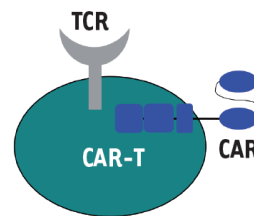


► Le système immunitaire joue un rôle déterminant dans le contrôle et l'éradication des tumeurs. Une meilleure compréhension des mécanismes en jeu a permis le développement des immunothérapies, et notamment des thérapies par lymphocytes CAR-T. Ces thérapies ont montré une grande efficacité dans les maladies hématologiques, mais leur application aux tumeurs solides nécessite des optimisations pour améliorer leur efficacité et leur sécurité. Ces ajustements permettront une plus grande applicabilité des lymphocytes CAR-T, non seulement pour les traitements anti-tumoraux mais aussi pour le traitement de maladies auto-immunes ou fibreuses. ◀

## Optimisation de l'efficacité et de la sécurité d'utilisation des lymphocytes CAR-T

Lucille Lew-Derivry<sup>1,2,3,4</sup>, Lamia Lamrani<sup>2,3,4</sup>, Marion Alcantara<sup>4</sup>, Cécile Alanio<sup>2,3,4</sup>



<sup>1</sup>AP-HP, service d'oncologie et d'hématologie pédiatrique, Hôpital A. Trousseau, Paris, France

<sup>2</sup>Institut Curie, PSL University, Inserm U932, Immunité et cancer, Paris, France

<sup>3</sup>Laboratoire d'immunologie clinique et d'immunomonitoring, Institut Curie, Paris, France

<sup>4</sup>CellAction, Institut Curie, Suresnes, France

[cecile.alanio@curie.fr](mailto:cecile.alanio@curie.fr)



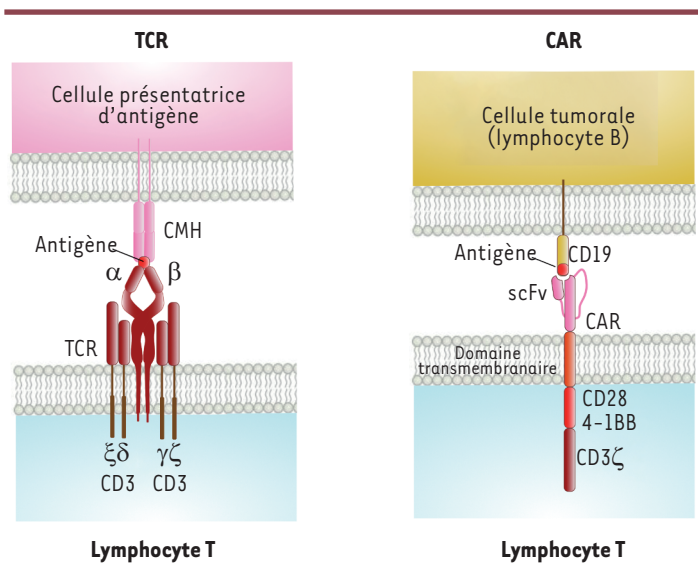
L'immunothérapie a connu un essor remarquable au cours de la dernière décennie, notamment dans le domaine anti-tumoral [1]. Ceci fait suite à la mise en évidence d'un rôle important du système immunitaire dans le contrôle et l'éradication des tumeurs [2]. Une meilleure compréhension des mécanismes en jeu a permis le développement successif de stratégies vaccinales, d'anticorps monoclonaux interférant avec les points de contrôle immunitaire, ou encore de la thérapie cellulaire [3,4] (→).

(→) Voir la Synthèse de V. Catros, m/s n° 4, avril 2019, page 316

Cette dernière a émergé au gré des innovations techniques pour aboutir à l'autorisation de l'administration des lymphocytes T CAR (en anglais, *CAR-T cells*, CAR pour *chimeric antigen receptor*) par la FDA (*Food and Drug Administration*) en 2017 dans les leucémies B [5]. Malgré une efficacité notable dans ces maladies, des progrès sont nécessaires pour améliorer l'efficacité à long terme et la tolérance de cette thérapie, notamment dans les tumeurs solides [6]. Cette synthèse a pour objet de détailler les stratégies d'optimisation de l'efficacité et de la sécurité des thérapies par cellules CAR-T (désignées par CAR-T dans la suite du texte).

### Les CAR-T

Les CAR-T sont des lymphocytes T isolés à partir d'un prélèvement de sang du malade (aphérèse), multipliés et modifiés *ex vivo* pour exprimer un récepteur spécifique de la tumeur, et réinjectés par voie intraveineuse au même malade pour y exercer leur activité anti-tumorale [5]. Cette stratégie repose sur la capacité des lymphocytes T à être cytotoxiques, c'est-à-dire à lyser les cellules tumorales après avoir été activés. Contrairement à l'activation classique des cellules T *via* le complexe TCR (*T cell receptor*) présent à leur surface, les CAR-T s'activent *via* un récepteur artificiel constitué d'un fragment d'anticorps, également exprimé à leur surface, et qui se lie à une molécule de surface sur la cellule tumorale (la cible) (Figure 1). Ce récepteur contient un domaine transmembranaire, qui l'ancre dans la membrane lipidique du lymphocyte T, et une région intracellulaire activatrice. Celle-ci a initialement inclus le domaine activateur de la chaîne zeta du complexe moléculaire CD3 (CD3ζ) ou, plus rarement, de la chaîne γ des RFcγI (chaîne γ des récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines de type I) et RFcγIIIa (chaîne γ des récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines de type IIIa). Elle a été rendue plus complexe lorsque des domaines de molécules de co-activation du TCR ont été ajoutés afin de simuler au mieux une liaison du TCR et de déclencher la cascade de phosphorylation et d'activation du lymphocyte T [7]. Schématiquement, on distingue : les CAR-T de première génération, comprenant uniquement le domaine activateur de la chaîne ζ du CD3 ou, plus rarement, de la chaîne γ des RFcγI et RFcγIIIa dans la région intracellulaire ; les CAR-T de seconde génération, comprenant le domaine activateur de la chaîne ζ du CD3 et un domaine



**Figure 1. Comparaison entre la structure du TCR (à gauche) et du CAR (à droite), respectivement en interaction avec le CMH d'une cellule présentatrice d'antigène ou avec l'antigène spécifique d'une cellule tumorale.** TCR : T-cell receptor ; CAR : chimeric antigen receptor ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; scFv : fragment variable simple chaîne (d'après [5], © Thierry Jouault).

de costimulation dérivé de CD28 ou de CD137 (ou 4-1BB), ou encore d'ICOS (*inducible co-stimulator*) ou d'OX-40 (CD134) ; et les CAR-T de troisième génération qui comportent l'ensemble de ces éléments (domaines activateurs de la chaîne CD3ζ, de CD28 et de 4-1BB) dans leur région intracellulaire. Actuellement, les CAR-T utilisées en clinique (Yescarta®, Kymriah®) sont des CAR-T de deuxième génération. Le domaine dérivé de CD28 a montré son efficacité pour obtenir une réponse anti-tumorale rapide [8], tandis que le domaine dérivé de 4-1BB s'est avéré être associé à une plus grande persistance des CAR-T après leur injection [9].

Les CAR-T peuvent également être équipées de gènes visant à modifier le microenvironnement tumoral ou à les rendre résistantes à l'immunosuppression induite par la tumeur. Ainsi, les TRUCK (*T cells redirected for universal cytokine killing*) sont conçues pour sécréter également des cytokines immunostimulantes, telles que l'IL(interleukine)-12 ou l'IL-18 [10]. D'autres CAR-T expriment 4-1BBL (le ligand de 4-1BB) dans le but de fournir un signal de costimulation aux lymphocytes T adjacents infiltrant la tumeur [11]. Les CAR-T peuvent également co-exprimer des récepteurs dominants négatifs (induisant une perte de fonction) de certains points de contrôle immunitaire (comme PD-1

[*programmed death-1*]) ou de cytokines immunosuppressives (TGF-β [*transforming growth factor beta*] notamment), qui les rendent résistantes à ces signaux inhibiteurs [12].

### Importance des CAR-T en immunothérapie des cancers

Les cellules CAR-T dirigées contre la molécule CD19 ont été les premières à être approuvées par les autorités de santé. La molécule CD19 est une cible de choix du fait de son expression forte et homogène par les lymphocytes B et donc dans un grand nombre d'hémopathies B, et de sa faible expression par les autres cellules (l'aplasie B induite par les CAR-T peut être traitée par une supplémentation en immunoglobulines polyvalentes, ou IVIg [*intravenous immunoglobulins*]).

Aujourd'hui, différentes CAR-T anti-CD19 sont commercialisées pour le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique B [13,14] et de lymphomes B [14-17] en rechute / réfractaires. Des CAR-T dirigées contre le BCMA (*B-cell maturation antigen*) sont, quant à eux, indiquées pour le traitement du myélome [17-19]. Ces CAR-T ont montré une efficacité remarquable chez des patients en situation d'échec des traitements habituels. À titre d'exemple, la survie globale à deux ans des patients présentant un lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) réfractaire et traités par axicabtagene ciloleucel (axi-cel, CAR-T anti-CD19) est de 54 % dans l'étude ZUMA-1 [15,19] alors qu'elle n'est que de 20 % dans l'étude SCHOLAR-1 chez des patients traités par chimiothérapie conventionnelle [20,21].

Des CAR-T dirigées contre d'autres cibles sont également développées afin de traiter les hémopathies lymphoïdes T [22], les hémopathies myéloïdes et les tumeurs solides [23-25]. Mais malgré des résultats très encourageants, 40 à 70 % des patients présentent une résistance au traitement par CAR-T. Cette résistance peut être soit primaire (absence de réponse) soit secondaire (réponse suivie d'une rechute).

Le *Tableau 1* résume les principaux mécanismes de résistance aux CAR-T, qui peuvent être liés aux

Résistance liée aux CAR-T	Résistance liée à la tumeur
Expansion limitée	Perte de la cible
Faible diffusion intratumorale	Défaut d'apoptose
Faible persistance	Microenvironnement tumoral
Épuisement	

**Tableau 1. Synthèse des principaux mécanismes de résistance aux CAR-T.**

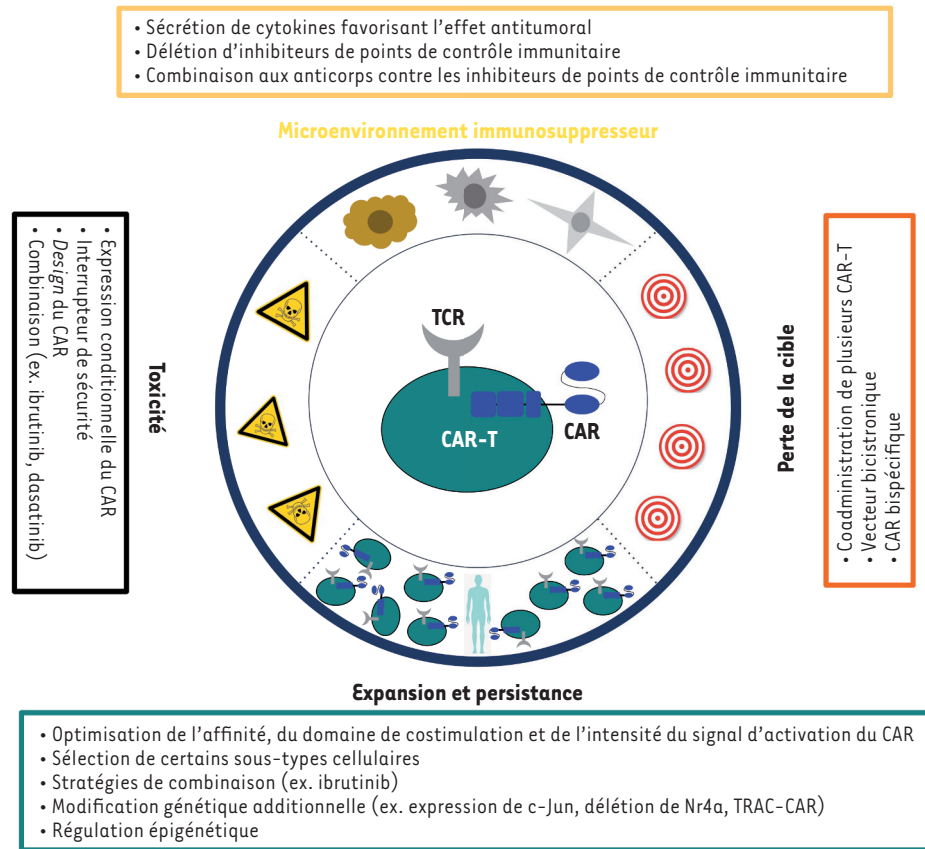


Figure 2. Représentation schématique des enjeux et stratégies pour l'optimisation des traitements par CAR-T.

caractéristiques intrinsèques des CAR-T ou aux caractéristiques de la tumeur. Les principales stratégies pour optimiser les traitements par CAR-T sont présentées dans la Figure 2, l'enjeu étant d'augmenter l'efficacité des CAR-T tout en améliorant leur sécurité.

## Optimisation de l'efficacité

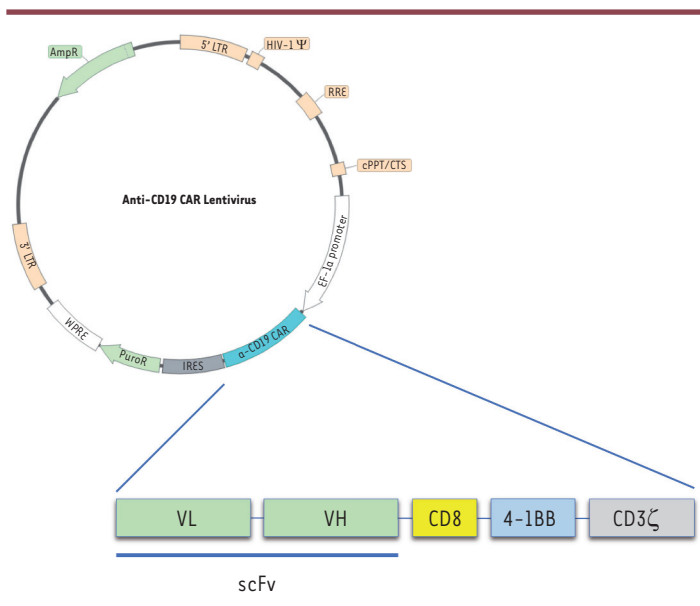
### Une « bonne » cible

Le premier élément qui conditionne l'efficacité des CAR-T est le fait qu'elles expriment un récepteur chimérique se liant à une « bonne » cible. Une « bonne » cible est idéalement exprimée uniquement par les cellules tumorales et pas par les tissus sains (pour éviter des effets indésirables sur des tissus normaux), avec une expression stable, forte et homogène à la surface de toutes les cellules tumorales (y compris les cellules métastatiques présentes dans d'autres tissus), afin d'être repérée par les lymphocytes T [7,26]. Idéalement, elle devrait être indispensable à la survie ou à la prolifération de la cellule tumorale pour que celle-ci ne puisse s'échapper en arrêtant de l'exprimer [7,26,27].

En pratique, l'ensemble de ces conditions sont rarement réunies. En raison de son expression forte par les cellules malignes, le CD19 a été et reste la première cible des CAR-T. La molécule CD19 est exprimée

par les lymphocytes B normaux et les lymphocytes B cancéreux dans le contexte des leucémies lymphoïdes B ou des lymphomes B. L'utilisation des CAR-T anti-CD19 entraîne donc non seulement une éradication des cellules B tumorales, mais aussi une aplasie des lymphocytes B, en général. Par ailleurs, le CD19 n'étant pas indispensable à la cellule lymphomateuse, des mécanismes d'échappements CD19 « négatifs » apparaissent, entraînant la perte de contrôle des CAR-T sur la maladie [28]. Pour pallier ce problème récurrent dans les essais cliniques impliquant les CAR-T, il est maintenant possible de créer des CAR-T qui expriment deux récepteurs chimériques distincts ayant des cibles différentes, CD19 et CD22 par exemple [28,29]. Ces CAR-T dites bicistroniques sont de plus en plus utilisés dans les essais cliniques, notamment ceux visant des tumeurs solides.

D'autres cibles sont utilisées en clinique, comme le BCMA (*B-cell maturation antigen*) dans le myélome [31], le GD2 (disialoganglioside) dans les cancers cérébraux et le neuroblastome [33], la mésothéline dans les cancers du pancréas [34], ou l'EGFRvIII (*epidermal*



**Figure 3. Schéma d'un lentivirus CAR-T CD19.** (selon BPS Bioscience, <https://bps-bioscience.com/anti-cd19-car-lentivirus-cd19-scfv-cd8-4-1bb-cd3z-78600>). LTR : long terminal repeat ; RRE : Rev-responsive element ; cPPT/CTS : central polypurine tract/central termination sequence ; IRES : Internal ribosome entry site ; PuroR : gène de résistance à la puromycine ; WPRE : Woodchuckhepatitis hirus posttranscriptional regulatory element ; 3'-UTR : 3'Untranslated region ; AmpR : gène de résistance à l'ampicilline ; VL et FL : chaînes légère et lourde des immunoglobulines, respectivement.

growth factor receptor variant III) dans le glioblastome [35]. Toutes ces cibles présentent des limitations, soit d'échappement, soit d'expression par les tissus sains. De nombreuses recherches sont donc en cours pour identifier des cibles optimales.

### Optimisation génétique

L'expression du récepteur artificiel chimérique dans les CAR-T repose sur l'utilisation de vecteurs viraux (gamma-rétrovirus ou lentivirus) véhiculant l'ADN complémentaire (ADNc) codant le CAR [36]. Les rétrovirus sont des particules enveloppées qui contiennent un génome à ARN simple brin. Une grande partie du génome viral peut être remplacé par le transgène, qui s'intègre de façon permanente dans le génome de la cellule transduite. Le risque des rétrovirus demeure leur possible intégration à proximité de promoteurs oncogéniques et la transformation maligne des cellules transduites. La transduction par un vecteur lentiviral est donc une approche de plus en plus utilisée (Figure 3). Comme pour les rétrovirus, la plus grande partie de leur génome peut être remplacée par le transgène d'intérêt, celui-ci étant aussi intégré de façon stable dans le génome de la cellule cible. Les lentivirus ne nécessitent pas de division cellulaire pour transduire les cellules cibles, ce qui élargit leur spectre d'application, et ils s'intègrent plus fréquemment dans des régions activement transcrites, mais sans cibler préférentiellement des promoteurs. En revanche, leur production à grande échelle reste difficile.

En France, le CAR CD19 (Yescarta®) est principalement utilisé. Ce CAR est produit avec comme vecteur, un gamma-rétrovirus, et contient un domaine CD28 de costimulation. Aux États-Unis, le CAR CD19 (Kymriah®), produit avec un lentivirus comme vecteur et contenant un domaine 4-1BB de costimulation, est utilisé. La majorité des CAR-T utilisés pour traiter des tumeurs solides sont construits en utilisant des lentivirus, exception faite du CAR CD19 ciblant les lymphocytes B. L'essor du génie génétique permet de considérer de multiples approches pour améliorer l'efficacité des CAR-T en modifiant leur génome. Ainsi, de nombreuses stratégies thérapeutiques en cours de développement utilisent notamment la technique CRISPR/Cas9. Ces stratégies proposent, en particulier, d'introduire des modifications épigénétiques au sein des lymphocytes T transduits afin de favoriser leur différenciation en lymphocytes T effecteurs cytotoxiques à longue durée de vie [37,38].

### Armer les CAR-T pour qu'elles naviguent dans le microenvironnement tumoral

Les CAR-T sont des cellules génétiquement modifiées conçues pour exprimer un récepteur chimérique. Mais il est possible de leur faire également exprimer d'autres éléments de régulation génique qui pourraient augmenter leur cytotoxicité et leur activité anti-tumorale. Cela semble particulièrement opportun dans les tumeurs solides, là où les CAR-T se heurtent à des obstacles pour pénétrer dans le tissu atteint, et ensuite naviguer dans le microenvironnement tumoral (TME), souvent hostile [39]. En effet, dans les tumeurs solides, le TME héberge bien souvent des cellules immunitaires qui produisent des cytokines immunosuppressives épuisant les CAR-T avant même qu'elles aient pu atteindre leur cible. Aussi, pour espérer armer les CAR-T contre cet environnement hostile et mieux lutter contre les tumeurs solides, il est nécessaire de connaître et de comprendre les obstacles que ces cellules sont susceptibles de rencontrer. C'est tout l'enjeu des études ancillaires qui analysent le devenir des CAR-T dans le sang périphérique et les tumeurs, au cours d'essais cliniques, pour identifier et éventuellement contrôler les mécanismes responsables de leur absence de réponse. S'appuyant sur ces observations et sur les possibilités offertes par le génie génétique, il serait ainsi possible de modifier les CAR-T afin de les rendre plus efficaces. De nombreuses stratégies sont en cours de développement [40,41]. C'est le cas, par exemple, des CAR-T anti-BCMA exprimant le récepteur CXCR4 (CXC motif chemokine receptor 4)

Risque	Exemples d'approche
<i>On target/off tumor</i> (Sur la cible mais hors tumeur)	Identification de cibles spécifiques Expression conditionnelle du CAR
Génotoxicité	Utilisation de vecteurs lentiviraux
Relargage cytokinique ( <i>Cytokine Release Syndrome</i> )	Diminution de la dose Injection locorégionale
Syndrôme de neurotoxicité ( <i>Immune effector Cell-Associated Neurotoxicity Syndrome</i> )	Diminution de la dose Injection locorégionale
Syndrôme de lyse tumorale ( <i>Tumor Lysis Syndrome</i> ) Anaphylaxie	Gène suicide ou mimotope

**Tableau II. Effets indésirables des CAR-T** (d'après [46]).

dans le myélome multiple<sup>1</sup> [42], des CAR-T n'exprimant pas le récepteur inhibiteur PD-1 [43], ou encore des CAR-T anti-PSMA (*prostate-specific membrane antigen*), dépourvus du gène codant le TGF- $\beta$  (*tumor growth factor*) dans le cancer de la prostate [44]. L'émergence d'une solution universelle est cependant peu probable, et il est vraisemblable que des stratégies différentes devront être développées selon le type de cancer, voire en fonction de chaque patient. C'est souligner encore une fois l'intérêt de renforcer les études ancillaires pour personnaliser au mieux le traitement au bénéfice de la personne malade et, compte tenu des coûts de ces thérapies, au bénéfice de la société<sup>2</sup>.

## Optimisation de la sécurité

### Effets indésirables

Plusieurs risques sont inhérents à la thérapie CAR-T (*Tableau II*). Le premier est celui d'un effet « *on-target / off-tumor* »<sup>3</sup>, dû à l'expression de la cible par d'autres cellules que les cellules tumorales. Cet effet est réel et a entraîné l'interruption d'un certain nombre d'essais cliniques à la suite du décès des patients [45,46]. C'est pour ces raisons que la recherche de cibles les plus spécifiques de la tumeur est l'une des priorités de la recherche biomédicale actuelle. D'autres effets toxiques peuvent également survenir. En effet, les traitements par CAR-T s'accompagnent fréquemment de toxicités aiguës, dont les plus fréquentes sont le syndrome de relargage de cytokines (CRS, *cytokine release syndrome*) et la toxicité neurologique (*immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome*, ICANS). Un consensus a récemment été obtenu pour quantifier leur sévérité [47].

Le CRS survient lorsque les CAR-T s'activent et prolifèrent après reconnaissance de leur cible. Cette activation est associée à la libération par le lymphocyte T modifié de différentes cytokines et chimiokines

pro-inflammatoires (IFN [interféron]- $\gamma$ , IL-6, etc.) qui stimulent les cellules de l'immunité innée, comme les macrophages, qui, en retour, sécrètent également des médiateurs solubles qui entretiennent le CRS [48,49]. Cliniquement, le CRS se manifeste le plus souvent par de la fièvre, une hypotension, et/ou une hypoxie, mais il peut altérer tous les organes et mettre rapidement en jeu le pronostic vital du patient.

La physiopathologie de l'ICANS est moins bien connue. Elle pourrait être liée aux CAR-T qui sont retrouvées dans le liquide cérébro-spinal, à la libération de cytokines pro-inflammatoires qui contribuent notamment à l'activation des cellules endothéliales, à l'augmentation de la perméabilité vasculaire et à l'altération de la barrière hémato-encéphalique (BHE) [49,50]. Les symptômes décrits sont très variés, pouvant aller d'une simple confusion au coma.

### Des approches pour minimiser les risques

Les complications, telles que le CRS, dépendent de la quantité de CAR-T qui sont injectées au patient. Des études récentes montrent qu'en diminuant cette dose, il est possible d'améliorer le profil de sécurité des injections de CAR-T [51]. C'est tout l'intérêt des injections locorégionales, qui semblent avoir une bonne efficacité dans certaines indications, par exemple dans le glioblastome [30], avec une moindre toxicité générale.

Enfin, pour limiter ou contrôler la toxicité des CAR-T, certaines constructions incluent une expression conditionnelle du CAR (récepteurs *synNotch*<sup>4</sup>) ou encore un interrupteur de sécurité (*safety switch*), en introduisant

<sup>1</sup> <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04727008>

<sup>2</sup> La perfusion de CAR-T coûte entre 300 000 et 400 000 euros par patient.

<sup>3</sup> Sur la cible mais hors tumeur.

<sup>4</sup> Version modifiée du récepteur Notch qui permet le contrôle spatial de l'activation des CAR-T (ndlr).

Analyses	Produit d'aphérèse ou sang périphérique	CAR-T (sur poche)	Patient
Fortement recommandées			Quantification des CAR-T par cytométrie en flux Quantification des lymphocytes (T, B et NK) Électrophorèse des protéines sériques
Recommandées	Pourcentage de CAR-T Phénotypage des lymphocytes scRNAseq/TCRseq Congélation du sérum	Phénotype des CAR-T (viabilité, pourcentage) Phénotypage T (CD3, CD4, CD8)	Quantification des CAR-T par PCR Quantification des CAR-T dans la MO et le LCS Congélation du sérum
Optionnelles			Phénotypage des lymphocytes Reconstitution des cellules non CAR (lymphocytes, monocytes, etc.) Quantification des CAR-T et phénotypage étendu dans d'autres sites (MO, ganglions, etc.)

**Tableau III. Recommandations de suivi des CAR-T utilisés contre une hémopathie maligne.** scRNAseq : séquençage de l'ARN sur cellule unique ; TCRseq : séquençage du TCR (*T-cell receptor*) ; NK : *natural killer* ; PCR : *polymerase chain reaction* ; MO : moelle osseuse ; LCS : liquide cérébro-spinal (d'après [53]).

un gène suicide ou un gène codant une molécule permettant de cibler et d'éliminer les CAR-T. Certains CAR-T sont, par exemple, modifiés génétiquement pour exprimer un mimotope<sup>5</sup> [3] du CD20 ou de l'EGFR (*epithelial growth factor receptor*), ce qui permet leur élimination par des anticorps monoclonaux spécifiques, respectivement le rituximab et le cétuximab.

### Le suivi des CAR-T au laboratoire

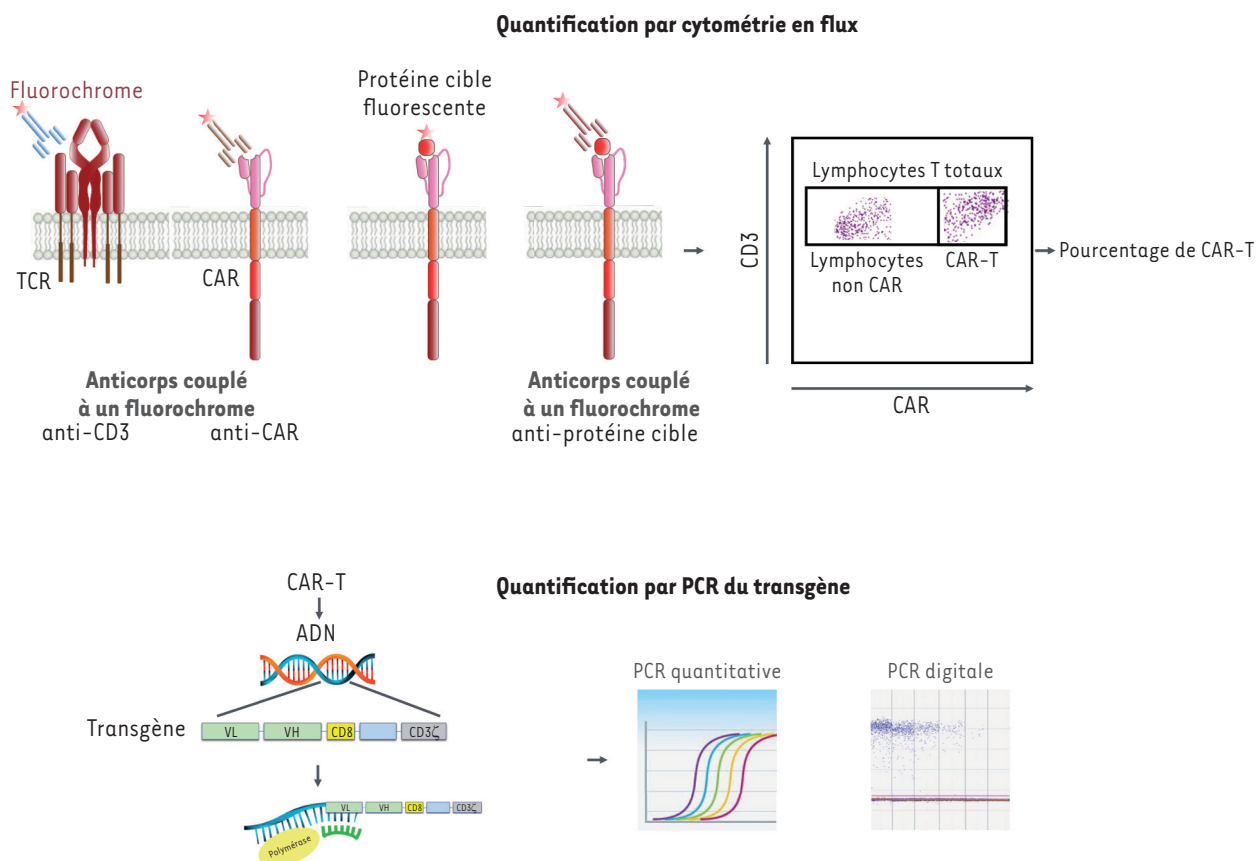
Le suivi immunologique des patients présentant une hémopathie maligne traités par CAR-T a récemment fait l'objet de recommandations du groupe CARTi et de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC) [53]. Parmi ces recommandations, celles décrivant les facteurs prédictifs d'efficacité concernent la qualité des cellules au moment de l'aphérèse (et notamment leur contenu en lymphocytes T mémoires précoces CD45RA<sup>+</sup> CCR7<sup>+</sup>) [53,54], leur amplitude d'expansion [54], et la persistance des CAR-T dans le temps [9,54]. Pour ce qui est de la toxicité, aucun marqueur prédictif n'a été validé pour la prédiction du CRS. Il est cependant décrit qu'une masse tumorale élevée, un pic d'expansion des CAR-T important et une injection de CAR-T contenant un domaine de co-stimulation CD28, sont des facteurs favorisant sa survenue. De la même façon, la survenue et la sévérité des ICANS sont corrélées à l'intensité du pic de prolifération et d'activation des CAR-T.

Schématiquement, le suivi immunologique des patients recevant des CAR-T peut être réalisé à partir du sang périphérique après administration des cellules, mais également dans le produit de perfusion, et dans les tissus (tumeur, liquide cérébro-spinal, moelle osseuse) (Tableau III). Les outils traditionnellement utilisés sont la cyto-

métrie en flux, la PCR (*polymerase chain reaction*), et le dosage de cytokines et de facteurs solubles (Figure 4). L'identification par cytométrie en flux des CAR-T repose principalement sur l'utilisation d'anticorps reconnaissant le CAR, ou de protéines solubles biotinylées correspondant à la cible du CAR. L'analyse cinétique des CAR-T permet de déterminer quand les cellules deviennent détectables après leur injection, le pic d'expansion et leur persistance au cours du traitement. Les CAR-T peuvent également être quantifiés par PCR quantitative en temps réel (qPCR) ou par PCR digitale (ddPCR). Il est possible d'amplifier les séquences promotrices LTR (*long terminal repeat*) du vecteur viral, ou d'amplifier un fragment d'ADN spécifique de la partie scFv (fragment variable simple chaîne) du CAR. Par rapport à la qPCR, la ddPCR est plus sensible, plus spécifique et plus reproductible pour les faibles quantités. Elle permet une quantification absolue sans avoir recours à une gamme de référence.

En ce qui concerne les tumeurs solides, le suivi des malades est similaire, mais la question de l'infiltration des CAR-T dans la tumeur est essentielle, et justifie la réalisation d'études ancillaires plus poussées incluant notamment des techniques d'analyse de cellule unique qui vont permettre de suivre le cheminement des cellules administrées au patient, et un phénotypage détaillé des CAR-T pour définir leur qualité en terme d'activation, de différenciation, et d'épuisement. Ces techniques ne peuvent pas être utilisées en routine hospitalière, et relèvent donc d'un

<sup>5</sup> Peptide qui imite la structure d'un épitope (Ndlr).



**Figure 4. Outils pour le suivi des CAR-T au laboratoire** (figure adaptée d'après [53], © Thierry Jouault).

laboratoire de suivi immunologique translationnel, en lien étroit avec la clinique. De ces analyses émergera aussi l'identification de biomarqueurs qui peuvent être pertinents ultérieurement en pratique hospitalière [40].

## Conclusion

Les approches fondées sur l'utilisation des lymphocytes CAR-T sont des thérapies cellulaires prometteuses, dont l'intérêt clinique, notamment en hématologie, n'est plus à démontrer. Leur application aux tumeurs solides nécessite des adaptations qui sont et seront réalisées grâce à une recherche translationnelle permettant d'identifier les résistances chez les malades, et de puiser ensuite dans la science fondamentale et le génie technologique les outils spécifiques qui permettront de mieux armer les cellules et d'augmenter leur efficacité. Ces thérapies comportent des risques, qui nécessitent aussi d'être contrôlés. Le défi est de trouver la délicate frontière entre efficacité et toxicité. L'application des CAR-T concerne désormais les maladies auto-immunes [55-57] (→) et fibreuses [58] (→) et implique le développement d'outils spécifiques. ♦

(→) Voir la Synthèse de E. Desvaux *et al.*, *m/s* n° 4, avril 2022, page 337

(→) Voir la Brève de A. Bayer *et al.*, *m/s* hors série n° 1, décembre 2022, page 40

## SUMMARY

### Optimizing efficacy and security of CAR-T cells, and immune monitoring

The immune system plays a critical role in the control and eradication of tumors. A better understanding of the anti-tumor immune mechanisms over the last decade has led to the development of immunotherapies, including cellular therapies such as those using CAR-T cells. These therapies have been remarkably effective in hematological malignancies. However, their application to solid tumors requires some optimization. Many efforts are being made in this regard, both to increase the efficacy of CAR-T cells, and to make them more secure. For the former goal, there is a need for the identification of new targets, better activation strategies, or arming T cells in a way that makes them able to overcome intra-tumoral barriers. For the latter goal, dose adjustment, locoregional administration or use of suicide genes are currently investigated as ways to mitigate the risks of this therapy. Together, these adjustments will permit larger applicability of CAR-T cells, in anti-tumor immunity, but also in the context of autoimmune diseases or fibrolytic therapies. ♦

## REMERCIEMENTS

Les auteurs souhaitent remercier l'Agence nationale de la recherche (ANR) pour leur soutien financier dans le cadre du Programme d'investissement France 2030 (convention n° ANR-21-RHUS-0016), ainsi que l'Institut national du cancer, le ministère de la Santé et de la Prévention et l'Inserm. Ce travail a bénéficié également d'une aide de l'État gérée par l'ANR au titre de France 2030 portant la référence « ANR-22-BIOC-0001 ». Nous remercions également le CIC IGR-Curie 1428 et le Parker Institute for Cancer Immunotherapy. Nous souhaitons remercier tous les membres du laboratoire d'immunologie clinique et d'immunomonitoring et les membres de l'U932 et de CellAction à l'Institut Curie, Paris, France, pour leurs discussions enrichissantes.

## LIENS D'INTÉRÊT

Cécile Alanio est consultant pour Biotherapy Partners. Marion Alcantara est consultant pour Novartis, Janssen, MSF et Kite/Gilead.

Lucille Lew-Derivry et Lamia Lamrani déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol* 2020 ; 20 : 651-68.
2. Mellman I, Chen DS, Powles T, et al. The cancer-immunity cycle: Indication, genotype, and immunotype. *Immunity* 2023 ; 56 : 2188-205.
3. Catros V. Les CAR-T cells, des cellules tueuses spécifiques d'antigènes tumoraux - De nouvelles générations pour le traitement des tumeurs solides. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 316-26.
4. Riffard C, Teillaud J-L. [Bispecific antibodies: An old story with a bright future... with CAR-T cells!]. *Bull Cancer* 2021 ; 108 : S168-80.
5. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. *N Engl J Med* 2018 ; 379 : 64-73.
6. Castellarin M, Watanabe K, June CH, et al. Driving cars to the clinic for solid tumors. *Gene Ther* 2018 ; 25 : 165-75.
7. Cappell KM, Kochenderfer JN. A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nat Rev Clin Oncol* 2021 ; 18 : 715-27.
8. Feucht J, Sun J, Eyquem J, et al. Calibration of CAR activation potential directs alternative T cell fates and therapeutic potency. *Nat Med* 2019 ; 25 : 82-8.
9. Melenhorst JJ, Chen GM, Wang M, et al. Decade-long leukaemia remissions with persistence of CD4+ CAR T cells. *Nature* 2022 ; 602 : 503-9.
10. Sadelain M, Rivière I, Riddell S. Therapeutic T cell engineering. *Nature* 2017 ; 545 : 423-31.
11. Zhao Z, Condomines M, Stegen SJC van der, et al. Structural Design of Engineered Costimulation Determines Tumor Rejection Kinetics and Persistence of CAR T Cells. *Cancer Cell* 2015 ; 28 : 415-28.
12. Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition. *J Clin Invest* 2016 ; 126 : 3130-44.
13. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 439-48.
14. Shah BD, Ghobadi A, Oluwole OO, et al. KTE-X19 for relapsed or refractory adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: phase 2 results of the single-arm, open-label, multicentre ZUMA-3 study. *Lancet* 2021 ; 398 : 491-502.
15. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol* 2019 ; 20 : 31-42.
16. Wang M, Munoz J, Goy A, et al. Three-Year Follow-Up of KTE-X19 in Patients With Relapsed/Refractory Mantle Cell Lymphoma, Including High-Risk Subgroups, in the ZUMA-2 Study. *J Clin Oncol* 2023 ; 41 : 555-67.
17. Fowler NH, Dickinson M, Dreyling M, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial. *Nat Med* 2022 ; 28 : 325-32.
18. Munshi NC, Anderson LD, Shah N, et al. Idecabtagene vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2021 ; 384 : 705-16.
19. Martin T, Usmani SZ, Berdeja JG, et al. Ciltacabtagene Autoleucel, an Anti-B-cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy, for Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: CARTITUDE-1 2-Year Follow-Up. *J Clin Oncol* 2023 ; 41 : 1265-74.
20. Crump M, Neelapu SS, Faraoo U, et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood* 2017 ; 130 : 1800-8, *Blood* 2018 ; 131 : 587-8.
21. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Comparison of 2-year outcomes with CAR T cells (ZUMA-1) vs salvage chemotherapy in refractory large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 2021 ; 5 : 4149-55.
22. Alcantara M, Tesio M, June CH, et al. CAR T-cells for T-cell malignancies: challenges in distinguishing between therapeutic, normal, and neoplastic T-cells. *Leukemia* 2018 ; 32 : 2307-15.
23. Cummins KD, Gill S. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute myeloid leukemia: how close to reality? *Haematologica* 2019 ; 104 : 1302-8.
24. Alcantara M, Du Rusquec P, Romano E. Current Clinical Evidence and Potential Solutions to Increase Benefit of CAR T-Cell Therapy for Patients with Solid Tumors. *Oncoimmunology* 2020 ; 9 : 177064.
25. Edeline J, Houot R, Marabelle A, et al. CAR-T cells and BiTEs in solid tumors: challenges and perspectives. *J Hematol Oncol* 2021 ; 14 : 65.
26. Wei J, Han X, Bo J, et al. Target selection for CAR-T therapy. *J Hematol Oncol* 2019 ; 12 : 62.
27. Chandran SS, Klebanoff CA. T cell receptor-based cancer immunotherapy: Emerging efficacy and pathways of resistance. *Immunol Rev* 2019 ; 290 : 127-47.
28. Cappell KM, Kochenderfer JN. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. *Nat Rev Clin Oncol* 2023 ; 20 : 359-71.
29. Brillembourg H, Martínez-Cibrián N, Bachiller M, et al. The role of chimeric antigen receptor T cells targeting more than one antigen in the treatment of B-cell malignancies. *Br J Haematol* 2024 ; doi: 10.1111/bjh.19348.
30. Bagley SJ, Logun M, Fraietta JA, et al. Intrathecal bivalent CAR T cells targeting EGFR and IL13R 2 in recurrent glioblastoma: phase 1 trial interim results. *Nat Med* 2024 ; doi: 10.1038/s41591-024-02893-z.
31. Raju N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2019 ; 380 : 1726-37.
32. Majzner RG, Ramakrishna S, Yeom KW, et al. GD2-CAR T cell therapy for H3K27M-mutated diffuse midline gliomas. *Nature* 2022 ; 603 : 934-41.
33. Del Bufalo F, De Angelis B, Caruana I, et al. GD2-CART01 for Relapsed or Refractory High-Risk Neuroblastoma. *N Engl J Med* 2023 ; 388 : 1284-95.
34. Beatty GL, O'Hara MH, Lacey SF, et al. Activity of Mesothelin-Specific Chimeric Antigen Receptor T Cells Against Pancreatic Carcinoma Metastases in a Phase 1 Trial. *Gastroenterology* 2018 ; 155 : 29-32.
35. O'Rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma. *Sci Transl Med* 2017 ; 9 : eaaa0984.
36. Irving M, Lanitis E, Migliorini D, et al. Choosing the Right Tool for Genetic Engineering: Clinical Lessons from Chimeric Antigen Receptor-T Cells. *Hum Gene Ther* 2021 ; 32 : 1044-58.
37. Prinzing B, Zebley CC, Petersen CT, et al. Deleting DNMT3A in CAR T cells prevents exhaustion and enhances antitumor activity. *Sci Transl Med* 2021 ; 13 : eabh0272.
38. López-Cobo S, Fuentealba JR, Gueguen P, et al. SUV39H1 Ablation Enhances Long-term CAR T Function in Solid Tumors. *Cancer Discov* 2024 ; 14 : 120-41.
39. Johnson A, Townsend M, O'Neill K. Tumor Microenvironment Immunosuppression: A Roadblock to CAR T-Cell Advancement in Solid Tumors. *Cells* 2022 ; 11 : 3626.
40. Bagley SJ, Binder ZA, Lamrani L, et al. Repeated peripheral infusions of anti-EGFRvIII CAR T cells in combination with pembrolizumab show no efficacy in glioblastoma: a phase 1 trial. *Nat Cancer* 2024 ; 5 : 517-31.
41. Larson RC, Maus MV. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat Rev Cancer* 2021 ; 21 : 145-61.
42. Foeng J, Comerford I, McCall SR. Harnessing the chemokine system to home CAR-T cells into solid tumors. *Cell Rep Med* 2022 ; 3 : 100543.
43. McGowan E, Lin Q, Ma G, et al. PD-1 disrupted CAR-T cells in the treatment of solid tumors: Promises and challenges. *Biomed Pharmacother* 2020 ; 121 : 109625.
44. Narayan V, Barber-Rotenberg JS, Jung I-Y, et al. PSMA-targeting TGFβ-insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 trial. *Nat Med* 2022 ; 28 : 724-34.
45. Haas AR, Golden RJ, Litzky LA, et al. Two cases of severe pulmonary toxicity from highly active mesothelin-directed CAR T cells. *Mol Ther* 2023 ; 31 : 2309-25.
46. Kandra P, Nandigama R, Eul B, et al. Utility and Drawbacks of Chimeric Antigen Receptor T Cell (CAR-T) Therapy in Lung Cancer. *Front Immunol* 2022 ; 13 : 903562.
47. Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019 ; 25 : 625-38.
48. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science* 2018 ; 359 : 1361-1365.
49. Morris EC, Neelapu SS, Giavridis T, et al. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2022 ; 22 : 85-96.
50. Hunter BD, Jacobson CA. CAR T-Cell Associated Neurotoxicity: Mechanisms, Clinicopathologic Correlates, and Future Directions. *J Natl Cancer Inst* 2019 ; 111 : 646-54.
51. Park JH, Palomba ML, Rivière I, et al. A Phase I Study of CD19-Targeted 19(T2)28zLxx CAR T Cells in Adult Patients with Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Blood* 2022 ; 140 : 403-4.
52. Straathof KC, Spencer DM, Sutton RE, et al. Suicide genes as safety switches in T lymphocytes. *Cytotherapy* 2003 ; 5 : 227-30.



## RÉFÉRENCES

53. Rubio MT, Varlet P, Allain V, et al. [Immunomonitoring of patients treated with CAR-T cells for hematological malignancy: Guidelines from the CARTi group and the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC)]. *Bull Cancer* 2021 ; 108 : S53-S64.
54. Fraietta JA, Lacey SF, Orlando EJ, et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med* 2018 ; 24 : 563-71.
55. Desvaux E, Moingeon P, Brill A, et al. Lupus érythémateux disséminé - Une nouvelle indication thérapeutique pour les cellules CAR-T ? *Med Sci (Paris)* 2022 ; 38 : 337-9.
56. Mougiakakos D, Krönke G, Völkl S, et al. CD19-Targeted CAR T Cells in Refractory Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med* 2021 ; 385 : 567-9.
57. Müller F, Taubmann J, Bucci L, et al. CD19 CAR T-Cell Therapy in Autoimmune Disease - A Case Series with Follow-up. *N Engl J Med* 2024 ; 390 : 687-700.
58. Bayer Wildberger A, Vilquin J-T. Les cellules CAR-T - Des nouvelles armes dans la lutte contre la fibrose musculaire ? *Med Sci (Paris)* 2022 ; 38 Hors série n° 1 : 40-1.

TIRÉS À PART

C. Alanio

REVUES



SYNTHÈSE

# www.myobase.org

Catalogue en ligne disponible gratuitement sur Internet publié par l'AFM-Téléthon.  
Retrouvez facilement toutes les références bibliographiques sur les maladies neuromusculaires, les situations de handicap qu'elles génèrent et leurs aspects psychologiques.

Myobase donne un accès libre à 75 % du fonds documentaire collecté depuis 1990, représentant plus de 40 000 références spécifiques du domaine des maladies neuromusculaires.

> **articles** de la littérature biomédicale et psycho-sociale

> **livres, thèses**

> **guides** d'associations et **rapports** institutionnels d'agences internationales

> **brèves en français**, synthèses des articles médico-scientifiques internationaux les plus pertinents

> **publications AFM-Téléthon** destinées aux professionnels de santé ou aux personnes atteintes de maladie neuromusculaire et à leur entourage

## UN OUTIL ERGONOMIQUE, UNE INTERFACE BILINGUE

- Laissez-vous guider par les **tutoriels**
- Lancez une **recherche** et affinez votre sélection grâce aux filtres

### TOUT MYOBASE

Rechercher...

Recherche avancée

Historique

### FILTRES

Type de document

- Article [3443]
- Publication AFM [176]
- Thèse/Mémoire [107]
- Brève [102]

► PUBLICATIONS AFM-Téléthon

► BRÈVES

► DOCUMENTS DE SYNTHÈSE

► INSTITUT DES BIOTHÉRAPIES PUBLICATIONS

- **Partagez** les résultats de votre recherche

## UN ACCÈS facile et simple

Rechercher avec des opérateurs :

- guillemets pour une expression "**maladie de pompe**"
- **+** pour signifier **ET**, et retrouver tous les documents contenant les deux mots "**fauteuil +électrique**"
- **-** pour signifier **NON** et enlever le mot de la recherche : "**autonomie -établissement**"



**Fils RSS**  
Les Fils RSS vous permettent de suivre quotidiennement les nouveautés de Myobase, mais aussi ...



**Alertes Myobase**  
Les Alertes rassemblent une sélection des dernières acquisitions de Myobase et paraissent deux fois...



**Veille Neuromusculaire**  
Publiée tous les 15 jours par le Service de documentation de l'AFM-Téléthon, La "V..."

- Cliquez sur l'**onglet thématique** qui vous convient (haut de la page d'accueil)

- Créez vos alertes personnalisées en ouvrant un **compte personnel**

- Téléchargez la **Veille Neuromusculaire**

- Abonnez-vous aux **flux RSS**