J+90 RC : 6/8
Gerdemann et al.	Molecular Therapy	2013	Curative	Sécurité, toxicité, efficacité	n=10 3 CMV 1AdV 2EBV 2 CMV+ADV 2 EBV+ADV	Donneur	0.5–2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	1 patient : <i>de novo</i> aGVHD (skin, grade I)	RC : 8/10
Leen et al.	Blood	2013	Curative	Sécurité	n=50 23 CMV, 18 AdV, 9 EBV	Tierce partie	2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	2 <i>de novo</i> aGVHD, 6 réactivations	RC : 37/50
Withers et al.	Blood Advances	2017	Curatif	Sécurité et efficacité.	n=30 28 CMV, 1 AdV, 1 EBV	Tierce partie	2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	2 <i>de novo</i> aGVHD	Incidence cumulative à 12 mois : 93% 9 décès
Tzannou et al.	Journal of Clinical Oncology	2017	Curatif – Infection à CMV, AdV, EBV, HHV6 et BK virus.	Sécurité et efficacité	17 CMV, 7 AdV, 2 EBV	Tierce partie	2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	2 <i>de novo</i> aGVHD	CMV : 6 RC, 10 RP EBV : 2 RC AdV : 4 RC, 1 RP
Kállay et al.	Journal of Immunotherapy	2018	Curatif	Sécurité	n=9 Pédiatric patients 3 CMV, 2 EBV, 1 AdV	Tierce partie	7.5–16.2 x 10 <sup>4</sup> T-cells/kg	Aucun effet indésirable	CR : 8/9

Abraham et al.	Blood Advances	2019	Prophylactique or curatif pour une infection à CMV et EBV	Sécurité et efficacité	n=14 Population pédiatrique 4 CMV 2 EBV 1 AdV 7 injections prophylactiques	UCB	2.5 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	Aucune <i>de novo</i> aGVHD	RC : 3/4 chez les patients présentant une virémie à CMV, RC : 6/7 chez les patients traités de manière prophylactique.
Jiang et al.	Blood Advances	2022	Curatif - Infection à CMV and EBV	Sécurité et efficacité	n=30 27 CMV, 3 EBV	Tierce partie	2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup> 1 to 4 infusions	4 <i>de novo</i> aGVHD 7 cGVHD	RC : 28/30 Survie globale : 88% at 1 an
Pfeiffer et al.	Clinical Cancer Research	2023	Curative - Infection à CMV, AdV, EBV, JC virus, BK virus, HHV6	Sécurité et efficacité	n=58 24 CMV, 12 AdV, 2 EBV	Tierce partie	2 x 10 <sup>7</sup> T-cells/m <sup>2</sup>	3 <i>de novo</i> aGVHD	CMV : 12 RP, 11 RC EBV : 2 RP AdV : 4 RP, 6 RC

Liste non exhaustive des études publiées depuis 1992. Abréviations : GVHD : maladie du greffon contre l'hôte, aGVHD : GVHD aiguë, cGVHD : GVHD chronique, VST : Virus-specific T-cells, AdV : adénovirus, EBV : Epstein-Barr virus, CMV : cytomegalovirus, RC : réponse complète, RP : réponse partielle, HSCT : hematopoietic stem cell transplant = greffon de cellules souches hématopoiétiques, SOT : solid organ transplant.

## II. PRESENTATION DE L'ARTICLE

Depuis 2016, l'Unité de Thérapie Cellulaire et de Tissus (UTCT) du Centre Hospitalier Régional et Universitaire (CHRU) de Nancy, dirigée par le Professeur Bensoussan, a obtenu l'autorisation pour la France de produire des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques appelés VST de l'AdV dans le cadre d'un médicament de thérapie innovante (MTI-PP 009) et la production en accès compassionnel VST spécifiques du CMV ou de l'EBV. Chaque demande de traitement par VST a été soumise à un comité d'experts sous l'égide de la Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC). La validation de l'indication par ce comité d'experts permettait de soumettre la demande à l'ANSM (autorisation MTI-PP pour les VST-AdV et pour les VST-CMV ou EBV, demande de « non-opposition » avec nécessité de recueil prospectif des informations sur la tolérance et l'efficacité du traitement qui a été réalisé par le Docteur Petitpain, cheffe du service de pharmacovigilance).

Dans cette étude de vraie vie, nous avons repris les patients traités entre 2016 et 2022 dans ce cadre. Vingt-neuf patients ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (17 enfants et 12 adultes) ont été traités par VST. La production des VST a été réalisée à partir du même donneur que la greffe pour 13 patients, ou à partir d'un donneur haplo-identique en tierce partie pour 16 patients. Cette production était basée sur la technique de sécrétion de cytokine IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T spécifiques du virus. Brièvement, les cellules mononuclées périphériques issues de la leucaphérèse ont été stimulées pendant 6 heures, avec un pool de peptides correspondant à la protéine immunodominante entière de l'AdV (Peptivator-ADV5 Hewon, Miltenyi Biotec, Bergish Gladbach, Germany) ou du CMV (PepTivator- CMV pp65) ou différentes parties des protéines les plus immunodominantes de l'EBV (EBV-select). Ces cellules sont ensuite sélectionnées en utilisant le Cytokine Capture System (CCS, Miltenyi Biotec), par la technologie de sélection immunomagnétique par l'IFN-

$\gamma$ . Les cellules éluées, constituent la fraction positive composée de cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> sécrétant de l'IFN- $\gamma$  qui constituent les VST. Les contrôles qualité, par cytométrie en flux et par ensemencement microbiologique ont été réalisés sur cette fraction positive.

Le suivi médian de notre cohorte est de 74 jours (de 8 à 555 jours). La majorité des patients ont reçu des VST pour une répllication virale (n=17 soit 58,6%, *versus* n=12 pour une maladie virale). Le temps médian entre l'allogreffe et la répllication (ou l'infection) virale était de 46 jours (de 0 à 1372 jours). Le délai médian entre la répllication (ou infection) et la première injection de VST était 50 jours (de 21 à 300 jours) de traitement antiviral avant la perfusion initiale de VST. On note que 15 patients (51,72%) avaient été greffés pour un déficit immunitaire primaire ou hémopathie non maligne et 14 patients (48,28%) avaient été transplantés pour une hémopathie maligne, ce qui reflète un large recours aux VST dans la population pédiatrique, notamment avec déficit immunitaire primitif. De plus, presque tous les patients (28/29) avaient reçu, au moment du conditionnement de greffe, une déplétion *in vivo* de lymphocytes T, soit par sérum anti-lymphocytaire (n= 17 patients, 59 %) soit par cyclophosphamide post-transplantation (n=7, 24 %) soit par alemtuzumab (n=7, 24 %).

Cette étude nous montre que la tolérance immédiate (dans les 24 premières heures) est excellente, avec seulement un patient ayant nécessité un bolus de corticoïdes pour un possible syndrome de relargage cytokinique. Les évènements indésirables graves dans le premier mois sont marqués par les évènements infectieux en lien avec l'immunodépression profonde de notre population avec 9 infections opportunistes non liées au virus (dont 2 décès) et 4 décès en lien avec l'infection virale traitée. Dans les deux premiers mois suivant l'injection, on note 2 récurrences de GVH aiguë sévère (qui décèderont) et 1 possible GVH chronique pulmonaire à J45 post-VST.

Le taux de réponse globale ou ORR (réponse complète et partielle) est de 56% à un mois et 62% à 3 mois. L'ORR était statistiquement meilleur dans le groupe AdV avec 62,5 % versus 25

% dans le groupe CMV versus 12,5 % dans le groupe EBV ( $p = 0,01$ ). L'ORR à un mois n'était pas statistiquement différent selon les paramètres du virus : le statut viral "réplication" versus "infection" ( $p=0,353$ ), la charge virale moyenne à la perfusion de VST ( $p=0,511$ ), le taux moyen de VST injectés/kg ( $p=0,677$ ), le temps médian entre la réplication/ou l'infection virale et la première perfusion de VST ( $p=0,234$ ). L'ORR n'était pas statistiquement différent selon les paramètres immunologiques : le donneur de VST (donneur de cellules souches d'origine versus tierce-partie,  $p = 0,415$ ), le type de déplétion T *in vivo* ( $p = 1.000$ ), la corticothérapie continue au moment du transfert de VST ( $n=12$ ) ( $p=0,626$ ) et la décroissance rapide de l'immunosuppression avant VST ( $p=0,626$ ). À noter, 4 patients ont été traités par ruxolitinib pour une précédente GVHD et étaient toujours traités par ruxolitinib à l'injection. Les 4 patients ont tous obtenu une RC à J90.

Finalement, la survie globale à 3 mois et un an pour l'ensemble de la cohorte était de 55,17% (IC 95% [39,65-78,43]) et 28,97% (IC 95% [13,21- 63,51]), respectivement. Il convient de noter que la survie globale était significativement plus élevée lorsque la charge virale à la perfusion était  $<5$  log ( $p<0,001$ ), ce qui suggère qu'une perfusion VST précoce devrait être proposée.

### III. ARTICLE

#### ON BEHALF OF THE SFGM-TC: REAL-LIFE USE OF THIRD-PARTY VIRUS SPECIFIC T-CELL TRANSFER IN IMMUNOCOMPROMISED TRANSPLANTED PATIENTS.

Esther Hazane Leroyer<sup>1</sup>, Nadine Petitpain<sup>2</sup>, Stéphane Morisset<sup>3</sup>, Bénédicte Neven<sup>4</sup>, Martin Castelle<sup>4</sup>, Sarah Winter<sup>4</sup>, Laetitia Souchet<sup>5</sup>, Véronique Morel<sup>5</sup>, Marie Le Cann<sup>5</sup>, Mony Fahd<sup>6</sup>, Karima Yacouben<sup>6</sup>, Françoise Mechinaud<sup>6</sup>, Marie Ouachée-Chardin<sup>7</sup>, Cécile Renard<sup>7</sup>, Hélène Labussière Wallet<sup>7</sup>, Marie Angoso<sup>8</sup>, Charlotte Jubert<sup>8</sup>, Patrice Chevallier<sup>9</sup>, Alexandra Léger<sup>10</sup>, Fanny Rialland<sup>10</sup>, Nathalie Dhedin<sup>11</sup>, Christine Robin<sup>12</sup>, Sébastien Maury<sup>12</sup>, Florence Beckerich<sup>12</sup>, David Beauvais<sup>13</sup>, Thomas Cluzeau<sup>14</sup>, Michaël Loschi<sup>14</sup>, Alina Fernster<sup>15</sup>, Marcelo De Carvalho Bittencourt<sup>16,25</sup>, Maxime Cravat<sup>16</sup>, Karin Bilger<sup>17</sup>, Laurence Clément<sup>18</sup>, Véronique Decot<sup>19</sup>, Mélanie Gauthier<sup>19</sup>, Anne Legendre<sup>20</sup>, Jérôme Larghero<sup>21</sup>, Guillaume Martin-Blondel<sup>22</sup>, Cécile Pochon<sup>23,25</sup>, Loïc Reppel<sup>19,25</sup>, Hélène Rouard<sup>24</sup>, Stéphanie Nguyen-Quoc<sup>5</sup>, Jean-Hugues Dalle<sup>6</sup>, Maud D'Aveni<sup>1,25\*</sup> and Danièle Bensoussan<sup>19,25\*</sup>.

<sup>1</sup> Nancy University Hospital, Department of Hematology, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

<sup>2</sup> Nancy University Hospital, Regional Centre of Pharmacovigilance, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

<sup>3</sup> Statistical Unit, Pérouges, France.

<sup>4</sup> Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Department of Pediatric Immuno-hematology, Necker Children Hospital, Paris, France.

<sup>5</sup> Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Department of Hematology, La Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France.

<sup>6</sup> Department of Pediatric Hematology and Immunology, Robert Debré Academic Hospital, GHU APHP Nord Université Paris Cité, Paris, France.

<sup>7</sup> Hospices Civils de Lyon and Claude Bernard University, Institute of Pediatric Hematology and Oncology (IHOPE), Hematology Unit, Lyon, France.

<sup>8</sup> University Hospital of Bordeaux, Department of Pediatric Hematology Oncology, Bordeaux, France.

<sup>9</sup> Nantes University Hospital, Department of Hematology, Nantes, France.

<sup>10</sup> Nantes University Hospital, Department of Pediatric Hematology, Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France

<sup>11</sup> Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Saint-Louis Hospital, Paris, France.

<sup>12</sup> Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Department of Hematology, Henri Mondor Hospital and Université Paris-Est Créteil, Créteil, France.

<sup>13</sup> Lille University Hospital, Department of Hematology, Allogeneic Stem Cell Transplantation Unit, Lille, France.



<sup>14</sup>Nice University Hospital, Department of Hematology, Université Cote d'Azur, Nice, France.

<sup>15</sup> Brussels University Hospital, Hôpital Universitaire des Enfants de la Reine Fabiola, Department of Pediatric Hematology, Brussels, Belgium.

<sup>16</sup>Nancy University Hospital, Cytometry Platform, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

<sup>17</sup>INCANS, Department of Hematology, Strasbourg, France

<sup>18</sup>Bordeaux University Hospital, Department of Hematology, Bordeaux, France

<sup>19</sup>Nancy University Hospital, Cell Therapy Unit, MTInov, Bioproduction and biotherapy integrator, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

<sup>20</sup>EFS La Plaine St-Denis, France

<sup>21</sup>Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Saint-Louis Hospital, Cell Therapy Unit, Paris, France

<sup>22</sup>Toulouse University Hospital, Department of Infectious and Tropical Diseases, and Toulouse Institute for Infectious and Inflammatory Diseases, INSERM UMR1291 – CNRS UMR5051 - Université Toulouse III, Toulouse, France

<sup>23</sup>Nancy University Hospital, Department of Pediatric Hematology, Vandoeuvre-les-Nancy, France

<sup>24</sup>Etablissement Français du Sang and Paris-Est Creteil University, Créteil, France

<sup>25</sup>Lorraine University, CNRS Unit UMR 7365 IMoPA, Vandoeuvre-les-Nancy, France

\*: These two authors contributed equally to the work

Corresponding author: [d.bensoussan@chru-nancy.fr](mailto:d.bensoussan@chru-nancy.fr)

## **Abstract**

**Background:** Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-SCT) offers a curative option for various haematopoietic disorders. Both *ex vivo* and *in vivo* T-cell-depletions designed to reduce graft-versus-host disease (GVHD) are often complicated by severe viral infections. Since 2016, virus-specific T-cell (VST) therapy has been authorised in France as a targeted therapy to treat severe or drug-refractory viral infections. We prospectively investigated 29 consecutive recipients of allo-SCT treated with VST, because of a persistent or recurrent infection with adenovirus (AdV) (n=13), Epstein-Barr virus (n=8), cytomegalovirus (CMV) (n=7), or AdV and CMV (n=1) despite standard therapy.

**Methods:** VST were produced from leukapheresis collected from the same HLA-matched graft donor (n=13) or from a new haplo-identical third-party donor (n=16). Safety, viral dynamics, and immune recovery were monitored for 12 months.

**Results:** The median time between allo-SCT and the viral replication was 46 days (range 0-1372 days). VST were infused at a median of 50 days after virus replication (range 21-300 days). Thirty-four infusions were injected with a mean dose of  $1.43 \times (\pm 3.06) 10^4$  CD3<sup>+</sup> T-cells/kg. Infusions were safe and well tolerated. Recurrent acute GVHD (aGVHD) occurred in two patients and one case of *de novo* chronic GVHD (cGVHD) was observed within the 2 months after VST infusion. At 3 months, the cumulative overall response rate was 62% (n=18/29) and no viral recurrence was observed during the first year post-VST infusion. No predictive factors related to the viral infection (replication *versus* infection and viral load at infusion) or related to the immunological status (HLA-matched *versus* third-party donor, *in-vivo* T cell depletion, immunosuppressive treatment and tapering at infusion) were identified correlated with the overall response. Overall survival (OS) at 3 months and 1 year for the entire cohort was 55.2% (95% confidence interval [39.7-78.4]) and 29% (95% CI [13.2- 63.5]), respectively. Interestingly, OS was significantly higher when the viral load at infusion was  $<5$  log (p<0.001).

**Conclusions:** This is a real-life study reporting 34 VST infusions in post-allo SCT patients infected with AdV, EBV and CMV resisting standard anti-viral therapy, highlighting the importance of early VST infusion in the therapeutic process.

**Keywords:** Virus-specific T-cells, allo-SCT, AdV, CMV, EBV, third-party haplo-identical donor.

## Background

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (allo-SCT) offers a curative option for various hematopoietic disorders. In 2020, 18 796 allo-SCT were performed in European countries (1). Although the toxicity related mortality (TRM) has decreased with new conditioning regimens, improved graft*versus*-host disease (GVHD) prophylaxis and treatment, and supportive care improvement, infections and GVHD remained the two main causes of treatment related mortality (TRM) (2,3). Of note, the current use of either *ex vivo* or *in vivo* T cell depletion prevents alloreactivity (graft rejection and GVHD) but enables viral infections/reactivations due to a delayed immune reconstitution. Although the incidence and severity of viral infections/reactivations has decreased thanks to the implementation of pre-emptive antiviral chemotherapies, they still represent a life-threatening complication of allo-SCT (4). Indeed, a relevant number of patients still experience therapy-refractory infection in the absence of concomitant immune reconstitution (5–7). Of note, some drugs are used off-label since no authorized product is available, for adenovirus (AdV) infection for example. A recent observational study reported that in the first 100 days post-transplant, the cumulative incidence of death caused by infections is 2.3% (0.25% from viral origin) (3). Curative anti-viral therapies are associated with consistent side effects such as acute kidney injury or haematotoxicity that might worsen the overall prognosis (5–8). For adenovirus (AdV) (9–11), cytomegalovirus (CMV)(12,13) and Epstein Barr virus (EBV), virus-specific T-cells (VST) have been developed as an alternate therapy (14,15).

Adoptive T-cell therapy against viral infections was first proposed by Riddell et al (16) in 1992 against CMV reactivation after allo-SCT. Three patients were treated with 4 weekly prophylactic infusions of escalating doses with *ex-vivo* expanded CMV specific CD8+ T-cells from the initial donor. None of them developed CMV viraemia or disease and no toxicity was reported. Later, Papadopoulos et al, produced EBV-VST from donor-derived peripheral blood mononuclear cells (PBMC) stimulated with irradiated autologous EBV-transformed B cell lines (17,18). Among 5 patients, 3 obtained a complete response (CR), 2 died from EBV pulmonary complications. Of note, 2 patients developed a grade II skin acute GVHD (aGVHD). In 2006, Feuchtinger et al. managed to infuse freshly immunomagnetically isolated AdV-VST from allo-SCT donor leukapheresis without any prior expansion in 9 patients (19). Adenovirus was successfully cleared in 4 out of 5 evaluable patients, 1 patient died from AdV disease and 1 presented a skin aGVHD flare-up. Through different techniques over the last 25 years (see below), virus control is reported in 70%-75% of patients (20,21). Acute GVHD

occurs in less than 10% of patients, usually reported as *de novo* grade I-II GVHD, or worsening of pre-existing GVHD, suggesting the high specificity of VST.

The need for a fast, efficient and safe therapy for early post-transplant viral infections has led to the generation of VST from third-party donors. This development broadened the applicability of VST thanks to their low alloreactivity even with the use of HLA-mismatched donors (13,22–27). As reported in the examples above, VST are still generated either by culture, to constitute a bank, or by immunomagnetic isolation, in particular in a familial context. Currently, off-the-shelf, multi-target VST represent a promising therapy for early and late post-allo-SCT viral infections provided a compatible VST cell line is available for the patient (24,27–31). For immunomagnetic isolation of VST, patient related donors screened with AdV, CMV or EBV immune T cell response are collected by apheresis. Then, mononuclear cells are stimulated by a viral antigen, and specific T cells isolated secondary to interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) secretion thanks to an immunomagnetic technique (CliniMACS, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany). VST are infused into patients when they are refractory to one or more lines of anti-viral treatments. Thanks to the stimulation antigen used (clinical-grade peptide pools of 15 amino-acids allowing HLA class I and class II presentation), the infused T-cell population is composed of both CD4+ and CD8+ T-cells that persist *in vivo* after infusion for at least 12 weeks (32).

From 2016 to 2022, AdV-VST, EBV-VST or CMV-VST were produced in the Cell Therapy Unit of the University Hospital of Nancy as Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) under hospital exemption and were infused into 29 consecutive patients with AdV, EBV or CMV replications/infections, persisting despite an optimized antiviral therapy. We retrospectively analysed the data in terms of safety and efficacy as the primary and secondary objectives, respectively, considering VST were prepared from third-party haploidentical donor in more than half cases.

## **Materials and methods**

### *Patient access to VST-therapy*

Since 2016, the date of the first French national authorisation for AdV-specific T-cells, in the context of immunosuppression following allo-SCT, an expert group (gathering physicians, cellular therapists and pharmacovigilance consultants) has emerged under the aegis of the Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC) to evaluate the indications and regulate the prescriptions. Requesting centres engaged in a referral

procedure with the expert group. Eligible patients were defined as: (i) allo-SCT patients (ii) with viral replication and/or tissue infection with CMV, AdV, or EBV that had failed to standard therapy ; (iii) standard therapy was defined by at least 14 days of full-treatment dose of ganciclovir or foscarnet or cidofovir for CMV, or cidofovir or brincidofovir for AdV (off-label use) and stable disease (SD) or progressive disease (PD) observed under weekly perfusion of rituximab for EBV replication, or SD or PD observed under cytotoxic chemotherapy with or without rituximab for EBV-related post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD). Ineligible patients were considered when they presented uncontrolled aGVHD > grade II (33) or uncontrolled chronic GVHD > NIH 2 (34). All immunosuppressive drugs were allowed and corticosteroids were < 1mg/kg/day in most cases. The Cellular Therapy and Tissue Bank Unit of Nancy was the only laboratory in France authorized by the French regulatory agency ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) to produce AdV specific T-cells as an ATMP under hospital exemption (MTI-PP-009) and to deliver EBV-VST or CMVVST for compassionate use after nominative ANSM non-opposition with a prospective monitoring requirement.

### *VST manufacturing*

#### *Donor selection*

In the case of third-party haplo-identical donors, the absence of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) was sought and verified in transplant recipients. For all the donors, in the case of EBV-VST or CMV-VST preparation, the donor seropositivity was first confirmed. Then, each donor was controlled for a positive cellular immune response against the involved virus by ELIspot-IFN- $\gamma$  assay. For AdV, only a control for a positive cellular immune response against the AdV by ELIspot-IFN- $\gamma$  assay was required.

#### *Isolation and generation of clinical grade VST*

Briefly, apheresis-collected PBMC were stimulated for 6 hours with a clinical-grade peptide-pool corresponding to the entire immunodominant protein of ADV (PepTivator-ADV5 Hexon, Miltenyi Biotec, Bergish Gladbach, Germany) or CMV (PepTivator-CMV pp65, Miltenyi Biotec) or to different parts of the most immunodominant proteins from EBV (PepTivator-EBV-select, Miltenyi Biotec). These cells were processed using the Cytokine Capture System (CCS, Miltenyi Biotec) based on the IFN- $\gamma$  immunomagnetic technology on the CliniMACS device (Miltenyi Biotec), as described previously (19,35,36). The eluted cells, referring to the positive fraction, were enriched in VST on which quality controls, including microbiological

seeding and flow cytometry assessment, were performed. Flow cytometry results allowed to calculate the number of infused CD3<sup>+</sup> T-cells within the limit of  $1 \times 10^5$  CD3<sup>+</sup> T-cells/kg in a sibling setting,  $5 \times 10^4$  CD3<sup>+</sup> T-cells/kg in a matched unrelated donor (MUD) setting and  $1 \times 10^4$  CD3<sup>+</sup> T-cells/kg in both mismatched unrelated donor (MMUD) and third party haploidentical setting.

#### *In vitro expansion, phenotypic analysis and functional assays*

A sample of the positive fraction was expanded in the presence of interleukin 2 (IL-2) and irradiated autologous feeder cells from the negative fraction for 2-4 weeks in order to generate enough cells for functional assays. After expansion, VST were assessed for IFN- $\gamma$  secretion with an ELISpot assay and for specific proliferation using the DELFIA cell proliferation assay (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) after restimulation by the same peptide-pool used for VST isolation. The assessment of residual alloreactive proliferation of generated T-cell lines in mixed lymphocyte cultures was compared to that of unmanipulated donor PBMC. A cytotoxicity assay was performed by comparing lysis rates of VST on autologous target-cells loaded or not loaded with the previous peptide pool, at a ratio of 10:1.

#### *Biological and clinical collected data*

##### *Viral load and infection diagnosis*

AdV, CMV and EBV loads were monitored by polymerase chain reaction (PCR) in peripheral blood in every centre, according to the physicians' discretion, usually once or twice a week. Virus load, biological parameters (haemoglobin, platelets, white blood cell count, ASAT, ALAT and bilirubin levels), the type of immunosuppressive drugs and GVHD staging were collected at day 0 (D0), the day of VST infusion, and then at D15, D30, D45, D60, D75 and D90 by using a standardised questionnaire, sent on the day of VST cell infusion. The immune reconstitution monitoring was assessed by each centre using an IFN $\gamma$  positive ELISpot assay or a proliferative test, when the technique was locally available.

The definition of replication or disease followed the guidelines of the SFGM-TC. The diagnosis of AdV replication was based on two consecutive positive AdV viremias assessed by PCR. AdV disease was defined as the presence of AdV replication with matching symptoms unattributed to another aetiology. EBV replication was defined as a detectable increase in the EBV viral load by PCR in a seropositive patient. EBV disease was defined as a significantly positive EBV viral load associated with matching symptoms (fever, fatigue, hepatosplenomegaly, adenomegaly) without histological proof of an infected organ biopsy.

Post-transplant lymphoproliferative syndrome was defined by EBV disease proved by the histological presence of EBV and lymphoproliferation of B- or T-cell origin. CMV replication was defined by at least two CMV viral loads detected in blood by PCR with or without associated compatible clinical and biological symptoms (fever, fatigue, cytopenia, etc...). CMV disease was defined as CMV replication associated with compatible clinical symptoms and histological proof from an organ biopsy.

#### *Allo-SCT conditioning regimen*

Conditioning regimens were divided into myeloablative (MAC) or reduced-intensity conditioning (RIC) or non myeloablative (NMA) as the established definitions by Bacigalupo et al (37), applicable to both adult and paediatric patients.

#### *Serious adverse events*

Serious adverse events (SAE) were defined according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE version 5.0). Infusion-related reactions were considered within 24 hours after VST infusion. Infections, GVHD, poor graft function or graft rejection were considered and attributed arbitrarily to the VST if they developed within the 60 days after infusion. GVHD was graded according to standard criteria for aGVHD and cGVHD (33,34).

#### *VST response*

Complete response (CR) was defined as complete clearance of the virus and partial response (PR) as a viral load decrease  $\geq 1$ log.

#### *Statistical analysis*

We performed descriptive analyses on all patients (n=29). Quantitative variables are presented as the mean and standard deviation (SD; with an asterisk indicating whether the distribution was normal according to the Lilliefors test), or as the median, range (extremum values) and quartiles [1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup>]. Qualitative variables are presented as counts and percentage (calculated on the number of available data). We used Student's T-test to compare means. We compared the type of infections on the total number of infections (n=30), given that one patient had ADV and CMV co-infections. To compare the three groups, we used the Kruskal-Wallis test for quantitative variables and Pearson's chi-square test for qualitative variables (with Monte-Carlo simulations if at least one count was below 5). We also compared characteristics between responders and non-responders (NR) at 1-month, using MannWhitney U test for quantitative variables and Pearson's chi-square test for qualitative variables. Overall survival (OS) from the

re-infusion date until the last follow-up with of all-cause mortality as the main event by using the Kaplan-Meier method and the log-rank test to compare curves. We performed univariate Cox regression analyses or survival based on our variables to estimate hazard-ratios. To illustrate the effect of viral load at D0 on OS, we evaluated the time-dependent receiving operating characteristics (ROC) curve at 3 months after infusion to find the best threshold value using the Youden method. We determined the cumulative incidence of grades I-IV acute GVHD since infusion by using the cumulative incidence function, with death as a competing risk. We set the level of significance at 5%, and present estimated hazard-ratios and probabilities with their 95% bilateral confidence intervals. We used R v4.1.2, with the use of 'surviva', 'cmprsk', 'ggplot2' and 'timeROC' packages, for the statistical analyses and to generate graphics.

## Results

### *Participant characteristics*

Twenty-nine consecutive patients were infused in 13 different centres (Fig 1). In the entire cohort, the median follow-up was 74 days (from 8 to 555 days). The patients' characteristics are shown in Table 1. Seventeen children (<18 years old) and 12 adults ( $\geq$ 18 years old) were treated. Of note, five patients received two infusions (4 patients against CMV and one patient against AdV) and one patient received one VST-infusion prepared against both AdV and CMV. Briefly, 15 patients (51.7%) were transplanted for primary immunodeficiency or non-malignant haematological diseases and 14 patients (48.3%) were transplanted for haematological malignancy. The donor origin was mainly unrelated (n=14) or haploidentical (n=9). Reduced-intensity conditioning regimens were mainly administered (48%). Only one recipient received an *ex-vivo* T-cell depleted graft, and the majority of patients (n=28) received an *in vivo* T-cell depletion with antithymocyte globulin (ATG) in 17 patients (59%), post-transplant cyclophosphamide (PTCy) in 7 patients (24%) and alemtuzumab in 7 patients (24%). There was an association of ciclosporin A and mycophenolate mofetil, which was administered as GVHD prophylaxis in 18 patients (62%). The median time between allo-SCT and the viral replication was 46 days (range 0- 1372 days). The majority of patients received VST for a viral replication (n=17, 58.6%) while the others received an infusion for a viral disease (n=12, 41.3%). Infused VST were mainly derived from a related intra-familial third-party donor (n=16, 55.2%). Patients were heavily pre-treated for viral replication/infection; they had received a median of 50 days (range 21 - 300 days) of antiviral therapy before the initial VST



infusion. Patients received a median number of anti-viral therapy lines of 2 (range 1-3 lines), 3 (range 2-4 lines) and 1 (range 0-5 lines) for AdV, CMV and EBV, respectively.

#### *Production and administration of VST*

VST were produced from leukapheresis obtained from the graft donor for 13 patients (44.8%) and from third-party haplo-identical relatives in 16 patients (55.2%). The mean dose of CD3+IFN- $\gamma$ + T-cells administered to the patient was  $0.82 \times 10^4 \pm 0.89 \times 10^4$  T-cells/kg with a mean enrichment of 72% of CD4<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T-cells (SD  $\pm$  17%) and 80% of CD8<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T-cells (SD  $\pm$  16%). Virus specific T cells were released according to flow cytometry control results. The absence of microbiologic contamination was confirmed after 10 days, except for one production positive for *Cutibacterium acnes*. Functional assays were performed a few weeks after infusion, when enough cells were obtained after expansion (Fig 2 A). VST-expanded cells were still able to secrete IFN- $\gamma$  after restimulation by the previous peptide pools compared with PBMC before immunomagnetic selection with a mean of  $82,78 \pm 74,33$  versus  $202 \pm 175$  SFC/ $10^6$  PBMC ( $p=0.003$ ),  $135,19 \pm 90,72$  versus  $1,65 \pm 1,23$  SFC/ $10^6$  PBMC ( $p=0.006$ ) and  $122,27 \pm 89,03$  versus  $728 \pm 627$  SFC/ $10^6$  PBMC ( $p=0.009$ ), for AdV-VST, CMV-VST and EBV-VST, respectively. The proliferative assay (Fig 2B) showed a stimulation index of 13 for VST against AdV, CMV or EBV epitopes compared with unstimulated cells (AB serum). The mean decrease in alloreactivity of VST compared to PBMC before immunomagnetic selection was of  $82 \pm 19\%$  (range 47.6%-100%) for 22 patients tested (Fig 2C) ( $p=0.0002$ ). *In vitro* efficacy of VST-expanded cells was confirmed for 16 productions by a mean cytotoxicity of  $43\% \pm 28\%$  against loaded autologous target cells with AdV, EBV or CMV epitopes and  $2\% \pm 4\%$  against unloaded autologous target cells, ( $p=<0.001$ ) (effector-to-target cell ratio = 10:1) (Fig 2D).

#### *Safety and toxicity of VST*

Only 1 patient experienced hypotension and laryngeal spasm with oedema 15 minutes after infusion, with complete resolution after an intra-veinous infusion of 1mg/kg methylprednisolone (patient 4). All SAEs within 3-months post-infusion are detailed in Table 2. The majority of SAEs were related to infections. Non-VST-targeted infections were observed in six patients with documented bacterial infections during the first month post infusion (1 gram-positive bacterium and 5 gram-negative bacteria) and 3 episodes of fever from unknown origin but attributed to putative bacterial infections. None of these 9 patients died of these infections. Of note, one patient received VST potentially contaminated by *Cutibacterium*

*acnes* nut did not experience any bacterial adverse events and the pre-emptive antibiotic therapy was extended 1 week more. Within 3-months post-VST infusion, there was no *de novo* aGVHD. Unfortunately, 2 patients experienced a recurrent grade III-IV aGVHD. Patients 3 and 12 developed recurrent aGVHD attributed to rapid corticosteroid taper (patient 3 had a recurrence at D38 when corticosteroids were lower than 0.3mg/kg/day and patient 12 had a recurrence at D27, 10 days after corticosteroid discontinuation). One patient developed a *de novo* pulmonary cGVHD at D45. Of note, all the patients infused with VST were considered in remission or at least with controlled GVHD at time of infusion.

**Table 2: Serious adverse events within 3-months follow-up (D0) (n=29).**

Event	Patient	Time post-first VST infusion (day)
<b>Infectious aetiologies</b>		
<b>Initial viral replication/disease</b>		
HLH triggered by EBV disease†	2	D7
Massive digestive haemorrhage attributed to AdV infection†	5	D15
<b>Bacterial infection</b>		
<i>Enterococcus faecium</i> sepsis	1	D8
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> sepsis	10	D30
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> pyelonephritis	11	D7
Putative bacterial/fungal infection	5	<M1
Undocumented fever	7	<M1
Putative bacterial infection	21	D24
Putative fungal infection†	22	<M1
<b>Other viral infection</b>		
BK virus haemorrhagic cystitis†	4	D15
<b>GVHD</b>		
aGVHD flare-up grade III†	3	D37
aGVHD flare-up grade III†	12	D27
Severe chronic pulmonary GVHD†	29	D45
<b>Other causes</b>		
Hepatorenal syndrome with refractory ascites†	10	D70
Pulmonary alveolar haemorrhage†	22	D54
Hypotension and laryngeal spasm with oedema 15 minutes after infusion	4	D0

†Contributed to death.

Abbreviations: D: day, HLH : hemophagocytic lymphohistiocytosis, M: month.

Two patients (patient 12 and 3) developed a recurrent grade III-IV acute GVHD. Patient 12 received VST from the original graft donor with HLA compatibility of 9/10 and a dose of  $0.107 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg, which is 10% of the allowed dose. Patient 3 received 2 VST infusions from the original haplo-identical donor. The total dose infused was  $0.254 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg (10% of the allowed dose). In both cases, aGVHD was confirmed on digestive tissue biopsies, with no evidence of AdV or CMV infection. These two GVHD recurrences were refractory to steroids and ruxolitinib/etanercept treatments. Patient 3 experienced corticosteroid reduction before VST infusion. Regarding patient 29, the only one who was suspected to suffer from a *de novo* severe chronic pulmonary GVHD at day +45 post-infusion, he experienced cyclosporin tapering before receiving a VST infusion of  $0.547 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg from a third-party intra-familial related donor. He presented respiratory symptoms at D45 post-infusion, with prompt resolution after systemic corticosteroids. Unfortunately, he developed serial severe pulmonary infections (*Aspergillus fumigatus*, atypical mycobacterium and *Pseudomonas aeruginosa*), and was treated by adapted antibiotherapy and amphotericine B causing acute renal failure. His condition worsened with pulmonary embolism leading to the decision to provide only supportive cares. Patients 5,7,21 and 22 presented with fever and were treated with probabilistic antibiotherapy.

The first cause of death within the 3 months post-VST was the initial virus-related replication/disease (n=9) followed by TRM (n=3), one from severe progressive grade III (hepatic aGVHD), one from hepatic failure secondary to hepatorenal syndrome with refractory

ascites, and one from pulmonary alveolar haemorrhage. After 3 months, causes of death were allo-SCT TRM (n=5), The causes of deaths are detailed in Table 3.

**Table 3: Causes of deaths within the 24 months post-VST**

Cause of death	Patient	Time of death post VST infusion (days)
<b>Infectious</b>		
<i>Initial viral infection</i>		
Progressive AdV infection	1	D8
Progressive AdV infection	5	D74
Progressive AdV infection	28	D16
Progressive CMV infection	7	D71
Progressive CMV infection	17	D16
Progressive AdV and CMV infection	26	D9
Progressive EBV infection	13	D20
HLH triggered by EBV disease	2	D53
<i>Bacterial infection</i>		
Septic shock secondary to catheter-related infection	8	D177
<i>Other viral infection</i>		
BK virus haemorrhagic cystitis	4	D91
<b>Other causes</b>		
Progressive aGVHD	3	D54
Progressive aGVHD	12	D116
Pulmonary cGVHD	29	D228
Hepatic and renal failure	10	D78
Pulmonary alveolar haemorrhage	22	D52
Not precised	21	D116
Hepato-pulmonary syndrome linked to initial telomeropathy	24	D616

*Abbreviations : aGVHD : acute GVHD, cGVHD : chronic GVHD, D : day, HLH : hemophagocytic lymphohistiocytosis.*

### *Virological response and clinical outcomes*

The overall response rates (ORR) are summarised in Fig 3 (A, B, C). An ORR at 1-month post-infusion was observed for 16 patients (56%, 10 patients with a CR and 6 patients with a PR). Thirteen patients were NR: 9 patients had SD and 4 patients early died of progressive disease at a median time of 12.5 days (range 8 -16 days). The ORR at 3 months was 62% (CR= 17, 10 at 1 month plus 2 patients who were initially NR plus 5 patients initially with PR, and PR=1). At 3 months, 6 patients were still NR: 4 of them had an advanced viral disease at D0 and died (patients 2,3,7,13) and 2 maintained a stable viral load (patients 20 and 24). Patient 10 died at D78 after achieving PR at D30 and CR at D75. The detailed characteristics of responders versus non responders are summarised in Supplementary Tables 1 and 2 [see Additional file 1]. Finally, the median time to best virological response (CR) was 18 days (range 10-75 days). In the entire cohort, OS post-VST-infusion was 56% and 29% at 3- and 12-months post-infusion,

respectively (fig 3D). Interestingly, OS was significantly higher when viral load at infusion was  $<5$  log ( $p<0.001$ ), regardless of the implicated virus (Fig 3E).

#### *Factors influencing the response and immunomonitoring*

Factors influencing the response at 1 month are detailed in Table 4. The ORR was significantly higher in the AdV group (62.5%) compared with the CMV group (25%) and the EBV group (12.5%) ( $p=0.01$ ). The ORR at 1 month was not significantly different according to the following virus parameters: the viral status ‘replication’ *versus* ‘infection’, ( $p=0.353$ ), the mean viral load at the time of VST infusion ( $p=0.511$ ), the mean virus-specific CD3+ Tcells /kg infused ( $p=0.677$ ), the median time between viral replication/or infection and the first VST infusion ( $p=0.234$ ) and the presence or continuation of a curative antiviral therapy at D0 and after D0 ( $p=0,412$ ) (Fig 4). The ORR was not significantly different according to the following immunological parameters: the VST donor (HLA-matched original graft donor *versus* a third party haploidentical donor,  $p=0.415$ ), the previous *in-vivo* T-cell-depletion (ATG *versus* alemtuzumab *versus* PTCy,  $p=1.000$ ), the continuation of corticosteroids at a dose  $<1$ mg/kg/day at the time of VST transfer (n=12) ( $p=0.677$ ) and adapted immunosuppression (n=8) or not (n=21) ( $p=0.626$ ). Of note, 2 patients received corticosteroids at a dose  $\geq 1$ mg/kg/day: patient 2 was treated for hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and did not achieve CR at D90 and patient 8 experienced a grade II skin aGVHD worsening between the referral procedure and the time of infusion, however, he reached CR at D90. Moreover, 4 patients were treated with ruxolitinib for a previous GVHD and were still treated with ruxolitinib at time of VST infusion. All 4 patients achieved a CR at D90.

**Table 4: Factors influencing response at 1 month.**

	CR/PR (n)	NR (n)	P value
<b>VST donor type</b>			0,415
Original donor	8	5	
Third-party haploidentical	8	8	
<b>Prior T-depletion <i>in vivo</i></b>			1,000
ATG	11	6	
Cyclophosphamide	5*	2	
Alemtuzumab	2*	5	
<b>Ruxolitinib</b>	3	1	NA
<b>Antiviral treatment†</b>			0,412
Curative	9	4	
Prophylactic	2	2	
None	5	6	

<b>Modulation of immunosuppression</b>			0,626
Yes			
No	3	5	
	13	8	

Abbreviations : ATG: anti-thymocyte globulin, NA : not available.

\* patient 6 (AdV-VST) received both Alemtuzumab and Cyclophosphamide (haploidentical donor), patient 3 (AdV-VST) and patient 18 (CMV-VST) received both ATG and Cyclophosphamide.

† for one non-reponder patient (patient 20) the presence or absence of antiviral therapy is unknown.

The AdV, CMV and EBV viral load follow-up is summarised in Fig 5. Immunomonitoring after infusion is represented in figure 5. Because post-infusion immune reconstitution monitoring *in vivo* was performed at the discretion and technical availability of each allo-SCT centre, *in vivo* expansion data were available for 11 patients with 7 of them experiencing specific immune reconstitution assessed by proliferative assay or ELISpot INF- $\gamma$  assay. Among patients treated with corticosteroids at the time of VST infusion, immune reconstitution was documented by ELISpot and proliferative assay for patients 3, 5, 11, 14 and 22, and 4 out of these 5 patients cleared the virus (Fig 6).

## Discussion

In this retrospective multi-centre study, 29 post allo-SCT patients received 34 infusions of VST for AdV, CMV and EBV replication/disease. The use of VST therapy is a relevant immunotherapeutic approach to clear severe, drug-refractory viral infections especially in the paediatric population and of note with primary immunodeficiency disorders. Indeed, in our cohort 58.6% of the patents were paediatric patients and 51.7% of patients were transplanted for primary immunodeficiency or non-malignant haematological diseases. From 2016 and 2022, among 2000 allo-SCT performed in France per year, only 14% patients were transplanted for primary immunodeficiency or non-malignant haematological diseases and 14% were less than 18 years old (Agence de Biomédecine, <https://rams.agencebiomedecine.fr>). Therefore, even if anti-viral drugs have been increasingly developed during the last few years, patients with poor to absent T-cell-mediated immunity remain particularly susceptible to lifethreatening viral infections and need for VST therapy.

Methods to obtain virus-specific T cells were firstly developed with *in vitro* T-cell stimulation and expansion or direct *ex vivo* isolation of specific-T cells, often based on IFN- $\gamma$  secretion and sometimes using MHC multimers, from the peripheral blood of a seropositive donor (36,38–41). We decided to produce VST based on specific T cell isolation after stimulation with the respective viral antigens through the natural mechanism of IFN- $\gamma$  production by antigen-

specific memory T cells. IFN- $\gamma$  secreting virus specific T cells could be targeted thanks to the CCS and enriched by using immunomagnetic selection on the CliniMACS® device. Then, VST could be directly transferred into the patient, avoiding time-consuming cell culture. Our reported experience of IFN- $\gamma$  immunomagnetic based technology demonstrated a significantly high virus-specificity with low alloreactivity *in vitro*. *In vivo*, we confirmed that VST were safe as no toxicity against the haematopoietic stem cell graft (i.e graft function as not poor and there was no graft rejection). We did not observe *de novo* aGVHD development. Unfortunately, 3 patients developed GVHD within 60 days after VST infusion. This development was arbitrarily related to the VST because they developed within 60 days after infusion. The 3 patients received a mean dose of  $0.302 \times 10^4$  CD3<sup>+</sup> T-cells /kg (SD $\pm$  0,22) when for all patients the mean dose received was  $1.43 \times 10^4$  CD3<sup>+</sup> T-cells /kg (SD $\pm$ 3.06). For one patient only (patient 29), the VST donor came from a third-party haploidentical donor. He developed a putative pulmonary cGVHD which was never proven by pulmonary biopsy, and the respiratory insufficiency was mainly attributed to pulmonary opportunistic infections (*Aspergillus fumigatus*, atypical mycobacteria and *Pseudomonas aeruginosa*). Finally, a cumulative incidence of 10% GVHD observed in our study is consistent with other reports. Withers et al. (25) treated 50 patients with partially HLA-matched, third-party, *ex vivo*–expanded multi-virus VST. They observed that 2 patients developed *de novo* aGVHD (1 steroid-responsive grade II aGVHD and 1 steroid-refractory grade IV aGVHD) and 5 patients developed cGVHD (2 mild, 1 moderate, 1 severe cGVHD). In 2022, Jiang et al. (27) reported 2 grade III-IV aGVHD flare-ups, 2 *de novo* aGVHD (2 grade III, 1 grade IV) and 7 cGVHD (1 severe lung cGVHD, 1 severe gut, skin and liver cGVHD and 5 mild cGVHD) out of 30 treated patients who received HLA-matched, third-party VST within 7 days of initiating standard of-care antiviral treatment. Moreover, as mentioned above, two of three patients with GVHD reactivation experienced tapering of immunosuppressive drugs before VST infusion which could have allowed alloreactive T cells to increase into the recipient. Thus, discrimination between VST and immunosuppressive drug reduction in terms of the responsibility for GVHD reactivation is very difficult in this real-life study as it is in non-controlled prospective studies. The rates of SAE during the first months of follow-up were within the expectations in a severely immunocompromised population and mainly represented by infectious diseases as described previously (22–25,27,31,35,42).

In our study, the best ORR at 1 and 3 months were 56% and 62%, respectively. These results are consistent with the results reported in the literature, although they are in the low range. Of

note, we have reported, for the first time, a large cohort of patients (n=16) receiving VST generated by IFN- $\gamma$  immunomagnetic isolation from a haploidentical related donor different from the allo-SCT donor. From 2013 to 2023, using third-party haplo-identical donors for AdV, CMV and EBV replication/diseases, in prospective studies, ORR with VST generated by culture, were 64% - 95% (23–25,27,31). As only a few reports are currently available in the literature with VST generated by IFN- $\gamma$  immunomagnetic isolation from a haploidentical related donor different from the allo-SCT donor, the reported ORR of infusion with VST generated from the allo-SCT donor, namely 57%-86% (43–46) are close to what we found in our study. Furthermore, our team previously observed in a small prospective cohort an overall response in 5 of 6 patients (35). In our retrospective cohort, patients were heavily pre-treated for viral replication/infection as they had received a median of 50 days (range 21 - 300 days) of antiviral therapy before the initial VST infusion with a median of 2 lines (cidofovir then brincidofovir), 3 lines (ganciclovir, foscavir, cidofovir) and 1 line (rituximab) for AdV, CMV and EBV patients, respectively (Table 1, figure 6). Usually, in prospective clinical studies, inclusion criteria are stringent allowing 2 weeks of anti-viral treatment before concluding about its failure or toxicity. Then patients receive VST earlier in their viral infection progression. Although our results show that the ORR was not influenced by virus parameters or immunological microenvironment, our findings suggest that VST should be considered as soon as a patient experience a chemo-refractory viral infection following allo-SCT. Actually, we observed a strong impact on OS of a high viral load (>5 log), regardless of the implicated virus. The absence of identifying predictive factors modifying the ORR led us to strongly recommend that VST should be administrated early in the therapeutic process. As mentioned above, the current clinical trials are based on early VST administration. In 2022, Jiang et al. (27) reported the infusion of VST as first-line treatment and showed promising results.

Of note, continuation of corticosteroids at the time of VST transfer was not associated with a lower ORR. Those *in vivo* data confirmed our previous *in vitro* data showing that methylprednisolone, although delaying VST expansion, did not impair the IFN- $\gamma$  secretion capacity nor the cytotoxicity of VST (47). Moreover, ruxolitinib treatment has been described as a potential concern for patients presenting severe cytokine release syndrome (CRS) after CAR-T cell therapy as it has a profound inhibitory effect on CAR-T cell expansion *in vivo* and *in vitro* (48). Patients with myeloproliferative neoplasm and treated with ruxolitinib, presented low levels of CD4+ and CD8+ T-cells and clinically asymptomatic CMV and EBV reactivations (49). In our cohort, all 5 patients treated with ruxolitinib achieved a complete viral

response. Patient 15, treated for CMV replication, continuously received ruxolitinib during VST infusion and presented a positive CMV-specific immune reconstitution at least 3 months post-infusion. Unfortunately, we have no information on immune reconstitution for the other 4 patients.

Repeating infusions could be of interest to improve or maintain a specific immune response in the patient. Five patients received a second infusion of VST : three patients out of five presented a PR or a CR (patients 12, 8 and 15), after the second infusion of VST produced from the original allo-SCT donor (patients 12 and 15) or a haploidentical related donor (patient 8). The benefit of repeated VST infusions was recently reported in a young patient with AdV disease using VST generated from the allo-SCT donor (50) and in a cohort of 33 patients with EBV disease after allo-SCT using VST lines from a bank (29). In this latest study, there was an ORR of 45% after one cycle of VST infusion, while it was 68% after repeated cycles. HLA-disparate third party EBV-VST could persist for a long time, perhaps due to immunodepression in the recipient. This was also confirmed in the recently published phase II clinical trial with posoleucel, multi-virus (AdV, EBV, CMV, HHV6, BK virus and JC virus, Allovir, Waltham, USA) *off-the-shelf* T cells, where the persistence of circulating third-party VST for up to 12 weeks could be demonstrated in 11 of the 16 patients (69%), including the fact that 32% of the patients received 2 or more infusions (32).

As of 2023, 4 phase III clinical trials are currently ongoing, 3 experimenting with posoleucel and one experimenting with multi-virus (AdV, EBV, CMV) immunomagnetically isolated T cells from the alloSCT donor in a European multicentre academic trial in partnership with Miltenyi Biotec (31). All of them are double blind randomised controlled clinical trials. Indeed, this seems the only way to conclude both on efficacy of VST and on safety regarding GVHD. Moreover, tabelleucel from Atara Biotherapeutics has recently reached marketing authorisation. Compared with third-party donors from whom VST-banks are constituted, third-party intra-familial related donors ensure that half of the HLA class-I and -II alleles, whereas VST-banks might often match HLA-alleles on only two or more shared alleles (29). However, the phase II study investigating *off-the-shelf* multi-virus specific T-cells (posoleucel) presented no significant difference concerning efficacy between low HLA matching ( $\leq 2/8$ ) and high HLA matching ( $\geq 3/8$ ) (31). The type of virus must also be considered: in our study, among the 4 patients presenting with EBV disease, only one achieved a CR. EBV PTLD refractory to anti-CD20 immunotherapy and chemotherapy is prone to rapidly evolve, sometimes quicker than



the required expansion time after VST infusion. In this case, EBV-specific T-cells from a bank might be more adapted because already amplified when infused.

## **Conclusion**

In conclusion, this is a real-life study reporting a cohort of 29 patients treated with VST. It is also the largest cohort of patients receiving VST generated by IFN- $\gamma$  immunomagnetic isolation from a haploidentical related donor different from the allo-SCT donor. We report encouraging results but also, highlight the fact that results were probably impaired due to the significant delay between infection and VST infusion. Moreover, the fact that there was a significant impairment in OS when the viral load was  $\geq 5$  log should encourage physicians to use VST earlier in the course of viral infection. Since 2016, our centre has been the only national centre authorised to produce and infuse VST. In a practical vision, the production technique with CliniMACS is demanding in terms of time, staff and expertise. The recent evolution towards the CliniMACS Prodigy has allowed our team to reduce the workload, improve the quality of the results and better face the clinical demands for VST.

## **List of abbreviations**

*AdV: adenovirus*

*ATMP: Advanced Therapy Medicinal Products*

*Allo-SCT: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*

*ANSM: Agence Nationale de Sécurité du Médicament*

*CR: complete response*

*CMV: cytomegalovirus*

*CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse Events*

*D0: day 0*

*DSA: donor-specific anti-HLA antibodies*

*EBV: Epstein-Barr virus*

*GVHD: graft-versus-host disease*

*aGVHD: acute graft-versus-host disease*

*cGVHD: chronique graft-versus-host disease*

*HLH: hemophagocytic lymphohistiocytosis*

*IFN- $\gamma$ : interferon gamma*

*MUD: matched unrelated donor*

*MMUD: mismatched unrelated donor*

*MAC: myeloablative conditioning regimen*

*NMA: non myeloablative conditioning regimen*

*NR: non responder*

*ORR: overall response rate*

*OS: overall survival*

*PR: partial Response*

*PBMC: peripheric blood mononuclear cell*

*PTCy: post-transplant cyclophosphamide*

*PTLD: post-transplant lymphoproliferative disorder*

*PD: progressive disease*

*ROC: receiving operating characteristics*

*RIC: Reduced-intensity conditioning regimen*

*SAE: serious adverse events*

*SFGM-TC: Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire*

*SD: stable disease*

*TRM: toxicity related mortality*

*VST: virus-specific T cell*

## **Declarations**

### ***Consent for publication***

Not applicable.

### ***Availability of data and materials***

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### ***Competing interests***

The authors declare that they have no competing interests.

### ***Funding***

This real-life study received no funding.

### ***Authors' contributions***

E.H.L, N.P, M.D and D.B collected all data. E.H.L, M.D and D.B wrote the main manuscript text. E.H.L prepared all figures and M.D and D.B reviewed them. All authors reviewed the manuscript. M.D and D.B contributed equally to the work.

## **Acknowledgments**

The authors warmly thank all the technical staff of the Cell therapy unit from the Nancy University Hospital for VST production, including Jessica Morello and Mathilde Ollinger for performing functional quality controls. They also thank all the technical staff of the Cytometry Platform of the Nancy University Hospital.

## References

1. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Corbacioglu S, de la Cámara R, Dolstra H, et al. Impact of the SARS-CoV-2 pandemic on hematopoietic cell transplantation and cellular therapies in Europe 2020: a report from the EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant.* 2022 May;57(5):742–52.
2. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Basak GW, de la Cámara R, Corbacioglu S, et al. Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant.* 2021 Jul;56(7):1651–64.
3. Styczyński J, Tridello G, Koster L, Iacobelli S, van Biezen A, van der Werf S, et al. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant.* 2020 Jan;55(1):126–36.
4. Illiaquer M, Imbert-Marcille BM, Guillaume T, Planche L, Rimbart M, Bressollette-Bodin C, et al. Impact of stem cell graft on early viral infections and immune reconstitution after allogeneic transplantation in adults. *J Clin Virol.* 2017 Aug;93:30–6.
5. González-Vicent M, Verna M, Pochon C, Chandak A, Vainorius E, Brundage T, et al. Current practices in the management of adenovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in Europe: The AdVance study. *Eur J Haematol.* 2019 Mar;102(3):210–7.
6. Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, Engelhard D, Hirsch HH, Cordonnier C, et al. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis.* 2012 Dec;14(6):555–63.
7. Hiwarkar P, Kosulin K, Cesaro S, Mikulska M, Styczynski J, Wynn R, et al. Management of adenovirus infection in patients after haematopoietic stem cell transplantation: State-of-the-art and real-life current approach. *Reviews in Medical Virology.* 2018;28(3):e1980.
8. Hiwarkar P, Amrolia P, Sivaprakasam P, Lum SH, Doss H, O’Rafferty C, et al. Brincidofovir is highly efficacious in controlling adenoviremia in pediatric recipients of hematopoietic cell transplant. *Blood.* 2017 Apr 6;129(14):2033–7.
9. Chakrabarti S, Collingham K, Fegan C, Pillay D, Milligan D. Adenovirus infections following haematopoietic cell transplantation: is there a role for adoptive immunotherapy? *Bone Marrow Transplant.* 2000 Aug 1;26(3):305–7.
10. van Tol MJD, Kroes ACM, Schinkel J, Dinkelaar W, Claas ECJ, Jol-van der Zijde CM, et al. Adenovirus infection in paediatric stem cell transplant recipients: increased risk in young children with a delayed immune recovery. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Jul;36(1):39–50.
11. Feuchtinger T, Lang P, Handgretinger R. Adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma.* 2007 Feb;48(2):244–55.

12. Barron MA, Gao D, Springer KL, Patterson JA, Brunvand MW, McSweeney PA, et al. Relationship of reconstituted adaptive and innate cytomegalovirus (CMV)-specific immune responses with CMV viremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2009 Dec 15;49(12):1777–83.
13. Blyth E, Withers B, Clancy L, Gottlieb D. CMV-specific immune reconstitution following allogeneic stem cell transplantation. *Virulence*. 2016 Nov 16;7(8):967–80.
14. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Mohty M. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone Marrow Transplant*. 2020 Jan;55(1):25–39.
15. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, Engelhard D, de la Camara R, Cordonnier C, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016 Jul;101(7):803–11.
16. Riddell SR, Watanabe KS, Goodrich JM, Li CR, Agha ME, Greenberg PD. Restoration of Viral Immunity in Immunodeficient Humans by the Adoptive Transfer of T Cell Clones. *Science, New Series*. 1992;257(5067):238–41.
17. Papadopoulos EB, Ladanyi M, Emanuel D, Mackinnon S, Boulad F, Carabasi MH, et al. Infusions of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1994 Apr 28;330(17):1185–91.
18. Rooney CM, Smith CA, Ng CY, Loftin S, Li C, Krance RA, et al. Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr-virus-related lymphoproliferation. *Lancet*. 1995 Jan 7;345(8941):9–13.
19. Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, Lion T, Fuhrer M, Hamprecht K, et al. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2006 Jul;134(1):64–76.
20. Ottaviano G, Chiesa R, Feuchtinger T, Vickers MA, Dickinson A, Gennery AR, et al. Adoptive T Cell Therapy Strategies for Viral Infections in Patients Receiving Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Cells*. 2019 Jan 14;8(1):47.
21. Qian C, Wang Y, Reppel L, D’aveni M, Campidelli A, Decot V, et al. Viral-specific T-cell transfer from HSCT donor for the treatment of viral infections or diseases after HSCT. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Feb;53(2):114–22.
22. Uhlin M, Gertow J, Uzunel M, Okas M, Berglund S, Watz E, et al. Rapid salvage treatment with virus-specific T cells for therapy-resistant disease. *Clin Infect Dis*. 2012 Oct;55(8):1064–73.
23. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral

- infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013 Jun 27;121(26):5113–23.
24. Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, Leung K, Martinez CA, Ramos CA, et al. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 1;35(31):3547–57.
  25. Withers B, Blyth E, Clancy LE, Yong A, Fraser C, Burgess J, et al. Long-term control of recurrent or refractory viral infections after allogeneic HSCT with third-party virus-specific T cells. *Blood Adv*. 2017 Nov 14;1(24):2193–205.
  26. Kállay K, Kassa C, Réti M, Karászi É, Sinkó J, Goda V, et al. Early Experience With CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) System in Selection of Virus-specific T Cells From Third-party Donors for Pediatric Patients With Severe Viral Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunother*. 2018 Apr;41(3):158–63.
  27. Jiang W, Clancy LE, Avdic S, Sutrave G, Street J, Simms R, et al. Third-party CMV- and EBV-specific T-cells for first viral reactivation after allogeneic stem cell transplant. *Blood Adv*. 2022 Sep 13;6(17):4949–66.
  28. Prockop S, Doubrovina E, Suser S, Heller G, Barker J, Dahi P, et al. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplantation. *J Clin Invest*. 2020 Feb 3;130(2):733–47.
  29. Quach D, Lulla P, Rooney CM. Banking on virus-specific T-cells (VSTS) to fulfill the need for ‘off the shelf’ cell therapies. *Blood*. 2022 Dec 27;blood.2022016202.
  30. O’Reilly RJ, Prockop S, Hasan AN, Koehne G, Doubrovina E. Virus-specific T-cell banks for ‘off the shelf’ adoptive therapy of refractory infections. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Sep;51(9):1163–72.
  31. Pfeiffer T, Tzannou I, Wu M, Ramos C, Sasa G, Martinez C, et al. Posoleucel, an Allogeneic, Off-the-Shelf Multivirus-Specific T-Cell Therapy, for the Treatment of Refractory Viral Infections in the Post-HCT Setting. *Clin Cancer Res*. 2023 Jan 17;29(2):324–30.
  32. Koehne G, Hasan A, Doubrovina E, Prockop S, Tyler E, Wasilewski G, et al. Immunotherapy with Donor T Cells Sensitized with Overlapping Pentadecapeptides for Treatment of Persistent Cytomegalovirus Infection or Viremia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Sep;21(9):1663–78.
  33. Harris AC, Young R, Devine S, Hogan WJ, Ayuk F, Bunworasate U, et al. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jan;22(1):4–10.
  34. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in

- Chronic Graft-versusHost Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Mar;21(3):389-401.e1.
35. Qian C, Campidelli A, Wang Y, Cai H, Venard V, Jeulin H, et al. Curative or pre-emptive adenovirus-specific T cell transfer from matched unrelated or third party haploidentical donors after HSCT, including UCB transplantations: a successful phase I/II multicenter clinical trial. *J Hematol Oncol*. 2017 Dec;10(1):102.
  36. Aïssi-Rothé L, Decot V, Venard V, Jeulin H, Salmon A, Clement L, et al. Rapid generation of full clinical-grade human antiadenovirus cytotoxic T cells for adoptive immunotherapy. *J Immunother*. 2010 May;33(4):414–24.
  37. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. DEFINING THE INTENSITY OF CONDITIONING REGIMENS : working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Dec;15(12):1628–33.
  38. Feuchtinger T, Lang P, Hamprecht K, Schumm M, Greil J, Jahn G, et al. Isolation and expansion of human adenovirus-specific CD4+ and CD8+ T cells according to IFN- $\gamma$  secretion for adjuvant immunotherapy. *Experimental Hematology*. 2004;8.
  39. Brosterhus H, Brings S, Leyendeckers H, Manz RA, Miltenyi S, Radbruch A, et al. Enrichment and detection of live antigen-specific CD4(+) and CD8(+) T cells based on cytokine secretion. *Eur J Immunol*. 1999 Dec;29(12):4053–9.
  40. Campbell JDM. Detection and enrichment of antigen-specific CD4+ and CD8+ T cells based on cytokine secretion. *Methods*. 2003 Oct;31(2):150–9.
  41. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, Tauro S, McDonald D, Osman H, et al. Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med*. 2005 Aug 1;202(3):379–86.
  42. Rubinstein JD, Zhu X, Leemhuis T, Pham G, Ray L, Emberesh S, et al. Virus-specific T cells for adenovirus infection after stem cell transplantation are highly effective and class II HLA restricted. *Blood Adv*. 2021 Sep 2;5(17):3309–21.
  43. Icheva V, Kayser S, Wolff D, Tuve S, Kyzirakos C, Bethge W, et al. Adoptive transfer of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific T cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):39–48.
  44. Feucht J, Opherk K, Lang P, Kayser S, Hartl L, Bethge W, et al. Adoptive T-cell therapy with hexon-specific Th1 cells as a treatment of refractory adenovirus infection after HSCT. *Blood*. 2015 Mar 19;125(12):1986–94.
  45. Creidy R, Moshous D, Touzot F, Elie C, Neven B, Gabrion A, et al. Specific T cells for the treatment of cytomegalovirus and/or adenovirus in the context of hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Sep;138(3):920-924.e3.
  46. Feuchtinger T, Opherk K, Bethge WA, Topp MS, Schuster FR, Weissinger EM, et al. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory

cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*. 2010 Nov 18;116(20):4360–7.

47. Campidelli A, Qian C, Laroye C, Decot V, Reppel L, D’aveni M, et al. Adenovirus-specific T lymphocyte efficacy in the presence of methylprednisolone: An in vitro study. *Cytotherapy*. 2018 Apr;20(4):524–31.
48. Pan J, Deng B, Ling Z, Song W, Xu J, Duan J, et al. Ruxolitinib mitigates steroid-refractory CRS during CAR T therapy. *J Cell Mol Med*. 2021 Jan;25(2):1089–99.
49. Rumi E, Sant’Antonio E, Cavalloni C, Comolli G, Ferretti VV, Cassaniti I, et al. Impaired virus-specific T cell responses in patients with myeloproliferative neoplasms treated with ruxolitinib. *Hematological Oncology*. 2020;38(4):554–9.
50. Schultze-Florey RE, Tischer-Zimmermann S, Heuft HG, Priesner C, Lamottke B, Heim A, et al. Transfer of Hexon- and Penton-selected adenovirus-specific T cells for refractory adenovirus infection after haploidentical stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2020 Feb;22(1):e13201.

## Figures and legends.

### Figure 1: Flowchart of the population.

*From June 2016 to January 2022, 80 requests from 28 transplant centres were submitted to the SFGMTC ATMP-group. Among them, 50 requests were considered of interest. Unfortunately, 21 patients did not access to the treatment (no more indication, lack of donor, rapid evolution of infection).*

### Figure 2: VST functional assays.

*A. ELISpot IFN- $\gamma$  data was performed for 27 patients. Because of technical issues 2 patients had no evaluable data. The ability of VST to secrete IFN- $\gamma$  after expansion was significantly higher compared to unmanipulated donor PBMC.*

*B. Specific proliferation of VST was assessed by the stimulation index, a ratio between VST proliferation rate in presence of previous peptide pools compared to VST in presence of AB serum.*

*C. Alloreactivity of VST and unmanipulated donor PBMC was tested against different allogeneic PBMC. A significant decreased alloreactivity was observed with VST compared to unmanipulated donor PBMC.*

*D. D. A cytotoxicity assay, at a ratio of 10:1, testing VST against autologous target cells loaded or not by previous peptide pools, showed a significantly higher lysis activity of VST against loaded target cells.*



### Figure 3: Patient outcome.

A. ORR at one month and at 3 months, in the entire cohort.

B. ORR at one month according to the virus (AdV, CMV, EBV)

C. ORR at one month according to the VST-donor.

D. OS in the entire cohort

E. OS according to viral load.

### Figure 4: Antiviral therapy pre- and post-infusion.

Representation of the usage of curative antiviral therapy in every patient prior to infusion and post infusion.

### Figure 5: Evolution of viral loads.

A. Evolution of AdV viral load.

B. Evolution of CMV viral load.

C. Evolution of EBV viral load. Only patient 26 who died at D9 was not represented on graphs.

### Figure 6: Evolution of viral load correlated with immune reconstitution data.

Immune reconstitution was available in 7 patients (bars) with different techniques performed according to the technique at disposal in each centre: proliferative assay with the stimulation index (%) (A) and ELISpot IFN- $\gamma$  assay in Spot forming Cells/106 PBMC (B).

## Tables

Table 1: Patients' characteristics.

	AdV	CMV	EBV	ADV+CMV	Total
<b>Patients</b>	13	7	8	1	<b>29</b>
Adults	7	3	2	0	<b>12 (41%)</b>
Children (<18 years)	6	4	6	1	<b>17 (59%)</b>
<b>Sex (F/M)</b>	13/0	3/4	5/2	0/1	<b>21/8</b>
<b>Age (years) [min-max]</b>	32 [1-67]	2 [0,6-68]	13 [1-40]	5	<b>14 [0,6-68]</b>
<b>Initial disease (n)</b>					
Primary immunodeficiency	4	3	3	0	<b>11</b>
Blackfan-Diamond anemia	0	0	0	1	<b>1</b>
Dyskeratosis congenita	0	1	0	0	<b>1</b>
Idiopathic aplastic anemia	0	0	1	0	<b>1</b>
Sickle cell disease	1	0	0	0	<b>1</b>
Acute myeloid leukaemia	3	1	1	0	<b>5</b>
Acute lymphoid leukaemia	1	1	1	0	<b>3</b>
Myelodysplastic syndrom	1	1	1	0	<b>3</b>
Chronic myeloid leukaemia	1	0	0	0	<b>1</b>
Richter's syndrome	1	0	0	0	<b>1</b>
Adult-T cell lymphoma	1	0	0	0	<b>1</b>
<b>Graft source</b>					
BM	7	2	2	1	<b>12 (41.4%)</b>
PBSC	5	4	5	0	<b>14 (48.3%)</b>
CBU	1	1	1	0	<b>3 (10.3%)</b>
<b>Graft donor</b>					
MSD	1	1	1	0	<b>3 (10%)</b>
Unrelated donors	6	2	4	1	<b>14 (48%)</b>

MUD 10/10	5	2	4	1	<b>12</b>
MMUD 9/10	1	0	0	0	<b>1</b>
MMUD ( $\leq 8/10$ )	0	0	1	0	<b>1</b>
Haploidentical donors	5	3	1	0	<b>9 (31%)</b>
CBU	1	1	1	0	<b>3 (10%)</b>
<b>Conditioning regimen</b>					
Myeloablative	2	2	2	0	<b>6 (21%)</b>
Reduced-intensity conditioning	9	1	4	0	<b>14 (48%)</b>
Non-myeloablative	2	3	2	1	<b>8 (28%)</b>
<b>T-cell depletion <i>ex vivo</i></b> (T-depleted graft)	0	1	1	0	<b>2</b>
<b>T-cell depletion <i>in vivo</i> *</b>					
Anti-thymocyte globulin (ATG)	8	4	5	0	<b>17 (59%)</b>
Cyclophosphamide	5	2	0	0	<b>7</b>
Alemtuzumab	2	1	3	1	<b>7</b>
<b>Median time between allo-SCT and infection (days) [min-max]</b>	46 [3-1372]	31 [0-130]	64.5 [13-163]	18	<b>50 [21-300]</b>
<b>GVH disease prophylaxis</b>					
Ciclosporin A + MMF	7	5	5	0	<b>17 (59%)</b>
Ciclosporin alone	6	1	2	1	<b>10</b>
None	0	1	1	0	<b>2</b>
<b>GVHD before VST</b>	8	2	1	0	<b>11 (38%)</b>
Acute GVHD grade I-II	1	1	0	0	<b>2</b>
Acute GVHD grade III-IV	7	1	1	0	<b>9</b>
<b>Ruxolitinib before VST</b>	2	1	1	0	<b>4</b>
<b>Median lines of anti-viral therapy before VST [min-max] †</b>	2 [1-3]	3 [2-4]	1 [0-5]	2	<b>2 [0-5]</b>
<b>Viral status (n. of replication/disease)</b>	10/3	2/5	4/4	1/0	<b>17/12</b>
<b>Mean viral load at D0 (log) (<math>\pm</math>SD)</b>	4.88 ( $\pm$ 1.79)	3.64 ( $\pm$ 1.14)	4.06 ( $\pm$ 1.07)	ADV 5.05 / CMV 3.99	<b>4.34 (<math>\pm</math>1.47)</b>
<b>VST origin</b>					
Graft donor	8	3	2	0	<b>13 (45%)</b>
Third-party donor	5	4	6	1	<b>16 (55%)</b>
<b>Median time between infection and VST infusion [min-max]</b>	39 [25;89]	85[45;216]	52[21;300]	53	<b>50 [21;300]</b>
<b>Mean infused CD3+T-cells (<math>10^4</math>/kg) (<math>\pm</math>SD) ‡</b>	0.42 $\pm$ 0.35	3.29 $\pm$ 5.06	0.84 $\pm$ 0.43	0.5 $\pm$ 0.02	<b>1.43 (<math>\pm</math> 3.06)</b>

Abbreviations: AdV: adenovirus; BM: bone marrow; CBU: cord blood unit; CMV: cytomegalovirus; EBV: Epstein Barr virus; F/M: female/male; MMF: mycophenolate mofetil; MMUD: mismatched unrelated donor; MSD: matched sibling donor; MUD: matched unrelated donor; PBSC: peripheral blood stem cells, SD: standard deviation.

\*28 patients received a T-depletion post-allo-SCT (patient 6 and 7 received an *ex vivo* T-depleted graft). Among these 28 patients, patient 6 (AdV-VST) received both Alemtuzumab and Cyclophosphamide (haploidentical donor), patient 3 (AdV-VST) and patient 18 (CMV-VST) received both ATG and Cyclophosphamide because of a FLAMSA-RIC conditioning regimen and a haploidentical donor, respectively. Before infusion, 11 patients were treated for aGVHD (grade I-II n=2, grade III-IV n=9) with corticosteroids and patients received ruxolitinib.

†: one patient (patient 25) received an allo-SCT as a curative treatment for a chronic Aichi virus infection with renal failure secondary to Bruton's agammaglobulinemia. He was not treated with Rituximab before EBV-VST because the B-cell depletion for EBV replication would have delayed the immune reconstitution necessary to control the Aichi virus.

‡: Taking into account 34 infusions.

### Additional files.

Additional file 1.pdf.

Titles :

Supplementary table 1: Biological and clinical outcome data for responders.

Supplementary table 2 : Biological and clinical outcome data for non-responders.

Additional file 2.pdf

Title : Table 1: Patients' characteristics.

**Supplementary table 1: Biological and clinical outcome data for responders.**

Pt.	Virus type status	Best response at 1 and 3 mo.	Viral load at D0 (log)	Time between infection and D0	VST donor origin / HLA compatibility	CD3+T-cells infused (x 10 <sup>4</sup> cells/kg)	Number of infusions	Monitored immune reconstitution (Yes/No/NA)	Immuno suppression modulation before D0	Viral load clearance or decrease (days)	Concomitant administration of antiviral therapy	Immunosuppression from D0	GVHD status	Status during follow-up period, cause of death (days from HSCT)
5*	AdV	CR	3.11	16	Haploidentical 5/10	0.270	1	Yes	-	15	Cidofovir D30	CsA + corticosteroids +Ruxolitinib	No	TRM D174
6*	AdV	CR	4	39	Original donor 5/10	0.592	1	NA	-	20	Cidofovir D15	CsA alone	No	Alive
9*	AdV	CR	3.2	17	Haploidentical 5/10	0.041	1	Yes	-	15	Brincidofovir at D0 and D15	MMF alone	De novo aGVHD skin grade I-II D32	Alive
10*	AdV	PR/CR	7.6	44	Haploidentical 5/10	0.516	1	NA	-	75	Brincidofovir at D0, D15, D30	CsA + MMF + corticosteroids then corticosteroids alone from M1	Pre-existing aGVHD (gut stage 1 and skin stage 1) grade II, reactivation at D15	TRM D126
11*	AdV	CR	3.42	66	Haploidentical 5/10	0.945	1	Yes	-	15	None	CsA + Corticosteroids	Preexisting a GVHD and reactivation at D75	Alive
12	AdV disease	PR	8.34	32	Original donor 5/10	0.082	2	NA	-	15	Brincidofovir every 2 weeks from D0	Corticosteroids then Ruxolitinib from D45	aGVHD flare-up (gut grade III then IV)	TRM D153
14	AdV	PR/CR	5.1	10	Original donor Sibling	0.056	1	Yes	-	45	Brincidofovir at D0	Corticosteroids then Sirolimus from D15	No	Alive
16	AdV	PR/CR	4.63	43	Original donor 5/10	0.449	1	NA	Ruxolitinib discontinuation	60	None	None	No	Alive
19	AdV	CR	5.5	86	Original donor 5/10	0.17	1	Yes	-	15	None	Corticosteroids + Ruxolitinib then corticosteroids alone from D15	aGVHD	Alive
22*	AdV	PR/CR	5.05	32	Haploidentical 5/10	0.148	1	Yes	CsA discontinuation	45	Cidofovir at D30	Corticosteroids alone then CsA from D15	No	TRM D106
4	CMV	CR	2.5	85	Original donor 10/10	4.33	1	NA	-	15	Cidofovir from D0	Corticosteroids	No	BK virus haemorrhagic cystitis D225

8*	CMV disease	CR	3.9	19	Haploidentical 5/10	0.996	2	NA	-	15	Foscavir + Ganciclovir then Foscavir alone	None	aGVHD grade II at D0, reactivated at D75	Septic shock D449
15*	CMV	PR/CR	4.5	87	Original donor 5/10	0.941	2	NA	-	60	Valganciclovir from D30 to D60	Ruxolitinib + corticosteroids at D0 then Ruxolitinib alone from D15 until D90	No	Alive
18	CMV disease	CR	2.5	246	Original donor 5/10	0.992	1	NA	-	30	Maribavir then Letemovir from D75	None	No	Alive
21	EBV	NR/CR	4.1	60	Haploidentical 5/10	0.478	1	NA	-	90	None	CsA + Ruxolitinib + corticosteroids	aGVHD gut stage I at D15 then D90	TRM D249
23*	EBV	CR	3.75	30	Haploidentical 5/10	0.962	1	NA	MMF discontinuation	15	None	CsA	No	Alive
25*	EBV	NR/CR	4.6	21	Original donor 5/10	0.942	1	NA	-	60	None	None	No	Alive
27*	EBV disease	CR	4.6	66	Haploidentical 5/10	0.523	1	NA	-	19	None	None	No	Alive
29	EBV	NR/CR	5	37	Haploidentical 5/10	0.490	1	NA	CsA tapering	60	None	CsA	De novo grade I aGVHD at D45	TRM D305

Abbreviations: Pt : patient, TRM : toxicity-related mortality, Cs : cyclosporine A, MMF: mycophenolate mofetil. NA: not available. Mo.: month. When not specified, status stands for “replication”. Pediatric patients are noted with a \*.

**Supplementary table 2: Biological and clinical outcome data for non-responders**

Pt.	Virus type and status	Best response at 1 and 3 mo.	Viral load at D0 (log)	Time between infection and D0	VSTs donor origin and HLA compatibility	CD3+T-cells infused (cells/kg)	Number of infusions	Monitored immune reconstitution (Yes/No/ NA)	Immuno suppression modulation before D0	Viral load clearance or decrease (days)	Concomitant administration of antiviral therapy	Immunosuppression from D0	GVHD status	Status during follow-up period, cause of death (days from HSCT)
3	AdV disease	NR	3,24	56	Original donor 9/10	0,254	1	Yes	Corticosteroids reduction	No / Death at D75	Brincidofovir 2x100mg weekly from D15	Corticosteroids	aGVHD flare-up grade III D37	TRM D142
1	AdV disease	Death <M1	7	15	Original donor 5/10	0,252	1	No	No	Viral load 5,96 at D15	Cidofovir + Brincidofovir + Ribavirin at D0	Corticosteroids at D0 then none	No	Initial virus D79
26	AdV	Death <M1	5,05	53	Haploidentical 5/10	0,518		No	Discontinuation of corticosteroids	Death at D15	None	None	No	Initial virus D81
28*	AdV	Death <M1		89	Original donor 10/10	0,797		No	Discontinuation of ciclosporin	NA	None	None	No	Initial virus D207
7*	CMV disease	NR	4,3	72	Haploidentical 5/10	1,008	2	No	No	No / Death at D74	Foscavir + Ganciclovir from D0 to D30 then nothing until death	None	No	Initial virus D131
17	CMV disease	Death <M1	5,3	198	Haploidentical 5/10	1,025		No	No	Viral load at 6,1 at D15	None	None	No	Initial virus D260
26	CMV	Death <M1	3,99	53	Haploidentical 5/10	0,482		No	Discontinuation of corticosteroids	Death at D15	None	None	No	Initial virus D81
24*	CMV disease	NR	2,5	50	Haploidentical 5/10	1,033	2	Yes	No	No	Ganciclovir until the 2 <sup>nd</sup> infusion, then Letermovir	CsA from D0, doses reduction from D45 and nothing by D75	No	Alive
2*	EBV disease	NR	2,46	175	Original donor Sibling	1,63	1	NA	Corticosteroids reduction	No / Death at D56	Acyclovir	CsA + corticosteroids, Tocilizumab D15 + Etoposide + Revlimid + Corticosteroids + Asparaginase + Daratumumab D30 + Erwiniase at D45	No	Initial virus D154

13*	EBV disease	NR	5,4	310	Haploidentical 5/10	0,889	1	No	No	No Death at D30	/	Cidofovir from D15 to D30	None, corticosteroids at D30	then	No	Initial virus D489
20*	EBV disease	NR	2,6	44	Haploidentical 5/10	0,268	1	Yes	No	No		NA	CsA + MMF from D0 to D30 then CsA alone		No	Alive

Abbreviations : Pt : patient, TRM : toxicity-related mortality, CsA : cyclosporine A, MMF : mycophenolate mofetil. NA : not available. Mo. : month. NR : not responder. When not specified, status stands for “replication”.

Pediatric patients are represented with a \*.

## IV. LEGENDES des TABLEAUX et FIGURES

### Table 1 : Patients' characteristics.

Abbreviations: AdV: adenovirus; BM: bone marrow; CBU: cord blood unit; CMV: cytomegalovirus; EBV: Epstein Barr virus; F/M: female/male; MMF: mycophenolate mofetil; MMUD: mismatched unrelated donor; MSD: matched sibling donor; MUD: matched unrelated donor; PBSC: peripheral blood stem cells, SD: standard deviation.

\*28 patients received a T-depletion post-allo-SCT (patient 6 and 7 received an ex vivo T-depleted graft). Among these 28 patients, patient 6 (AdV-VST) received both Alemtuzumab and Cyclophosphamide (haploidentical donor), patient 3 (AdV-VST) and patient 18 (CMV-VST) received both ATG and Cyclophosphamide because of a FLAMSA-RIC conditioning regimen and a haploidentical donor, respectively. Before infusion, 11 patients were treated for aGVHD (grade I-II n=2, grade III-IV n=9) with corticosteroids and patients received ruxolitinib.

†: one patient (patient 25) received an allo-SCT as a curative treatment for a chronic Aichi virus infection with renal failure secondary to Bruton's agammaglobulinemia. He was not treated with Rituximab before EBV-VST because the B-cell depletion for EBV replication would have delayed the immune reconstitution necessary to control the Aichi virus.

‡: Taking into account 34 infusions.

### Table 2 : Serious adverse events within 3-months follow-up (D0) (n=29).

†Contributed to death.

Abbreviations: D: day, HLH : hemophagocytic lymphohistiocytosis, M: month.

Two patients (patient 12 and 3) developed a recurrent grade III-IV acute GVHD. Patient 12 received VST from the original graft donor with HLA compatibility of 9/10 and a dose of  $0.107 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg, which is 10% of the allowed dose. Patient 3 received 2 VST infusions from the original haplo-identical donor. The total dose infused was  $0.254 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg (10% of the allowed dose). In both cases, aGVHD was confirmed on digestive tissue biopsies, with no evidence of AdV or CMV infection. These two GVHD recurrences were refractory to steroids and ruxolitinib/etanercept treatments. Patient 3 experienced corticosteroid reduction before VST infusion. Regarding patient 29, the only one who was suspected to suffer from a de novo severe chronic pulmonary GVHD at day +45 post-infusion, he experienced cyclosporin tapering before receiving a VST infusion of  $0.547 \times 10^4$  CD3+ T-cells /kg from a third-party intra-familial related donor. He presented respiratory symptoms at D45 post-infusion, with prompt resolution after systemic corticosteroids. Unfortunately, he developed serial severe pulmonary infections (*Aspergillus fumigatus*, atypical mycobacterium and *Pseudomonas aeruginosa*), and was treated by adapted antibiotherapy and amphotericine B causing acute renal failure. His condition worsened with pulmonary embolism leading to the decision to provide only supportive cares. Patients 5,7,21 and 22 presented with fever and were treated with probabilistic antibiotherapy.

### Table 3 : Causes of deaths in the 24-months post-infusion.

Abbreviations : aGVHD : acute GVHD, cGVHD : chronic GVHD, D : day, HLH : hemophagocytic lymphohistiocytosis.

Table 4 : Factors influencing response at 1-month.

Abbreviations : ATG: anti-thymocyte globulin, NA : not available.

\* patient 6 (AdV-VST) received both Alemtuzumab and Cyclophosphamide (haploidentical donor), patient 3 (AdV-VST) and patient 18 (CMV-VST) received both ATG and Cyclophosphamide.

† for one non-reponder patient (patient 20) the presence or absence of antiviral therapy is unknown.

Figure 1: Flowchart of the population.

From June 2016 to January 2022, 80 requests from 28 transplant centres were submitted to the SFGM-TC ATMP-group. Among them, 50 requests were considered of interest. Unfortunately, 21 patients did not access to the treatment (no more indication, lack of donor, rapid evolution of infection).



Figure 2: VST functional assays.

- A. ELISpot IFN- $\gamma$  data was performed for 27 patients. Because of technical issues 2 patients had no evaluable data. The ability of VST to secrete IFN- $\gamma$  after expansion was significantly higher compared to unmanipulated donor PBMC.
- B. Specific proliferation of VST was assessed by the stimulation index, a ratio between VST proliferation rate in presence of previous peptide pools compared to VST in presence of AB serum.
- C. Alloreactivity of VST and unmanipulated donor PBMC was tested against different allogeneic PBMC. A significant decreased alloreactivity was observed with VST compared to unmanipulated donor PBMC.
- D. A cytotoxicity assay, at a ratio of 10:1, testing VST against autologous target cells loaded or not by previous peptide pools, showed a significantly higher lysis activity of VST against loaded target cells.

Figure 3: Patient outcome.

- A. ORR at one month and at 3 months, in the entire cohort.
- B. ORR at one month according to the virus (AdV, CMV, EBV)
- C. ORR at one month according to the VST-donor.
- D. OS in the entire cohort
- E. OS according to viral load.

Figure 4: Antiviral therapy pre- and post-infusion.

Representation of the usage of curative antiviral therapy in every patient prior to infusion and post infusion.

Figure 5: Evolution of viral loads.

- A. Evolution of AdV viral load.
- B. Evolution of CMV viral load.
- C. Evolution of EBV viral load. Only patient 26 who died at D9 was not represented on graphs.

Figure 6: Evolution of viral load correlated with immune reconstitution data.

Immune reconstitution was available in 7 patients (bars) with different techniques performed according to the technique at disposal in each centre: proliferative assay with the stimulation index (%) (A) and ELISpot IFN- $\gamma$  assay in Spot forming Cells/10<sup>6</sup> PBMC (B).

## V. TABLEAUX et FIGURES

**Table 1**

	AdV	CMV	EBV	ADV+CMV	Total
<b>Patients</b>	13	7	8	1	<b>29</b>
Adults	7	3	2	0	<b>12 (41%)</b>
Children (<18 years)	6	4	6	1	<b>17 (59%)</b>
<b>Sex (F/M)</b>	13/0	3/4	5/2	0/1	<b>21/8</b>
<b>Age (years) [min-max]</b>	32 [1-67]	2 [0,6-68]	13 [1-40]	5	<b>14 [0,6-68]</b>
<b>Initial disease (n)</b>					
Primary immunodeficiency	4	3	3	0	<b>11</b>
Blackfan-Diamond anemia	0	0	0	1	<b>1</b>
Dyskeratosis congenita	0	1	0	0	<b>1</b>
Idiopathic aplastic anemia	0	0	1	0	<b>1</b>
Sickle cell disease	1	0	0	0	<b>1</b>
Acute myeloid leukaemia	3	1	1	0	<b>5</b>
Acute lymphoid leukaemia	1	1	1	0	<b>3</b>
Myelodysplastic syndrom	1	1	1	0	<b>3</b>
Chronic myeloid leukaemia	1	0	0	0	<b>1</b>
Richter's syndrome	1	0	0	0	<b>1</b>
Adult-T cell lymphoma	1	0	0	0	<b>1</b>
<b>Graft source</b>					
BM	7	2	2	1	<b>12 (41.4%)</b>
PBSC	5	4	5	0	<b>14 (48.3%)</b>
CBU	1	1	1	0	<b>3 (10.3%)</b>
<b>Graft donor</b>					
MSD	1	1	1	0	<b>3 (10%)</b>
Unrelated donors	6	2	4	1	<b>14 (48%)</b>
MUD 10/10	5	2	4	1	<b>12</b>
MMUD 9/10	1	0	0	0	<b>1</b>
MMUD ( $\leq 8/10$ )	0	0	1	0	<b>1</b>
Haploidentical donors	5	3	1	0	<b>9 (31%)</b>
CBU	1	1	1	0	<b>3 (10%)</b>
<b>Conditioning regimen</b>					
Myeloablative	2	2	2	0	<b>6 (21%)</b>
Reduced-intensity conditioning	9	1	4	0	<b>14 (48%)</b>
Non-myeloablative	2	3	2	1	<b>8 (28%)</b>
<b>T-cell depletion <i>ex vivo</i> (T-depleted graft)</b>	0	1	1	0	<b>2</b>
<b>T-cell depletion <i>in vivo</i> *</b>					
Anti-thymocyte globulin (ATG)	8	4	5	0	<b>17 (59%)</b>
Cyclophosphamide	5	2	0	0	<b>7</b>
Alemtuzumab	2	1	3	1	<b>7</b>
<b>Median time between allo-SCT and infection (days) [min-max]</b>	46 [3-1372]	31 [0-130]	64.5 [13-163]	18	<b>50 [21-300]</b>
<b>GVH disease prophylaxis</b>					
Ciclosporin A + MMF	7	5	5	0	<b>17 (59%)</b>
Ciclosporin alone	6	1	2	1	<b>10</b>
None	0	1	1	0	<b>2</b>
<b>GVHD before VST</b>	8	2	1	0	<b>11 (38%)</b>
Acute GVHD grade I-II	1	1	0	0	<b>2</b>
Acute GVHD grade III-IV	7	1	1	0	<b>9</b>
<b>Ruxolitinib before VST</b>	2	1	1	0	<b>4</b>
<b>Median lines of anti-viral therapy before VST [min-max] †</b>	2 [1-3]	3 [2-4]	1 [0-5]	2	<b>2 [0-5]</b>
<b>Viral status (n. of replication/disease)</b>	10/3	2/5	4/4	1/0	<b>17/12</b>
<b>Mean viral load at D0 (log) (<math>\pm</math>SD)</b>	4.88 ( $\pm$ 1.79)	3.64 ( $\pm$ 1.14)	4.06 ( $\pm$ 1.07)	ADV 5.05 / CMV 3.99	<b>4.34 (<math>\pm</math>1.47)</b>
<b>VST origin</b>					
Graft donor	8	3	2	0	<b>13 (45%)</b>
Third-party donor	5	4	6	1	<b>16 (55%)</b>

<b>Median time between infection and VST infusion [min-max]</b>	39 [25;89]	85[45;216]	52[21;300]	53	<b>50 [21;300]</b>
<b>Mean infused CD3+T-cells (10<sup>4</sup>/kg) (±SD) ‡</b>	0.42 ±0.35	3.29 ±5.06	0.84 ±0.43	0.5 ±0.02	<b>1.43 (± 3.06)</b>

**Table 2**

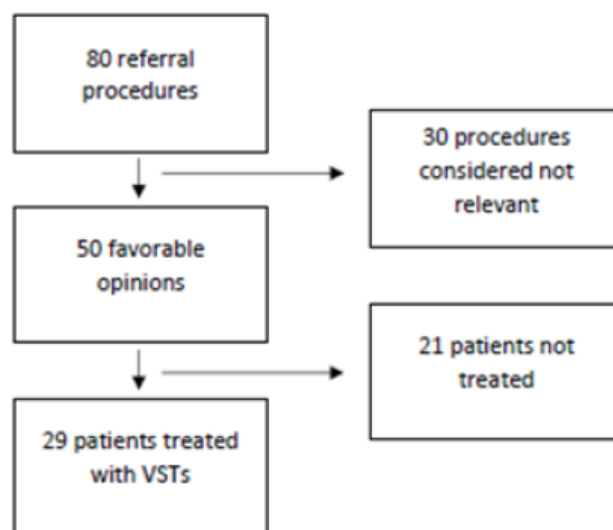
Event	Patient	Time post-first VST infusion (days)
<b>Infectious aetiologies</b>		
<b>Initial viral replication/disease</b>		
HLH triggered by EBV disease†	2	D7
Massive digestive haemorrhage attributed to AdV infection†	5	D15
<b>Bacterial infection</b>		
<i>Enterococcus faecium</i> sepsis	1	D8
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> sepsis	10	D30
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> pyelonephritis	11	D7
Putative bacterial/fungal infection	5	<M1
Undocumented fever	7	<M1
Putative bacterial infection	21	D24
Putative fungal infection†	22	<M1
<b>Other viral infection</b>		
BK virus haemorrhagic cystitis†	4	D15
<b>GVHD</b>		
aGVHD flare-up grade III†	3	D37
aGVHD flare-up grade III†	12	D27
Severe chronic pulmonary GVHD†	29	D45
<b>Other causes</b>		
Hepatorenal syndrome with refractory ascites†	10	D70
Pulmonary alveolar haemorrhage†	22	D54
Hypotension and laryngeal spasm with oedema 15 minutes after infusion	4	D0

**Table 3**

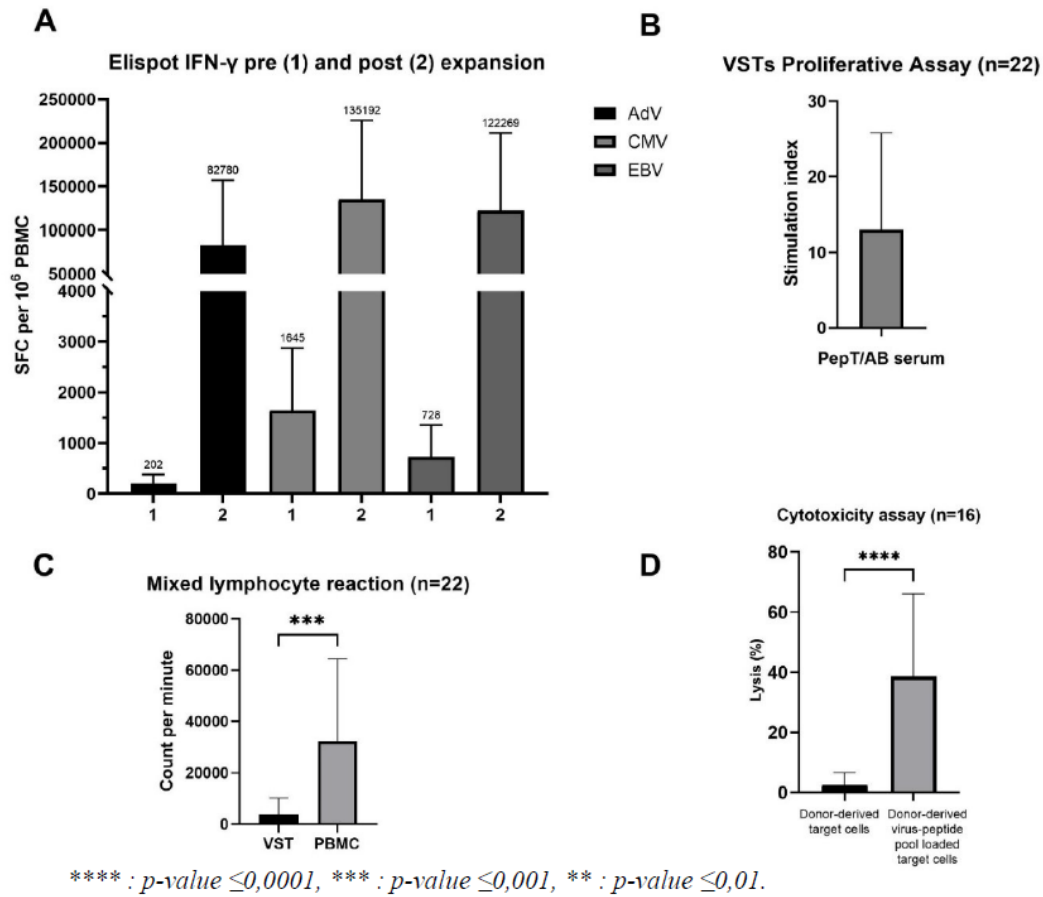
Cause of death	Patient	Time of death post VST infusion (days)
<b>Infectious</b>		
<i>Initial viral infection</i>		
Progressive AdV infection	1	D8
Progressive AdV infection	5	D74
Progressive AdV infection	28	D16
Progressive CMV infection	7	D71
Progressive CMV infection	17	D16
Progressive AdV and CMV infection	26	D9
Progressive EBV infection	13	D20
HLH triggered by EBV disease	2	D53
<i>Bacterial infection</i>		
Septic shock secondary to catheter-related infection	8	D177
<i>Other viral infection</i>		
BK virus haemorrhagic cystitis	4	D91
<b>Other causes</b>		
Progressive aGVHD	3	D54
Progressive aGVHD	12	D116
Pulmonary cGVHD	29	D228
Hepatic and renal failure	10	D78
Pulmonary alveolar haemorrhage	22	D52
Not precised	21	D116
Hepato-pulmonary syndrome linked to initial telomeropathy	24	D616

**Table 4**

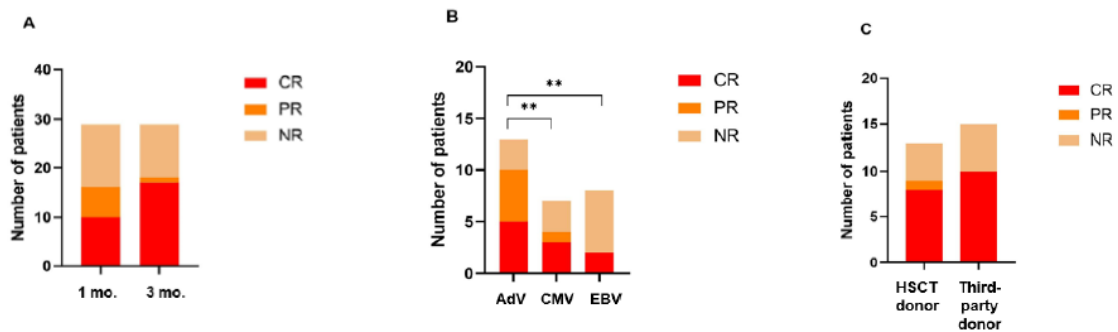
	CR/PR (n)	NR (n)	P value
<b>VST donor type</b>			0,415
<i>Original donor</i>	8	5	
<i>Third-party haploidentical</i>	8	8	
<b>Prior T-depletion <i>in vivo</i></b>			1,000
<i>ATG</i>	11	6	
<i>Cyclophosphamide</i>	5*	2	
<i>Alemtuzumab</i>	2*	5	
<b>Ruxolitinib</b>	3	1	NA
<b>Antiviral treatment†</b>			0,412
<i>Curative</i>	9	4	
<i>Prophylactic</i>	2	2	
<i>None</i>	5	6	
<b>Modulation of immunosuppression</b>			0,626
Yes	3	5	
No	13	8	

**Figure 1**

**Figure 2**



**Figure 3**



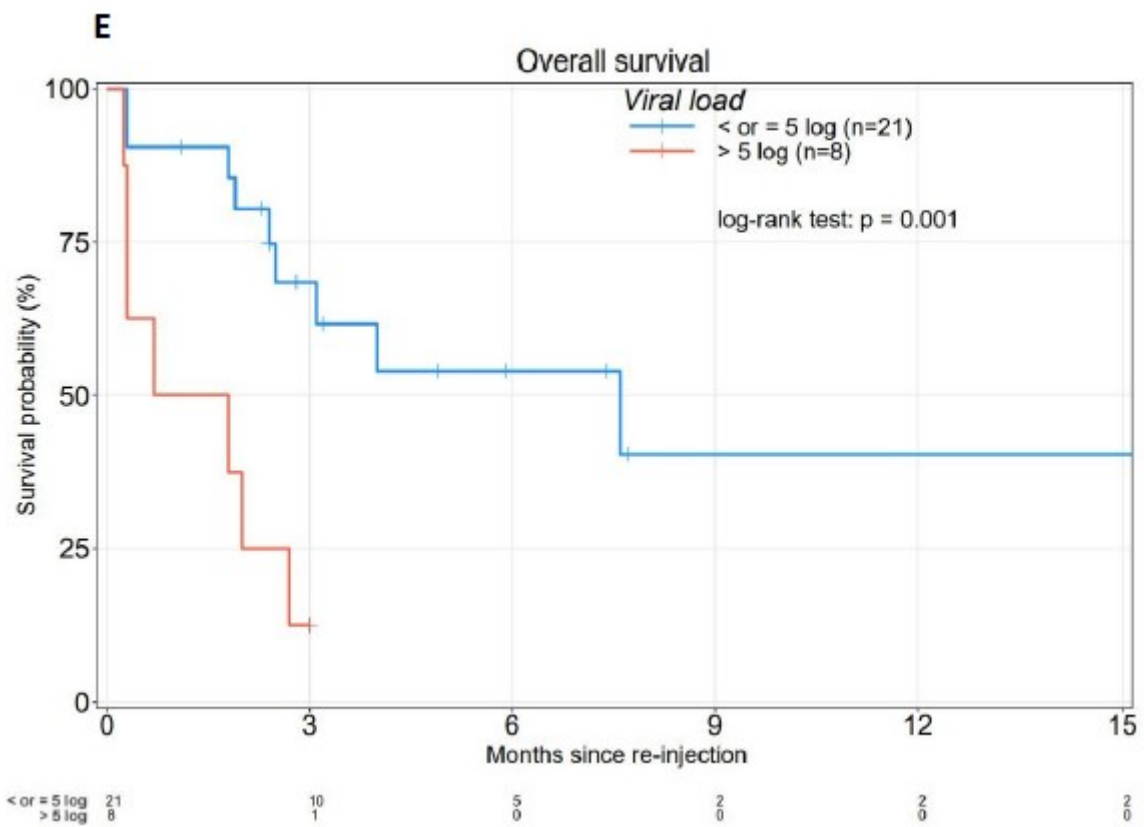
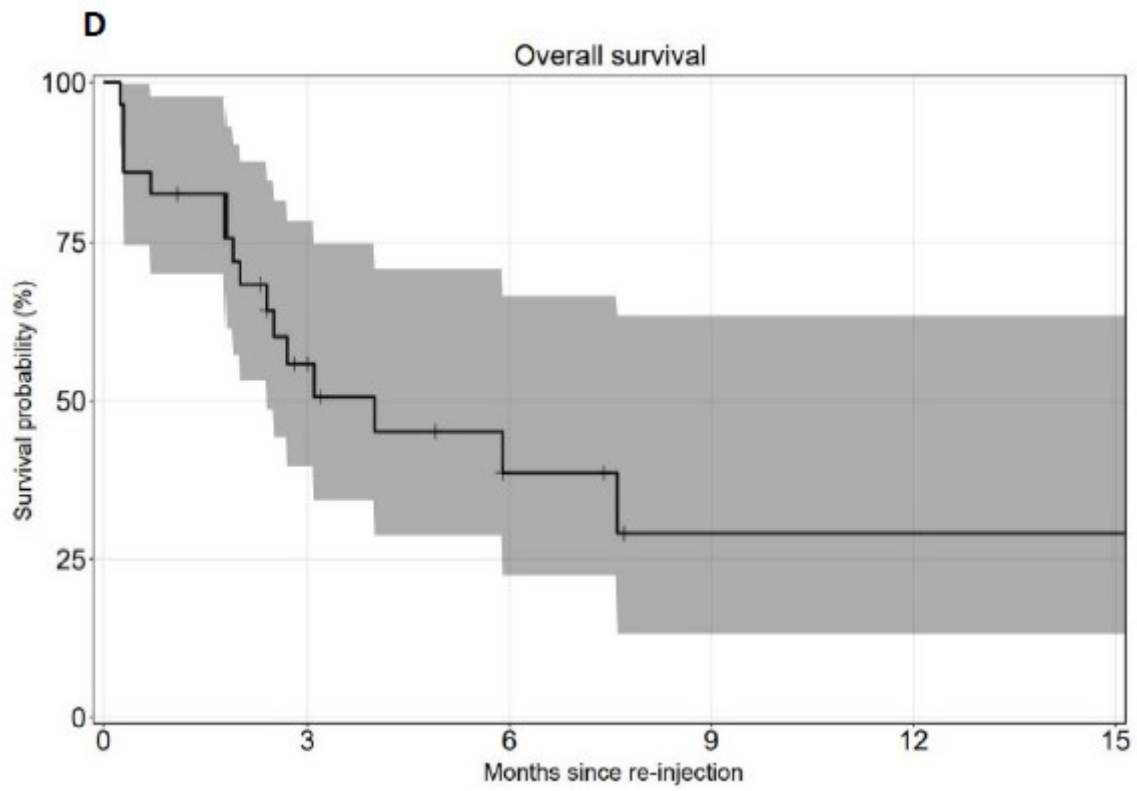
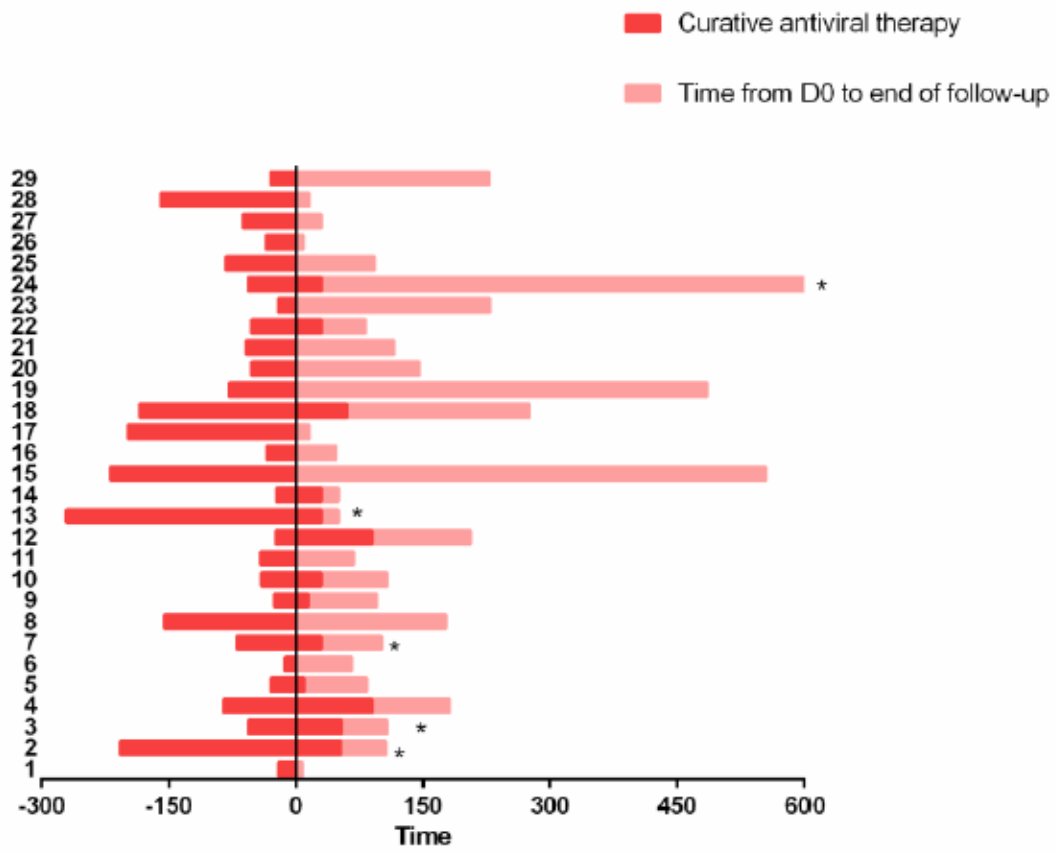


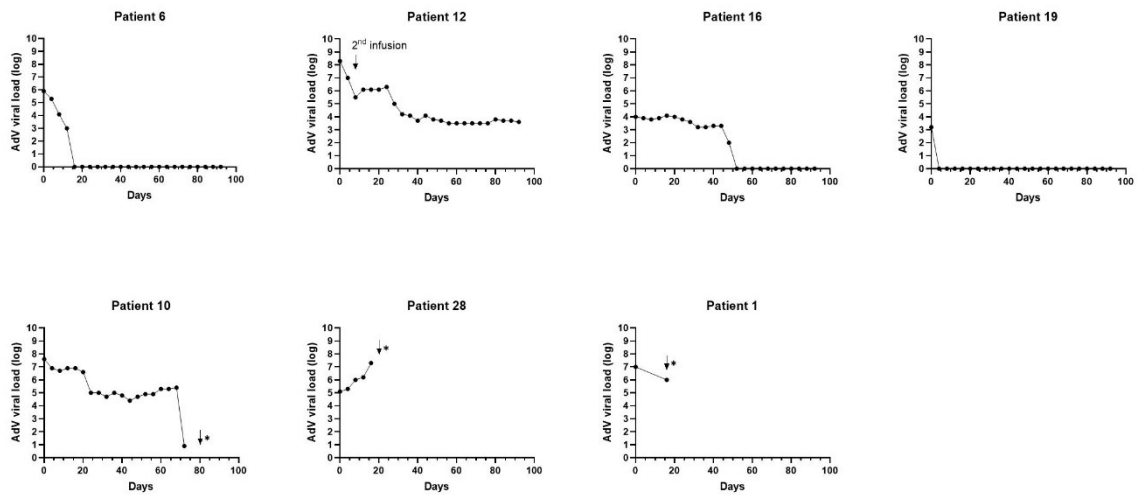
Figure 4



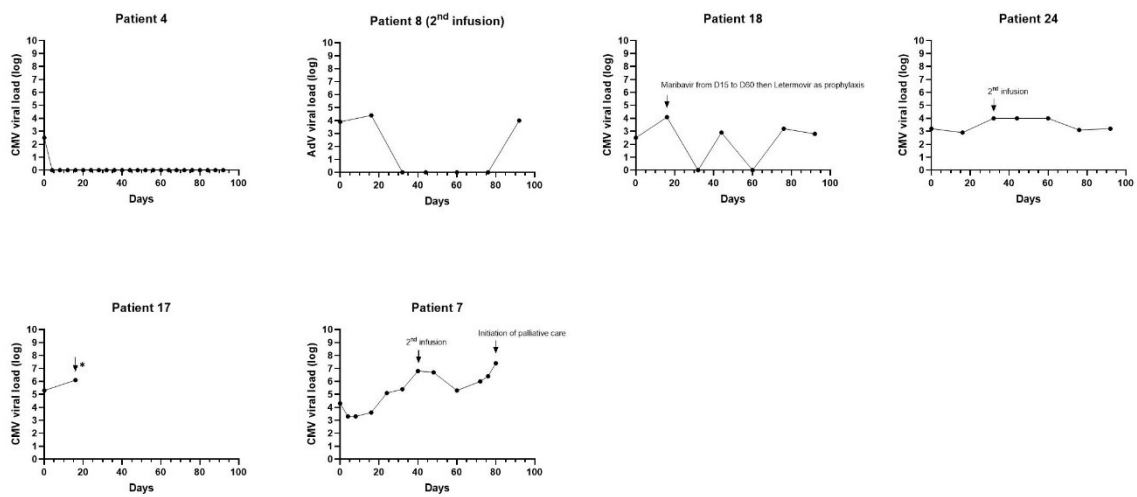
\* : patients who are non-responders but who received a curative antiviral therapy.

Figure 5

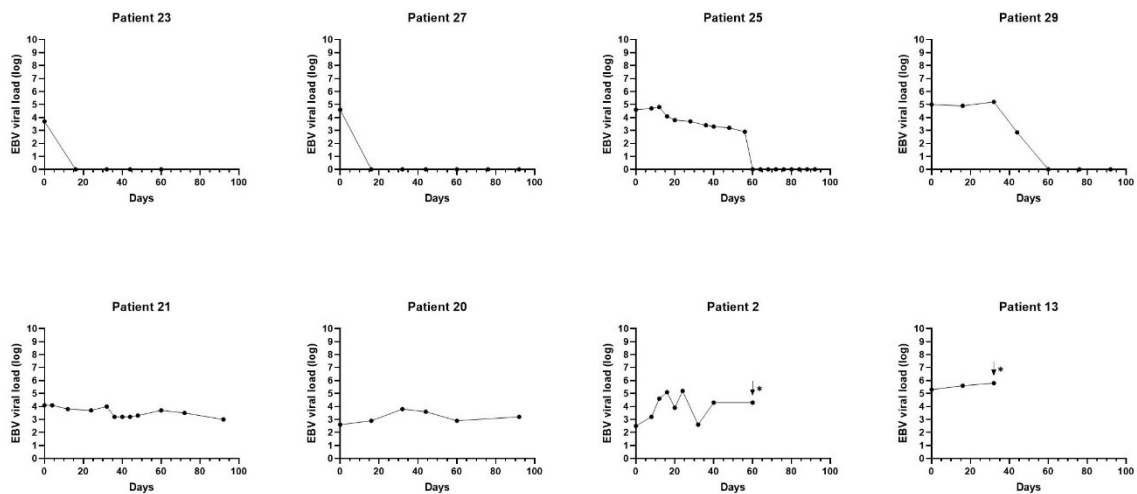
A



B

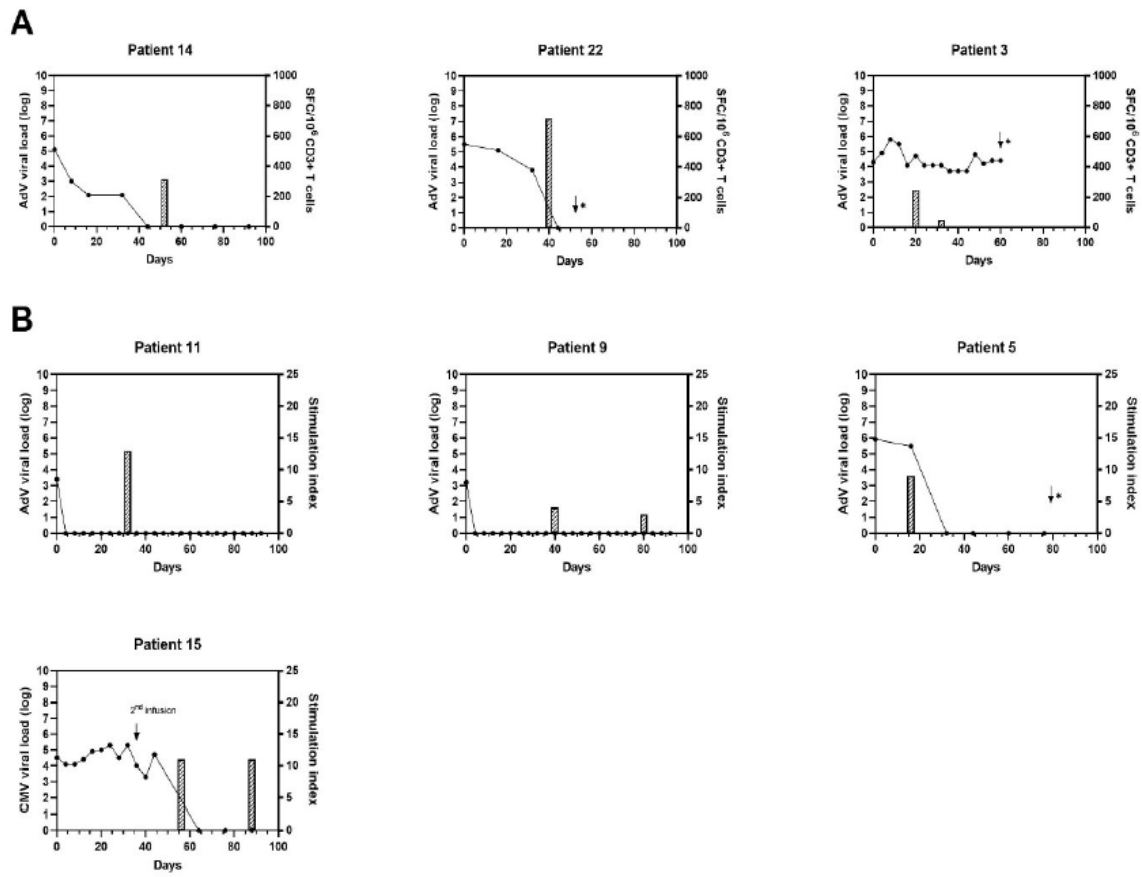


C





**Figure 6**



*The arrow alone symbolizes the time for second VST infusion. The arrow accompanied by an asterisk signifies day of death.*

## VI. DISCUSSION et PERSPECTIVES

Dans cette étude rétrospective multi-centrique, 29 patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH ont reçu 34 réinfusions de VST pour une réactivation ou une infection en lien avec l'AdV, le CMV ou l'EBV. Cette étude nous rappelle que l'utilisation des VST est une approche d'immunothérapie fondamentale pour les patients souffrant d'une réactivation ou d'une infection virale résistante au traitement antiviral habituel, notamment dans la population pédiatrique présentant un déficit immunitaire primitif. En effet, notre cohorte intéresse une population pédiatrique dans 51,72% des cas, allogreffés de CSH pour un déficit immunitaire ou une pathologie hématologique non-maligne. Or, sur la même période de 2016 à 2022 en France, seulement 14% des patients allogreffés présentaient une indication liée à un déficit immunitaire primitif ou une maladie hématologique non maligne et 14% avaient moins de 18 ans. Aussi, bien que les thérapeutiques évoluent ces dernières années, les patients conservant un système immunitaire T-médié pauvre, voire absent, sont plus à risque de développer une réactivation ou une infection virale, potentiellement mortelle. Les VST représentent donc toujours une stratégie anti-infectieuse post-allogreffe pertinente.

Les méthodes d'obtention des VST ont été développées initialement par une stimulation *in vitro* des lymphocytes T ou leur isolement *ex vivo* via des multimères du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) à partir de la leucaphérèse de donneurs séropositifs (43,50,51). A Nancy, la production de VST s'est développée selon une autre approche, basée sur l'isolement et la sélection des lymphocytes T spécifiques (après leur incubation avec les antigènes viraux respectifs) par les mécanismes naturels de production d'IFN- $\gamma$  par les cellules T mémoires. Les cellules T produisant de l'IFN- $\gamma$  sont ciblées par la capture de l'anticorps couplé à cette cytokine et ainsi enrichies par sélection immunomagnétique par le CliniMACS®. Cette technologie a démontré sa spécificité vis-à-vis du virus avec une faible activité alloréactive *in vitro*. *In vivo*,

nous confirmons que l'injection de VST ainsi produits ne se complique que rarement d'alloréactivité. En effet, nous n'avons aucun rejet de greffe ou dysfonction de greffon post-VST. Cependant, nous rapportons la survenue de 3 cas de GVH, 2 récurrences de GVH aiguë et un cas de GVH pulmonaire chronique, survenues dans les 60 jours après l'injection de VST. Ces cas ont été arbitrairement reliés à l'injection des VST puisqu'ils ont été déclarés dans les 60 jours post-injection, période attendue d'expansion des VST. Les 2 patients présentant une récurrence de GVH aiguë de grade III-IV avaient bénéficié d'une diminution rapide de l'immunosuppression avant l'injection des VST. Le troisième patient avec une possible GVH chronique pulmonaire n'a malheureusement pas bénéficié d'une confirmation histologique de cette GVH chronique. Sa condition clinique s'est rapidement dégradée avec de multiples infections opportunistes pulmonaires. L'administration initiale de corticothérapie pour la symptomatologie pulmonaire pourrait être en lien aussi avec un syndrome de reconstitution immunitaire, sans que nous puissions formellement trancher. Toutefois, l'incidence de la GVH post-VST dans notre étude est concordante avec les données de la littérature (22,27–29,31,39,42,46,52,53). Les autres événements indésirables graves observés aux décours du 1<sup>er</sup> mois post-injection étaient des événements infectieux, malheureusement attendus dans cette population avec une immunodépression sévère.

La réponse globale au traitement à 1 et 3 mois est respectivement de 56% et 62%. Ces résultats sont conformes à ceux de la littérature. En effet, de 2013 à 2023, dans des cohortes de patients allogreffés ayant une réactivation ou une infection à AdV, CMV ou EBV, traités par VST issus de donneurs en « tierce partie » issus de culture cellulaires, le taux de réponse globale était compris entre 64% et 95% (52–56). A ce jour, il existe peu de publications concernant les VST générées par la technique de sélection immunomagnétique d'IFN- $\gamma$  produit par des lymphocytes T provenant de donneur différent du donneur de la greffe. Cependant, nos résultats concordent avec ceux présentés dans les études utilisant cette production de VST issus du donneur de la

greffe (entre 57% et 86%) (45,57). Nous notons que les patients de notre étude ont été très lourdement traités avant de recevoir les VST. Le délai médian entre la survenue de la réactivation ou de l'infection virale et l'injection de VST était de 50 jours (étendue de 21 jours à 300 jours). Les patients avaient déjà reçu, en moyenne, deux lignes de traitement. Dans les études prospectives, les critères d'inclusion sont stringents et autorisent l'injection des VST dès le premier échec à un traitement antiviral bien mené durant 2 semaines. Les patients reçoivent donc les VST très précocement par rapport à la survenue de la réactivation/infection virale. Sans surprise, la charge virale élevée, notamment  $>5\log$  est associée à une mortalité élevée. Par ailleurs, l'absence d'autres facteurs ayant une influence sur le taux de réponse nous permet d'insister sur le fait que l'administration des VST devrait être précoce dans la prise en charge de l'infection virale. A l'heure actuelle, des essais cliniques évaluent la place de l'administration des VST en première ligne thérapeutique, comme Jiang et al. en 2022, montrant des résultats prometteurs (54).

L'absence de mise en évidence d'autres facteurs ayant un impact sur le taux de réponse nous fait cependant considérer l'importance de cette étude en vie réelle. En effet, la poursuite des corticoïdes au moment de l'injection, chez 12 patients, n'a pas été associée à une réponse moins importante. Au contraire, les données de reconstitution immunitaire recueillies pour 5 des 12 patients ont montré l'expansion *in vivo* des VST. De plus, 4 patients sur 5 ont pu voir la charge virale disparaître. Ceci confirme les données *in vitro* décrites précédemment par Campidelli et al. (58) où la méthylprednisolone, bien que retardant l'expansion des VST, n'avait pas d'impact sur leur capacité de sécrétion d'IFN- $\gamma$ . Par ailleurs, 5 patients de la cohorte ont reçu un traitement par ruxolitinib au moment de l'injection des VST. Or, il a été démontré que l'administration de ruxolitinib dans le traitement du syndrome de relargage cytokinique sévère chez des patients pédiatriques traités par CAR-T cells (n=4), l'inhibition *in vitro* et *in vivo* de l'expansion des CAR-T cells (59). Dans une autre étude, chez des patients atteints d'un

syndrome myéloprolifératif et recevant du ruxolitinib depuis au moins 5 ans, les taux de lymphocytes T CD4+ et CD8+ étaient très bas et des réactivations EBV et CMV, asymptomatiques, ont été documentées (60). Dans notre cohorte, les 5 patients traités par ruxolitinib ont répondu aux VST. Parmi eux, un patient pour qui nous avons pu recueillir les données de reconstitution immunitaire a présenté une réponse spécifique au CMV pendant au moins 3 mois post-injection. Malheureusement, nous n'avons de données de reconstitution immunitaire pour les autres patients.

Actuellement, en 2023, 4 essais cliniques de phase III sont en cours. Trois essais évaluent l'utilisation de Posoleucel (56) et 1 essai évalue les multi-VST (AdV, CMV, EBV), isolées par la technique immunomagnétique, provenant du donneur de la greffe dans un essai multicentrique européen. De plus, Tabelecleucel, produit par la firme Atara Biotherapeutics a obtenu une autorisation de mise sur le marché. Il ne semble pas y avoir de différence entre les patients recevant des VST provenant de banques ou produites directement par leucaphérèse d'un donneur tiers, haplo-identique, bien qu'il faille plus de données concernant les deux approches et qu'aucune étude n'ait comparé les deux (56,61). Nous pouvons suggérer que le type de virus doit cependant être considéré : dans notre étude, chez les patients ayant reçu des EBV-VST, 4 ont été traités pour une lymphoprolifération associée à l'EBV (PTLD) et un seul a répondu. Une des hypothèses évoquées devant ce taux de réponse catastrophique est le fait que ces patients présentent un PTLD chimio-réfractaire, parfois déjà à plusieurs lignes de traitement et que l'évolution au moment de l'injection des VST est déjà très avancée, la maladie progressant plus vite que les VST ne peuvent s'expandre.

## **VII. CONCLUSION**

En conclusion, cette étude de vraie vie sur 29 patients traités par des VST représente la cohorte la plus large rapportée de patients traités par VST obtenus par isolement immunomagnétique basé sur la production d'IFN- $\gamma$  issus de donneurs en tierce partie. Cette étude rappelle l'impact négatif d'une charge virale élevée (>5log) sur la mortalité. Le recours aux VST doit s'envisager très rapidement dans l'arsenal thérapeutique actuel dans le traitement des infections virales, à AdV, CMV et EBV chez les patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH.

## VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, Varanasi PR, Holler E, Greinix H, et al. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2016 Nov 17;7:507.
2. Styczyński J, Tridello G, Koster L, Iacobelli S, van Biezen A, van der Werf S, et al. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant*. 2020 Jan;55(1):126–36.
3. Sedláček P, Petterson T, Robin M, Sivaprakasam P, Vainorius E, Brundage T, et al. Incidence of Adenovirus Infection in Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: Findings from the AdVance Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019 Apr 1;25(4):810–8.
4. Thomas SJ, Young RT, Steinbach WJ, Lugo DJ. Risks and outcomes of adenovirus disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients-Comparison of current antiviral treatment options. *Transpl Infect Dis*. 2021 Apr;23(2):e13505.
5. Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, Engelhard D, Hirsch HH, Cordonnier C, et al. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis*. 2012 Dec;14(6):555–63.
6. González-Vicent M, Verna M, Pochon C, Chandak A, Vainorius E, Brundage T, et al. Current practices in the management of adenovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in Europe: The AdVance study. *Eur J Haematol*. 2019 Mar;102(3):210–7.
7. Mynarek M, Ganzenmueller T, Mueller-Heine A, Mielke C, Gonnermann A, Beier R, et al. Patient, Virus, and Treatment-Related Risk Factors in Pediatric Adenovirus Infection after Stem Cell Transplantation: Results of a Routine Monitoring Program. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2014 Feb 1;20(2):250–6.
8. Neofytos D, Ojha A, Mookerjee B, Wagner J, Filicko J, Ferber A, et al. Treatment of Adenovirus Disease in Stem Cell Transplant Recipients with Cidofovir. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2007 Jan 1;13(1):74–81.
9. Hiwarkar P, Amrolia P, Sivaprakasam P, Lum SH, Doss H, O’Rafferty C, et al. Brincidofovir is highly efficacious in controlling adenoviremia in pediatric recipients of hematopoietic cell transplant. *Blood*. 2017 Apr 6;129(14):2033–7.
10. Ljungman P, de la Camara R, Robin C, Crocchiolo R, Einsele H, Hill JA, et al. Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7). *The Lancet Infectious Diseases*. 2019 Aug 1;19(8):e260–72.
11. Barron MA, Gao D, Springer KL, Patterson JA, Brunvand MW, McSweeney PA, et al. Relationship of reconstituted adaptive and innate cytomegalovirus (CMV)-specific immune

- responses with CMV viremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2009 Dec 15;49(12):1777–83.
12. Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, Maertens J, Dadwal SS, Duarte RF, et al. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2017 Dec 21;377(25):2433–44.
  13. Fox CP, Burns D, Parker AN, Peggs KS, Harvey CM, Natarajan S, et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder following in vivo T-cell-depleted allogeneic transplantation: clinical features, viral load correlates and prognostic factors in the rituximab era. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Feb;49(2):280–6.
  14. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Mohty M. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone Marrow Transplant*. 2020 Jan;55(1):25–39.
  15. Uhlin M, Wikell H, Sundin M, Blennow O, Maeurer M, Ringden O, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014 Feb 1;99(2):346–52.
  16. Brissot E, Alsuliman T, Gruson B, Hermet E, Tirefort Y, Yakoub-Agha I, et al. Conduite à tenir devant une réactivation EBV et un syndrome lymphoprolifératif à EBV, une réactivation ou infection à CMV et à HHV-6 après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : recommandations de la SFGM-TC (mises à jour). *Bulletin du Cancer*. 2017 Dec;104(12):S181–7.
  17. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, Engelhard D, de la Camara R, Cordonnier C, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016 Jul;101(7):803–11.
  18. Green ML, Leisenring W, Xie H, Mast TC, Cui Y, Sandmaier BM, et al. Cytomegalovirus viral load and mortality after haemopoietic stem cell transplantation in the era of pre-emptive therapy: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2016 Mar;3(3):e119-127.
  19. van der Heiden PLJ, Kalpoe JS, Barge RM, Willemze R, Kroes ACM, Schippers EF. Oral valganciclovir as pre-emptive therapy has similar efficacy on cytomegalovirus DNA load reduction as intravenous ganciclovir in allogeneic stem cell transplantation recipients. *Bone Marrow Transplant*. 2006 Apr;37(7):693–8.
  20. Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, et al. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002 Feb 15;99(4):1159–64.
  21. Riddell SR, Watanabe KS, Goodrich JM, Li CR, Agha ME, Greenberg PD. Restoration of Viral Immunity in Immunodeficient Humans by the Adoptive Transfer of T Cell Clones. *Science, New Series*. 1992;257(5067):238–41.



22. Papadopoulos EB, Ladanyi M, Emanuel D, Mackinnon S, Boulad F, Carabasi MH, et al. Infusions of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1994 Apr 28;330(17):1185–91.
23. Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, Lion T, Fuhrer M, Hamprecht K, et al. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2006 Jul;134(1):64–76.
24. Guillaume T, Porcheron S, Audat F, Bancillon N, Berceanu A, Charbonnier A, et al. Recommandations de la SFGM-TC concernant l’infusion prophylactique, préemptive et curative des lymphocytes du donneur (DLI) après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. *Pathologie Biologie.* 2014 Aug;62(4):193–6.
25. Sili U, Leen AM, Vera JF, Gee AP, Huls H, Heslop HE, et al. Production of good manufacturing practice-grade cytotoxic T lymphocytes specific for Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and adenovirus to prevent or treat viral infections post-allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Cytotherapy.* 2012 Jan;14(1):7–11.
26. Gauthier M, Laroye C, Bensoussan D. Transfert adoptif de lymphocytes T antiviraux et greffe de cellules souches hématopoïétiques. 2019;4.
27. Leen AM, Christin A, Myers GD, Liu H, Cruz CR, Hanley PJ, et al. Cytotoxic T lymphocyte therapy with donor T cells prevents and treats adenovirus and Epstein-Barr virus infections after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood.* 2009 Nov 5;114(19):4283–92.
28. Qasim W, Gilmour K, Zhan H, Derniame S, McNicol AM, Ip W, et al. Interferon- $\gamma$  capture T cell therapy for persistent Adenoviraemia following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *British Journal of Haematology.* 2013;161(3):449–52.
29. Feucht J, Opherk K, Lang P, Kayser S, Hartl L, Bethge W, et al. Adoptive T-cell therapy with hexon-specific Th1 cells as a treatment of refractory adenovirus infection after HSCT. *Blood.* 2015 Mar 19;125(12):1986–94.
30. Qian C, Laroye C, Clement L, Reppel L. Adenovirus-specific T-cell Subsets in Human Peripheral Blood and After IFN-g Immunomagnetic Selection. *J Immunother.* 2015;39(1):9.
31. Qian C, Campidelli A, Wang Y, Cai H, Venard V, Jeulin H, et al. Curative or pre-emptive adenovirus-specific T cell transfer from matched unrelated or third party haploidentical donors after HSCT, including UCB transplantations: a successful phase I/II multicenter clinical trial. *J Hematol Oncol.* 2017 Dec;10(1):102.
32. Rubinstein JD, Zhu X, Leemhuis T, Pham G, Ray L, Emberesh S, et al. Virus-specific T cells for adenovirus infection after stem cell transplantation are highly effective and class II HLA restricted. *Blood Adv.* 2021 Sep 2;5(17):3309–21.
33. Rooney CM, Smith CA, Ng CY, Loftin S, Li C, Krance RA, et al. Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr-virus-related lymphoproliferation. *Lancet.* 1995 Jan 7;345(8941):9–13.

34. Rooney CM, Smith CA, Ng CY, Loftin SK, Sixbey JW, Gan Y, et al. Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of Epstein-Barr virus-induced lymphoma in allogeneic transplant recipients. *Blood*. 1998 Sep 1;92(5):1549–55.
35. Gustafsson A, Levitsky V, Zou JZ, Frisan T, Dalianis T, Ljungman P, et al. Epstein-Barr virus (EBV) load in bone marrow transplant recipients at risk to develop posttransplant lymphoproliferative disease: prophylactic infusion of EBV-specific cytotoxic T cells. *Blood*. 2000 Feb 1;95(3):807–14.
36. Haque T, Wilkie GM, Taylor C, Amlot PL, Murad P, Iley A, et al. Treatment of Epstein-Barr-virus-positive post-transplantation lymphoproliferative disease with partly HLA-matched allogeneic cytotoxic T cells. *Lancet*. 2002 Aug 10;360(9331):436–42.
37. Haque T, Wilkie GM, Jones MM, Higgins CD, Urquhart G, Wingate P, et al. Allogeneic cytotoxic T-cell therapy for EBV-positive posttransplantation lymphoproliferative disease: results of a phase 2 multicenter clinical trial. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1123–31.
38. Doubrovina E, Oflaz-Sozmen B, Prockop SE, Kernan NA, Abramson S, Teruya-Feldstein J, et al. Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012 Mar 15;119(11):2644–56.
39. Prockop S, Doubrovina E, Suser S, Heller G, Barker J, Dahi P, et al. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplantation. *J Clin Invest*. 2020 Feb 3;130(2):733–47.
40. Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, Finch RJ, Watanabe KS, Thomas ED, et al. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *N Engl J Med*. 1995 Oct 19;333(16):1038–44.
41. Einsele H, Roosnek E, Rufer N, Sinzger C, Riegler S, Löffler J, et al. Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy. *Blood*. 2002 Jun 1;99(11):3916–22.
42. Peggs KS, Verfuert S, Pizzey A, Khan N, Guiver M, Moss PA, et al. Adoptive cellular therapy for early cytomegalovirus infection after allogeneic stem-cell transplantation with virus-specific T-cell lines. *Lancet*. 2003 Oct 25;362(9393):1375–7.
43. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, Tauro S, McDonald D, Osman H, et al. Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med*. 2005 Aug 1;202(3):379–86.
44. Peggs KS, Verfuert S, Pizzey A, Chow SLC, Thomson K, Mackinnon S. Cytomegalovirus-specific T cell immunotherapy promotes restoration of durable functional antiviral immunity following allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2009 Dec 15;49(12):1851–60.
45. Feuchtinger T, Opherk K, Bethge WA, Topp MS, Schuster FR, Weissinger EM, et al. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*. 2010 Nov 18;116(20):4360–7.

46. Blyth E, Clancy L, Simms R, Ma CKK, Burgess J, Deo S, et al. Donor-derived CMV-specific T cells reduce the requirement for CMV-directed pharmacotherapy after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2013 May 2;121(18):3745–58.
47. Koehne G, Hasan A, Doubrovina E, Prockop S, Tyler E, Wasilewski G, et al. Immunotherapy with Donor T Cells Sensitized with Overlapping Pentadecapeptides for Treatment of Persistent Cytomegalovirus Infection or Viremia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Sep;21(9):1663–78.
48. Neuenhahn M, Albrecht J, Odendahl M, Schlott F, Dössinger G, Schiemann M, et al. Transfer of minimally manipulated CMV-specific T cells from stem cell or third-party donors to treat CMV infection after allo-HSCT. *Leukemia*. 2017 Oct;31(10):2161–71.
49. Wang X, Yu U, Yang C, Wang C, Zhang X, Li Y, et al. Cytomegalovirus (CMV)-specific cytotoxic T lymphocyte therapy resolve CMV diseases and refractory CMV infections in paediatric recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2022 Feb;57(2):271–5.
50. Aïssi-Rothé L, Decot V, Venard V, Jeulin H, Salmon A, Clement L, et al. Rapid generation of full clinical-grade human antiadenovirus cytotoxic T cells for adoptive immunotherapy. *J Immunother*. 2010 May;33(4):414–24.
51. Feuchtinger T, Lang P, Hamprecht K, Schumm M, Greil J, Jahn G, et al. Isolation and expansion of human adenovirus-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells according to IFN- $\gamma$  secretion for adjuvant immunotherapy. *Experimental Hematology*. 2004;8.
52. Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, Leung K, Martinez CA, Ramos CA, et al. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 1;35(31):3547–57.
53. Withers B, Blyth E, Clancy LE, Yong A, Fraser C, Burgess J, et al. Long-term control of recurrent or refractory viral infections after allogeneic HSCT with third-party virus-specific T cells. *Blood Adv*. 2017 Nov 14;1(24):2193–205.
54. Jiang W, Clancy LE, Avdic S, Sutrave G, Street J, Simms R, et al. Third-party CMV- and EBV-specific T-cells for first viral reactivation after allogeneic stem cell transplant. *Blood Adv*. 2022 Sep 13;6(17):4949–66.
55. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013 Jun 27;121(26):5113–23.
56. Pfeiffer T, Tzannou I, Wu M, Ramos C, Sasa G, Martinez C, et al. Posoleucel, an Allogeneic, Off-the-Shelf Multivirus-Specific T-Cell Therapy, for the Treatment of Refractory Viral Infections in the Post-HCT Setting. *Clin Cancer Res*. 2023 Jan 17;29(2):324–30.
57. Icheva V, Kayser S, Wolff D, Tuve S, Kyzirakos C, Bethge W, et al. Adoptive transfer of epstein-barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific t cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):39–48.

58. Campidelli A, Qian C, Laroye C, Decot V, Reppel L, D'aveni M, et al. Adenovirus-specific T-lymphocyte efficacy in the presence of methylprednisolone: An in vitro study. *Cytotherapy*. 2018 Apr;20(4):524–31.
59. Pan J, Deng B, Ling Z, Song W, Xu J, Duan J, et al. Ruxolitinib mitigates steroid-refractory CRS during CAR T therapy. *J Cell Mol Med*. 2021 Jan;25(2):1089–99.
60. Rumi E, Sant'Antonio E, Cavalloni C, Comolli G, Ferretti VV, Cassaniti I, et al. Impaired virus-specific T cell responses in patients with myeloproliferative neoplasms treated with ruxolitinib. *Hematological Oncology*. 2020;38(4):554–9.
61. Quach D, Lulla P, Rooney CM. Banking on virus-specific T-cells (VSTS) to fulfill the need for 'off the shelf' cell therapies. *Blood*. 2022 Dec 27;blood.2022016202.

ON BEHALF OF THE SFGM-TC: REAL-LIFE USE OF THIRD-PARTY VIRUS SPECIFIC T-CELL TRA...

**CURRENT STATUS**

**Your submission has passed the technical checks and is now in peer review**

We will now find the most suitable editor to manage the next steps of your submission. If your submission is successful, they will invite reviewers to peer review your work. This process can take a few weeks.

We will email [d.bensoussan@chru-nancy.fr](mailto:d.bensoussan@chru-nancy.fr) if there are any revisions you need to make.

**Need help?**

If you have any questions about this submission, you can [email the Editorial Office](#).

For general enquiries, please look at our [support information](#).

**Progress so far** [Show history](#)

- Submission received
- Initial technical check
- Peer review

**Your submission**

Title  
ON BEHALF OF THE SFGM-TC: REAL-LIFE USE OF THIRD-PARTY VIRUS SPECIFIC T-CELL TRANSFER IN IMMUNOCOMPROMISED TRANSPLANTED PATIENTS.

Type  
Research

Journal  
Journal of Hematology & Oncology

Submission ID  
4cfb753d-a473-4c78-82e1-c579faef1273



---

**RESUME DE LA THESE:**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-SCT) offre une option curative pour de nombreuses pathologies hématologiques mais la déplétion T *ex vivo* ou *in vivo* utilisée pour réduire l'incidence de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) peut entraîner des complications infectieuses sévères, notamment virales. De 2016 à 2022, notre groupe a traité et recueilli les données de 29 patients ayant bénéficié de l'injection de VST comme traitement d'une infection virale par l'Adénovirus (AdV), le cytomégalovirus (CMV) et/ou d'Epstein-Barr virus (EBV) sévère ou réfractaire aux thérapeutiques habituelles depuis plus de 14 jours, après une allo-CSH afin d'évaluer leur sécurité et leur efficacité. La production des VST a été réalisée à partir du même donneur que la greffe pour 13 patients, ou à partir d'un donneur haplo-identique en tierce partie pour 16 patients. Cette production était basée sur la technique de sécrétion de cytokine IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T spécifiques du virus permettant leur isolement immunomagnétique. Une GVH aiguë > grade II ou une GVH chronique > grade NIH 2 rendait le patient inéligible aux VST. Tous les traitements immunosuppresseurs étaient permis et la dose de corticostéroïde était obligatoirement réduite à <1mg/kg/jour dans la plupart des cas. La durée médiane entre la greffe et la réplication virale était de 46 jours (étendue de 0-1372 jours). Les VST ont été injectées dans un délai médian de 50 jours (21-300 jours) après la documentation de la réplication virale. Trente-quatre injections ont été réalisées avec une dose moyenne de  $1.43 \times (\pm 3.06) 10^4$  CD3+ T-cells/kg, sans effet indésirable immédiat. Nous avons observé une recrudescence de GVHD aiguë chez deux patients ainsi qu'un cas supposé de GVH chronique pulmonaire sévère *de novo*, dans les 2 mois post-injection. A 3 mois post-injection, le taux de réponse cumulative était de 62% (n=18/29) et aucune réactivation virale n'était observée dans l'année suivant l'injection des VST. La survie à 3 mois et 12 mois post-injection était respectivement de 55.2% (95% CI [39.7-78.4]) et de 29% (95% CI [13.2- 63.5]). La charge virale haute (>5log) était le seul facteur associé de manière significative à une mortalité plus importante. Il s'agit d'une étude de vraie vie rapportant le traitement par 34 injections de VST chez des patients infectés par l'AdV, le CMV et/ou l'EBV post-allo-SCT, mettant en évidence la sécurité et l'efficacité des VST ainsi que l'importance de la rapidité de leur mise en place dans le processus thérapeutique.

---

**TITRE EN ANGLAIS :**

On behalf of the SFGM-TC: real-life use of third-party virus specific T-cell transfer in immunocompromised transplanted patients.

---

**THESE : MEDECINE SPECIALITE HEMATOLOGIE ANNEE 2023**

---

**MOTS CLEFS :**

Virus-specific T-cells, allo-SCT, AdV, CMV, EBV, donneur haploidentique en tierce-partie, méthode de sélection immunomagnétique.

---

**INTITULE ET ADRESSE :**

**Université de Lorraine**  
**Faculté de Médecine de Nancy**  
9, avenue de la Forêt de Haye  
54500 VANDOEUVRE-LES-NANCY Cedex