

A paciente apresentou estabilização clínica após início da terapia dirigida. **Conclusão:** DSA pré-transplante estão fortemente associados à falha de enxertia, especialmente em transplantes haploidênticos. Protocolos como o Ciurea viabilizam o procedimento ao superar essa barreira imunológica, porém acarretam imunossupressão por período mais prolongado. Estudos demonstram risco até duas vezes maior de infecções graves no primeiro ano pós-transplante nesses pacientes. A ocorrência precoce de bacteremia por *Listeria monocytogenes*, ainda no período pré-enxertia, evidencia tal vulnerabilidade. A listeriose é uma infecção rara, mas potencialmente grave em imunossuprimidos, podendo cursar com manifestações clínicas inespecíficas, como febre isolada, principalmente, nesse tipo de paciente. A identificação precoce e o início oportuno de cobertura antimicrobiana adequada são fundamentais, mesmo na ausência de sintomas específicos. Este relato demonstra a viabilidade do TCTH haploidêntico após dessensibilização de DSA em paciente com LMMC de alto risco. Ressalta-se, contudo, a necessidade de vigilância infecciosa rigorosa nesse contexto. A introdução precoce de antibióticos eficazes contra *Listeria monocytogenes* pode ser crucial para evitar desfechos desfavoráveis, dada sua gravidade potencial e apresentação clínica atípica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105486>

ID - 208

BICISTRONIC CD19/CD22 CAR T-CELL THERAPY EXHIBITS CLINICAL ACTIVITIES IN RELAPSED OR REFRACTORY CHILDHOOD B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

X Wan^a, W Li^a, J Cai^a, J Hua^b, B Li^a, H Zhang^c

^a Shanghai Children's Medical Center, China

^b SPH Biotherapeutics (Shanghai), Limited, China

^c SPH Biotherapeutics (HK) Limited, Hong Kong

Introduction: Our previous study on co-administration of CD19-and CD22-CAR T cell therapy demonstrated durable remission in children with relapsed or refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) (Wang et al. J Clin Oncol 2023; 41:1670-83). To further improve outcomes, we developed a bicistronic CD19/CD22 CAR (B019) to aim at advancing event-free survival (EFS) and overall survival (OS) in the treatment of relapsed or refractory childhood B-ALL. The primary objectives were to enhance event-free survival, overall survival, and safety outcomes regardless of prior exposure to allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Case report:** This single arm investigator-initiated trial enrolled 343 patients with relapsed or refractory B-ALL aged ≤ 18 years between January 2022 and April 2024. Patients underwent debulking and lymphodepletion during a 7-day period while the CAR T cells were manufactured. The regimen was administered at doses ranging from $1 \times 10^6/\text{kg}$ to $10 \times 10^6/\text{kg}$. Patients were stratified into two main cohorts: (1) isolated extramedullary disease ($n = 51$) which included patients with isolated central nervous system (CNS) or testicular relapse; (2) refractory or combined hematologic relapse ($n = 292$), this

cohort included patients who had bone marrow relapse with or without extramedullary involvement. Median follow-up for patients who were alive at the time of analysis was 13.9 months (IQR 9.0-22.4). Throughout the trial, we evaluated the patients' clinical responses, side effects, cytokine production assessment, bone marrow biopsies and the expansion and persistence of CAR-T cells at defined intervals. The response rate (CR+CRi) was 99.1% among the 318 evaluable patients, all of whom were MRD negative ($< 0.01\%$). The 12-month EFS and OS rates for 267 patients with isolated or combined hematologic relapse were 72.4% and 91.4% respectively. Consolidative transplantation was associated with favorable outcomes and was performed in 37 of 267 patients (13.9%). The 12-month EFS was 86.0% for those who received transplantation versus 71.4% for those who did not ($p = 0.04$). However, regarding OS, the transplantation did not provide a significant benefit, with 12-month OS rates of 94.2% for transplanted patients and 92.2% for non-transplanted patients ($p = 0.86$). Among the 230 patients who did not undergo transplantation after CAR T-cell therapy, 69 patients relapsed with different loss of the antigens (45 CD19+/CD22+, 23 CD19-/CD22+, and 1 CD19-/CD22-). Most were treated with a second salvaged bicistronic CD19/CD22 CAR T cell therapy, achieving complete remission again in 35 of 36 (97.2%) CD19+/CD22+ patients and 14 of 21 (66.7%) CD19-/CD22+ patients. Cytokine release syndrome was the most common toxicity observed and was developed in all patients, with grade III-IV CRS occurring in 48.7% (155 patients), resulting in two deaths. CAR T-cell neurotoxicity was observed in 52 patients (16.4%) and manageable. No Other unexpected safety signals were observed during the study. **Conclusion:** Bicistronic CD19/CD22-targeted CAR-T cell therapy is a safe and effective regimen which achieved durable remission in children with relapsed or refractory B-ALL, including those with isolated or combined extramedullary relapse.

References: Trial Registration: Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR2000032211.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105487>

ID - 2504

BIOCURATIVOS BIOIMPRESSOS EM 3D CONTENDO CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO PRÉ-CONDICIONADAS COM 5-AZACITIDINA PARA TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS GRAVES EM MODELO MURINO DE ANEMIA FALCIFORME

WCF Oliveira^a, JLM Rocha^b, JA Santos^a, JM Ribeiro^b, L Ambrósio^a, LFP Chaim^a, C Silva^b, C Azevedo^c, A Manfiolli^c, MC Oliveira^a, FA Castro^a, CC Oliveira^c, KCRM Farias^a

^a Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Centro de Terapia Celular Avançada, Hemocentro, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c *In Situ Terapia Celular, Ribeirão Preto, SP, Brasil*

Introdução: As úlceras cutâneas crônicas representam um importante fardo clínico para pacientes com anemia falciforme (SCD), condição caracterizada por inflamação sistêmica, disfunção endotelial e comprometimento da cicatrização. Terapias convencionais frequentemente falham em promover resolução completa, resultando em redução da qualidade de vida e aumento dos custos em saúde. As células estromais mesenquimais (MSCs) apresentam potencial promissor na medicina regenerativa; entretanto, sua eficácia terapêutica é limitada pela baixa sobrevivência e função no microambiente das feridas crônicas. **Objetivos:** Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o potencial terapêutico de biocurativos bioimpressos em 3D contendo células estromais mesenquimais derivadas de cordão umbilical humano (hUCMSCs) pré-condicionadas com 5-azacitidina (5-AZA) no tratamento de feridas cutâneas graves em modelo murino de anemia falciforme. A proposta foi investigar se a combinação do pré-condicionamento epigenético com a entrega por biocurativo poderia potencializar a capacidade regenerativa das MSCs, promovendo fechamento mais rápido das feridas, e melhora na reepitelização e remodelamento tecidual aprimorado. **Material e métodos:** Neste estudo, MSCs derivadas de cordão umbilical humano (hUCMSCs) foram pré-condicionadas com 5-azacitidina (5-AZA) e incorporadas em um biocurativo bioimpresso em 3D. O potencial terapêutico foi avaliado em um modelo murino robusto de SCD, portador de feridas excisionais com dispositivo de contenção, que mimetizam de forma fidedigna a dinâmica da cicatrização crônica em humanos. Os desfechos incluíram a cinética de fechamento da ferida, análises histológicas de reepitelização e remodelamento tecidual, bem como análises proteômicas de fatores angiogênicos e imunomodulatórios. **Resultados:** O pré-condicionamento das hUCMSCs com 5-AZA aumentou a secreção de fatores tróficos associados à angiogênese (VEGF, PDGF-BB, FGF, PlGF), imunomodulação (IL-4, IL-10, TGF- β) e remodelamento da matriz extracelular (MMP-8, MMP-9). Estudos *in vitro* mostraram que os sobrenadantes das células mesenquimais que receberam o pré-condicionamento exibiam uma potencialização dos efeitos imunomoduladores (IL-4, IL-10, LIF) e angiogênicos (VEGF, FGF-4) quando comparado às células sem condicionamento. Os biocurativos contendo hUCMSC e hUCMSC-AZA aceleraram a cicatrização promovendo reepitelização mais precoce e completa e restaurando a arquitetura cutânea, incluindo anexos dérmicos, até o 14º dia. Os animais que receberam o biocurativo com hUCMSC-AZA exibiram um perfil mais angiogênico e promoveram o fechamento da ferida de pele mais rapidamente quando comparado aos grupos de avaliação. A estrutura histológica foi completamente restaurada nos animais que receberam o biocurativo contendo as células mesenquimais. A análise proteômica confirmou o aumento da neovascularização e a melhora na resolução da inflamação nos tecidos tratados. Notavelmente, a eficácia terapêutica das MSCs pré-condicionadas com 5-AZA superou a de MSCs não tratadas e controles acelulares, alcançando regeneração tecidual em um modelo de cicatrização comprometida. **Discussão e conclusão:** Este estudo demonstra que o pré-condicionamento com 5-AZA constitui uma estratégia simples, porém eficaz, para

potencializar a capacidade regenerativa das hUCMSCs. Quando associado a um biocurativo bioimpresso em 3D, representa uma terapia com viabilidade translacional para o tratamento de feridas crônicas em pacientes com SCD, uma vez que não há alternativa resolutive e eficaz.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105488>

ID - 1736

BIOENGINEERING OF HUMAN T CELLS WITH CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR TO CONTROL THE PROLIFERATION OF CRYPTOCOCCUS SPP. AND EXPANSION OF NEOPLASTIC B CELLS

M Barrocali de Araújo Melo ^a,
N Ferreira Fregonezi ^a, G Matheus Amaro ^a,
I Held Lemos ^a, L Felipe Domiciano ^a,
M Procópio Machado ^b, T Aparecido da Silva ^a

^a *Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, Brazil*

^b *Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Araraquara, SP, Brazil*

Introduction: Cryptococcosis is a disease caused by fungi of the genus *Cryptococcus*, a WHO priority pathogen, and nearly one million cases diagnosed annually. Patients affected by lymphoproliferative neoplasms are more susceptible to *Cryptococcus* spp. infection, and novel therapeutic approaches are encouraged to address invasive fungal infection (IFI) in lymphoproliferative disorders. The polysaccharide GXM (glucuronoxylomannan) composes *Cryptococcus* spp. capsule that is targeted by CAR (Chimeric Antigen Receptor) technology previously reported as GXMR-CAR. This chimeric receptor expressed by T cells mitigated the progression of cryptococcosis, however, the improvement of signaling transduction triggered by GXMR-CAR is in progress by our group. The success of CAR application to treat hematological neoplasms opened a research field related to CAR beyond cancer, and the association of CAR cell therapy redirecting immune cells to target cancer cells and *Cryptococcus* spp., side-by-side, is the main goal of the current proposal. **Aim:** Then, this work is focused on the modification of human T cells to co-express GXMR-CAR and CD19-CAR for the controlling of cryptococcosis and neoplastic B cell expansion. **Material and methods:** (i) Generation of GXMR-CAR variants and CD19-CAR using Gibson assembly and overlap PCR approaches; (ii) Production of lentiviral particles through transfection of HEK-293T cells; (iii) Isolation of human T cells from PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) using Ficoll density gradient centrifugation, followed by stimulation with anti-CD3/CD28 beads before the transduction of T cells using the spinoculation method; (iv) Evaluation of cytotoxic activity by luciferase assay using the Raji-Luc cell line, a neoplastic B cell line expressing luciferase; (v) Quantification of pro-inflammatory