

Essais cliniques en Thérapie Cellulaire: MTI ?

2iemes rencontres du Réseau Santé Industrie Recherche Aquitain
Bordeaux 2011

B.Dazey*, N.Milpied**, Z.Ivanovic*

*EFSAL

**CHU Bordeaux



Grefe allogénique de cellules souches hématopoïétiques amplifiées à partir du sang placentaire : évaluation de la reconstitution hématopoïétique et immunologique après conditionnement non myéloablatif chez l'adulte - Protocole Grapa

Protocole de recherche biomédicale CHUBX 2008/12

Avis favorable du CPP sud-ouest outre-mer III le 28 janvier 2009

Avis favorable de l'affsaps le 13 octobre 2009 N° TC 261

Avis favorable de l'affsaps le 04 juillet 2011 après demande de modification

Justification scientifique

Pour des raisons de discordance entre le poids des adultes et le volume d'un greffon de sang placentaire (0,5 à 1.10⁵/kg CD34) le nombre de cellules souches CD 34 est rarement atteint lors des greffes prévues pour des adultes

Pour palier cet inconvénient majeur, la solution proposée est de réaliser une expansion ex-vivo des CSH contenues dans un sang placentaire



Résultats attendus

Objectif principal: .

Obtention chez 90% des patients d'un taux de polynucléaires neutrophiles supérieur à 500/ μ l pendant 3 jours consécutifs au maximum à J 30 après la greffe, associé à un chimérisme partiel (10% à 90%) ou total (100%)

Effectif : 15 patients

Pas de donneur adulte IF 10/10,

Pas de donneur adulte NF 9 à 10/10 HLA

Pas d' USP HLA matching (\geq 4/6) avec une richesse \geq 3 à 4 x 10⁷ CNT/kg



Mise au point de la « fabrication » des progéniteurs hématopoïétiques amplifiés

Autorisation d'établissement de l'EFSAL N° TCG-10 R-002

Certification ISO 9001

Accréditation JACIE

Validations des différentes étapes du procédé suivies d'une validation globale faite sur 6 runs à blanc

J-12

Réception de 2 USP

USP la plus riche en CNT stockée pour Back-up

Décongélation d'1 USP

Fraction Négative

Sélection CD34+

Fraction Positive

Congélation

Mise en culture

J0

Décongélation

J+6 addition de milieu + cytokines

Concentration et lavage

Conditionnement et distribution à J0 +3h

Conditionnement des cellules amplifiées et distribution à J0

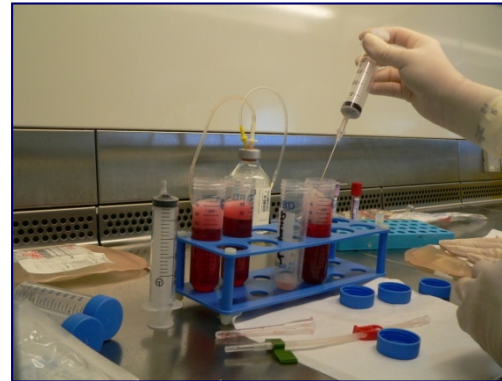
Validation de la sélection des CD34 après décongélation

Pureté: 84,7+/-15,8% (41-97)

Viabilité: 99+/- 1.2% (97-100)

Rendement: 41,5 +/-11.2% (25,2-55,1)

Contrôles bactériologiques: négatifs



Duchez P et al. An efficient large-scale thawing procedure for cord blood cells destined for selection and ex vivo expansion of CD34+ cells.

J Hematother & Stem Cell Res 2003; 12: 587-589

Dazey B et al. Cord blood processing by using a standard manual technique and automated closed system « Sepax » (kit CS-530) Stem Cells & Development 2005; 14: 6-10.

Validation des conditions de culture

- Poche de culture avec milieu **HPO1**
- Cytokines: **FIT3 et SCF** :100 ng/ml , **TPO** : 20 ng/ml, **G-CSF** : 10 ng/ml (grade clinique)
- Addition à J6 de milieu frais supplémenté en cytokines



Multiplication cellulaire: **389** (273-487)

Viabilité%: **88** (79-98)

Multiplication CD 34: **48** (22-116)

Multiplication CFU-GM :**137** (26-419)

Phénotype cellulaire :

9% CD34, 86,5% CD13, 66,7% CD33, 8,5%

CD14, 30,9% CD41 et 11,7% CD61

Contrôles bactériologiques: **négatifs**



Ivanovic Z et al. A clinical-scale expansion of mobilized CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells by using a new serum-free medium.

Transfusion 2006 ; 46: 126-131

Ivanovic Z et al. A clinical-grade thrombopoietin (TPO) efficiently replaces MGDF in the clinical-scale expansion of mobilized CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells.

Meeting of the International Society of Cellular Therapy (ISCT) Vancouver 2005; Cytotherapy 7 Suppl 1, Abstr 51

Ivanovic Z et al. Low dose IL-3 enhances amplification of committed progenitors and improves maintenance of stem cells in clinical-scale serum-free expansion cultures.

Meeting of the International Society of Cellular Therapy (ISCT) Berlin 2006; Cytotherapy 8 Suppl 1

Validation de la congélation/décongélation de la fraction négative (CD 3)

Rendement en CD3+ apres décongélation : 67+/-15%

Viabilité des cellules lymphocytaires : 83+/-13%








Résultats cliniques intermédiaires sont conformes aux résultats attendus


Distribution selon critères libérateurs


Cellules amplifiées

60140

 621107

60140

 621107


60140

 621107


60140

 621107

60140

 621107

TC Sang Placentaire Allogénique E xpansion
 Elément du Corps Humain à Usage Thérapeutique
 NE PAS IRRADIER
 Numéro FINISS préleveur : Service Greffeur

0 +

Produit 60140
 GS 

Don No 621107 


Prélevé le 07/06/2011
 Utiliser **Avant le 07/06/2011 à 16:00**

Réservé A


Né(e) le 06/11/


PRODUIT A USAGE ALLOGENIQUE
 Volume : 177 ml
 Conserver entre +4°C et +24°C


EFS Aquitaine Limousin 05 56 90 82 00
 Place Amélie Raba Léon BP 24
 33035 Bordeaux Cedex


3301


Cellules de la fraction négative décongelées

60150

 621107


60150

 621107


60150

 621107

60150

 621107

TC Sang Placentaire Allo CD34 Négatif Décongelé
 Elément du Corps Humain à Usage Thérapeutique
 UTILISER IMMEDIATEMENT NE PAS IRRADIER
 Numéro FINISS préleveur : Lieu d'hospitalisation

0 +

Produit 60150
 GS 

Don No 621107 


Prélevé le 07/06/2011
 Utiliser **Avant le 07/06/2011 à 19:00**

Réservé A

Né(e) le 06/11/

PRODUIT A USAGE ALLOGENIQUE
 Volume : 100 ml en milieu SAH
 Conserver entre +18° et +24°C

EFS Aquitaine Limousin 05 56 90 82 00
 Place Amélie Raba Léon BP 24
 33035 Bordeaux Cedex

3301


ASH 2011

Rapid and Sustained Engraftment of a Single Allogeneic Ex-Vivo Expanded Cord Blood Unit (CBU) After Reduced Intensity Conditioning (RIC) in Adults. Preliminary Results of a Prospective Trial

Noel Milpied, MD¹, Bernard Dazey, MD^{2*}, Zoran Ivanovic, MD PHD^{3*}, Pascale Duchez^{4*}, Stephane Vigouroux, MD¹, Reza Tabrizi, MD^{1*}, Arnaud Pigneux, MD, PhD^{5*}, Marie-Sarah Dilhuydy, MD^{6*}, Krmo Bouabdallah, MD^{7*}, Thibaut Leguay, MD^{8*}, Mathieu Sauvezie^{9*}, Xavier Lafarge, MD^{10*}, Gerald Marit, MD, PhD^{11*} and Jean-Michel Boiron, MD, PhD¹²

CBU. He engrafted correctly and is Avv at 14 m with full donor chimerism. For the 7 other pts, the ex-vivo median fold expansion of CD34+ cells and TNC was 39 (29-75) and 390 (127-526) respectively, leading to a graft that contained 1.3 to 13 x 10⁶ CD34+ cells/kg (med: 2 x 10⁶/kg). The CD34 neg counterpart contained 3x 10⁶ CD3+/kg (1-5) and 0,9 x 10⁶ CD19+ cells/kg (0,3-1,5). At d42, 6/7 pts who received the expanded graft engrafted with ≥99% donors cells. A 2^d RIC was performed followed by a double CBU transplant in the patient who did not engraft. That 2^d graft again failed to engraft. However the patient remains alive at 9m. For the 6 pts who engrafted with the expanded product the time to reach 500, 1000 PMN's and 20 000 plts/mm³ was 7d (6-19), 8d (6-21) and 24d (0-39) respectively. The chimerism on WBC and CD3+cells (evaluated on d 15, 42, 60, 100, 180, 365) remains full donor up to 1 year + after transplant (1y+: 2 pts, 6m+: 1pt, 180d+: 1 pt; 60d+: 1pt) or to relapse (at 1y) in the one pt who relapsed. Five pts experienced an AGVHd (grade III-IV: 1 pt). With a median FU of 10m (2 to 18m) 7 pts are alive, 6 wo disease. One pt died 1y after transplant from relapse.

Conclusion: Ex-vivo expansion of a single CBU is feasible and reproducible. Transplantation of the expanded product together with the CD34 neg counterpart of the same CBU produces rapid, complete and sustained donor engraftment after RIC in adults.

Ce produit de thérapie cellulaire issu d'un protocole clinique est-il MTI ?

Matière première unique : 1 SP = un malade > médicament?

Taille de l'effectif : limite?

Exportation ?

Conditions de mise en œuvre ?

- Réception, stockage et contrôle des MP, PTA, consommables.
- Classification des locaux pour production en circuit semi-ouvert,
- Validation des matériels
- Contrôle de l'aseptie par test de biocharge
- Notion de lot (échantillonnage, libération)
- Personnel (Pharmacien libérateur, Assureur Qualité spécifique)
- Transport (Étiquetage, délai,...)
- Traçabilité (informatique, archives, biothèque)