

## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES PHARMACEUTIQUES

#### Les CAR-T cells dans le traitement du lymphome diffus à grandes cellules B

Habran, Baptiste

*Award date:*  
2022

*Awarding institution:*  
Université de Namur  
Université Catholique de Louvain

[Link to publication](#)

#### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

#### Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

# Les CAR-T cells dans le traitement du lymphome diffus à grandes cellules B

Auteur : HABRAN Baptiste  
Promoteur : Pr. ANDRE Marc  
Année académique 2021-2022  
Master en Sciences Pharmaceutiques à finalité spécialisée

**ATTESTATION DE NON-PLAGIAT**

Je soussigné(e)

**HABRAN Baptiste**.....

déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire intitulé :

**Les CAR-T cells dans le traitement du lymphome diffus à grandes cellules B**

Je suis conscient(e) que le fait de ne pas citer une source ou de ne pas la citer clairement et complètement est constitutif de plagiat, que le plagiat est considéré comme une faute grave au sein de l'Université et qu'il peut être sévèrement sanctionné.

Fait à **Namur**....., le **07/07/2022**

Signature de l'Etudiant,



« Je déclare sur l'honneur que ce mémoire a été écrit de ma plume, sans avoir sollicité d'aide extérieure illicite, qu'il n'est pas la reprise d'un travail présenté dans une autre institution pour évaluation, et qu'il n'a jamais été publié, en tout ou en partie. Toutes les informations (idées, phrases, graphes, cartes, tableaux, ...) empruntées ou faisant référence à des sources primaires ou secondaires sont référencées adéquatement selon la méthode universitaire en vigueur. Je déclare avoir pris connaissance et adhérer au Code de déontologie pour les étudiants en matière d'emprunts, de citations et d'exploitation de sources diverses et savoir que le plagiat constitue une faute grave ».

## **Remerciements**

Je tiens à remercier tout particulièrement mon promoteur, le Professeur Marc André, d'avoir accepté de m'encadrer pour la rédaction de ce mémoire. Je le remercie pour sa disponibilité ainsi que pour tout le temps qu'il a passé à lire et corrigé ce travail.

Je remercie également ma famille et mes proches pour leurs relectures et leurs conseils ainsi que pour leur soutien et leurs encouragements apportés lors de la rédaction de ce mémoire et, plus largement, tout au long de ce parcours académique à l'Université de Namur.

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	8
<b>1. CAR-T cells</b> .....	9
<b>1.1. Rappels immunologiques</b> .....	9
<b>1.2. Structure des CAR-T cells</b> .....	11
<b>1.2.1. Le domaine extracellulaire</b> .....	12
<b>1.2.2. Le domaine transmembranaire</b> .....	13
<b>1.2.3. Le domaine intracellulaire</b> .....	13
<b>1.3. Evolution des CAR-T cells</b> .....	14
<b>1.3.1. Première génération</b> .....	14
<b>1.3.2. Deuxième génération</b> .....	15
<b>1.3.3. Troisième génération</b> .....	15
<b>1.3.4. Quatrième génération</b> .....	16
<b>1.4. Mécanisme d'action</b> .....	16
<b>1.5. Méthode de fabrication</b> .....	17
<b>1.5.1. Leucaphérèse</b> .....	17
<b>1.5.2. Activation in vitro</b> .....	18
<b>1.5.3. Transduction génétique</b> .....	19
<b>1.5.4. Expansion</b> .....	20
<b>1.5.5. Administration</b> .....	20
<b>2. Les CAR-T cells dans le traitement du LDGCB</b> .....	22
<b>2.1. Lymphome diffus à grandes cellules B</b> .....	22
<b>2.1.1. Epidémiologie</b> .....	22
<b>2.1.2. Diagnostic</b> .....	22
<b>2.1.3. Biologie moléculaire</b> .....	23
<b>2.1.4. Pronostic</b> .....	23
<b>2.1.5. Traitements</b> .....	25
<b>2.1.5.1. Traitement de 1ère ligne</b> .....	25
<b>2.1.5.2. Suivi</b> .....	28
<b>2.1.5.3. Traitement de 2ème ligne</b> .....	28
<b>2.2. Etudes cliniques</b> .....	29
<b>2.2.1. Etude JULIET</b> .....	30
<b>2.2.2. Etude ZUMA-1</b> .....	30
<b>2.2.3. Etude TRANSCEND</b> .....	31
<b>2.2.4. Comparaison des données d'efficacité et de sécurité</b> .....	31

<b>2.3.</b>	<b>Toxicité des CAR-T cells</b> .....	32
<b>2.3.1.</b>	<b>Le syndrome de relargage des cytokines</b> .....	32
<b>2.3.2.</b>	<b>La neurotoxicité</b> .....	35
<b>2.3.3.</b>	<b>Toxicité « on-target/off-tumor »</b> .....	37
<b>3.</b>	<b>Rôle du pharmacien hospitalier</b> .....	37
<b>4.</b>	<b>Perspectives d'amélioration des CAR-T cells</b> .....	38
<b>4.1.</b>	<b>Stratégies pour améliorer l'efficacité des CAR-T cells</b> .....	38
<b>4.1.1.</b>	<b>L'échappement antigénique</b> .....	39
<b>4.1.2.</b>	<b>Amélioration de la qualité des CAR-T cells</b> .....	40
<b>4.1.3.</b>	<b>Le microenvironnement inhibiteur des cellules tumorales</b> .....	40
<b>4.2.</b>	<b>Stratégies pour améliorer la sécurité des CAR-T cells</b> .....	41
<b>4.2.1.</b>	<b>Modification de la structure des CAR</b> .....	42
<b>4.2.2.</b>	<b>La neutralisation des GM-CSF</b> .....	43
<b>4.2.3.</b>	<b>Contrôle de l'activation</b> .....	43
<b>4.2.4.</b>	<b>Augmentation de la sélectivité</b> .....	44
<b>4.3.</b>	<b>Stratégies pour améliorer l'accès aux thérapies par CAR-T cells</b> .....	45
<b>4.4.</b>	<b>Perspectives des CAR-T cells dans les tumeurs solides</b> .....	46
<b>5.</b>	<b>Conclusion</b> .....	48
<b>6.</b>	<b>Méthode de recherche</b> .....	50
<b>7.</b>	<b>Références</b> .....	51

## Liste des abréviations

aaIPI	Index pronostic international ajusté à l'âge
AMM	Autorisation de mise sur le marché
BPF	Bonnes pratiques de fabrication
CAR	Chimeric Antigen Receptor
CD	Cellule dendritique
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellule présentatrice d'antigènes
CRS	Syndrome de relargage des cytokines (Cytokine Release Syndrome)
DDR	Durée de réponse
GVH	Greffon contre l'hôte
ICAR	CAR inhibiteur
ICasp9	Caspase-9 inductible
IPI	Index pronostic international
ITAM	Motifs d'activation des récepteurs immuns basés sur la tyrosine
LAL	Leucémie aigüe lymphoblastique
LDGCB	Lymphome diffus à grandes cellules B
LF	Lymphome folliculaire
LMPGCB	Lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B
LNH	Lymphome non hodgkinien
NK	Natural Killer
PD-1	Protéine 1 de la mort cellulaire programmée (Programmed cell Death 1)
RC	Réponse complète
scFv	Fragment variable à chaîne unique (single-chain variable fragment)
SFC	Syndrome de fuite capillaire
SG	Survie globale
TAA	Antigène associé aux tumeurs (Tumor Associated Antigen)
TCR	Récepteur des cellules T (T Cell Receptor)
TRO	Taux de réponse objective
TRUCK	T-cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing

## **Introduction**

Les « Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T cells » ou CAR-T cells sont des lymphocytes T humains génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur CAR capable de reconnaître spécifiquement un antigène présent à la surface des cellules tumorales dans le but d'activer les lymphocytes T et de stimuler leur activité cytotoxique envers la cellule tumorale. Les récepteurs, dits chimériques, combinent les caractéristiques de reconnaissance de l'antigène des anticorps monoclonaux avec les signaux intracellulaires qui sont nécessaires à l'activation des lymphocytes T et au déclenchement de la fonction cytotoxique. L'objectif de cette thérapie innovante est de contourner les mécanismes de protection que les cellules cancéreuses mettent en place pour tromper le système immunitaire.

Lors des études cliniques, les taux de réponse remarquables obtenus suite au traitement de certaines hémopathies malignes par les CAR-T cells ont conduit en 2018 l'Agence Européenne du médicament à accorder une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour les deux premières spécialités : Kymriah<sup>®</sup> et Yescarta<sup>®</sup>. Ces deux spécialités sont indiquées dans le traitement des lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) récidivants ou réfractaires après au moins deux lignes d'immunochimiothérapie. En avril 2022, une troisième spécialité indiquée dans le traitement du LDGCB a obtenu une AMM, le Breyanzy<sup>®</sup>. Ces spécialités possèdent également des indications pour d'autres hémopathies malignes comme la leucémie aigüe lymphoblastique (LAL), une des indications du Kymriah<sup>®</sup>.

Cependant, malgré des résultats prometteurs, la thérapie CAR-T cells présente à un certain nombre de limitations. En effet, les CAR-T cells sont associées à un risque de toxicités de gravités variables. Le syndrome de relargage des cytokines (CRS) et la neurotoxicité sont deux exemples de toxicités potentiellement graves qui nécessitent une prise en charge particulière. De plus, dans certains cas, des résistances aux CAR-T cells sont rencontrées, limitant ainsi l'efficacité du traitement et la durabilité de la réponse. Dans le même, les délais de fabrications importants et les coûts de production élevés représentent un frein à une large utilisation des CAR-T cells.

Dans ce mémoire a pour objectif de présenter en détail la thérapie par CAR-T cells dans le traitement du LDGCB et de discuter les différents défis entourant cette thérapie et les stratégies étudiées dans le but d'obtenir des CAR-T cells caractérisées par une sécurité et une efficacité élevée ainsi que par de faibles coûts et délais de production.

# 1. CAR-T cells

## 1.1. Rappels immunologiques

Le système immunitaire est le mécanisme de défense de l'organisme contre des pathogènes étrangers ainsi que contre les cellules défectueuses, comme les cellules cancéreuses. Il est constitué d'une large variété de cellules, récepteurs et molécules qui communiquent entre eux dans le but de détecter et d'éliminer l'agent étranger, infectieux ou non. (McComb, Thiriou, Akache, Krishnan, & Stark, 2019)

Le système immunitaire est constitué de deux grands types d'immunité fonctionnant en synergie : l'immunité naturelle et l'immunité adaptative (*Figure 1*).

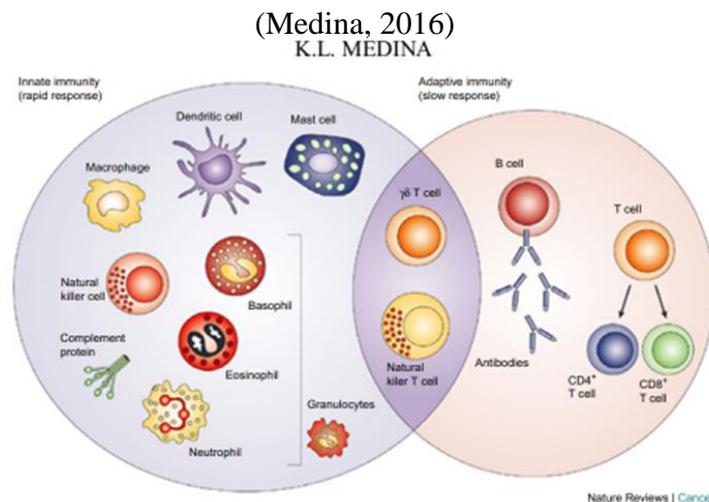
L'immunité naturelle ou innée est la première ligne de défense contre les microbes. Elle est composée entre autres des barrières biologiques, du complément, des cytokines, des phagocytes, des cellules natural killer (NK) et des mastocytes. Son action est immédiate et non spécifique d'un antigène.

L'immunité adaptative ou spécifique est médiée par les lymphocytes et les anticorps qu'ils produisent suite à la reconnaissance d'un antigène. Son action est plus tardive et spécifique d'un antigène. (McComb et al., 2019)

Il existe deux types d'immunité adaptative :

- L'immunité humorale, qui fait intervenir les lymphocytes B et les anticorps, chargée de l'élimination des pathogènes extracellulaires,
- L'immunité cellulaire, qui fait intervenir les lymphocytes T et les cytokines, chargée de l'élimination des pathogènes intracellulaires.

**Figure 1** : Illustration des cellules de l'immunité innée et de l'immunité adaptative



Les lymphocytes T, qui vont servir de base aux CAR-T cells, sont porteurs d'un récepteur des cellules T (TCR) qui reconnaît l'antigène présenté par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ce récepteur est associé à un cluster de différenciation CD3 permettant de générer le signal d'activation du lymphocyte. (McComb et al., 2019)

Il existe différentes sous-classes de lymphocytes T exprimant des marqueurs moléculaires spécifiques à leur surface :

- Les lymphocytes T auxiliaires ou « helper » exprimant le marqueur CD4. Ils reconnaissent les antigènes présentés par les molécules du CMH de classe II et provoquent la lyse de la cellule infectée grâce à leurs molécules effectrices et à la sécrétion de cytokines. (McComb et al., 2019)
- Les lymphocytes T cytotoxiques exprimant le marqueur CD8 également présent à la surface des lymphocytes T suppresseurs et des cellules NK. Ils reconnaissent les antigènes présentés par les molécules du CMH de classe I et provoquent la lyse de la cellule infectée grâce à leurs molécules effectrices et à la sécrétion de cytokines. (McComb et al., 2019 ; Medina, 2016)

L'initiation d'une réponse efficace par les lymphocytes T nécessite plusieurs signaux d'activation (*Figure 2*).

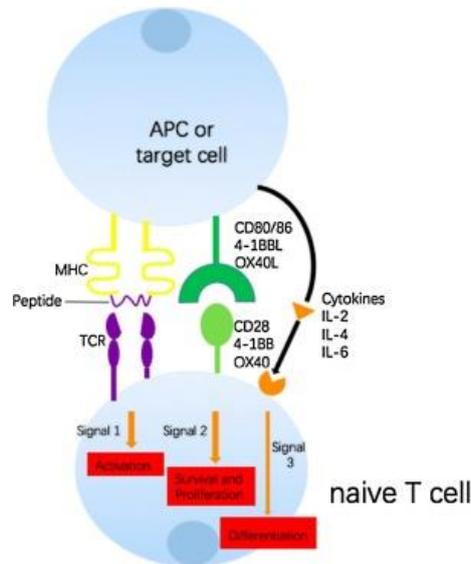
Le premier signal est relayé via le TCR après la reconnaissance d'un antigène présenté par le CMH se trouvant à la surface de la cellule cible. Ce signal, transduit via le complexe CD3, est indispensable à l'activation du lymphocyte T. (Acuto & Michel, 2003)

Le deuxième signal est relayé via des molécules de costimulation comme CD28, 4-1BB, OX40 ou ICOS, exprimées à la surface des lymphocytes T activés, lors de la liaison à leurs ligands respectifs à la surface des cellules présentatrices d'antigène. (Acuto & Michel, 2003) Grâce à ces deux signaux, une série de voies de signalisation intracellulaires va conduire à l'activation complète du lymphocyte, à sa prolifération, à l'acquisition de fonctions effectrices et la production de cytokines. (Rubio, Galaine, Borg, & Daguindau, 2018)

Les cytokines agiront à leur tour comme un troisième signal sur le cycle cellulaire, la prolifération lymphocytaire et la différenciation des lymphocytes T. (Rubio et al., 2018)

L'amplitude de la réponse immunitaire est déterminée par une balance entre signaux activateurs et inhibiteurs grâce à l'intervention de récepteurs inhibiteurs de la famille CD28 : CTLA-4 et PD-1. Certaines tumeurs expriment les ligands de PD-1 dans le but de diminuer la réponse immunitaire. (Medina, 2016)

**Figure 2** : Signaux d'activation d'un lymphocyte T (Yang, Yang, & Wang, 2017)



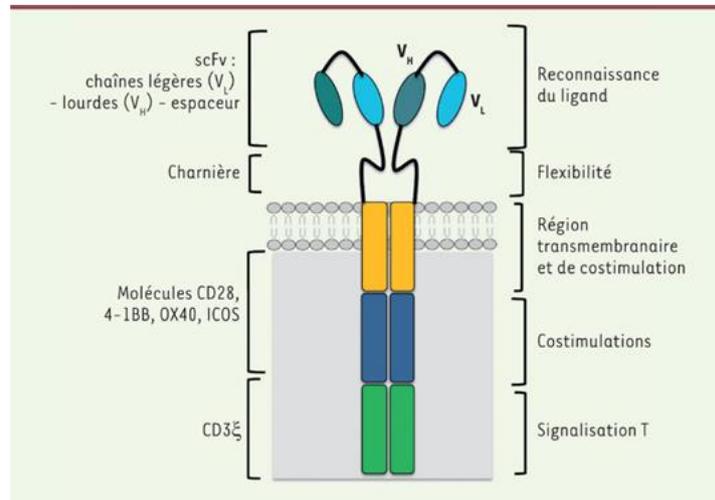
## 1.2. Structure des CAR-T cells

Les CAR sont des récepteurs antigéniques chimériques exprimés sur des lymphocyte T par génie génétique. A l'instar des TCR natifs, ces récepteurs ont pour but de générer un signal d'activation suite à la liaison à un antigène spécifique. (Mohanty et al., 2019)

Contrairement aux TCR, les CAR sont capables de reconnaître l'antigène de façon directe, en l'absence de présentation par le CMH, ce qui leur confère un avantage non négligeable lorsque l'expression des CMH est inhibée par l'environnement immunosuppresseur des cellules tumorales. (Tokarew, Ogonek, Endres, von Bergwelt-Baildon, & Kobold, 2019) En effet, contrairement aux TCR natifs, les CAR reconnaissent des antigènes exprimés à la surface des cellules cibles et non pas des antigènes internes présentés par les CMH. Les CAR-T cells sont donc capables de cibler spécifiquement un antigène tumoral et d'éliminer la cellule grâce à leur action cytotoxique. (Dotti, Gottschalk, Savoldo, & Brenner, 2014)

Les CAR sont des polypeptides constitués d'un domaine de liaison extracellulaire, d'un domaine d'ancrage transmembranaire et d'un domaine de signalisation intracellulaire (*Figure 3*). (Mohanty et al., 2019)

**Figure 3 : Structure d'un récepteur CAR (Catros, 2019)**



### 1.2.1. Le domaine extracellulaire

Le domaine extracellulaire ou ectodomaine a pour rôle de lier un antigène spécifique. Il est constitué d'un fragment variable à chaîne unique (scFv) composé des régions variables des chaînes lourdes et légères d'une immunoglobuline spécifique à l'antigène. Le fragment scFv est relié au domaine transmembranaire par une région charnière de flexibilités et de longueurs différentes qui peut influencer la fonction des CAR-T cells. (Dotti et al., 2014)

La cible antigénique idéale devrait être exprimée uniquement sur les cellules tumorales. Dans les hémopathies lymphoïdes B, la cible des CAR-T cells est CD19. La sélection de ce marqueur antigénique est basée sur l'homogénéité de l'expression de CD19 à la surface des lymphocytes B durant tous les stades de développement, de même que sur leur absence à la surface des cellules souches hématopoïétiques. CD19 est donc présent à la surface des cellules tumorales B ciblées dans le traitement des LDGCB. Cependant, la présence de CD19 à la surface des lymphocytes B sains provoque un manque de spécificité à l'origine d'une toxicité dite « on-target » entraînant une aplasie des cellules B et une hypogammaglobulinémie profonde suite au traitement par CAR-T cells. Cette toxicité est cependant bien tolérée et est traitable avec une injection périodique d'immunoglobulines. (Rafiq, Hackett, & Brentjens, 2020 ; Rubio et al., 2018)

D'autres cibles des CAR existent pour le traitement des hémopathies malignes. En effet, bien que le mécanisme de reconnaissance de l'antigène cible par les CAR représente un avantage par rapport à celui des TCR natifs, les CAR-T cells se limitent à la détection d'une série d'épitopes spécifiques, ce qui peut empêcher la détection de cellules tumorales mutantes. (Dotti et al., 2014) Un autre exemple de cible ayant montré des résultats encourageants lors d'études cliniques pour le traitement LDGCB est CD20. (Jensen, Tan, Forman, Wu, & Raubitschek, 1998, p. 20 ; Till et al., 2008 ; Tong et al., 2020)

### **1.2.2. Le domaine transmembranaire**

Le domaine transmembranaire joue un rôle clé dans la stabilité et l'expression du récepteur à la surface des CAR-T cells. Il est généralement composé d'une hélice alpha hydrophobe dérivée des molécules CD3 $\zeta$ , CD4, CD8 ou CD28 conférant un degré de stabilité différent aux CAR.

Les récepteurs de 1ère génération contenant un domaine CD3 $\zeta$  affichent une stabilité inférieure aux récepteurs de 2ème génération contenant un domaine CD28. (Dotti et al., 2014 ; C. Zhang, Liu, Zhong, & Zhang, 2017)

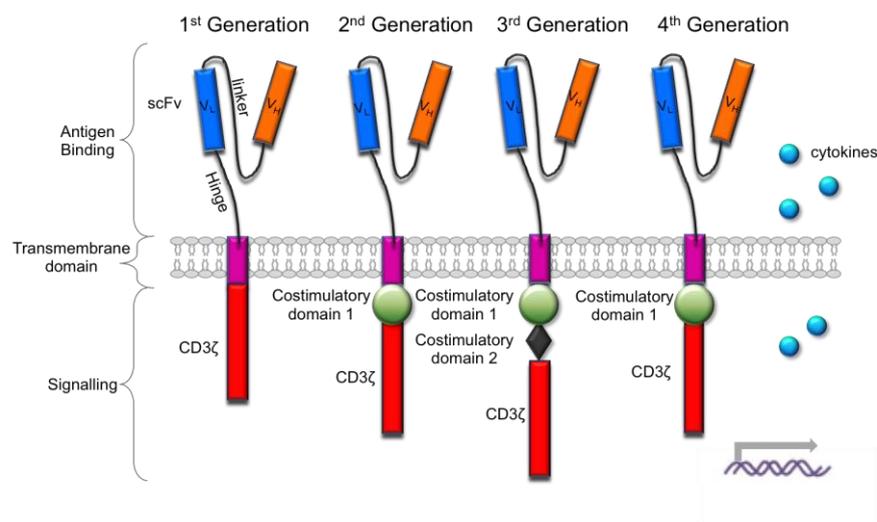
### **1.2.3. Le domaine intracellulaire**

Le domaine intracellulaire ou endodomaine est le domaine qui a le plus évolué au fil des générations de CAR. Il représente la partie fonctionnelle du récepteur. (C. Zhang et al., 2017) Une fois l'antigène reconnu, l'endodomaine est responsable de la transduction du signal grâce à un changement conformationnel et à la phosphorylation de messagers, engendrant l'activation du lymphocyte T. Il est composé de plusieurs unités dont la plus commune est la chaîne zêta du complexe CD3 qui est constitué de trois motifs d'activation des récepteurs immuns basés sur la tyrosine (ITAM) nécessaires à la transduction du signal et donc à l'induction de l'effet cytotoxique. (Tokarew et al., 2019) Cette architecture permet au récepteur de s'activer indépendamment du CMH. (Mohanty et al., 2019) Il semblerait cependant que la présence des trois ITAMs induise une différenciation contre-productive et un épuisement des CAR-T cells par rapport aux CAR qui ne possèdent qu'un seul motif ITAM. (H. Zhang, Zhao, & Huang, 2020) La fonction des CAR est donc régie par une interaction complexe entre l'ectodomaine, la zone charnière, le domaine transmembranaire et l'endodomaine.

### 1.3. Evolution des CAR-T cells

Les progrès apportés ces 30 dernières années dans la recherche sur les CAR-T cells ont mené au développement de quatre générations de CAR qui se différencient principalement par la composition de leur endodomaine (*Figure 4*). Chaque génération avait pour but de régler les problèmes des précédentes et ainsi augmenter les effets thérapeutiques des CAR-T cells. (C. Zhang et al., 2017)

**Figure 4 :** Illustration des 4 générations de CAR (Sargent, 2017)



#### 1.3.1. Première génération

Les CAR-T cells de première génération possèdent un endodomaine composé d'un unique complexe CD3 $\zeta$  provenant d'un TCR endogène et attaché directement au scFv par l'intermédiaire du domaine transmembranaire et de la région charnière. (C. Zhang et al., 2017)

Le premier signal permettant d'initier l'activation du lymphocyte T est généré par le complexe CD3 $\zeta$ . Cependant, l'absence de molécule de co-stimulation entraîne une faible capacité de prolifération, une durée de vie trop courte des CAR-T cells une fois réinjectées et une sécrétion de cytokines insuffisante. (C. Zhang et al., 2017 ; H. Zhang et al., 2020)

En raison du manque de signaux d'activation, cette première génération de CAR-T cells n'a montré qu'une efficacité limitée lors des études cliniques. (Brocker, 2000)

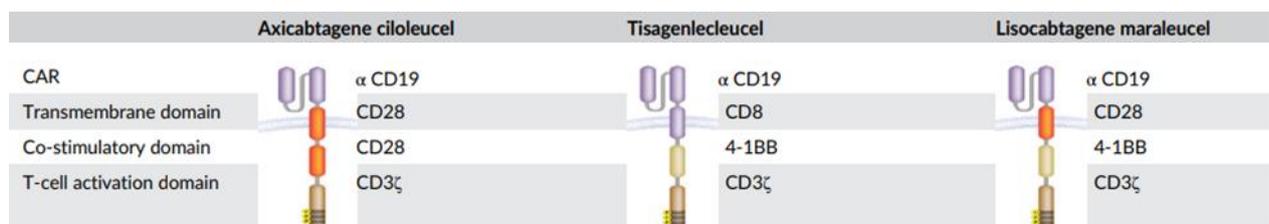
### 1.3.2. Deuxième génération

La seconde génération de CAR vise à améliorer l'activation et la survie des CAR-T cells en associant à CD3 $\zeta$  un domaine intracellulaire de co-stimulation tels que CD28, 4-1BB, ICOS ou OX40. La génération d'un second signal d'activation entraîne une amélioration de la prolifération et de la survie in vivo des CAR-T cells. (Mohanty et al., 2019)

Des études ont prouvé que les CAR portant le domaine 4-1BB présentent une meilleure longévité in vivo comparé aux CAR possédant un domaine CD28 grâce à des mécanismes permettant de réduire l'épuisement des cellules T. De plus, il semblerait que le domaine 4-1BB soit à l'origine d'un nombre inférieur de CRS et de neurotoxicités que le domaine CD28. (Larson & Maus, 2021 ; Long et al., 2015, p. 1 ; Zhong et al., 2018)

Les spécialités actuellement disponibles sur le marché pour le traitement des LDGCB sont des CAR-T cells possédant des récepteurs de seconde génération qui diffèrent de par leur domaine de co-stimulation. Yescarta<sup>®</sup> (Axicabtagene ciloleucel) possède un domaine de co-stimulation CD28 tandis que Kymriah<sup>®</sup> (Tisagenlecleucel) et Breynazy<sup>®</sup> (Lisocabtagene maraleucel) possèdent un domaine de co-stimulation 4-1BB. (CBIP | Yescarta, 2022 ; CBIP | Kymriah, 2022)

**Figure 5 :** Composition des CAR retrouvés dans Yescarta<sup>®</sup>, Kymriah<sup>®</sup> et Breynazy<sup>®</sup> (Westin et al., 2021)



### 1.3.3. Troisième génération

La troisième génération de CAR consiste à associer plusieurs domaines de costimulation au domaine CD3 $\zeta$ , formant des associations telles que CD3 $\zeta$ -CD28-OX40 et CD3 $\zeta$ -CD28-4-1BB. Le but de ces associations est d'augmenter d'avantage l'intensité du signal d'activation des CAR-T cells et ainsi améliorer leur fonction cytotoxique envers les cellules cancéreuses.

Cependant, malgré leur activité antitumorale significative, les CAR de troisième génération présentent des outcomes défavorables et n'ont pas réussi à prouver leur supériorité par rapport à la deuxième génération. De plus, en raison d'une sécrétion importante de cytokines

pro-inflammatoires, cette approche peut entraîner des dysfonctionnements au niveau de différents organes. (Mohanty et al., 2019 ; C. Zhang et al., 2017)

#### **1.3.4. Quatrième génération**

La quatrième génération de CAR se base sur la deuxième génération de récepteurs et incorpore au domaine intracellulaire une cassette génique qui permet l'expression de cytokines pro-inflammatoires et de ligands de costimulation suite à l'induction de NFAT lors de l'activation des CAR. (Mohanty et al., 2019)

Les TRUCK (T-cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing) ou CAR armés permettent la production et la sécrétion de cytokines transgéniques par le lymphocyte T, permettant de combiner l'effet antitumoral des CAR-T cells avec celui du système immunitaire inné du patient. Un exemple de TRUCK est celui sécrétant l'IL-12. La sécrétion de cette cytokine pro-inflammatoire améliore l'activité cytotoxique des CAR-T cells en renforçant le recrutement des macrophages et des cellules NK ainsi qu'en favorisant l'activation et la différenciation des lymphocytes Th1. (Chmielewski & Abken, 2020) De plus, le relargage d'IL-12 protège les CAR-T cells du microenvironnement tumoral inhibiteur en les rendant notamment moins sensibles à l'action des lymphocytes T régulateurs et en réduisant la sécrétion de cytokines immunosuppressives par les cellules tumorales. (Rubio et al., 2018)

Le relargage des cytokines directement au niveau des tissus cibles suite à l'activation des CAR présente l'avantage de limiter les risques de toxicité par rapport à leur administration systémique. De plus, cette technologie permettrait d'éviter le phénomène d'échappement et donc de rechute due à des cellules tumorales non reconnues par les CAR. Des CAR-T produisant les cytokines IL-18 et IL-15 sont également à l'étude. (Chmielewski & Abken, 2020)

#### **1.4. Mécanisme d'action**

Le mécanisme d'action exacte des CAR-T cells n'est pas complètement compris. Comme expliqué précédemment, il implique la liaison spécifique des lymphocytes T à un antigène associé aux tumeurs (TAA) par l'intermédiaire du récepteur CAR, sans avoir recours au CMH. Une efficacité optimale du traitement par CAR-T cells peut être obtenue en tirant profit des différentes sous-classes de lymphocytes T. Les cellules T CD8+ cytotoxiques sont indispensables à l'élimination des cellules tumorales alors que les cellules T CD4+ améliorent l'action cytotoxique des cellules T CD8+. (Chang & Chen, 2017)

## 1.5. Méthode de fabrication

La méthode de fabrication des CAR-T cells représente un des plus gros défis de cette thérapie. En effet, la procédure est complexe, difficilement reproductible à grande échelle et très coûteuse. Elle reste cependant consistante malgré la diversité dans la conception des différentes CAR-T cells spécifiques à un antigène tumoral donné. (Wang & Rivière, 2016)

Il existe deux approches différentes : l'approche autologue dans laquelle ce sont les lymphocytes T du patient lui-même qui sont utilisés et l'approche allogénique dans laquelle ce sont les lymphocytes T d'un donneur sain qui sont utilisés. La première approche est la plus répandue à ce jour. (Wang & Rivière, 2016)

La procédure de fabrication peut être divisée en plusieurs étapes distinctes : la leucaphérèse, l'activation des lymphocytes T, la transduction, l'expansion, la formulation finale et la réinjection au patient (*Figure 6*). (Vormittag, Gunn, Ghorashian, & Veraitch, 2018)

**Figure 6 : Etapes de fabrication des CAR-T cells** (Kaiser et al., 2015)



### 1.5.1. Leucaphérèse

La première étape de fabrication a pour but de récolter les lymphocytes T du patient par leucaphérèse. La leucaphérèse est une technique de séparation et d'extraction des différents éléments du sang grâce à un appareil d'aphérèse. Cet appareil permet de prélever les leucocytes du patient et de les trier par centrifugation en fonction de leur densité. Les différents sous-types de lymphocytes T sont ainsi séparés. (Vormittag et al., 2018)

Après séparation, le reste du sang est réinjecté au patient et les lymphocytes T récoltés peuvent être soit cryopréservés, soit utilisés immédiatement pour la fabrication des CAR-T cells dans un lieu de production agréé aux bonnes pratiques de fabrication (BPF). (Kaiser et al., 2015)

### **1.5.2. Activation in vitro**

L'activation des lymphocytes est une étape indispensable à la suite du processus. In vivo, les lymphocytes sont activés suite à la reconnaissance par le TCR d'un antigène spécifique présenté par le CMH d'une cellule présentatrice d'antigènes (CPA). Un second signal de costimulation généré suite à la liaison entre les récepteurs de costimulation, présents à la surface des lymphocytes, et leur ligand, exprimé à la surface des CPA, est nécessaire pour une activation complète du lymphocyte T. (Vormittag et al., 2018)

In vitro, plusieurs méthodes ont été développées dans le but de permettre l'activation des lymphocytes T.

La première approche est l'activation à l'aide de CPA comme les cellules dendritiques (CD), les activateurs naturels des lymphocytes. Cependant, la puissance de cette activation par les cellules dendritiques varie en fonction du patient. De plus, la coculture des lymphocytes T avec les CD est plus complexe à réaliser.

Il est également possible d'utiliser des CPA artificielles qui coexpriment les molécules stimulatrices désirées ainsi qu'un TAA afin de stimuler sélectivement le lymphocytes T pour cet antigène. (Vormittag et al., 2018 ; Wang & Rivière, 2016)

La deuxième approche se base sur une activation par des anticorps monoclonaux et des cytokines. En présence d'IL-2, l'addition d'anticorps monoclonaux anti-CD3 (OKT3) se fixant aux molécules CD3 présentes à la surface des lymphocytes T entraîne leur activation. (Vormittag et al., 2018)

Enfin, la troisième approche est celle basée sur les perles chimiques. Il s'agit de différents réactifs d'activation des lymphocytes T prêt à l'emploi et ayant montré une capacité d'activation supérieure à la méthode précédente. Les perles super-paramagnétiques sont couplées à des anticorps anti-CD3 et anti-CD28 qui permettent la sélection et l'activation des lymphocytes T. Le retrait des perles doit avoir lieu avant la formulation finale du produit, en fin de fabrication. Des nano perles magnétiques recouvertes des mêmes anticorps ont été développées et présentent l'avantage d'être biodégradable. (Vormittag et al., 2018)

### 1.5.3. Transduction génétique

La transduction génétique consiste à modifier le génome d'une cellule en transférant du matériel génétique par l'intermédiaire de vecteurs viraux ou non viraux. Le lymphocyte T est ainsi modifié pour exprimer le récepteur CAR pouvant cibler les cellules CD19+.

Il existe trois types de vecteurs stables : les vecteurs  $\gamma$ -rétroviraux et les vecteurs lentiviraux, qui représentent les deux principales classes de vecteurs viraux, ainsi que le système transposon/transposase qui représente une méthode non-virale. (Vormittag et al., 2018)

Les vecteurs  $\gamma$ -rétroviraux ont été les premiers à être utilisés et sont employés dans la fabrication du Yescarta®.

Les vecteurs lentiviraux sont des vecteurs dérivés de rétrovirus comme le virus de l'immunodéficience humaine-1 (VIH-1). Il s'agit des vecteurs les plus utilisés. Ils sont notamment employés dans la fabrication du Kymriah® et du Breyanzy®. (Labbé, Vessillier, & Rafiq, 2021 ; Teoh & Brown, 2022)

Le fonctionnement des vecteurs repose sur la capacité naturelle de ces virus à intégrer leur matériel génétique à la cellule hôte. Leur génome à base d'ARN est converti en ADN par une rétrotranscriptase virale dans les cellules transduites avant d'être intégré par une intégrase au génome de la cellule hôte. Ce type de transduction offre une expression stable et durable du gène d'intérêt. La principale différence entre les deux vecteurs est que la transduction par  $\gamma$ -rétrovirus ne fonctionne que sur des cellules en phase de division contrairement aux vecteurs lentiviraux. En outre, la conception des vecteurs viraux doit inclure des mesures de sécurité permettant de prévenir toute réactivation virale, notamment en évitant que les virus ne récupèrent leurs compétences de réplication. (Labbé et al., 2021)

La méthode non-virale utilisant le système transposon/transposase a été développée dans le but de réduire les risques de toxicités liés aux vecteurs viraux. Un transposon est une séquence d'ADN qui possède la capacité de se déplacer dans le génome grâce à une transposase qui permet l'excision et la réinsertion de la séquence. Le transgène CAR peut être intégré à la séquence du transposon sur un plasmide avec le gène codant pour la transposase. Le plasmide pénètre ensuite dans le lymphocyte T par électroporation, une technique permettant d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire par l'application d'impulsions électriques, où il sera intégré au génome de la cellule T grâce à la transposase. Ce système montre une efficacité d'intégration du gène d'intérêt comparable à celle des vecteurs viraux et

présente l'avantage d'être plus facile à produire et moins coûteux. (Mohanty et al., 2019 ; Vormittag et al., 2018)

#### **1.5.4. Expansion**

Après la transduction génétique, les lymphocytes T modifiés sont cultivés in vitro en présence d'IL-2 jusqu'à l'obtention d'un nombre de cellules suffisant pour générer une dose thérapeutique. Différentes méthodes d'expansion existent suivant le moyen de transduction employé. (Wang & Rivière, 2016) De plus, le temps de culture est un facteur important. Des études montrent que réduire le temps de culture peut limiter la différenciation cellulaire et ainsi augmenter la persistance et l'efficacité des CAR-T cells. (Ghassemi et al., 2018)

Une fois la dose thérapeutique obtenue, les cellules T sont formulées et cryoconservées en vue d'une administration au patient.

#### **1.5.5. Administration**

Avant l'administration au patient, des tests de qualité ont été intégrés au processus de fabrication suivant les règles de BPF afin d'assurer la sécurité, la pureté et l'efficacité du produit. La stérilité et l'absence de contaminants émanant du procédé de fabrication tels que les lentivirus ou les rétrovirus sont également vigoureusement surveillées. D'autres impuretés sont les endotoxines, les mycoplasmes et autres résidus de fabrication comme les perles chimiques. Les tests de sécurité visent également à limiter le risque de génotoxicité due à la l'intégration de transgènes. (Wang & Rivière, 2016)

Une chimiothérapie peut être administrée au patient quelques jours avant l'injection du traitement dans le but de diminuer le nombre de cellules immunitaires et ainsi favoriser l'activation des CAR-T cells. On parle de chimiothérapie lymphodéplétive. Celle-ci est généralement constituée de cyclophosphamide (550 mg/m<sup>2</sup>) et de fludarabine (30 mg/m<sup>2</sup>). (CBIP | Yescarta, 2022) Il ne s'agit pas d'une chimiothérapie puissante puisque les CAR-T cells fonctionnent mieux lorsqu'il y a encore des cellules tumorales à attaquer. (« CAR T-Cell Therapy and Its Side Effects », 2022)

Les CAR-T cells sont finalement administrées par voie intraveineuse. Le patient est ensuite hospitalisé pendant une durée de dix à quinze jours afin de détecter d'éventuels signes de toxicité. Au terme de l'hospitalisation, il est conseillé au patient de rester à proximité de l'hôpital pendant quatre semaines. (CBIP | Yescarta, 2022)

Pour conclure, la fabrication des CAR-T cells est un procédé long et complexe. En effet, les délais entre le prélèvement des lymphocytes T chez le patient et la réinfusion sont de plusieurs semaines, ce qui augmente le risque de voir la maladie progresser. (Kaiser et al., 2015) Le principal frein à cette thérapie est néanmoins son coût très élevé. Les deux spécialités actuellement disponibles, Yescarta® et Kymriah®, affichent un prix de respectivement 304 220 € et 296 800 €. En Belgique, les patients âgés de 18 ans ou plus peuvent bénéficier d'un remboursement pour l'administration d'une dose unique de traitement dans l'un des centres belges accrédités. (CBIP | Yescarta, 2022 ; CBIP | Kymriah, 2022)

Afin de rendre les CAR-T cells plus abordables et disponibles rapidement, de nouvelles approches sont développées comme l'emploi de lymphocytes T allogéniques. (Vormittag et al., 2018)

## **2. Les CAR-T cells dans le traitement du LDGCB**

La thérapie par CAR-T cells s'est montrée efficace dans le traitement des hémopathies malignes comme la leucémie et le lymphome. La découverte des CAR-T cells représente un espoir pour les patients atteints d'un LDGCB réfractaire ou récidivant après au moins deux lignes de traitement préalables.

### **2.1. Lymphome diffus à grandes cellules B**

Le lymphome diffus à grandes cellules B est le type de lymphome non hodgkinien (LNH) le plus fréquent, survenant dans 30 à 58% des cas. Il s'agit d'un cancer touchant le système lymphatique résultant en une prolifération anormale des lymphocytes B, les cellules productrices d'anticorps. (Tilly et al., 2015)

#### **2.1.1. Epidémiologie**

L'incidence en Europe est de 3,8 cas pour 100 000 habitants par an. (Tilly et al., 2015) Chaque année en Belgique, plus de 600 nouveaux patients sont diagnostiqués avec un LDGCB avec une majorité d'hommes. (Maquet et al., 2021) Ce type de lymphome peut survenir à tout âge mais sa fréquence augmente avec l'âge et se rencontre plus fréquemment chez les plus de 60 ans avec 30% des patients atteints qui ont plus de 75 ans. (S. Lee, 2022 ; Sehn & Salles, 2021)

Les causes de l'apparition d'un LDGCB ne sont généralement pas connues mais des facteurs de risques ont été identifiés tels que les infections à certains virus et l'exposition à des facteurs environnementaux. (Martelli et al., 2013)

#### **2.1.2. Diagnostic**

Ce cancer se développe principalement au niveau des ganglions lymphatiques à la suite d'une multiplication anormale de lymphocytes B. Le signe le plus fréquent et le plus identifiable de ce cancer se présente sous la forme d'une adénopathie touchant un ou plusieurs ganglions, le plus souvent au niveau du cou et des aisselles. Les ganglions touchés sont non douloureux et mobiles. (Liu & Barta, 2019) D'autres signes plus généraux et non spécifiques aux lymphomes peuvent apparaître, tels que la fièvre, des sueurs nocturnes ou encore une perte de poids inexpliquée. (Martelli et al., 2013)

Le LDGCB est un lymphome agressif qui évolue rapidement. Seuls 30 à 40% des diagnostics sont faits à un stade localisé. Dans les autres cas, la maladie s'est étendue dans des groupes ganglionnaires situés des deux côtés du diaphragme (stade 3) voire même à d'autres organes tels que la rate et la moelle osseuse (stade 4) avant d'être diagnostiquée. (S. Lee, 2022) Cette évolution rapide prouve l'importance de poser un diagnostic le plus précocement possible afin d'améliorer le pronostic de la maladie.

Le diagnostic du LDGCB se fait idéalement grâce à la biopsie excisionnelle d'un ganglion lymphatique suspect. Cette méthode présente l'avantage de permettre une analyse de l'architecture nodale en plus des analyses moléculaires et phénotypiques. Dans certains cas, une biopsie de la moelle osseuse peut être requise. En raison de l'hétérogénéité du tissu ganglionnaire et afin de réduire les risques d'erreur de diagnostic, la microbiopsie à l'aiguille et la biopsie endoscopique doivent être réservées uniquement aux patients pour lesquels une excision par voie chirurgicale est impossible ou trop risquée. (Liu & Barta, 2019 ; Tilly et al., 2015)

### **2.1.3. Biologie moléculaire**

L'analyse cytologique montre un envahissement diffus par une population de cellules tumorales lymphocytaires de type B et permet de différencier les différents variants du LDGCB. Le plus courant est le variant centroblastique, rencontré dans approximativement 80% des cas. Les autres variants possibles sont le variant immunoblastique dans 8-10% des cas, le variant anaplasique dans 3% des cas et enfin les variants rares. (Klanova et al., 2019)

L'analyse immunophénotypique par immunohistochimie et/ou cytométrie en flux permet de révéler l'expression d'antigènes spécifiques à la surface des cellules néoplasiques, étape indispensable dans la confirmation du diagnostic. Les antigènes typiquement présents sont les CD19, CD20, CD22, CD79a, BCL2, BCL6 et MYC. Comme indiqué précédemment, la cible exploitée par les CAR-T cells actuelles est le CD19. (Tilly et al., 2015)

L'immunophénotypage permet également d'identifier les nombreuses cibles potentielles à la surface des cellules qui pourront être exploitées pour le traitement de pathologies malignes.

### **2.1.4. Pronostic**

Le LDGCB est un cancer à évolution rapide avec une survie médiane inférieure à un an chez les patients non traités. Le pronostic de la maladie est influencé par plusieurs facteurs.

La stadification du LDGCB est déterminé suivant la classification de Lugano et les critères de Ann Arbor. (Sehn & Salles, 2021) Ces recommandations établissent la tomographie à émission de positrons au fluorodésoxyglucose (TEP-FDG/CT) ou PET scan comme gold standard pour réaliser la stadification du lymphome. Le PET scan est réalisé avant mais aussi après le traitement afin d'évaluer la réponse de la maladie. Cette technique d'imagerie a pour but de détecter les aires ganglionnaires envahies et les éventuelles atteintes extra-lymphatiques.

Le stade de la maladie est ensuite déterminé suivant les critères d'Ann Arbor. Les stades 3 et 4 sont les stades présentant le pronostic le moins favorable (*Tableau 1*). (Tilly et al., 2015)

Stades	Localisations
I	Maladie localisée : atteinte d'un seul groupe ganglionnaire lymphatique ou atteinte localisée d'un organe/site extraganglionnaire
II	Atteinte d'au moins deux groupes de ganglions lymphatiques du même côté du diaphragme ou atteinte localisée d'un organe/site extraganglionnaire et au moins un groupe ganglionnaire lymphatique du même côté du diaphragme
III	Atteinte d'au moins deux groupes de ganglions lymphatiques des deux côtés du diaphragme
IV	Maladie généralisée : atteinte diffuse ou disséminée d'au moins un organe extraganglionnaire (ex : moelle osseuse, foie ou poumon) avec ou sans atteinte ganglionnaire associée

**Tableau 1** : Les différents stades du LDGCB suivant les critères d'Ann Arbor (Tilly et al., 2015)

L'index pronostic international (IPI) et l'index pronostic international ajusté à l'âge (aaIPI) sont les scores de diagnostic les plus utilisés (*Tableaux 2 et 3*). Le score obtenu influence le choix du traitement.

Index pronostic international (IPI)		
<b>Facteurs de risque</b>	Age	≥ 60 ans
	Taux de LDH	> normal
	Stade	III ou IV
	Indice de performance (ECOG)	2 - 4
	Localisations extraganglionnaires	> 1
<b>Catégories de risque</b>	Faible	0-1
	Faible intermédiaire	2
	Haut intermédiaire	3
	Elevé	4-5

**Tableau 2** : Index pronostic international (Tilly et al., 2015)

<b>Index pronostic international ajusté à l'âge (aaIPI)</b>		
<b>Facteurs de risque</b>	Taux de LDH	> normal
	Stade	III ou IV
	Indice de performance (ECOG)	2 - 4
<b>Catégories de risque</b>	Faible	0
	Faible intermédiaire	1
	Haut intermédiaire	2
	Elevé	3

**Tableau 3 :** *Index pronostic international ajusté à l'âge* (Tilly et al., 2015)

Pour écarter toute suspicion d'atteinte du système nerveux central, une ponction lombaire peut être réalisée dans certains cas. Enfin, en raison de la toxicité des traitements anticancéreux, une évaluation de la fonction cardiaque par échographie doit être réalisé avant le début du traitement. (Tilly et al., 2015)

Le sous-type de LDGCB, relevé grâce à l'analyse immunophénotypique, représente également un facteur pronostique très utile. Les patients touchés par un LDGCB de sous-type « activated B cell-like » (ABC-like) présentent un moins bon pronostic et une survie inférieure à ceux touchés par le sous-type « germinal center B cell-like » (GCB-like). D'autres sous-types émanant de recombinaisons ont été identifiés tel que le double réarrangement de MYC et BCL2 ou BCL6 (double-hit) qui est reconnu comme ayant un mauvais pronostic. (Sarkozy & Sehn, 2018)

## **2.1.5. Traitements**

### **2.1.5.1. Traitement de 1ère ligne**

Le choix de traitement et le nombre de cures administrées dépendent de l'âge du patient et du score obtenu à l'IPI (*Tableau 4*).

L'immunochimiothérapie R-CHOP administrée tous les 14 ou 21 jours est le traitement de première ligne de référence. Celle-ci se compose d'une chimiothérapie à base de cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone combinée au rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20. L'ajout du rituximab au protocole CHOP a permis d'améliorer significativement le taux de rémission complète et le pronostic de la maladie. (Tilly et al., 2015)

IPI = 0-1 ou aaIPI = 0 Et absence de masses	IPI = 2 ou aaIPI = 1 ou IPI = 0-1 ou aaIPI = 0 avec présence de masses	IPI ≥ 3 ou aaIPI ≥ 2
Patients ≤ 60 ans		
R-CHOP21 x 6	R-CHOP21 x 6 + radiothérapie ciblée sur les masses ou R-ACVBP + consolidation séquentielle	R-CHOP21 x 6-8 ou R-CHOP14 x 6 avec 8R Régime intensif : R-CHOEP14 x 6 ou R-CHOP ou R-ACVBP et chimiothérapie à haute dose avec transplantation de cellules souches autologues
Patients > 60 ans		
Bon état général Entre 60 et 80 ans	>80 ans sans problèmes cardiaques	Mauvais état général ou > 60 ans avec problèmes cardiaques
R-CHOP21 x 6-8 ou R-CHOP14 x 6 avec 8R	R-miniCHOP x 6	Substitution de doxorubicine par gemcitabine, étoposide ou doxorubicine liposomale ou autres : R-C(X)OP21 x 6 ou Soins palliatifs

**Tableau 4 : Stratégies de traitement du LDGCB** (Tilly et al., 2015)

Chez les patients de moins de 60 ans avec un bon pronostic (aaIPI = 0), six cures de R-CHOP avec un intervalle de 21 jours (R-CHOP21) sont recommandées.

Une consolidation par radiothérapie s'est montrée efficace chez les patients du même groupe d'âge mais présentant un pronostic moins favorable (aaIPI = 1) ou une masse tumorale importante. Dans ce cas, la radiothérapie est centrée sur les lésions dont le diamètre dépasse 7,5 cm ainsi que sur les lésions extraganglionnaires. Pour ces patients, quatre cures de R-ACVBP (rituximab – adriamycine, cyclophosphamide, vindésine, bléomycine et méthylprednisolone) espacées de 14 jours suivies d'une consolidation séquentielle peuvent être recommandées comme alternative aux six cures de R-CHOP21 combinées à la radiothérapie. (Tilly et al., 2015)

Pour les patients avec un pronostic défavorable (aaIPI ≥ 2), il n'y a actuellement pas de standard. La thérapie la plus fréquemment administrée est composée de six à huit cures de R-CHOP tous les 21 jours. Une administration de six cures de R-CHOP tous les 14 jours peut être

envisagée. Un régime plus intensif avec R-ACVBP ou R-CHOEP (rituximab – cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, étoposide et prednisolone) est fréquemment utilisé chez certains patients. Pour les patients à haut risque, la chimiothérapie classique peut être suivie d'une chimiothérapie à haute dose et d'une transplantation de cellules souches autologues. (Tilly et al., 2015)

Dans le groupe âgé de 60 à 80 ans, les patients avec un bon pronostic sont traités à l'aide de six à huit cures de R-CHOP21. Comme pour la tranche d'âge inférieure, un intervalle de 14 jours entre les cures n'a pas d'incidence sur la survie par rapport à un intervalle de 21 jours. Une consolidation par radiothérapie peut également être envisagée lorsque la masse tumorale est volumineuse. La toxicité de R-ACVBP étant trop importante chez les patients plus âgés, ce traitement n'est pas recommandé dans cette tranche d'âge. (Bonnet C. et al., 2012 ; Tilly et al., 2015)

Au-delà de 80 ans, un traitement curatif peut être administré chez les patients présentant un bon état général. Le rituximab est alors associé à une chimiothérapie dont les doses ont été adaptées (R-miniCHOP).

Une prophylaxie neuroméningée doit être envisagée chez les patients à risque de rechute au niveau du système nerveux central. Deux cures de méthotrexate en intrathécale ou en intraveineuse à haute dose (3g/m<sup>2</sup>) sont alors recommandées. (Klanova et al., 2019)

A des fins pronostiques, le score de Deauville permet de mesurer la réponse au traitement par PET scan après 2 à 4 cures. L'obtention d'un score entre 1 et 3 est associée à une évolution favorable. L'obtention d'un score entre 4 et 5 encourage une adaptation du traitement, particulièrement en cas de preuve de progression de la maladie.

En fin de traitement, le PET scan est de nouveau réalisé. Le patient est considéré en rémission complète lorsque la réponse métabolique est complète (scores 1 à 3). En cas d'obtention des scores 4 et 5, une réponse métabolique partielle est considérée comme une maladie résiduelle alors qu'une non-réponse ou une progression métabolique sont considérées comme des échecs thérapeutiques. La présence de tissus résiduels métaboliquement actifs requière la réalisation d'une nouvelle biopsie afin de confirmer la présence de tissu tumoral et le besoin d'une chimiothérapie de rattrapage. (Tilly et al., 2015)

### **2.1.5.2.Suivi**

Après leur traitement, les patients en rémission sont suivis de près afin de s'assurer que la maladie ne récidive pas et de surveiller l'apparition d'effets secondaires tardifs faisant suite au traitement. Le suivi se fait tous les 3 mois la première année puis tous les 6 mois les deux années suivantes avant de se faire sur base annuelle. Des analyses sanguines sont généralement réalisées après 3, 6, 12 et 24 mois et puis uniquement en cas de symptômes ou de signes cliniques suspects. (Tilly et al., 2015)

Des examens radiologiques peuvent être réalisés après 6, 12 et 24 mois mais ces contrôles n'ont prouvé aucune amélioration de la survie en routine. Le PET scan n'est pas recommandé comme examen de routine.

### **2.1.5.3.Traitement de 2ème ligne**

Avec les traitements de 1<sup>ère</sup> ligne actuels, 30 à 40% des patients vont rechuter ou présenter une forme réfractaire de la maladie, diminuant ainsi significativement leur pronostic par rapport à l'évaluation initiale. La majorité de ces patients vont rechuter dans les 2 à 3 ans suivant la fin du traitement. Parmi eux, 10% ne seront pas éligibles pour une deuxième ligne de traitement. Les rechutes précoces et les LDGCB réfractaires concernent 10 à 15% des patients traités par R-CHOP dans l'année suivant le diagnostic. Une rechute tardive après 5 ans est possible dans de plus rares cas (3%). (Sarkozy & Sehn, 2018)

Les patients éligibles à une thérapie de deuxième ligne doivent suivre les mêmes examens que lors du diagnostic initial.

Le traitement standard pour les patients de moins de 65-70 ans éligibles à l'autogreffe est une immunochimiothérapie à base de platine suivie d'une autogreffe de cellules souches. Il existe plusieurs traitements de rattrapage dont les plus courants sont R-DHAP (rituximab - dexaméthasone, cytarabine et cisplatine), R-ICE (rituximab - ifosfamide, carboplatine et étoposide) et R-GDP (rituximab - gemcitabine, dexaméthasone et cisplatine). Ces trois thérapies ont montré une efficacité similaire mais une plus grande toxicité a été rapportée avec R-DHAP comparé à R-GDP. L'addition d'oxaliplatine peut permettre de réduire la toxicité, principalement rénale, de la cisplatine contenue dans R-DHAP et R-GDP.

Pour des raisons d'âge ou de comorbidités, seuls 50% des malades sont éligibles à l'autogreffe de cellules souches, parmi lesquels environs la moitié répondront à la chimiothérapie de rattrapage et pourront être transplanté. Les patients éligibles recevront une chimiothérapie de

conditionnement qui variera leur âge et leur état général. La chimiothérapie BEAM est la plus fréquemment administrée. (Sarkozy & Sehn, 2018)

Après l'autogreffe, le taux de rémission complète est de 25 à 35%. Les patients réfractaires au traitement de deuxième ligne subiront un traitement de rattrapage. (Sehn & Salles, 2021)

Les patients non éligibles à l'autogreffe peuvent être traités avec R-GEMOX (rituximab, gemcitabine et oxaliplatine) mais aucune approche standard n'existe pour ce groupe. Environ la moitié d'entre eux sera éligible au traitement de troisième ligne. (Sarkozy & Sehn, 2018 ; Tilly et al., 2015)

L'efficacité limitée des traitements de deuxième ligne, la persistance de formes réfractaires de la maladie et la survenue de nouvelles rechutes ont poussé au développement de nouvelles thérapies comme les CAR-T cells, indiquées en troisième ligne de traitement chez ces patients.

## **2.2. Etudes cliniques**

Depuis août 2018, le Kymriah<sup>®</sup> de la société Novartis et le Yescarta<sup>®</sup> de la société Gilead possèdent une AMM en Europe. Depuis, d'autres spécialités à base de CAR-T cells ont fait l'objet d'une demande d'enregistrement, dont le Breyanzi<sup>®</sup> de la société Celgene.

Kymriah<sup>®</sup> (tisagenlecleucel) et Yescarta<sup>®</sup> (axicabtagene ciloleucel) sont indiqués pour le traitement des patients adultes atteints d'un LDGCB en rechute ou réfractaire après au moins deux lignes d'un traitement systémique. Ces spécialités ne sont pas indiquées chez des individus âgés de moins de 18 ans. (CBIP | Yescarta, 2022 ; CBIP | Kymriah, 2022)

Kymriah<sup>®</sup> est également indiqué pour le traitement des enfants et jeunes adultes jusqu'à 25 ans atteints de LAL à cellules B ainsi que pour le traitement du lymphome folliculaire (LF) chez l'adulte tandis que Yescarta<sup>®</sup> peut également être administré chez l'adulte pour le traitement du lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B (LMPGCB) et le LF. (CBIP | Kymriah, 2022 ; CBIP | Yescarta, 2022)

En avril 2022, l'agence européenne du médicament a délivré une AMM pour le Breyanzi<sup>®</sup> (lisocabtagene maraleucel) dans le traitement du LDGCB, du LMPGCB et du LF de grade 3B. (EMA, 2022)

Plusieurs études ont été réalisées dans le but de démontrer l'efficacité et la sécurité des CAR-T cells dans le traitement des LDGCB. Trois essais cliniques ont été menés par les laboratoires Novartis, Gilead et Celgene avec pour objectif d'obtenir une autorisation de mise sur le marché pour leur spécialité.

### **2.2.1. Etude JULIET**

L'étude JULIET est une étude de phase II multicentrique conduite par le laboratoire Novartis dans le but de prouver l'efficacité et la sécurité du tisagenlecleucel pour l'obtention d'une AMM pour le Kymriah®.

L'essai a été réalisé sur 167 patients adultes âgés de plus de 18 ans atteints d'un LDGCB récidivant ou réfractaire dont 115 ont reçu une perfusion de tisagenlecleucel. L'étude comportait deux cohortes : 99 patients composaient la cohorte principale qui a reçu du tisagenlecleucel fabriqué aux Etats-Unis et 16 patients composaient la cohorte A qui a reçu du tisagenlecleucel fabriqué en Allemagne. La moyenne d'âge des patients était de 56 ans et ceux-ci étaient tous en bon état général (ECOG = 0-1).

La leucaphérèse a été réalisée avant l'inclusion des patients dans l'étude et les lymphocytes récoltés ont été cryopréservés. Le délai médian entre l'inclusion et l'infusion du tisagenlecleucel était de 54 jours. (CBIP | Kymriah, 2022 ; Westin et al., 2021)

### **2.2.2. Etude ZUMA-1**

L'essai ZUMA-1 est une étude de phase 1/2 conduite par le laboratoire Gilead afin de démontrer l'efficacité et la sécurité de l'axicabtagene ciloleucel, commercialisé sous le nom de Yescarta®.

Dans la phase II de cet essai multicentrique, 101 patients de plus de 18 ans atteints d'un LNH à cellules B récidivant ou réfractaire ont reçu une perfusion de axicabtagene ciloleucel. Les patients enrôlés était répartis en trois cohortes en fonction du type de LNH. La moyenne d'âge des patients était de 58 ans et ceux-ci étaient tous en bon état général (ECOG = 0-1).

Le délai médian entre la leucaphérèse et la livraison de l'axicabtagene ciloleucel était de 17 jours et le délai moyen entre la leucaphérèse et l'infusion était de 28 jours. (CBIP | Yescarta, 2022 ; Westin et al., 2021)

### **2.2.3. Etude TRANSCEND**

TRANSCEND est une étude pivot de phase I réalisée aux Etats-Unis dans le but d'étudier l'efficacité et la sécurité du lisocabtagene maraleucel ou liso-cel. L'étude a été menée sur 269 patients de plus de 18 ans atteints d'un LNH récidivant ou réfractaire après au moins deux lignes de traitement.

L'étude était divisée en deux cohortes. La moyenne d'âge des patients était de 63 ans, se rapprochant ainsi de l'âge moyen des patients atteints d'un lymphome.

Le délai entre la leucaphérèse et la disponibilité des CAR-T cells était de 24 jours. (Westin et al., 2021)

### **2.2.4. Comparaison des données d'efficacité et de sécurité**

Les trois essais ont été conduits sur des patients ayant reçu plusieurs lignes de traitement avant inclusion. La majorité d'entre eux étaient chimioréfractaires (55% pour JULIET, 76% pour ZUMA-1 et 67% pour TRANSCEND). (Westin et al., 2021)

Le critère principal pour l'évaluation de l'efficacité est le taux de réponse objective (TRO). Le TRO obtenu lors des trois études était compris entre 52% et 74% avec un taux de survie globale (SG) après un an de 48% à 59%, démontrant l'efficacité des CAR-T cells sur les LDGCB réfractaires. (Westin et al., 2021)

Dans l'essai ZUMA-1, le TRO était de 72% avec un taux de réponse complète (RC) de 51%. Pour les LDGCB spécifiquement, le TRO passe à 88% et le taux de RC à 56%. Le délai de réponse médian était d'un mois. La durée de réponse (DDR) médiane était de 11,1 mois et la SG médiane n'a pas été atteinte. (CBIP | Kymriah, 2022 ; Westin et al., 2021)

Dans l'essai JULIET, le meilleur TRO était de 54% avec un taux de RC de 41%. (CBIP | Yescarta, 2022) La SG médiane était de 11,1 mois.

Dans l'essai TRANSCEND, il est important de savoir que la durée de suivi des patients était plus courte. Le meilleur TRO était de 73% avec un taux de RC de 53%, comparables dans les différentes tranches d'âge et différents sous-groupes de lymphomes. La SG médiane était de 21,1 mois et la durée de survie médiane sans progression était de 6,8 mois. (Westin et al., 2021)

Les effets indésirables les plus détectés lors de la récolte des données de sécurité étaient le CRS et les effets neurologiques. Les taux de CRS reportés étaient de 92% dans ZUMA-1, 58% dans JULIET et 42% dans TRANSCEND avec des taux de CRS graves de grade  $\geq 3$  de

respectivement 10%, 22% et 2%. Le système de gradation des CRS utilisé dans l'essai JULIET était différent de celui utilisé dans les deux autres essais.

Des effets de neurotoxicité ont été observés chez 67% des patients dans ZUMA-1, 21% dans JULIET et 30% dans TRANSCEND avec respectivement 32%, 11% et 10% de neurotoxicité de grade 3/4.

Suite à des effets indésirables, deux décès ont été enregistrés dans ZUMA-1, aucun dans JULIET et un décès dans TRANSCEND. (Westin et al., 2021)

Ces trois essais pivots ont démontré une bonne efficacité et une sécurité acceptable pour le traitement par CAR-T cells. Les données disponibles suite à l'utilisation clinique de Yescarta® et Kymriah® permettent d'appuyer les résultats obtenus lors des essais ZUMA-1 et JULIET. (Westin et al., 2021)

### **2.3. Toxicité des CAR-T cells**

Malgré une efficacité démontrée et un taux de survie supérieur aux traitements de rattrapage conventionnels, les CAR-T cells peuvent néanmoins induire des événements indésirables potentiellement graves pour le patient. Cette toxicité représente un véritable challenge à la fois en termes d'optimisation pour les futures générations de CAR-T cells ainsi qu'en termes de gestion des effets indésirables dans la pratique clinique. Les deux complications majeures sont le CRS et la toxicité neurologique.

#### **2.3.1. Le syndrome de relargage des cytokines**

Le CRS est la complication la plus fréquente survenant suite à l'injection de CAR-T cells. Il s'agit d'une suractivation du système immunitaire menant à la libération massive de cytokines inflammatoires telles que l'IFN- $\gamma$ , le TNF $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-2. Généralement, cet événement a lieu dans les 7 jours suivant l'infusion de CAR-T cells et, en fonction de la stratégie choisie, les symptômes disparaissent en une à deux semaines. (Westin et al., 2021)

La symptomatologie varie grandement en fonction du patient et de la sévérité des CRS. En plus d'une fièvre élevée qui est un signal d'alerte, les autres signes d'un CRS modéré peuvent être : fatigue, céphalées, rash, arthralgie et myalgie. Les signes d'aggravation sont l'hypotension, l'hypoxie, le syndrome de fuite capillaire (SFC) ou encore la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). (D. W. Lee et al., 2014) Le SFC provoque la sortie de

cellules immunitaires suractivées dans les tissus sains, causant des lésions aux organes voire des dysfonctions d'organes multiples, incluant une insuffisance cardiaque, une insuffisance rénale ou encore des lésions hépatiques. (Shimabukuro-Vornhagen et al., 2018)

Les formes sévères de CRS sont également un facteur favorisant les infections, nécessitant un traitement prophylactique et thérapeutique contre les infections. (CBIP | Kymriah, 2022)

Les facteurs de risque majeurs favorisant un CRS sévère chez les patient atteint d'un LDGCB sont la présence d'une masse tumorale importante et l'injection d'une dose élevée de CAR-T cells. En effet, ces facteurs sont associés à une plus grande prolifération des CAR-T cells et une sécrétion importante de cytokines, et donc à un risque plus élevé de développer un CRS sévère. Ces facteurs de risques doivent être pris en compte avant le traitement par CAR-T cells afin de prévenir la survenue d'une forme sévère. (Chou & Turtle, 2020)

L'événement déclencheur du CRS est l'activation des CAR-T cells suite à la rencontre avec leur cible. Cette activation et la sécrétion de cytokines qui en résulte sont indispensables à l'action thérapeutique des CAR-T cells. La majorité des CRS sont des formes légères à modérées mais il arrive qu'un cercle vicieux se mette en place avec une activation croisée des cellules immunitaires et une sécrétion systématique de cytokines. Les cytokines libérées sont à l'origine de l'activation de différentes cellules immunitaires comme le système monocyte/macrophage qui vont amplifier à leur tour la réponse immunitaire.

L'élévation de la concentration en IL-6 joue un rôle central dans la pathogenèse du CRS. La liaison de l'IL-6 à son récepteur (membranaire ou soluble) forme un complexe qui se lie à gp130, enclenchant une cascade de signalisation à l'origine de symptômes caractéristiques des CRS graves. Avec d'autres cytokines telles que IFN- $\gamma$ , IL-8 et MCP-1, elle contribue à l'activation endothéliale menant au SFC, et à l'activation de la cascade de la coagulation. (Shimabukuro-Vornhagen et al., 2018 ; Westin et al., 2021)

Cette implication de l'IL-6 a mené à l'utilisation du tocilizumab, un traitement à base d'anticorps monoclonaux contre les récepteurs de l'IL-6 indiqué dans les formes modérées à sévères de CRS. (CBIP | Tocilizumab, 2022)

La gestion des CRS commence par la surveillance rapprochée des patients durant les jours suivant une infusion de CAR-T cells afin de détecter l'apparition de signaux d'alerte comme la fièvre. En cas d'apparition de fièvre, il est recommandé de réaliser un bilan

infectieux. L'intensité du monitoring se fait en fonction des CAR-T cells utilisées, de l'âge du patient et de la présence de comorbidités ou de facteurs de risque. (Chou & Turtle, 2020)

L'un des défis majeurs de la prise en charge du CRS a été de trouver un traitement pour minimiser la survenue de complications graves tout en maintenant l'efficacité antitumorale des CAR-T cells. La prise en charge du CRS va dépendre du grade qui lui est attribué. Il existe plusieurs systèmes de gradation qui diffèrent sur plusieurs points. Ces systèmes permettent de classer les CRS en fonction de leur gravité en se basant sur les symptômes observés. Les systèmes les plus utilisés sont le système proposé en 2014 par Lee et al. et le système standardisé de l'« American Society for Transplantation and Cellular Therapy » (ASTCT). (Wei et al., 2020 ; Westin et al., 2021)

La prise en charge se fait suivant un algorithme comme décrit dans le Tableau 5. La base de la prise en charge repose sur un traitement de la symptomatologie clinique du patient. Un traitement à base de tocilizumab seul ou en association avec des corticoïdes est indiqué pour les patients présentant un CRS de grade  $\geq 2$ . La présence d'hypotension indique le développement d'un grade  $\geq 2$  et nécessite un remplissage vasculaire avec ou sans vasopresseur. Ces patients doivent également être surveillés par monitoring cardiaque et oxymétrie de pouls en continu. (Chou & Turtle, 2020)

Les corticostéroïdes sont généralement administrés en association au tocilizumab chez les patients présentant une fièvre persistante ou une hypotension réfractaire. Ils ne sont par contre pas conseillés pour les grades  $< 3$  afin de limiter les risques potentiels de diminution de l'efficacité des CAR-T cells, bien que des études semblent indiquer que les corticoïdes n'impactent pas la réponse antitumorale dans un contexte de CRS dû à une forte activation des CAR-T cells. (Neelapu et al., 2017)

Les patients ne répondant pas au traitement peuvent se voir administrer jusqu'à trois doses additionnelles de tocilizumab. Il y a peu de données pour déterminer si des doses répétées de tocilizumab ou si l'addition ou le changement de la thérapie visant les cytokines peut être bénéfique pour ces patients. (Chou & Turtle, 2020)

<b>Grade du CRS</b>	<b>Tocilizumab</b>	<b>Corticoïdes</b>
<b>Grade 1</b> Symptômes légers nécessitant uniquement un traitement symptomatique (ex : fièvre, fatigue, céphalées, myalgies)	Non recommandé	Non recommandé
<b>Grade 2</b> Symptômes nécessitant une intervention modérée. Besoin en oxygène < 40% ou hypotension répondant à un remplissage vasculaire ou à un vasopresseur à faible dose	Administrer 8 mg/kg en IV sur 1 heure (maximum 800 mg) En l'absence d'amélioration, 3 doses additionnelles peuvent être administrer avec un intervalle de 8 heures (maximum 3 doses/24 heures).	Uniquement si aucune amélioration suivant le traitement par tocilizumab  Dexaméthasone IV 10 mg toutes les 6h
<b>Grade 3</b> Symptômes nécessitant une intervention agressive. Besoin en oxygène ≥ 40% ou hypotension nécessitant un vasopresseur à faible dose ou de multiples doses		Dexaméthasone IV 10 mg toutes les 6h pendant 1-3 jours
<b>Grade 4</b> Symptômes mettant en jeu le pronostic vital. Besoin d'une assistance respiratoire ou d'une hémodialyse veino-veineuse continue	Prise en charge identique aux grades 2 et 3. Considérer une autre thérapie en cas d'absence d'amélioration.	Prise en charge identique au grade 3. Méthylprednisolone IV 1g/jour pendant 3 jours en l'absence d'amélioration.

**Tableau 5 : Gradation des SRC et recommandations de prise en charge (CBIP | Yescarta, 2022 ; Chou & Turtle, 2020)**

### 2.3.2. La neurotoxicité

L'apparition d'événements neurotoxiques est fréquente et est majoritairement liée à la présence de CRS bien qu'ils puissent survenir en leur absence ou après leur résolution. Contrairement au CRS, la physiopathologie et la manière de prendre en charge la neurotoxicité de façon optimale sont moins bien comprises. Le délai médian d'apparition de la neurotoxicité est de 4 à 10 jours et le délai médian de résolution des symptômes est de 5 à 14 jours. Ces délais varient selon la spécialité infusée. (Chou & Turtle, 2020 ; Hunter & Jacobson, 2019)

Les symptômes peuvent inclure le mal de tête, la confusion, l'aphasie, les troubles de l'attention, les pertes de mémoire, la myoclonie et les crises convulsives. Dans les cas plus sévères, le patient peut devenir somnolent ou léthargique et peut avoir besoin d'une ventilation

artificielle. (Hunter & Jacobson, 2019) Des hémorragies cérébrales et des œdèmes cérébraux diffus ont été rapportés dans de rares cas de neurotoxicités sévères. (Chou & Turtle, 2020) La neurotoxicité est associée à une disruption de la barrière hématoencéphalique et à un niveau élevé de cytokines dans le sang. (Rafiq et al., 2020)

La gradation de la neurotoxicité peut se faire via le score ICE pour les adultes et le score CAPD pour les enfants de moins de 12 ans. Le score ICE mesure entre autres les altérations de la parole, de l'orientation, de l'attention ou encore de l'écriture. (Chou & Turtle, 2020)

La prise en charge de la neurotoxicité repose sur le traitement de la symptomatologie clinique du patient, associé ou non à un corticoïde et/ou une thérapie agissant sur les cytokines, en fonction de la présence ou non d'un CRS actif. L'utilisation de tocilizumab ou d'autres thérapies agissant sur les cytokines n'est pas indiquée en l'absence d'un CRS associé car ils ne passent pas la barrière hématoencéphalique. (Rafiq et al., 2020)

Pour les patients de grade  $\geq 2$ , une encéphalographie, une IRM et ensuite une ponction lombaire doivent être envisagées afin d'éliminer tout diagnostic différentiel. En cas de crise épileptique, un anticonvulsivant non sédatif peut être administré chez ces patients. (Brudno & Kochenderfer, 2019) Les patients atteints de neurotoxicité de grade 2 ou de grade 3 sont traités avec 10 mg de dexaméthasone toutes les 6 heures en IV. En l'absence d'amélioration ou en présence d'un grade 4, 1000 mg de méthylprednisolone par jour en IV pendant 3 jours sont indiqués. (CBIP | Yescarta, 2022)

Grade	Caractéristiques
Grade 1	Score ICE = 7-9 Somnolence légère, réveil spontané
Grade 2	Score ICE = 3-6 Altération de la conscience affectant les activités quotidiennes, désorientation, réveil à l'appel
Grade 3	Score ICE = 0-2 Forte altération de la conscience, réveil avec stimulus tactile Œdème local Crise épileptique qui se résout rapidement
Grade 4	Score ICE = 0 Pronostic vital engagé Patient comateux, ne pouvant pas être réveillé Crise convulsive généralisée de plus de 5 minutes Gros déficit moteur Œdème cérébral diffus

**Tableau 6 :** Gradation de la neurotoxicité (Chou & Turtle, 2020)

### **2.3.3. Toxicité « on-target/off-tumor »**

Le manque de spécificité des CAR-T cells peut être à l'origine de l'emballement de la réponse immunitaire. La toxicité « on-target/off-tumor » a lieu lorsque des tissus non-pathogéniques sont porteurs de l'antigène cible et qu'ils sont dès lors reconnus par les CAR-T cells. (Bonifant, Jackson, Brentjens, & Curran, 2016)

Bien que l'antigène CD19 soit exprimé avec une plus forte densité sur les cellules tumorales, les CAR-T cells anti-CD19 sont capables de reconnaître les cellules B normales et de les attaquer. (Yang et al., 2017) Il en résulte une aplasie des cellules B et une hypogammaglobulinémie résultante. Une des conséquences de l'hypogammaglobulinémie pour le patient est une exposition plus importante aux infections. Cette toxicité répandue peut être traitée avec l'infusion intraveineuse périodique d'immunoglobulines qui auront pour but de compenser le manque de production d'anticorps par les lymphocytes B et ainsi limiter le risque d'infections opportunistes. (Rafiq et al., 2020 ; Zhao et al., 2020)

## **3. Rôle du pharmacien hospitalier**

Le rôle du pharmacien hospitalier est indispensable au bon déroulement opérationnel des traitements par CAR-T cells. En effet, les exigences liées à ce type de thérapie sont très strictes et appellent à prendre des précautions particulières lors de la mise en place du circuit pharmaceutique. Pour ces raisons, la manipulation et l'administration des CAR-T cells ne peut se faire que dans des centres agréés et par du personnel spécialement formé.

Tout d'abord, le pharmacien hospitalier est chargé de la réception du produit. Les CAR-T cells sont conditionnées dans des poches de perfusion comportant les identifiants uniques du patient et placées dans une cassette métallique. Le transport des poches se fait dans un conteneur pour conservation cryogénique dans de l'azote liquide. Le pharmacien hospitalier doit s'assurer en premier lieu de la conformité du produit reçu, du respect de la température pendant le transport et de l'intégrité de la poche. Si la poche est endommagée, elle sera éliminée suivant les règles en matière de traitement des déchets organiques d'origine humaine.

Le pharmacien hospitalier s'assure que les conditions de conservation sont respectées jusqu'à l'administration au patient. Les poches de CAR-T cells doivent être conservées dans leur cassette métallique à une température inférieure à -120°C pour Kymriah® et inférieure à -150°C pour Yescarta®. Leur durée de conservation dans ces conditions est de respectivement

neuf mois et un an. La manipulation des produits à base de CAR-T cells doit se faire avec précaution afin d'éviter tout risque de transmission de maladies infectieuses au personnel de santé. Leur transport dans l'enceinte de l'établissement hospitalier doit se faire dans des conteneurs étanches.

Lorsque le patient est prêt à recevoir le traitement, le pharmacien hospitalier procède à la décongélation des CAR-T cells. Avant la décongélation, une nouvelle inspection de la poche de perfusion est effectuée afin de s'assurer qu'elle correspond au bon patient et qu'elle n'est pas endommagée. La poche est ensuite placée à l'intérieur d'une seconde poche stérile. La décongélation s'effectue dans un bain-marie à 37°C ou selon une méthode de décongélation à sec. L'opération est terminée lorsque la poche ne contient plus de glace visible. Après décongélation, Kymriah® et Yescarta® doivent être conservés à température ambiante et être perfusés dans les 30 minutes.

Avant l'administration des CAR-T cells, le pharmacien hospitalier doit s'assurer qu'au moins une dose de tocilizumab ou d'une alternative appropriée est disponible pour le patient pour une administration dans les 2 heures en cas de CRS. Des doses supplémentaires doivent être disponibles pour une administration toutes les 8 heures si nécessaire.

Enfin, le pharmacien hospitalier joue un rôle central dans la pharmacovigilance des produits et dans la notification des effets indésirables aux institutions concernées. (CBIP | Yescarta, 2022 ; CBIP | Kymriah, 2022 ; Kymriah (Novartis) | AFMPS, 2022 ; Yescarta-Tecartus (Gilead) | AFMPS, 2022)

## **4. Perspectives d'amélioration des CAR-T cells**

### **4.1. Stratégies pour améliorer l'efficacité des CAR-T cells**

Malgré un taux de réponse complète important, environ la moitié des patients atteints par un LDGCB réfractaire ou récidivant ne répondront pas au traitement ou vont rechuter. Ce taux de réponse inférieur à celui obtenu pour le traitement des LAL est en partie dû à l'hétérogénéité des cellules tumorales des lymphomes et au microenvironnement tumoral inhibiteur. (Zhao et al., 2020) La bonne compréhension des mécanismes de résistance aux thérapies par CAR-T cells permet de développer des stratégies qui permettraient de les contourner et d'améliorer la survie des patients après un échec de la thérapie par CAR-T cells. (Denlinger, Bond, & Jaglowski, 2022)

#### 4.1.1. L'échappement antigénique

Une des principales causes de résistance est la perte ou la mutation de CD19, l'antigène cible des spécialités actuellement disponibles sur le marché. (Denlinger et al., 2022) Approximativement 20 à 30% des rechutes après une thérapie par CAR-T cells seraient dues à une perte totale ou partielle de l'expression de CD19 à la surface des cellules tumorales. (Qin et al., 2019) Une étude menée par l'université de Standford a révélé que jusqu'à 60% des patients souffrant d'un LDGCB traités avec Yescarta® présentaient une expression diminuée ou négative de CD19 au moment de la rechute. (Caballero, Escribà-Garcia, Alvarez-Fernández, & Briones, 2022) De plus, les différences dans l'expression de CD19 à la surface des cellules tumorales entraînent des différences dans l'efficacité de la thérapie. Les cellules comportant une grande densité d'antigènes cibles seront éliminées par les CAR-T cells tandis que les cellules comportant une faible densité d'antigènes cibles ne pourront pas activer efficacement les CAR-T cells et proliféreront. (Zhao et al., 2020)

Une des stratégies actuellement à l'étude est le développement de CAR-T cells ciblant d'autres antigènes comme le CD20 ou le CD22. Les CAR-T cells anti-CD20 et anti-CD22 pourraient être utilisées individuellement après un échec de la thérapie anti-CD19 ou bien directement en tandem avec CD19 grâce au développement de CAR possédant plusieurs domaines de reconnaissance de l'antigène. L'avantage de la méthode en tandem est de limiter les risques d'échec de la thérapie en cas de faible expression ou en cas de perte de l'expression de l'un des antigènes. (Denlinger et al., 2022 ; Zhao et al., 2020)

Plusieurs études ouvertes mono-bras de phase I/II ont été menées dans lesquelles des patients avec un LNH réfractaire ou récidivant ont été traités avec une thérapie par CAR-T cells en tandem ciblant les antigènes CD19 et CD20 (TanCAR7 T cells). Les résultats de l'étude menée par Tong et al. ont montré une réponse globale au traitement par TanCAR7 T cells de 79% avec un taux de RC de 71%. L'étude de Zhang et al. a montré des résultats similaires avec un réponse globale de 78% et un taux de RC de 71%. La majorité des patients inclus dans ces deux études n'avaient précédemment pas reçu de thérapie par CAR-T cells anti-CD19 mais tous les patients ayant déjà reçu une thérapie anti-CD19 présentaient une expression positive des antigènes CD19 et CD20 au test immunohistochimique. Ces deux études ont démontré que les TanCAR7 T cells produisaient une réponse antitumorale puissante et durable chez ces patients sans augmenter le risque de toxicités. (Tong et al., 2020 ; Y. Zhang et al., 2022)

Les CAR en tandem sont donc une stratégie intéressante dans la lutte contre l'échappement antigénique.

#### **4.1.2. Amélioration de la qualité des CAR-T cells**

Des erreurs de fabrication ou une mauvaise qualité des lymphocytes T récoltés chez le patient par leucaphérèse peuvent causer un échec de la thérapie par CAR-T cells. En effet, des CAR-T cells de mauvaise qualité auront une faible capacité d'expansion et une fonction cytotoxique réduite.

La mise en place de nouvelles techniques de culture lors du processus de fabrication des CAR-T cells est actuellement à l'étude dans le but de limiter l'épuisement cellulaire.

Des études sont également nécessaires pour déterminer la thérapie de transition optimale et évaluer l'utilisation de la chimiothérapie par rapport à la radiothérapie et à la thérapie combinée afin garantir que les cellules du donneur soient de la meilleure qualité possible. (Denlinger et al., 2022) L'emploi de lymphocytes T allogéniques provenant de donneurs sains pourraient aussi permettre d'améliorer la qualité des CAR-T cells.

#### **4.1.3. Le microenvironnement inhibiteur des cellules tumorales**

Un autre facteur impliqué dans la résistance aux CAR-T cells est le microenvironnement tumoral inhibiteur. Sa composition peut entraîner une baisse de l'expansion des CAR-T cells, une diminution de leur fonction cytotoxique et une augmentation de l'épuisement. Des études ont montré que les patients n'ayant pas répondu de façon complète au traitement par CAR-T cells présentent un taux en agents immunosuppresseurs plus important que les patients en rémission complète. (Zhao et al., 2020) Ces agents immunosuppresseurs comprennent les cytokines immunosuppressives et les cellules immunitaires suppressives induites par les tumeurs tels que les macrophages associés aux tumeurs, les fibroblastes associés aux tumeurs et les cellules myéloïdes suppressives.

Parmi les signaux inhibiteurs provenant du microenvironnement tumoral, l'un des plus étudié est celui impliquant la protéine 1 de la mort cellulaire programmée (PD-1). PD-1 est un récepteur inhibiteur inductible exprimé à la surface des lymphocytes T activés. La liaison de PD-1 à son ligand PD-L1, qui peut être exprimé à la surface des cellules tumorales, inhibe la réaction immunitaire et fait entrer le lymphocyte dans un état épuisé et hypo-fonctionnel. (Poorebrahim et al., 2021) L'expression de PD-L1 à la surface des lymphocytes B tumoraux est un facteur de mauvais pronostic. (Yoon, Osborn, Tolar, & Kim, 2018) Plusieurs stratégies sont à l'étude afin de limiter l'épuisement des CAR-T cells grâce au blocage de l'axe PD-1/PD-L1.

La première de ces stratégies est d'associer la thérapie par CAR-T cells à des anticorps anti-PD-1 ou anti-PD-L1. Une étude menée par Chong et al. a analysé les effets du pembrolizumab, un anticorps monoclonal anti-PD-1, sur un petit nombre de patients atteints d'un lymphome à cellule B en rechute ou réfractaire au traitement par CAR-T cells anti-CD19. Le pembrolizumab a pour rôle de réactiver les CAR-T cells épuisées afin qu'elles puissent de nouveau exercer leur activité cytotoxique sur les cellules tumorales. Les résultats de cette étude montrent une réponse globale au traitement de 25% et un taux de RC de 8%. De plus, les patients ayant répondu au traitement ont montré une augmentation de l'activation et de la prolifération des CAR-T cells ainsi qu'une diminution de l'épuisement des cellules T. (Chong et al., 2022)

Une autre approche vise à développer des CAR-T cells pour lesquelles la voie de signalisation de PD-1 a été génétiquement modifiée afin d'empêcher la transmission du signal inhibiteur lorsque PD-1 se lie à PD-L1. (Rafiq et al., 2020; Xu et al., 2019) Par exemple, Huang et al. a étudié les effets de CAR-T cells coexprimant des récepteurs PD-1 « leurres » sur des tumeurs solides B7-H3<sup>+</sup>/B7-H1<sup>+</sup>. Ces récepteurs génétiquement modifiés sont composés du domaine extracellulaire de PD-1 fusionné au domaine intracellulaire de CD28 ou de l'IL-7. Ainsi, la liaison de PD-1 à son ligand produit un signal activateur plutôt qu'un signal inhibiteur et augmente la persistance de l'activité tumorale. (Huang et al., 2019)

Enfin, un autre exemple est l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 dans le but d'éteindre les gènes codant pour PD-1. Les CAR-T cells déficientes en PD-1 ont montré une plus grande activité cytotoxique contre les cellules tumorales exprimant PD-L1. (Rupp et al., 2017 ; Tokarew et al., 2019)

En résumé, la modification des voies de signalisation des CAR-T cells représente une opportunité intéressante pour augmenter leur efficacité.

#### **4.2. Stratégies pour améliorer la sécurité des CAR-T cells**

Comme mentionné précédemment, les CAR-T cells peuvent être à l'origine d'un nombre important de toxicités de gravité variable. Bien que les techniques pour gérer ces toxicités soient bien développées dans la pratique clinique, certains effets indésirables sévères peuvent avoir de graves conséquences pour le patient. Plusieurs méthodes sont proposées dans le but de limiter le risque de toxicités tout en maintenant une efficacité clinique élevée.

#### 4.2.1. Modification de la structure des CAR

Afin d'éviter le risque de toxicité tout en garantissant l'efficacité du traitement, les CAR-T cells doivent atteindre un seuil d'activation suffisant mais sans dépasser un niveau qui entrainerait l'emballement de la réponse immunitaire. Le degré d'activation des CAR-T cells est influencé principalement par la densité d'antigènes cibles à la surface des cellules tumorales, la masse tumorale et l'affinité du récepteur pour l'antigène cible. (Xu et al., 2019) En diminuant l'affinité du CAR pour l'antigène cible, l'activation des CAR-T cells nécessite une densité en antigènes supérieure. Par conséquent, ces récepteurs possédant une faible affinité pour l'antigène sont beaucoup plus sélectifs pour les cellules tumorales puisque celles-ci possèdent une plus grande densité d'antigène cible par rapport aux cellules saines qui expriment moins l'antigène. (R. C. Sterner & Sterner, 2021)

Une étude de phase I menée par Ying et al. a montré qu'il était également possible de moduler la sécrétion des cytokines en modifiant la région charnière et le domaine transmembranaire. Ces CAR-T cells modifiées ont permis un taux de rémissions complètes de 54,5% chez des patients atteints d'un lymphome à cellules B et n'ont pas entraîné de CRS ou de neurotoxicité de grade > 1. En outre, ces CAR-T cells modifiées ont montré une plus grande expression de molécules anti-apoptotiques et une prolifération plus lente. (Ying et al., 2019)

Le domaine de costimulation peut également être adapté en fonction du risque de toxicité. Comme vu précédemment, le domaine de costimulation 4-1BB est à l'origine d'un nombre inférieur de toxicités que le domaine CD28. Par conséquent, afin de limiter les risques de toxicité, le domaine 4-1BB pourrait être utilisé dans le traitement de maladies à forte masse tumorale et/ou lorsque les cellules tumorales expriment une haute densité d'antigènes cibles. (R. C. Sterner & Sterner, 2021)

Enfin, l'utilisation de fragments d'anticorps humains ou humanisés pour la construction des CAR peut aussi être une stratégie pour contrer les toxicités liées aux cytokines. En effet, les spécialités actuellement disponibles sur le marché sont constituées de CAR dérivés d'anticorps murins et leur reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte peut être à l'origine de toxicités liées aux cytokines. (CBIP | Yescarta, 2022 ; CBIP | Kymriah, 2022 ; Rafiq et al., 2020)

#### **4.2.2. La neutralisation des GM-CSF**

Les cytokines et les cellules myéloïdes jouent un rôle important dans la survenue du CRS et de la neurotoxicité induite par les CAR-T cells. Des études ont montré que l'inhibition de la sécrétion par les CAR-T cells du facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF) était une stratégie prometteuse pour la prévention de la survenue des toxicités liées aux CAR-T cells. En effet, l'analyse des biomarqueurs associés aux neurotoxicités de grade  $\geq 3$  indique une élévation des taux de GM-CSF. Ces études prouvent que l'administration de lenzilumab, un anticorps monoclonal qui se lie au GM-CSF et le neutralise, permet de diminuer les risques de neurotoxicités et de CRS et d'augmenter l'activité des CAR-T cells. (Sachdeva, Duchateau, Depil, Poirot, & Valton, 2019 ; R. M. Sterner et al., 2019)

#### **4.2.3. Contrôle de l'activation**

Le contrôle de la durée de l'expression ou l'élimination des CAR-T cells après leur administration font partie des stratégies étudiées pour la gestion des toxicités.

L'introduction d'un gène suicide dans les CAR-T cells permettrait leur élimination sélective lors d'une réaction toxique sévère grâce au traitement par un agent inducteur. La première approche développée consistait à introduire la thymidine kinase d'un virus herpès simplex dans le vecteur d'expression génique des CAR-T cells. Cette approche rendait les cellules modifiées sensibles au ganciclovir qui perturbait la polymérisation et la synthèse de l'ADN des CAR-T cells. Cependant, l'immunogénicité de la thymidine kinase du virus herpès simplex entraînait un risque de rejet des CAR-T cells. De plus, l'inhibition de la réplication de l'ADN prend trop de temps à produire des effets cliniques bénéfiques dans le cadre d'une réaction toxique aiguë, montrant la nécessité de développer une méthode aux effets plus rapides. (Bonifant et al., 2016 ; Rubio et al., 2018)

La méthode de déplétion sélective la plus répandue utilise le gène d'une caspase-9 inductible (ICasp9) qui est activée par l'administration d'un agent dimérisant, l'AP1903. La dimérisation de ICasp9 entraîne l'activation de caspases en aval qui vont induire la voie de l'apoptose. Lors d'essais cliniques, cette méthode a permis l'élimination de plus de 90% des CAR-T cells modifiées dans les 30 minutes suivant l'injection de l'agent dimérisant. (Bonifant et al., 2016; R. C. Sterner & Sterner, 2021)

Une autre méthode consiste à développer des CAR-T cells exprimant à leur surface des antigènes tels que CD20 ou EGFR tronqués. La déplétion de ces cellules modifiées pourrait dès lors être enclenchée suite à l'infusion d'anticorps monoclonaux comme le rituximab et le cetuximab qui sont capables de se lier respectivement au CD20 et à l'EGFR. Cependant, cette méthode dépendante de la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) est relativement lente à se mettre en place et peut de plus voir son efficacité diminuée chez les patients au système immunitaire affaibli. (Bonifant et al., 2016 ; Yang et al., 2017)

Malgré leur efficacité, le plus gros inconvénient de ces stratégies de suicide est qu'elles entraînent l'arrêt irréversible de la thérapie par CAR-T cells. Pour cette raison, des études se concentrent sur le développement d'approches qui permettraient d'inhiber temporairement les CAR-T cells, le temps de prendre en charge la toxicité. L'une des approches étudiées est l'utilisation du dasatinib, un inhibiteur de tyrosine kinase qui empêche l'activation de la cellule T en inhibant la phosphorylation de CD3 $\zeta$ , un composant du récepteur CAR. Un essai pré-clinique mené par Mestermann et al. a montré que le dasatinib permettait d'empêcher l'activation des CAR-T cells de façon rapide et réversible et que son administration après l'infusion de CAR-T cells chez les souris souffrant d'un CRS aigu réduisait le risque de mortalité. De plus, l'étude a montré que dasatinib permettait un meilleur contrôle et une action plus rapide que la dexaméthasone habituellement utilisée dans la prise en charge des CRS. Cependant, des études supplémentaires pour déterminer son efficacité dans la pratique clinique sont nécessaires. (Mestermann et al., 2019)

#### **4.2.4. Augmentation de la sélectivité**

Il a été vu précédemment que les CAR-T cells ciblant plusieurs antigènes pouvaient permettre de maintenir l'efficacité de la thérapie suite à la perte d'expression d'un des antigènes cibles. Le ciblage de deux antigènes différents peut également permettre d'augmenter la sélectivité des CAR-T cells pour les cellules tumorales et ainsi limiter les toxicités. Ces cellules T exprimant deux CAR différents nécessitent la reconnaissance simultanée des deux antigènes correspondants, coexprimés à la surface des cellules tumorales, pour enclencher leur activation. A l'inverse, les cellules saines n'exprimant qu'un seul des deux antigènes ne permettent qu'une activation partielle des CAR-T cells, réduisant le risque de toxicité. (Yang et al., 2017)

Une autre méthode permettant de protéger les tissus sains de l'action cytotoxique des CAR-T cells consiste à développer des CAR inhibiteurs (iCAR) équipés de domaines de

signalisation intracellulaires inhibiteurs dérivés de PD-1 ou CTLA-4. L'expression conjointe d'un iCAR au niveau des CAR-T cells permet de garantir la lyse des cellules tumorales exprimant l'antigène cible du CAR et de protéger les cellules saines qui expriment plus largement l'antigène cible du iCAR, délivrant un signal inhibiteur qui interrompt l'activation de la CAR-T cell. (Tao et al., 2020; Yang et al., 2017)

#### **4.3. Stratégies pour améliorer l'accès aux thérapies par CAR-T cells**

Dans le but de pouvoir un jour industrialiser la production des CAR-T cells et ainsi réduire les coûts et les délais de fabrication, de nouvelles stratégies doivent être mises en place. Au-delà de l'optimisation des procédés industriels, le développement des CAR-T cells allogéniques est une des approches les plus prometteuses.

Par rapport à l'approche autologue, l'approche allogénique utilise des lymphocytes T prélevés chez un donneur sain au lieu du malade lui-même. Les CAR-T cells générées pourraient ainsi être universellement applicables à tous les patients. (Vormittag et al., 2018)

Cependant, l'injection de cellules allogéniques n'est pas sans risque et pourrait entraîner une réaction du greffon contre l'hôte (GVH) et le rejet des CAR-T cells par le receveur. (Li & Zhao, 2017) La réaction GVH est une complication qui peut se produire à la suite d'une allogreffe de cellules souches lorsque les cellules immunocompétentes du donneur attaquent les cellules saines de l'hôte, endommageant ses tissus et ses organes. (Matsuoka, 2021)

Dans le but de limiter les risques de GVH, les études se sont concentrées sur l'élimination du TCR endogène grâce à l'utilisation de techniques d'édition de gènes telles que CRISPR/Cas9, Transcription Activator-Like Effector Nucléases (TALEN) et les nucléases à doigt de zinc. CRISPR/Cas9 est composé d'un ARN guide, capable de reconnaître une séquence ADN, et d'une nucléase capable de cliver l'ADN reconnu. TALEN et les nucléases à doigt de zinc sont également capable de cliver certaines régions de l'ADN et ainsi empêcher l'expression du TCR endogène. (Chang & Chen, 2017)

Jusqu'à présent, les thérapies allogéniques se sont montrées moins efficaces que les thérapies autologues, ajoutant un obstacle supplémentaire à la généralisation de cette approche. (Vormittag et al., 2018)

Néanmoins, les CAR-T cells allogéniques restent une stratégie prometteuse pour la diminution du délai et des coûts de production de cette thérapie.

#### **4.4. Perspectives des CAR-T cells dans les tumeurs solides**

Contrairement au succès rencontré dans le traitement des hémopathies malignes, le traitement des tumeurs solides par les CAR-T cells n'a jusqu'à présent pas montré de résultats satisfaisants. Les principaux facteurs limitant l'efficacité des CAR-T cells chez les patients atteints d'une tumeur solide sont le manque d'antigènes spécifiques aux tumeurs et l'hétérogénéité de leur expression, le microenvironnement tumoral et la difficulté pour les CAR-T cells de pénétrer au sein de la tumeur. De nombreuses études sont en cours afin de développer des stratégies pour surmonter ces obstacles. (Rafiq et al., 2020)

Le premier défi consiste à identifier des cibles antigéniques qui s'exprimeraient exclusivement et de façon homogène à la surface de toutes les cellules tumorales. En effet, l'hétérogénéité des tumeurs et des antigènes exprimés au sein d'une même tumeur ainsi que les différences interindividuelles constituent un obstacle au développement de CAR-T cells efficaces contre les tumeurs solides. De plus, comme pour les hémopathies malignes, la sélection des clones tumoraux n'exprimant pas l'antigène cible représente une résistance à la thérapie. De nombreuses stratégies sont étudiées pour surmonter ces obstacles, parmi lesquelles on retrouve les méthodes citées précédemment pour contrer l'échappement antigénique dans les hémopathies malignes. (Rafiq et al., 2020)

Le second défi consiste à développer des CAR-T cells capables de résister au microenvironnement immunosuppresseur et hypoxique des tumeurs solides. Comme pour les hémopathies malignes, le microenvironnement des cellules tumorales solides est caractérisé par la présence de cellules immunosuppressives et de cytokines inhibitrices qui favorisent la croissance de la tumeur et qui peuvent mener à l'épuisement des CAR-T cells.

Les stratégies développées pour surmonter les signaux inhibiteurs sont similaires à celles utilisées pour les hémopathies malignes tel que l'inhibition de l'axe PD-1/PD-L1.

L'action inhibitrice des cytokines comme TGF- $\beta$ , sécrétées par la tumeur pour favoriser sa croissance, peut être bloquée par la co-injection d'anticorps anti-TGF- $\beta$  ou par l'introduction d'un récepteur anti-TGF- $\beta$  dominant négatif dans les CAR-T cells. Un essai de phase I est actuellement en cours afin de déterminer la faisabilité et la sécurité de l'utilisation du récepteur anti-TGF- $\beta$  dominant négatif dans le cancer de la prostate. Des CAR-T cells ont également été développées pour lutter contre d'autres facteurs immunosuppresseurs solubles comme l'adénosine. (Hupperetz, Lah, Kim, & Kim, 2022 ; Narayan et al., 2022 ; Rafiq et al., 2020)

De plus, l'arrivée des CAR-T cells de quatrième génération ou TRUCK capables de sécréter des cytokines favorisant la prolifération, la survie et l'activité antitumorale des cellules T tout en altérant le microenvironnement tumoral représente une avancée dans le traitement des tumeurs solides.

En plus des signaux inhibiteurs, le microenvironnement tumoral est pauvre en oxygène, en acides aminés et autres nutriments indispensables au métabolisme, à la fonction et à la différenciation des CAR-T cells. L'absence de nutriments peut enclencher la voie d'inhibition des CAR-T cells. Dès lors, l'infusion de nutriments tel que l'arginine et la modification du métabolisme des CAR-T cells font partie des pistes étudiées pour surmonter ce microenvironnement. (Rafiq et al., 2020)

Le troisième défi rencontré est le développement de stratégies pour permettre aux CAR-T cells de migrer et de s'infiltrer efficacement au sein des tumeurs. En effet, avant d'accéder au site tumoral, les CAR-T cells sont freinées par la présence de barrières physiques et biochimiques, ce qui explique le faible recrutement des CAR-T cells au niveau de certaines tumeurs solides. (Rafiq et al., 2020)

L'administration locale des CAR-T cells est une des stratégies étudiées pour éviter ces obstacles. Des essais pré-cliniques ont montré une efficacité antitumorale supérieure lors de l'injection intraventriculaire de CAR-T cells anti-HER2 et anti-IL13R $\alpha$ 2 pour traiter respectivement le cancer du sein métastaté au cerveau et le glioblastome. Des études cliniques sont actuellement en cours pour ces indications (NCT02208362, NCT03389230, NCT03696030). L'injection intrapleurale de CAR-T cells ciblant la mésothéline fait également l'objet d'un essai clinique de phase I pour le traitement du mésothéliome (NCT02414269). (R. C. Sterner & Sterner, 2021)

Une autre stratégie vise à développer des CAR-T cells exprimant des récepteurs de chémokines correspondant aux chémokines sécrétées par la tumeur. Des études ont montré que la surexpression de CXCR1 ou CXCR2 à la surface des CAR-T cells améliorerait leur migration et leur efficacité antitumorale. (R. C. Sterner & Sterner, 2021)

De plus, des études portant sur le développement de CAR-T cells exprimant des héparanases, l'enzyme de dégradation de l'héparane sulfate constituant la matrice extracellulaire tumorale, montrent également une pénétration améliorée et une plus grande activité antitumorale. De la même façon, des CAR-T cells dirigées contre la protéine d'activation du fibroblaste ont permis une diminution de la croissance tumorale. Cependant, les

CAR-T cells modifiant la matrice extracellulaire ont montré des résultats mitigés avec des effets indésirables imprévisibles. (Rafiq et al., 2020 ; R. C. Sterner & Sterner, 2021)

En résumé, de nombreuses recherches se focalisent sur la thérapie par CAR-T cells dans les tumeurs solides en raison des enjeux importants qui entourent ce type de cancer en termes de prévalence et de mortalité. Toutefois, malgré l'avancement des recherches, il reste de nombreux défis à relever pour obtenir des CAR-T cells capables de cibler efficacement les tumeurs, de s'y infiltrer et de produire une activité cytotoxique puissante et persistante.

## **5. Conclusion**

L'arrivée des CAR-T cells anti-CD19 a révolutionné le traitement des hémopathies malignes lymphoïdes B, dont le LDGCB. Les taux de réponses importants et la durabilité des réponses observées chez des patients à risque, récidivants ou réfractaires aux traitements traditionnels, poussent les chercheurs à développer d'avantage cette technologie.

Depuis les premières CAR-T cells dans les années 80 jusqu'à aujourd'hui, de nombreux progrès ont été réalisés dans la conception des CAR. Toutes ces recherches ont mené au développement de quatre générations de CAR-T cells dont chacune avait pour but de régler les problèmes des précédentes et ainsi augmenter leurs effets thérapeutiques. Dans les hémopathies malignes, la cible la plus étudiée est CD19 mais de nombreuses autres cibles antigéniques potentielles sont explorées afin d'obtenir la meilleure sélectivité possible pour les cellules tumorales. Les bons résultats obtenus lors des essais cliniques ont mené à l'enregistrement de Kymriah® et Yescarta® en août 2018 et, plus récemment, du Breyanzy® en avril 2022. La mise sur le marché des deux premières spécialités a déjà permis de produire des rémissions durables chez environ 40% des patients atteints d'un LDGCB récidivantes ou réfractaire et a ainsi considérablement amélioré le pronostic de ce groupe de patients pour qui il n'y avait auparavant plus d'autres options curatives possibles.

Malgré les résultats prometteurs en termes d'efficacité, la thérapie par CAR-T cells est associée à un risque de toxicité non négligeable, particulièrement pour le CRS et la neurotoxicité. Bien qu'il reste du chemin à parcourir pour obtenir une thérapie offrant une sécurité élevée, l'élargissement des connaissances sur ces toxicités et sur la manière de les traiter a permis de limiter la survenue des événements les plus graves.

Il reste toutefois de nombreuses perspectives d'améliorations pour permettre aux futures CAR-T cells de produire des réponses plus durables et de diminuer la fréquence des rechutes. De plus, le développement de stratégies permettant de diminuer les coûts et les délais de fabrication des CAR-T cells, principalement grâce l'emploi de cellules T allogéniques, représente un enjeu important pour faciliter l'accès de cette thérapie dans la pratique courante.

En parallèle, de nombreuses recherches sont en cours afin de rendre la thérapie par CAR-T cells efficace contre les tumeurs solides. L'optimisation des CAR-T cells, notamment via l'amélioration du ciblage des tumeurs, de la persistance et de la migration des cellules T, pourrait un jour révolutionner le traitement des cancer solides.

L'augmentation de la complexité des CAR et le recours à certaines modifications génétiques des cellules T peuvent néanmoins amplifier les risques associés aux CAR-T cells et doivent dès lors être employés avec beaucoup de précautions.

A l'avenir, les progrès réalisés en termes d'efficacité, de sécurité et de méthode de fabrication permettront aux CAR-T cells de prendre une place de plus en plus importante dans l'arsenal thérapeutique des LDGCB agressifs. Ces progrès permettent également d'envisager un traitement des LDGCB dès la première rechute, en tant que traitement de seconde ligne, pour les patients répondant à certains critères de sélections qui devront être définis.

Au-delà des LDGCB et des hémopathies malignes en général, c'est tout le domaine de la cancérologie qui pourrait un jour être révolutionner par les CAR-T cells.

## 6. Méthode de recherche

La recherche de documentation pour la réalisation de ce travail a été réalisée exclusivement en ligne sur des sites spécialisés.

Les bases de données utilisées pour la recherche d'information sur les CAR-T cells et le LDGCB sont principalement PubMed et Google Scholar. D'autres sites de référence ont été consultés.

Les données spécifiques aux spécialités médicamenteuses et à leurs recommandations d'utilisation ont été collectées sur les sites du CBIP et de l'agence européenne du médicament.

Afin de cibler les recherches et de ne pas se limiter à des descriptions générales, des mots clés ont été introduits lors des recherches.

Sujet recherché	Terme MeSH
Structure des CAR	CAR ; structure ; activation signal ; 4-1BB ; CD28 ; TRUCK
Méthode de fabrication	Manufacturing ; CAR-T cell ; vector ; allogenic
Traitement du LDGCB	LDBCL ; guidelines ; diagnosis ; staging ; treatment
Toxicités	Toxicity ; safety ; CRS ; neurotoxicity ; management ; staging
Efficacité	Efficacy ; antigen loss ; tandem ; microenvironnement ; PD-1 ; suicide

*Tableau 7 : Exemples de MeSH utilisé lors des recherches*

Les différents articles sélectionnés ont été consultés dans leur intégralité et les données utiles à la rédaction de ce mémoire ont été extraites et référencées.

A partir des données extraites dans certains articles, des recherches plus ciblées ont pu être menées sur certains sujets.

Un critère d'exclusion concernant la date de publication a été appliqué à plusieurs reprises afin d'obtenir les informations les plus récentes. En général, pour les recherches sur l'avancement des études cliniques et sur les dernières guidelines, seuls des articles publiés à partir de 2019 ont été retenus.

Toutes les études inclues dans ce travail ne devaient pas systématiquement concerner le LDGCB lorsque le but était de décrire le fonctionnement des CAR-T cells ou les stratégies d'amélioration. Des études en cours et des essais pré-cliniques ont également été inclus.

## 7. Références

1. Acuto, O., & Michel, F. (2003). CD28-mediated co-stimulation : A quantitative support for TCR signalling. *Nature Reviews. Immunology*, 3(12), 939-951. <https://doi.org/10.1038/nri1248>
2. Bonifant, C. L., Jackson, H. J., Brentjens, R. J., & Curran, K. J. (2016). Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 3, 16011. <https://doi.org/10.1038/mto.2016.11>
3. Bonnet, C., Prijck, B., D., Lejeune, M., Fassotte, M., Beguin, Y., Neste, E., V., D. (2012), Prise en charge du lymphome B diffus à grandes cellules en 2012, *Rev Med Suisse*, -2, no. 351, 1582–1590.
4. Brocker, T. (2000). Chimeric Fv-zeta or Fv-epsilon receptors are not sufficient to induce activation or cytokine production in peripheral T cells. *Blood*, 96(5), 1999-2001.
5. Brudno, J. N., & Kochenderfer, J. N. (2019). Recent advances in CAR T-cell toxicity : Mechanisms, manifestations and management. *Blood Reviews*, 34, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.11.002>
6. Caballero, A. C., Escribà-Garcia, L., Alvarez-Fernández, C., & Briones, J. (2022). CAR T-Cell Therapy Predictive Response Markers in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Therapeutic Options After CART19 Failure. *Frontiers in Immunology*, 13, 904497. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.904497>
7. CAR T-cell Therapy and Its Side Effects. [Internet] [Cité 28 juin 2022], Disponible sur: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/immunotherapy/car-t-cell1.html>
8. Catros, V. (2019). Les CAR-T cells, des cellules tueuses spécifiques d'antigènes tumoraux—De nouvelles générations pour le traitement des tumeurs solides. *médecine/sciences*, 35(4), 316-326. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019067>
9. CBIP | Yescarta (Agents immuno-thérapeutiques divers). [Cité 29 juin 2022], Disponible sur: [https://www.cbip.be/fr/chapters/14?frag=8900789&trade\\_family=43141](https://www.cbip.be/fr/chapters/14?frag=8900789&trade_family=43141)
10. CBIP | Kymriah (Agents immuno-thérapeutiques divers). [Cité 29 juin 2022], Disponible sur: [https://www.cbip.be/fr/chapters/14?frag=8900789&trade\\_family=40741](https://www.cbip.be/fr/chapters/14?frag=8900789&trade_family=40741)
11. CBIP | Tocilizumab. [Cité 05 juillet 2022], Disponible sur: [https://www.cbip.be/fr/chapters/13?frag=12310&trade\\_family=23580](https://www.cbip.be/fr/chapters/13?frag=12310&trade_family=23580)
12. Chang, Z. L., & Chen, Y. Y. (2017). CARs : Synthetic Immunoreceptors for Cancer Therapy and Beyond. *Trends in Molecular Medicine*, 23(5), 430-450. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.03.002>
13. Chmielewski, M., & Abken, H. (2020). TRUCKS, the fourth-generation CAR T cells : Current developments and clinical translation. *ADVANCES IN CELL AND GENE THERAPY*, 3(3), e84. <https://doi.org/10.1002/acg2.84>

14. Chong, E. A., Alanio, C., Svoboda, J., Nasta, S. D., Landsburg, D. J., Lacey, S. F., ... Schuster, S. J. (2022). Pembrolizumab for B-cell lymphomas relapsing after or refractory to CD19-directed CAR T-cell therapy. *Blood*, *139*(7), 1026-1038. <https://doi.org/10.1182/blood.2021012634>
15. Chou, C. K., & Turtle, C. J. (2020). Assessment and management of cytokine release syndrome and neurotoxicity following CD19 CAR-T cell therapy. *Expert Opinion on Biological Therapy*, *20*(6), 653-664. <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1729735>
16. Denlinger, N., Bond, D., & Jaglowski, S. (2022). CAR T-cell therapy for B-cell lymphoma. *Current Problems in Cancer*, *46*(1), 100826. <https://doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2021.100826>
17. Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B., & Brenner, M. K. (2014). Design and Development of Therapies using Chimeric Antigen Receptor-Expressing T cells. *Immunological reviews*, *257*(1), 10.1111/imr.12131. <https://doi.org/10.1111/imr.12131>
18. EMA. (2022, janvier 24). Breyanzi [Text]. Consulté 7 août 2022, à l'adresse European Medicines Agency website: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/breyanzi>
19. Ghassemi, S., Nunez-Cruz, S., O'Connor, R. S., Fraietta, J. A., Patel, P. R., Scholler, J., ... Milone, M. C. (2018). Reducing Ex Vivo Culture Improves the Antileukemic Activity of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells. *Cancer Immunology Research*, *6*(9), 1100-1109. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-17-0405>
20. Huang, B., Luo, L., Wang, J., He, B., Feng, R., Xian, N., ... Huang, G. (2019). B7-H3 specific T cells with chimeric antigen receptor and decoy PD-1 receptors eradicate established solid human tumors in mouse models. *Oncoimmunology*, *9*(1), 1684127. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1684127>
21. Hunter, B. D., & Jacobson, C. A. (2019). CAR T-Cell Associated Neurotoxicity : Mechanisms, Clinicopathologic Correlates, and Future Directions. *Journal of the National Cancer Institute*, *111*(7), 646-654. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz017>
22. Hupperetz, C., Lah, S., Kim, H., & Kim, C. H. (2022). CAR T Cell Immunotherapy Beyond Haematological Malignancy. *Immune Network*, *22*(1), e6. <https://doi.org/10.4110/in.2022.22.e6>
23. Jensen, M., Tan, G., Forman, S., Wu, A. M., & Raubitschek, A. (1998). CD20 is a molecular target for scFvFc:zeta receptor redirected T cells : Implications for cellular immunotherapy of CD20+ malignancy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, *4*(2), 75-83. <https://doi.org/10.1053/bbmt.1998.v4.pm9763110>
24. Kaiser, A. D., Assenmacher, M., Schröder, B., Meyer, M., Orentas, R., Bethke, U., & Dropulic, B. (2015). Towards a commercial process for the manufacture of genetically modified T cells for therapy. *Cancer Gene Therapy*, *22*(2), 72-78. <https://doi.org/10.1038/cgt.2014.78>

25. Klanova, M., Sehn, L. H., Bence-Bruckler, I., Cavallo, F., Jin, J., Martelli, M., ... Trneny, M. (2019). Integration of cell of origin into the clinical CNS International Prognostic Index improves CNS relapse prediction in DLBCL. *Blood*, *133*(9), 919-926. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-862862>
26. Kymriah (Novartis) | AFMPS. [Internet] [Cité 22 juillet 2022], Disponible sur: [https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/bon\\_usage/programme\\_d\\_e\\_gestion\\_de\\_risques/rma/k/kymriah\\_novartis](https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/bon_usage/programme_d_e_gestion_de_risques/rma/k/kymriah_novartis)
27. Labbé, R. P., Vessillier, S., & Rafiq, Q. A. (2021). Lentiviral Vectors for T Cell Engineering : Clinical Applications, Bioprocessing and Future Perspectives. *Viruses*, *13*(8), 1528. <https://doi.org/10.3390/v13081528>
28. Larson, R. C., & Maus, M. V. (2021). Recent advances and discoveries on the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nature reviews. Cancer*, *21*(3), 145-161. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00323-z>
29. Lee, D. W., Gardner, R., Porter, D. L., Louis, C. U., Ahmed, N., Jensen, M., ... Mackall, C. L. (2014). Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*, *124*(2), 188-195. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-552729>
30. Lee, S. (2022). Lymphome diffus à grandes cellules B - Société canadienne du cancer [Internet] [Cité 28 juin 2022], Disponible sur: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/non-hodgkin-lymphoma/what-is-non-hodgkin-lymphoma/diffuse-large-b-cell-lymphoma>
31. Li, H., & Zhao, Y. (2017). Increasing the safety and efficacy of chimeric antigen receptor T cell therapy. *Protein & Cell*, *8*(8), 573-589. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0411-9>
32. Liu, Y., & Barta, S. K. (2019). Diffuse large B-cell lymphoma : 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American Journal of Hematology*, *94*(5), 604-616. <https://doi.org/10.1002/ajh.25460>
33. Long, A. H., Haso, W. M., Shern, J. F., Wanhainen, K. M., Murgai, M., Ingaramo, M., ... Mackall, C. L. (2015). 4-1BB Costimulation Ameliorates T Cell Exhaustion Induced by Tonic Signaling of Chimeric Antigen Receptors. *Nature medicine*, *21*(6), 581-590. <https://doi.org/10.1038/nm.3838>
34. Maquet, C., Beguin, Y., De Prijck, B., Willems, E., Servais, S., & Bonnet, C. (2021). [Diffuse large B-cell lymphoma : A revolutionary treatment based on genetically-modified immune cells called CAR T cells]. *Revue Medicale De Liege*, *76*(5-6), 476-481.
35. Martelli, M., Ferreri, A. J. M., Agostinelli, C., Di Rocco, A., Pfreundschuh, M., & Pileri, S. A. (2013). Diffuse large B-cell lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *87*(2), 146-171. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.12.009>

36. Matsuoka, K.-I. (2021). [Graft-versus-host disease : Current understanding of immune pathogenesis and clinical treatment]. [*Rinsho Ketsueki*] *The Japanese Journal of Clinical Hematology*, 62(8), 1281-1287. <https://doi.org/10.11406/rinketsu.62.1281>
37. McComb, S., Thiriot, A., Akache, B., Krishnan, L., & Stark, F. (2019). Introduction to the Immune System. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2024, 1-24. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9597-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9597-4_1)
38. Medina, K. L. (2016). Overview of the immune system. *Handbook of Clinical Neurology*, 133, 61-76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63432-0.00004-9>
39. Mestermann, K., Giavridis, T., Weber, J., Rydzek, J., Frenz, S., Nerreter, T., ... Hudecek, M. (2019). The tyrosine kinase inhibitor dasatinib acts as a pharmacologic on/off switch for CAR-T cells. *Science translational medicine*, 11(499), eaau5907. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau5907>
40. Mohanty, R., Chowdhury, C. R., Arega, S., Sen, P., Ganguly, P., & Ganguly, N. (2019). CAR T cell therapy : A new era for cancer treatment (Review). *Oncology Reports*, 42(6), 2183-2195. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7335>
41. Narayan, V., Barber-Rotenberg, J. S., Jung, I.-Y., Lacey, S. F., Rech, A. J., Davis, M. M., ... Haas, N. B. (2022). PSMA-targeting TGFβ-insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer : A phase 1 trial. *Nature Medicine*, 28(4), 724-734. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01726-1>
42. Neelapu, S. S., Locke, F. L., Bartlett, N. L., Lekakis, L. J., Miklos, D. B., Jacobson, C. A., ... Go, W. Y. (2017). Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 377(26), 2531-2544. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707447>
43. Poorebrahim, M., Melief, J., Pico de Coaña, Y., L. Wickström, S., Cid-Arregui, A., & Kiessling, R. (2021). Counteracting CAR T cell dysfunction. *Oncogene*, 40(2), 421-435. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-01501-x>
44. Qin, H., Dong, Z., Wang, X., Cheng, W. A., Wen, F., Xue, W., ... Kwak, L. W. (2019). CAR T cells targeting BAFF-R can overcome CD19 antigen loss in B cell malignancies. *Science Translational Medicine*, 11(511), eaaw9414. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaw9414>
45. Rafiq, S., Hackett, C. S., & Brentjens, R. J. (2020). Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 17(3), 147-167. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0297-y>
46. Rubio, M.-T., Galaine, J., Borg, C., & Daguindau, É. (2018). Biologie, concepts et principes des CAR-T cells. *Bulletin du Cancer*, 105, S135-S146. [https://doi.org/10.1016/S0007-4551\(19\)30044-X](https://doi.org/10.1016/S0007-4551(19)30044-X)
47. Rupp, L. J., Schumann, K., Roybal, K. T., Gate, R. E., Ye, C. J., Lim, W. A., & Marson, A. (2017). CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells. *Scientific Reports*, 7, 737. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00462-8>

48. Sachdeva, M., Duchateau, P., Depil, S., Poirot, L., & Valton, J. (2019). Granulocyte–macrophage colony-stimulating factor inactivation in CAR T-cells prevents monocyte-dependent release of key cytokine release syndrome mediators. *The Journal of Biological Chemistry*, 294(14), 5430-5437. <https://doi.org/10.1074/jbc.AC119.007558>
49. Sargent, B. (2017, octobre 24). FDA Approves First CAR T-Cell Therapy—The evolution of CAR T-Cell Therapy. Consulté 18 juillet 2022, à l'adresse Cell Culture Dish website: <https://cellculturedish.com/fda-approves-first-car-t-cell-therapy-the-evolution-of-car-t-cell-therapy/>
50. Sarkozy, C., & Sehn, L. H. (2018). Management of relapsed/refractory DLBCL. *Best Practice & Research. Clinical Haematology*, 31(3), 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2018.07.014>
51. Sehn, L. H., & Salles, G. (2021). Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 384(9), 842-858. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2027612>
52. Shimabukuro-Vornhagen, A., Gödel, P., Subklewe, M., Stemmler, H. J., Schlöber, H. A., Schlaak, M., ... von Bergwelt-Baildon, M. S. (2018). Cytokine release syndrome. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 6(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0343-9>
53. Sterner, R. C., & Sterner, R. M. (2021). CAR-T cell therapy : Current limitations and potential strategies. *Blood Cancer Journal*, 11(4), 69. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00459-7>
54. Sterner, R. M., Sakemura, R., Cox, M. J., Yang, N., Khadka, R. H., Forsman, C. L., ... Kenderian, S. S. (2019). GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR-T cell function in xenografts. *Blood*, 133(7), 697-709. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-10-881722>
55. Tao, L., Farooq, M. A., Gao, Y., Zhang, L., Niu, C., Ajmal, I., ... Jiang, W. (2020). CD19-CAR-T Cells Bearing a KIR/PD-1-Based Inhibitory CAR Eradicate CD19+HLA-C1- Malignant B Cells While Sparing CD19+HLA-C1+ Healthy B Cells. *Cancers*, 12(9), 2612. <https://doi.org/10.3390/cancers12092612>
56. Teoh, J., & Brown, L. F. (2022). Developing lisocabtagene maraleucel chimeric antigen receptor T-cell manufacturing for improved process, product quality and consistency across CD19+ hematologic indications. *Cytotherapy*, S1465-3249(22)00611-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2022.03.013>
57. Till, B. G., Jensen, M. C., Wang, J., Chen, E. Y., Wood, B. L., Greisman, H. A., ... Press, O. W. (2008). Adoptive immunotherapy for indolent non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma using genetically modified autologous CD20-specific T cells. *Blood*, 112(6), 2261-2271. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-128843>
58. Tilly, H., Silva, M. G. da, Vitolo, U., Jack, A., Meignan, M., Lopez-Guillermo, A., ... Ladetto, M. (2015). Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) : ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Annals of Oncology*, 26, v116-v125. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv304>

59. Tokarew, N., Ogonek, J., Endres, S., von Bergwelt-Baildon, M., & Kobold, S. (2019). Teaching an old dog new tricks : Next-generation CAR T cells. *British Journal of Cancer*, 120(1), 26-37. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0325-1>
60. Tong, C., Zhang, Y., Liu, Y., Ji, X., Zhang, W., Guo, Y., ... Han, W. (2020). Optimized tandem CD19/CD20 CAR-engineered T cells in refractory/relapsed B-cell lymphoma. *Blood*, 136(14), 1632-1644. <https://doi.org/10.1182/blood.2020005278>
61. Vormittag, P., Gunn, R., Ghorashian, S., & Veraitch, F. S. (2018). A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Current Opinion in Biotechnology*, 53, 164-181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.01.025>
62. Wang, X., & Rivière, I. (2016). Clinical manufacturing of CAR T cells : Foundation of a promising therapy. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 3, 16015. <https://doi.org/10.1038/mto.2016.15>
63. Wei, J., Liu, Y., Wang, C., Zhang, Y., Tong, C., Dai, G., ... Han, W. (2020). The model of cytokine release syndrome in CAR T-cell treatment for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 134. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00256-x>
64. Westin, J. R., Kersten, M. J., Salles, G., Abramson, J. S., Schuster, S. J., Locke, F. L., & Andreadis, C. (2021). Efficacy and safety of CD19-directed CAR-T cell therapies in patients with relapsed/refractory aggressive B-cell lymphomas : Observations from the JULIET, ZUMA-1, and TRANSCEND trials. *American Journal of Hematology*, 96(10), 1295-1312. <https://doi.org/10.1002/ajh.26301>
65. Xu, X., Sun, Q., Liang, X., Chen, Z., Zhang, X., Zhou, X., ... Li, Y. (2019). Mechanisms of Relapse After CD19 CAR T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Prevention and Treatment Strategies. *Frontiers in Immunology*, 10, 2664. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02664>
66. Yang, Q.-Y., Yang, J., & Wang, Y.-S. (2017). Current strategies to improve the safety of chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells. *Immunology Letters*, 190, 201-205. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.08.018>
67. Yescarta-Tecartus (Gilead) | AFMPS. (s. d.). Consulté 22 juillet 2022, à l'adresse [https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/bon\\_usage/programme\\_de\\_gestion\\_de\\_risques/rma/y/yescarta\\_gilead](https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/bon_usage/programme_de_gestion_de_risques/rma/y/yescarta_gilead)
68. Ying, Z., Huang, X. F., Xiang, X., Liu, Y., Kang, X., Song, Y., ... Chen, S.-Y. (2019). A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy. *Nature medicine*, 25(6), 947-953. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0421-7>
69. Yoon, D. H., Osborn, M. J., Tolar, J., & Kim, C. J. (2018). Incorporation of Immune Checkpoint Blockade into Chimeric Antigen Receptor T Cells (CAR-Ts) : Combination or Built-In CAR-T. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 340. <https://doi.org/10.3390/ijms19020340>
70. Zhang, C., Liu, J., Zhong, J. F., & Zhang, X. (2017). Engineering CAR-T cells. *Biomarker Research*, 5, 22. <https://doi.org/10.1186/s40364-017-0102-y>

71. Zhang, H., Zhao, P., & Huang, H. (2020). Engineering better chimeric antigen receptor T cells. *Experimental Hematology & Oncology*, 9, 34. <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00190-2>
72. Zhang, Y., Wang, Y., Liu, Y., Tong, C., Wang, C., Guo, Y., ... Han, W. (2022). Long-term activity of tandem CD19/CD20 CAR therapy in refractory/relapsed B-cell lymphoma : A single-arm, phase 1–2 trial. *Leukemia*, 36(1), 189-196. <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01345-8>
73. Zhao, H., Wang, Y., Yin, E. T. S., Zhao, K., Hu, Y., & Huang, H. (2020). A giant step forward : Chimeric antigen receptor T-cell therapy for lymphoma. *Frontiers of Medicine*, 14(6), 711-725. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0808-3>
74. Zhong, Q., Zhu, Y.-M., Zheng, L.-L., Shen, H.-J., Ou, R.-M., Liu, Z., ... Liu, S. (2018). Chimeric Antigen Receptor-T Cells with 4-1BB Co-Stimulatory Domain Present a Superior Treatment Outcome than Those with CD28 Domain Based on Bioinformatics. *Acta Haematologica*, 140(3), 131-140. <https://doi.org/10.1159/000492146>

La thérapie par CAR-T cells est une forme de thérapie immunitaire utilisant des lymphocytes T humain génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur CAR (Chimeric Antigen Receptor) capable de cibler spécifiquement un antigène tumoral et de déclencher une réponse cytotoxique. Depuis leur introduction sur le marché en 2018, les CAR-T cells ont révolutionné la prise en charge des lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) récidivants ou réfractaires aux traitements conventionnels et ont permis l'obtention de rémissions durables chez des patients auparavant sans alternatives de traitement.

Cependant, malgré des résultats prometteurs, la thérapie CAR-T cells présente à un certain nombre de limitations que les chercheurs tentent de surmonter grâce au développement de nouvelles stratégies.

Tout d'abord, les CAR-T cells sont associées à un risque de toxicité élevé, parmi lesquelles le syndrome de relargage des cytokines et les neurotoxicités sont les plus courants. Une prise en charge adéquate de ces effets indésirables potentiellement mortels est primordiale dans la pratique clinique. De plus, dans le but d'augmenter l'efficacité de la thérapie, un nombre important d'études est en cours pour mettre au point des stratégies qui permettraient d'améliorer l'activité antitumorale et la durabilité de la réponse au traitement.

Les délais de production et les coûts élevés attribués à la complexité des CAR-T cells nécessitent également le développement de procédés de fabrication innovants qui permettraient de pouvoir un jour industrialiser la production de cette thérapie.

En parallèle, l'élargissement de l'utilisation des CAR-T cells aux tumeurs solides, qui n'a jusqu'à présent pas réussi à produire des résultats satisfaisants, représente un défi de taille.

CAR-T cell therapy is a form of immune therapy using human T cells that are genetically engineered to express CAR receptors capable of specifically targeting a tumor antigen and triggering a cytotoxic response. Since their introduction to the market in 2018, CAR-T cells have revolutionized the management of relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and have achieved durable remissions in patients previously without treatment alternatives.

However, despite promising results, CAR-T cell therapy has a number of limitations that researchers are attempting to overcome through the development of new strategies.

First, CAR-T cells are associated with a high risk of toxicity, among which cytokine release syndrome and neurotoxicity are the most common. Proper management of these potentially fatal adverse events is paramount in clinical practice. In addition, in an effort to increase the efficacy of CAR-T cells therapy, a significant number of studies are underway to develop strategies that would improve antitumor activity and durability of response to therapy.

High manufacturing costs and delays attributed to the complexity of CAR-T cells also require the development of innovative manufacturing processes that could one day enable the industrialization of the production of this therapy.

In parallel, extension of CAR-T cells to the treatment of solid tumors, which has so far failed to produce satisfactory results, represents a major challenge.