

# Innovation thérapeutique en immuno-oncologie:

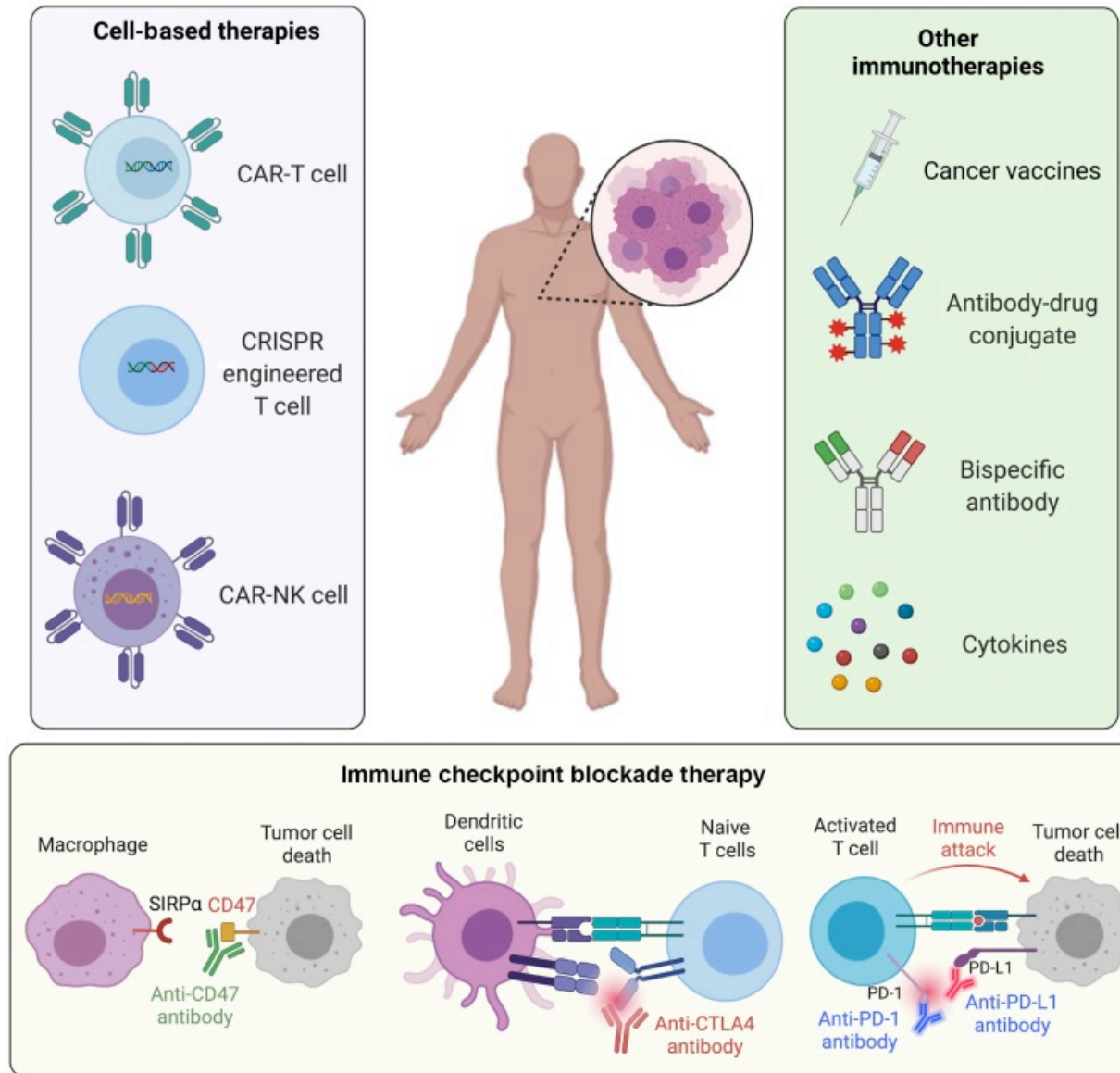
## Les CAR T-cells



*Dr Loïc REPPEL*  
*MCU-PH*  
*Unité de Thérapie Cellulaire et Tissus*  
*CHRU de Nancy*

*Le 31/01/2023*

## Approaches for cancer immunotherapy



# Plan

- **Tumeurs et système immunitaire**
- **Antigènes associés aux tumeurs**
- **Effecteurs immunitaires**
- **Mécanisme d'échappement des tumeurs**
- **Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire**
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

# Plan

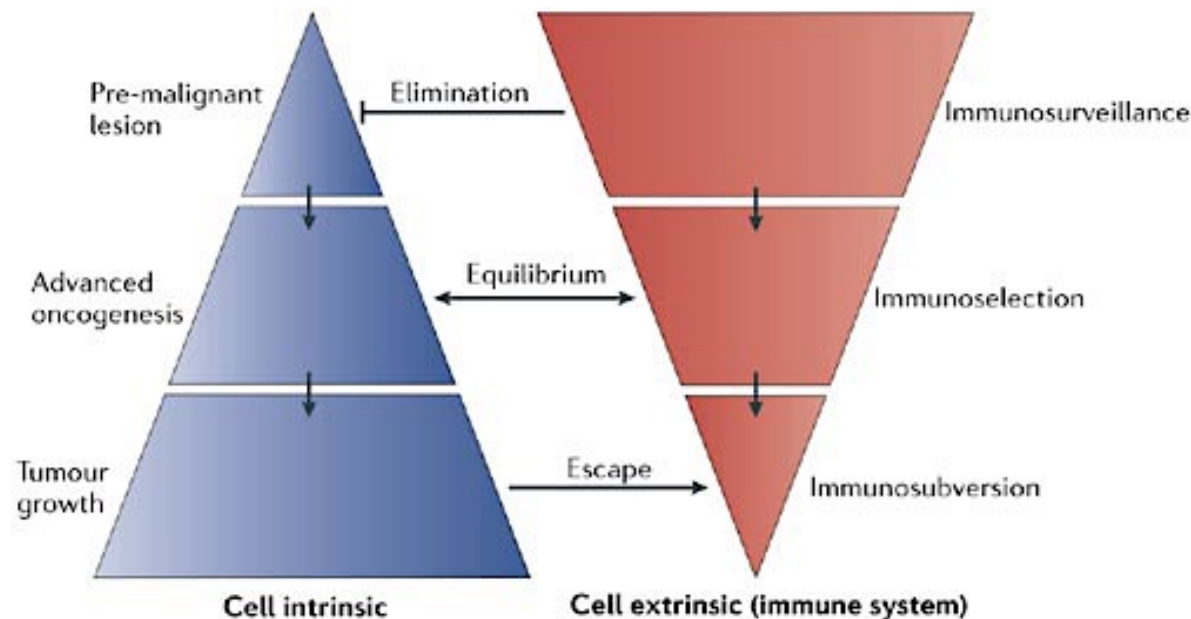
- **Tumeurs et système immunitaire**
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- Les Récepteurs Chimériques d'Antigène
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives



## Tumeurs et Systèmes immunitaire



- L'apparition d'un cancer = stade clinique et terminal du processus tumoral
- Processus ayant débuté bien en amont suivant 3 stades :



- **Théorie des 3 E:  
(Robert Schreiber)**

**Elimination de la tumeur :**  
Immunosurveillance: le SI est capable d'éliminer les cellules tumorales qui apparaissent

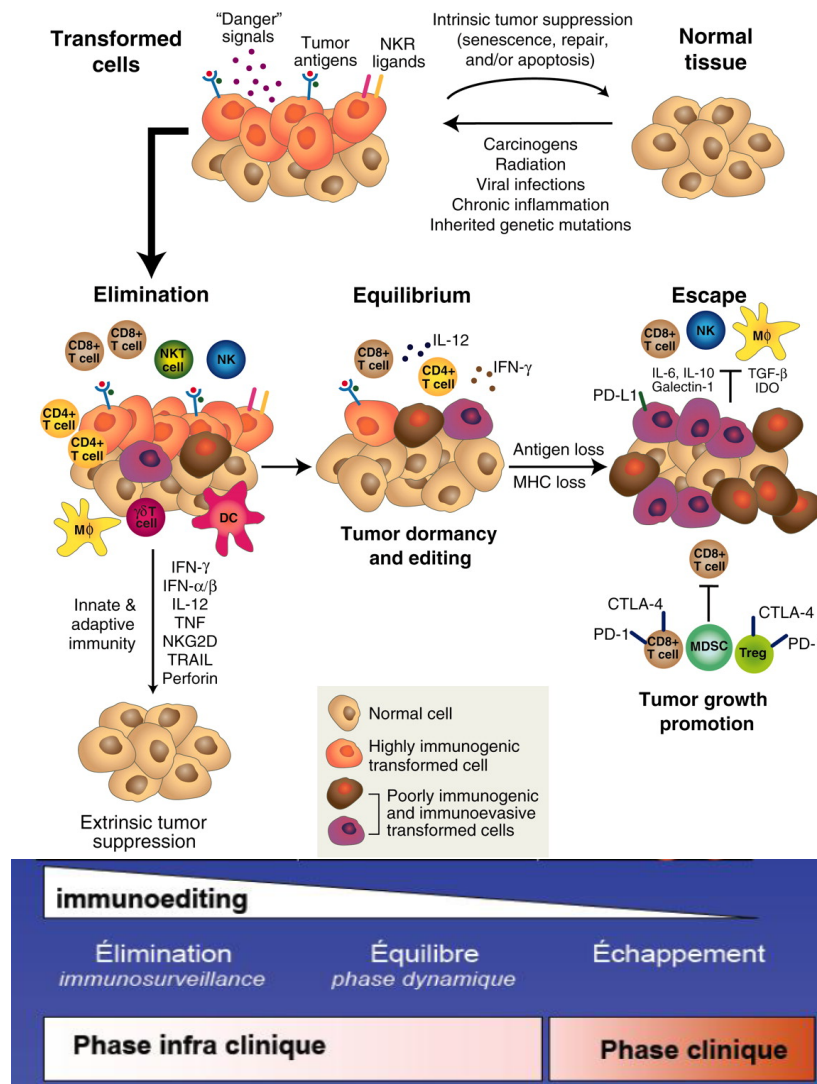
**Equilibre :** Cellules tumorales non éliminées par le SI qui évite l'emballement de la prolifération

**Echappement :** SI dépassé. La tumeur échappe au SI et l'inhibe

Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Immunology

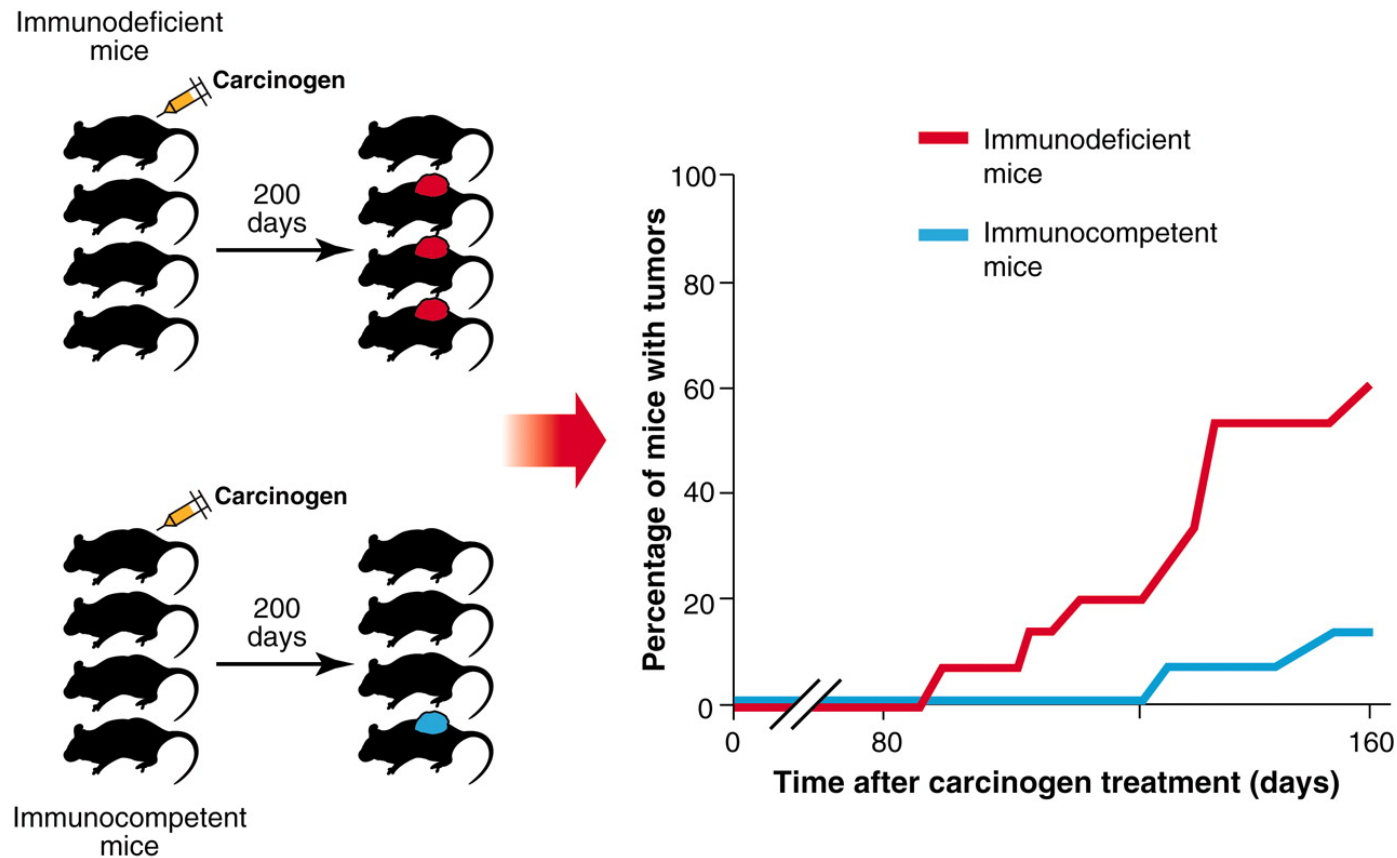
# Tumeurs et Systèmes immunitaire

Schreiber et al, Science, 2011



## Tumeurs et Systèmes immunitaire

- Arguments expérimentaux en faveur d'une immunosurveillance :



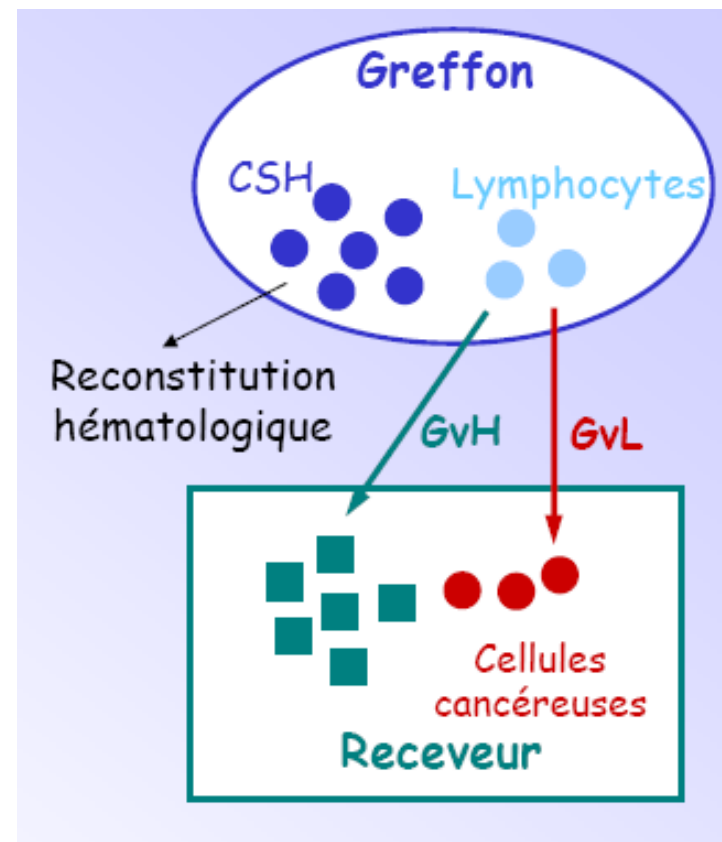
**Capacité à développer des tumeurs induites par des agents carcinogènes chimiques en fonction du statut immunitaire des souris**

## Tumeurs et Systèmes immunitaire

- **Arguments cliniques en faveur d'une immunosurveillance :**
  - Début XXème siècle, P Ehrlich constate une régression de tumeurs lors d'épisodes infectieux
  - Patients atteints de DIP : fréquence des cancers x 100
  - Infiltration de la tumeur par des LT et NK : pronostic plus favorable
  - Reconnaissance des tumeurs par le système immunitaire : Boon 1992
  - Effet du greffon contre la leucémie de l'Allogreffe de CSH

## Tumeurs et Systèmes immunitaire

### **L'ALLOGREFFE DE CSH :** **Un exemple d'Immunothérapie anti-tumorale**



# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- **Antigènes associés aux tumeurs (TAA)**
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- Les Récepteurs Chimériques d'Antigène
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

## Antigènes associés aux tumeurs (TAA)

- Très peu sont spécifiques des tumeurs

<b>1. AG spécifiques de tumeurs</b>	<b>MAGE-1, NY-ESO-1, Cancer-testis antigen</b>
<b>2. AG de différenciation</b>	<b>Mélanocytaire: Mart-1 (Melan-A), TRP2 Prostatique: PSA</b>
<b>3. AG surexprimés dans les tumeurs</b>	<b>Her-2/neu, p53, hTERT</b>
<b>4. AG résultant d'altérations génétiques</b>	<b>Mutations ponctuelles: <math>\beta</math> catenine, CDK-4 Translocation chromosomique: BCR-ABL</b>
<b>5. AG dérivant d'agents pathogènes</b>	<b>Virus: HTLV, HPV, HBV, HCV Bactérie: <i>H. pylori</i> et K estomac Parasites: Schistosome et K vessie</b>

**Table 3.** Cancer antigen pilot prioritization: ranking based on predefined and preweighted criteria

Antigens (rank/reference number and name)	Criteria				
	Cumulative score	Therapeutic function (0.32)	Immunogenicity (0.17)	Oncogenicity (0.15)	Specificity (0.15)
1. WT1	0.81	0.75 (fair)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.54 (oncofetal)
2. MUC1	0.79	0.75 (fair)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.23 (post-translational)
3. LMP2	0.78	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.34 (viral)	1.0 (absolute)
4. HPV E6 E7	0.77	0.89 (mixed)	1.0 (trials)	0.34 (viral)	1.0 (absolute)
5. EGFRvIII	0.76	0.76 (mixed)	1.0 (trials)	0.62 (mixed)	1.0 (absolute)
6. HER-2/neu	0.75	0.85 (adequate)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.35 (overexpressed)
7. Idiotypic	0.75	0.76 (mixed)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	1.0 (absolute)
8. MAGE A3	0.71	0.79 (mixed)	1.0 (trials)	0.25 (mixed)	0.54 (oncofetal)
9. p53 nonmutant	0.67	0.42 (mixed)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.35 (overexpressed)
10. NY-ESO-1	0.66	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.25 (prognosis)	0.54 (oncofetal)
11. PSMA	0.65	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.25 (prognosis)	0.21 (tissue specific)
12. GD2	0.65	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.35 (overexpressed)
13. CEA	0.62	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.35 (overexpressed)
14. MelanA/ MART1	0.60	0.77 (mixed)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.21 (tissue specific)
15. Ras mutant	0.60	0.1 (animal)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	1.0 (absolute)
16. gp100	0.59	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.21 (tissue specific)
17. p53 mutant	0.58	0.35 (mixed)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.1 (unique)
18. Proteinase3 (PR1)	0.57	0.7 (mixed)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.35 (overexpressed)
19. bcr-abl	0.56	0.00	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	1.0 (absolute)
20. Tyrosinase	0.56	0.65 (T cell Tx)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.21 (tissue specific)
21. Survivin	0.55	0.1 (animal)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.35 (overexpressed)
22. PSA	0.55	0.75 (fair)	1.0 (trials)	0.12 (differentiation)	0.21 (tissue specific)
23. hTERT	0.54	0.15 (preexistent)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.35 (overexpressed)
24. Sarcoma translocation breakpoints	0.54	0.00	0.39 (T cell)	1.0 (oncogenic)	1.0 (absolute)
25. EphA2	0.53	0.1 (animal)	1.0 (trials)	1.0 (oncogenic)	0.35 (overexpressed)



## Antigènes associés aux tumeurs (TAA)

- Peuvent être exprimés par les cellules normales également

**Réponse  
immunitaire  
anti-tumorale**

**+**

**Réponse  
immunitaire  
auto-immune**

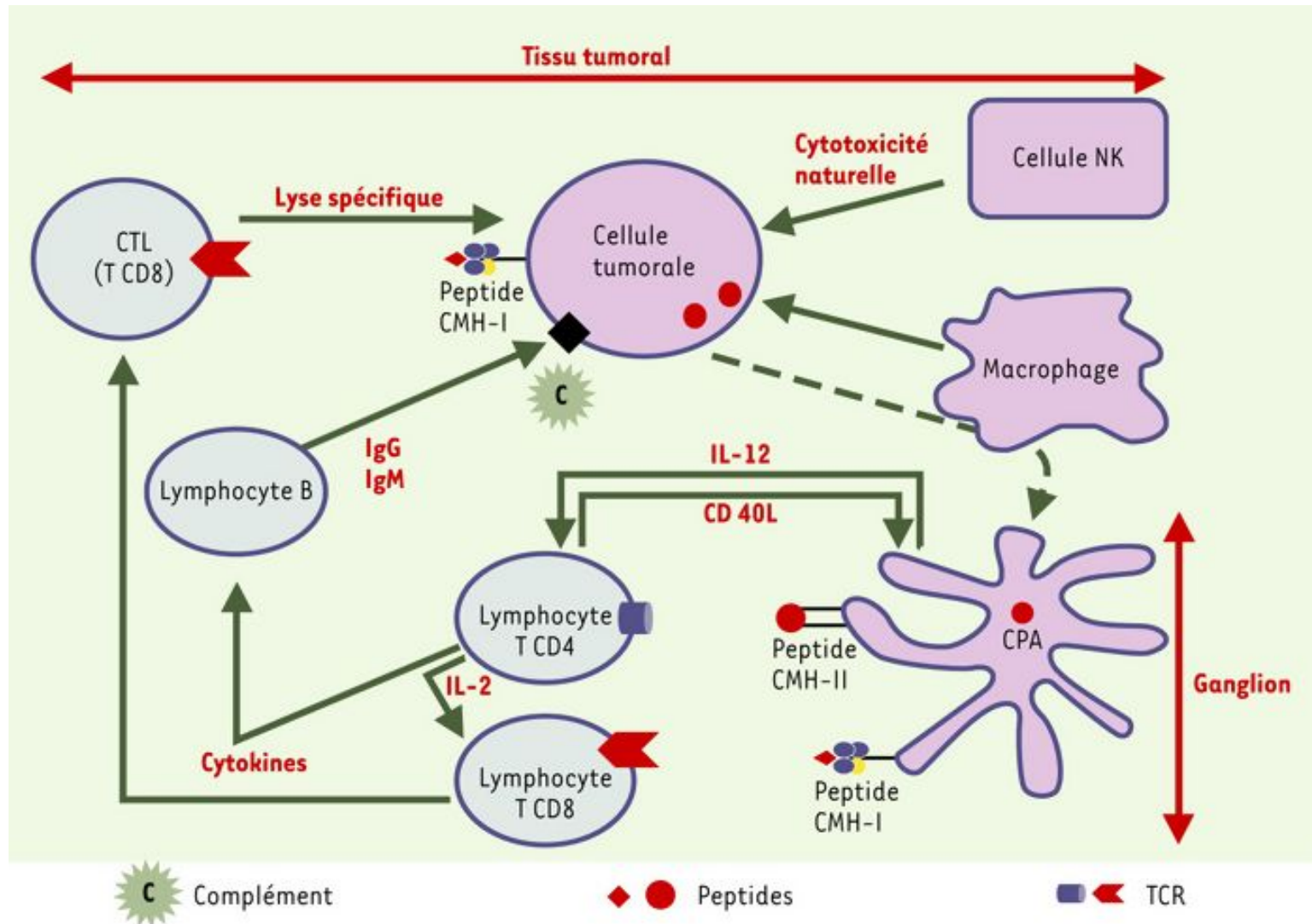
**On-target but off-tumor activity**



# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- **Effecteurs immunitaires**
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- Les Récepteurs Chimériques d'Antigène
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

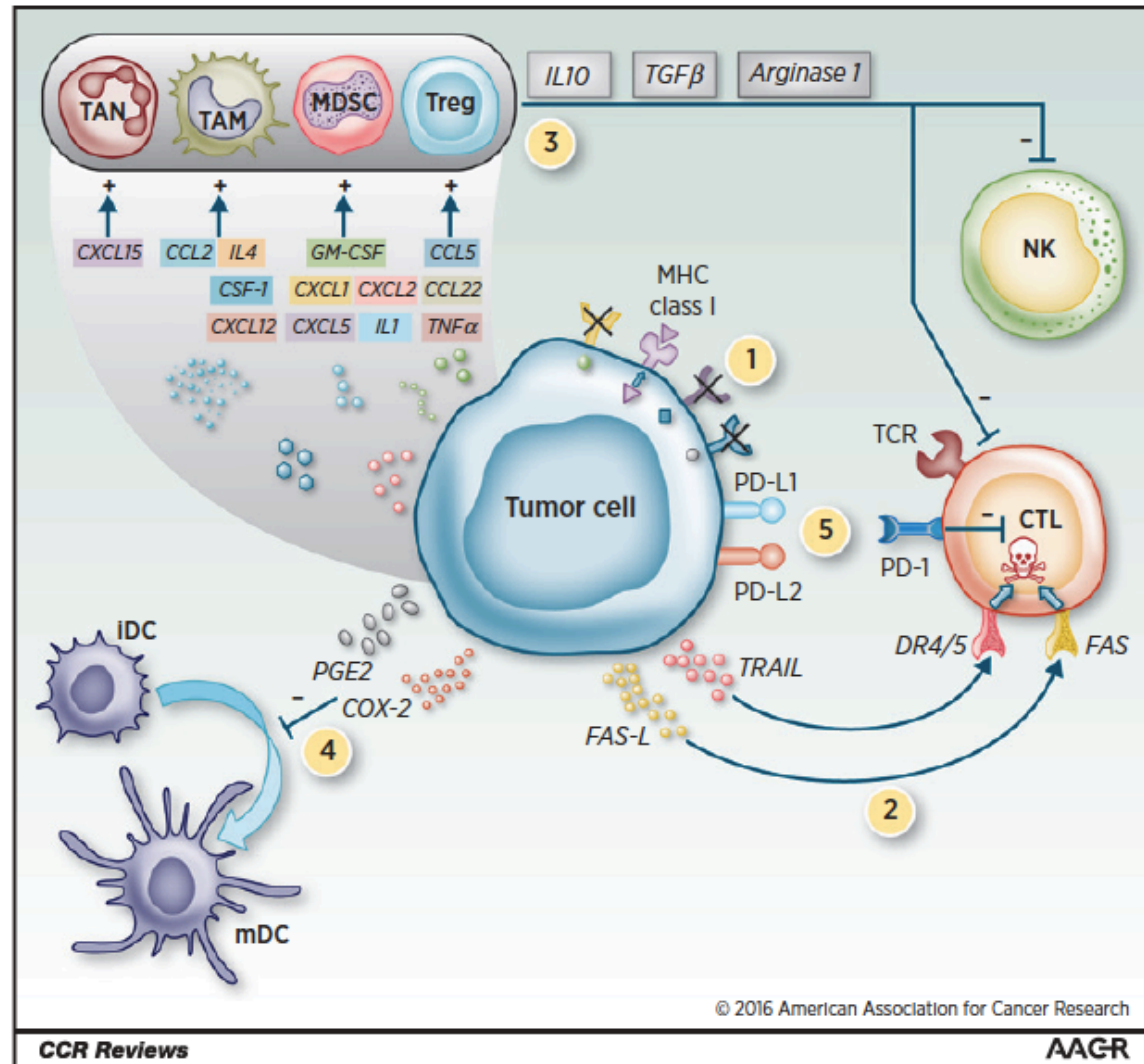
## Effecteurs immunitaires



# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- **Mécanisme d'échappement des tumeurs**
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- Les Récepteurs Chimériques d'Antigène
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

# Mécanismes d'échappement



# Plan

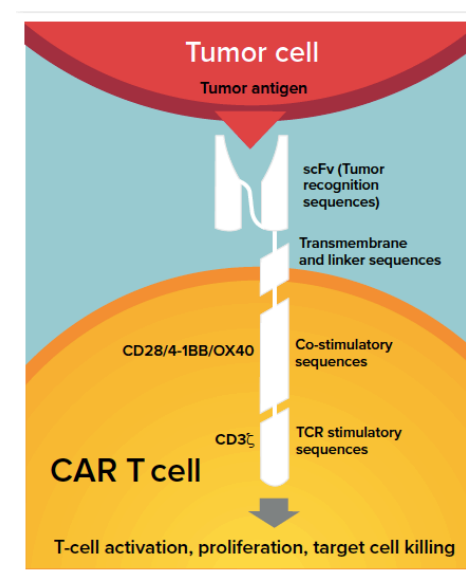
- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- **Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire**
- Les Récepteurs Chimériques d'Antigène
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

## Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire

- **Action anti-tumorale +++**
  - Rediriger la spécificité des LT envers un AG tumoral
  - Améliorer l'efficacité de la réponse cytotoxique
- **Cellules effectrices éduquées *ex vivo***
- **Contrer les mécanismes d'échappement des tumeurs**
- **Les Lymphocytes T infiltrant la tumeur (TIL)**
- **Les TCR transgéniques**
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**

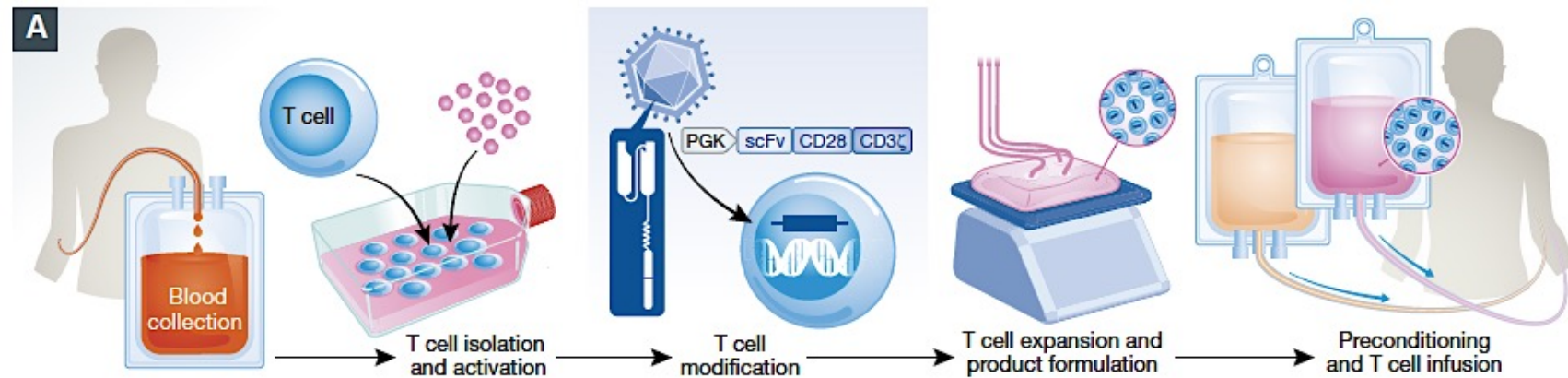
# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - **Principe du CAR**
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

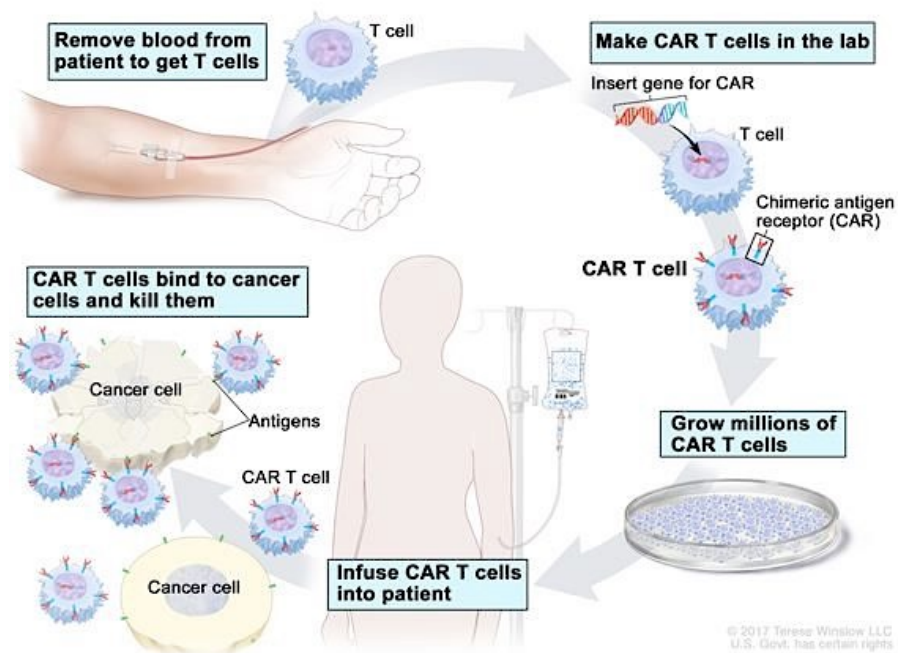




# Principe du CAR

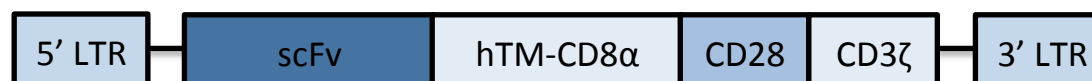


## CAR T-cell Therapy



# Production des CAR en thérapeutique

## La transduction



Vector used for Transduction of T cells.

### VIRAL VECTORS

#### Lentiviral Vectors

##### Advantages

Transduce non-dividing cells  
Safety  
High efficiency  
Stable expression

##### Disadvantages

Limited lot sizes  
Lack of stable packaging system  
Variability between lots  
Long term monitoring of recipients  
Complex manufacturing & testing  
Possibility of replication competent virus

#### Gamma-Retroviral Vectors

##### Advantages

Long experience in use  
High expression  
In vitro safety  
Large lots available

##### Disadvantages

In-vivo safety concerns  
Long term monitoring of recipients  
Complex manufacturing  
Expensive testing  
Possibility of replication competent virus

### NON- VIRAL VECTORS

#### Transposon/Transposase System

##### Advantages

Simpler manufacturing  
Simpler testing  
Lower cost than viral vectors

##### Disadvantages

Safety -Potential oncogenic risk  
Low T cell toxicity

#### mRNA Transfer

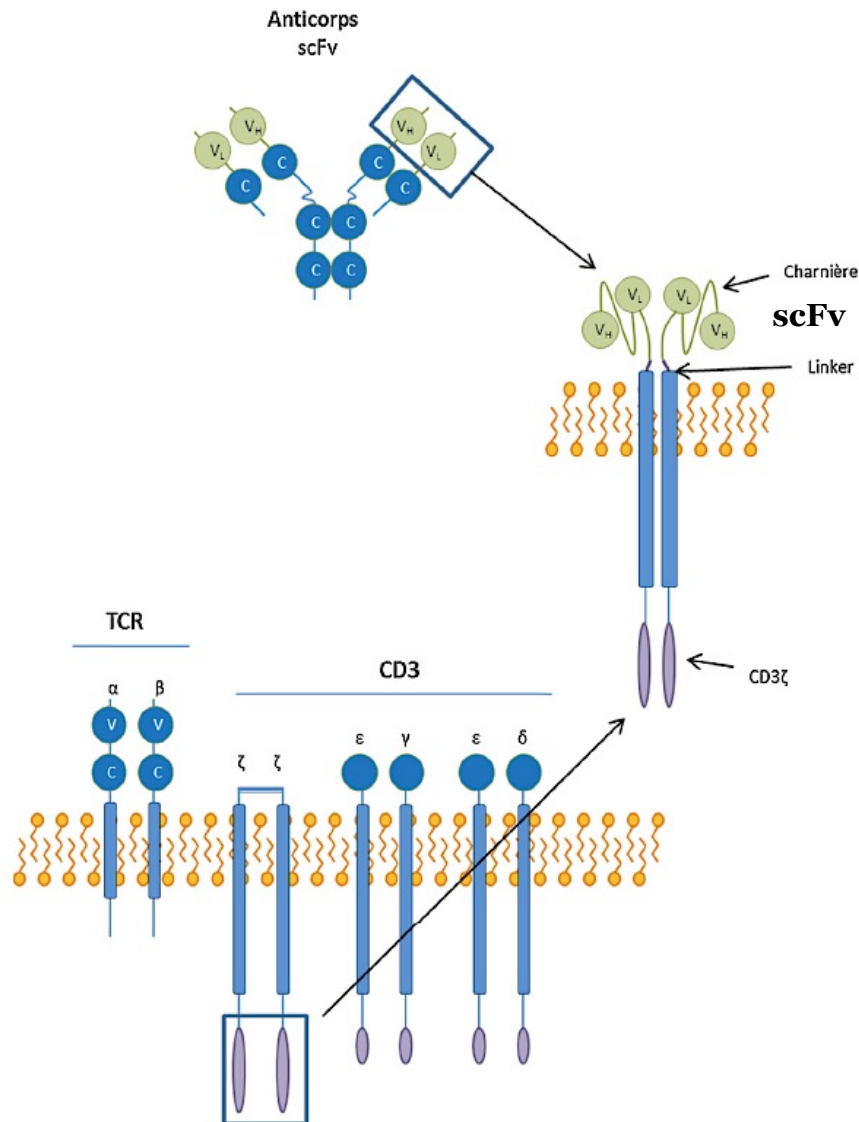
##### Advantages

Simple endocytosis or electroporation  
No genomic integration  
No risk of replication competent virus

##### Disadvantages

Transient expression

## Principe du CAR



- **scFV: single chain fragment variable**

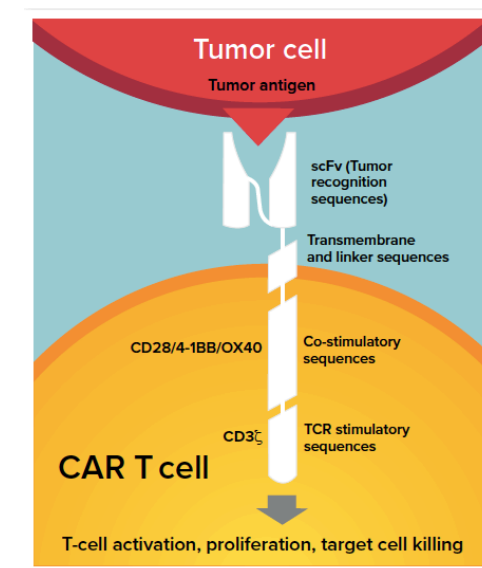
- ✓ Protéine linéaire articulée
- ✓ Souvent d'origine murine
- ✓ Domaine variable des chaînes lourdes (VH) et légères (VL) des Ig
- ✓ Spécificité et affinité pour AG +++
- ✓ Fonctionne comme le Fab d'un AC
- ✓ Reconnaissance AG indépendante du HLA
- ✓ TAA ou non (toxicité)
- ✓ AG ciblé membranaire

- **Domaine intracytoplasmique**

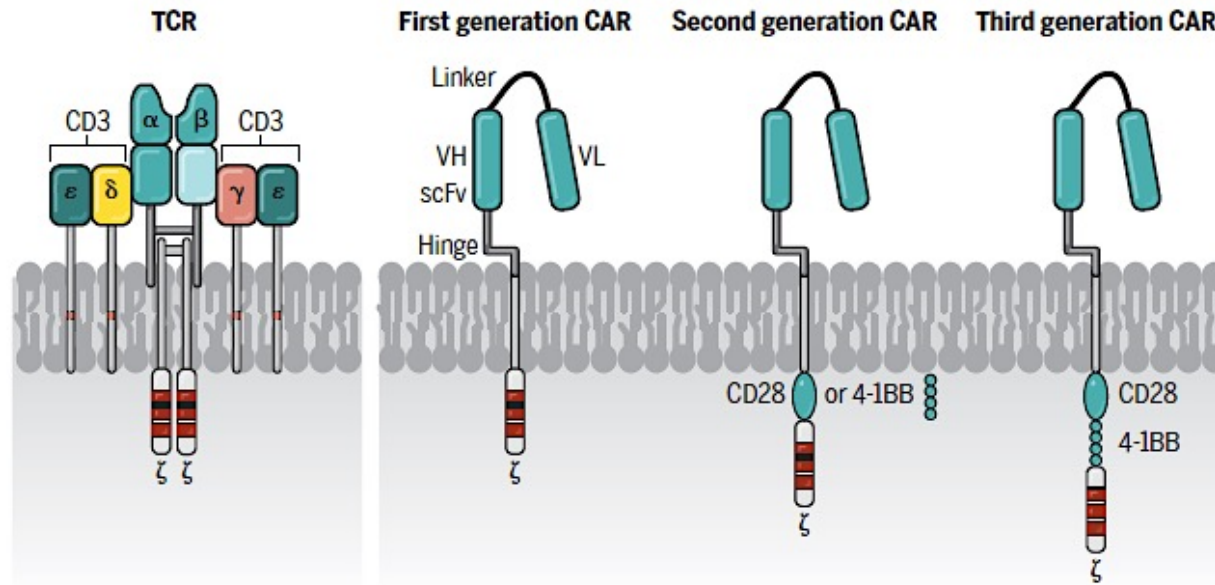
- ✓ Portion intracytoplasmique du TCR des LT
- ✓ Transduction du signal d'activation

# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - **Génération de CAR**
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives



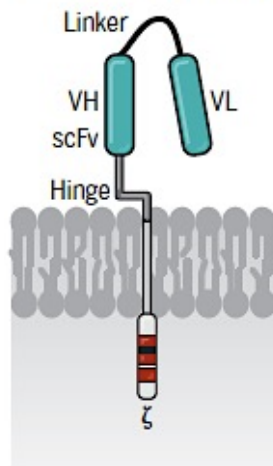
## Génération de CAR



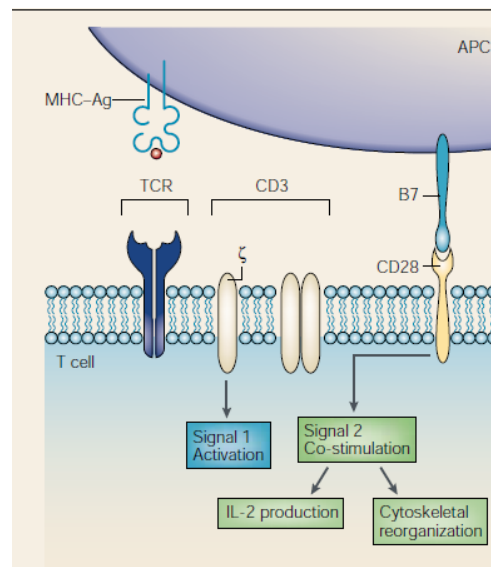
Cytotoxicité  
Prolifération  
Sécrétion cytokines  
Résistance  
Persistance *in vivo*

## Génération de CAR

First generation CAR



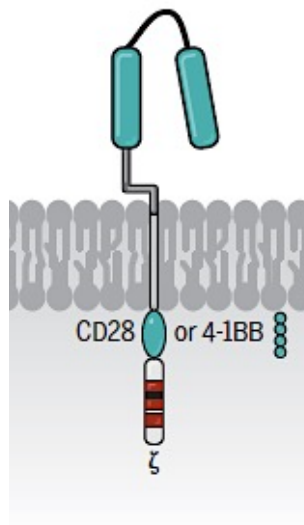
- CAR couplé au domaine intracytoplasmique CD3 $\zeta$  via la partie transmembranaire de CD8 $\alpha$
- Activité limitée en clinique: l'activation des LT modifiés entraîne:
  - ✓ Une division cellulaire transitoire
  - ✓ Une production de cytokine suboptimale
  - ✓ Expansion des LT et effet anti-tumoral non maintenus





## Génération de CAR

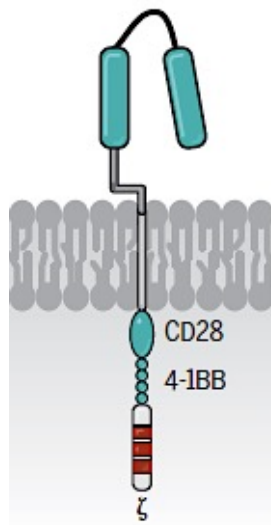
Second generation CAR



- Ajout de gènes codant pour le signal de **costimulation** CD28 ou 4-1BB (CD137)
- Autres molécules de costimulation:
  - OX40 (CD134)
  - ICOS
  - CD27
- Permet d'amplifier la stimulation des CAR T-cells, leur survie et leur effet anti-tumoral

## Génération de CAR

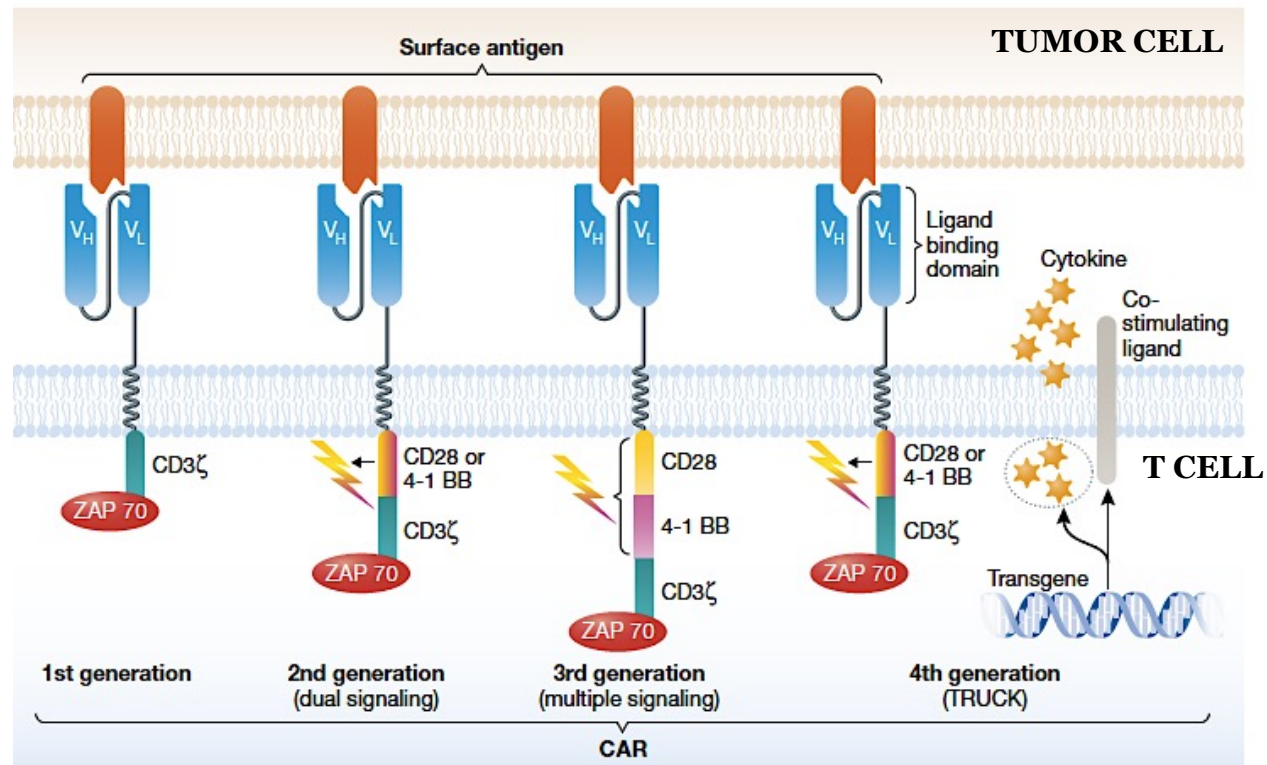
Third generation CAR



- **CD28 + 1 autre molécule de costimulation**
- 4-1BB (CD137)
- OX40 (CD134)
- ICOS
- CD27
- Permet d'amplifier la stimulation des CAR T-cells, leur survie et leur effet anti-tumoral



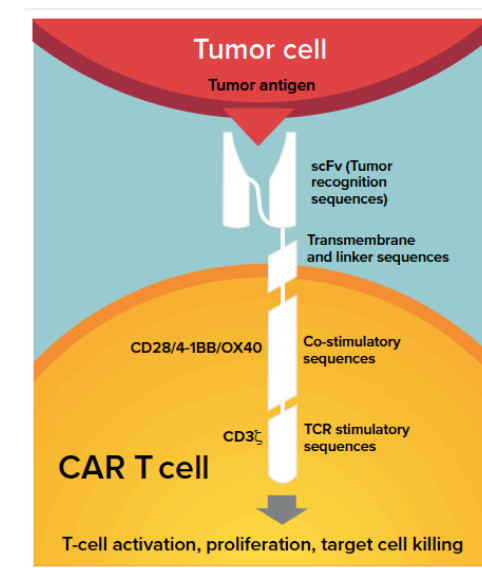
## Génération de CAR



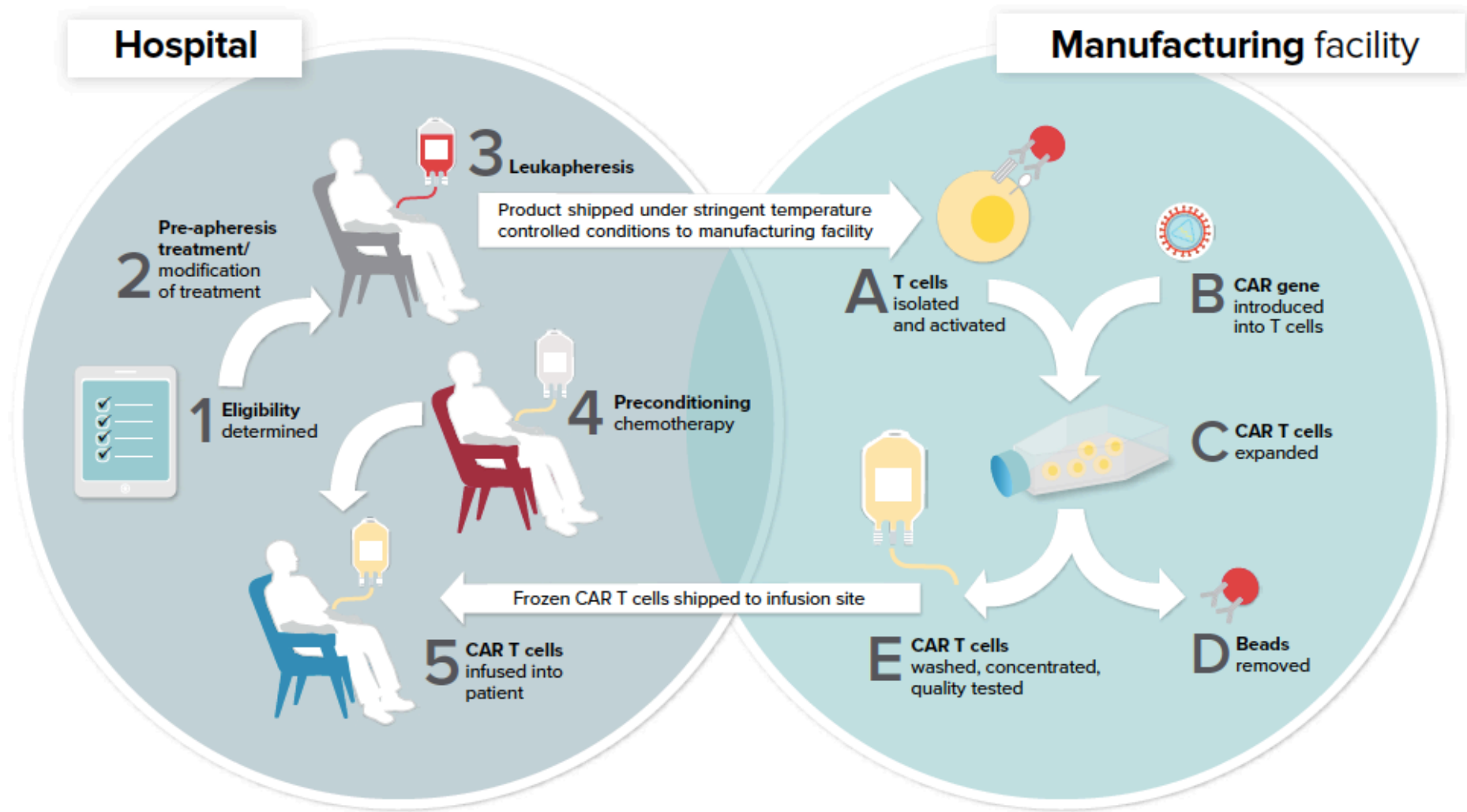
- 4<sup>ème</sup> génération
- TRUCKS ou amorced CARs
- CAR seconde génération + expression cytokine pro-inflammatoire (IL-12 par exemple)

# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - **Production des CAR en thérapeutique**
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives

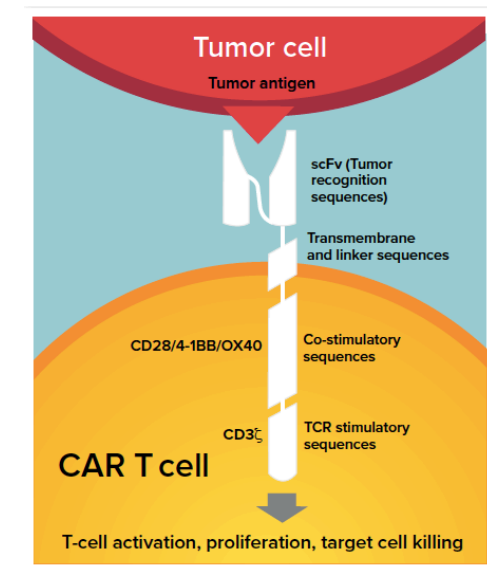


## Production des CAR en thérapeutique



# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - **Les CAR en clinique**
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives



## Les CAR dans les hémopathies malignes

- 2013: 1<sup>ère</sup> étude à Philadelphie
- Leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) réfractaires de l'enfant
- CAR T-cells ciblant l'antigène CD19
- Rémission complète dans plus de 90% des cas
- Résultats impressionnants confirmés par d'autres équipes
- Plus de 400 cas de LAL à un stade avancé
- Patients pédiatriques et adultes
- Taux de réponse entre 59 et 100%
- Durée médiane de réponse entre 6 et 18 mois

## Les CAR dans les hémopathies malignes

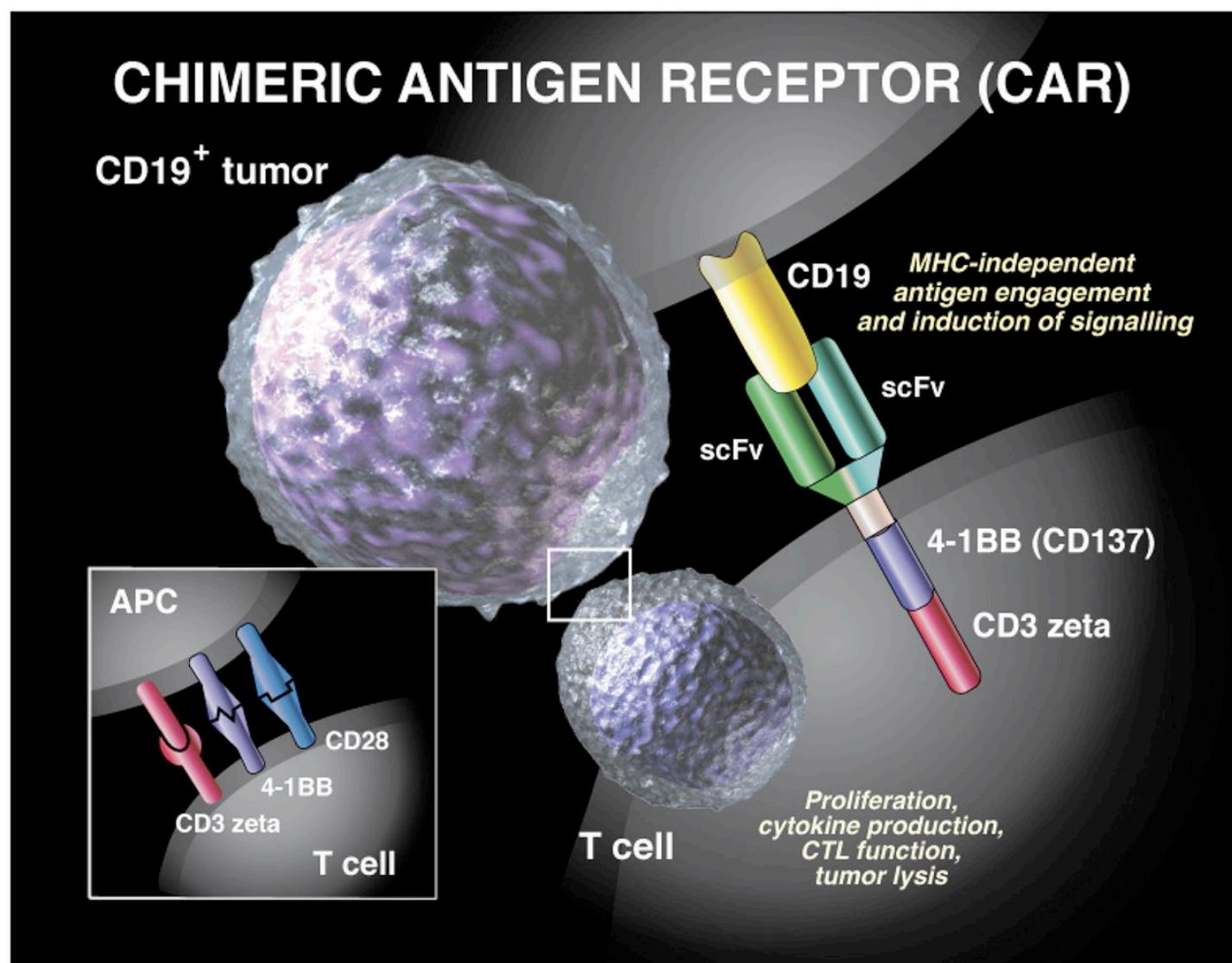




TABLEAU I

## Résultats des principales études avec CAR T-cells CD19 autologues dans les leucémies aiguë lymphoblastique (LAL)

Équipe/Référence biblio et des essais cliniques	Nom/caractéristique CAR	Population	Lymphodéplétion	Taux et durée de Réponse	Toxicité
Children's hospital Philadelphia [29,41]	CTL019 4-1BB-CD3z	Pédiatrique <i>n</i> = 53	Au choix de l'investigateur	CR : 94 % RFS à 12 mois : 45 % OS à 12 mois : 78 %	CRS : 90 % (28 % grade 3-4) Neurotoxicité : 43 %
ELIANA trial [51]	CTL019 4-1BB-CD3z	Pédiatrique Réfractaires (> 5 % blastes) <i>n</i> = 68	Fludarabine (Flu) + Cyclophosphamide (Cy)	RC MRD-negative : 83 % RFS à 6 mois : 75 % OS à 1 an : 79 %	CRS : 78 % (48 % grade 3-4) Neurotoxicité Grade 3 : 15 %
Seattle Children's Hospital [52]	JCAR017 4-1BB-CD3z	Pédiatrique et adulte <i>n</i> = 45	Cy 2-4 g/m <sup>2</sup> ± Flu 30 mg/m <sup>2</sup> × 4	RC MRD-negative : 93 %	CRS : 93 % (23 % grade 3-4) Neurotoxicité : 49 % (21 % grade 3-4)
Memorial Sloan Kettering [53]	JCAR015 CD28-CD3z	Adulte En RC morphologique (< 5 % blastés) ou MRD+ <i>n</i> = 51	Cy à fortes doses (2-3 g/ m <sup>2</sup> )	RC 77 % (RC morpho) à 95 % (MRD+) Médian EFS : non atteinte (MRD+) vs 6,3 mois (RC morpho) ( <i>p</i> = 0,005)	CRS Grade 3-4 = 21 % Neurotoxicité non rapportée
NIH/NCI [36]	CD28-CD3z	Jeunes adultes et pédiatrique <i>n</i> = 39	Flu 25 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 900 mg/m <sup>2</sup>	RC : 59 % RFS à 18 mois : 45,5 %	CRS Grade 4 jusqu'à 16 % Neurotoxicité : 28 %
Fred Hutchinson Cancer Research Center [54]	JCAR014 4-1BB-CD3z	Adulte <i>n</i> = 29	Cy 60 mg/kg Ou Flu 25 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 60 mg/kg	RC : 83 % (Cy seul) RC = 100 % (Flu + Cy) ; RC MRD- : 86 %	CRS : 83 % CRS Grade 3-5 : 23 % (1 décès) Neurotoxicité Grade 3-4 : 50 %
HYLDH/Shanghai [55]	4-1BB-CD3z	Pédiatrique et adulte Rechute/Réfractaire/MRD + <i>n</i> = 51	Flu 30 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 250 mg/m <sup>2</sup> /j × 3	RC chez les patients R/R : 90 % RC chez les MRD+ : 100 %	CRS : 100 % CRS Grade 5 : 4 % Neurotoxicité Grade 3-4 : 16 % (R/R)
Étude multicentrique chinoise [56]	4SCAR19 CD3z-CD28-4-1BB-CD27 +iCasp9	Pédiatrique et adulte <i>n</i> = 125 Cohort 1 : < 50 % blastés médullaires ( <i>n</i> = 69) Cohort 2 : ≥ 50 % blastés ( <i>n</i> = 33)	Cy ou Flu-Cy	RC Cohort 1 : 91,3 % RC Cohort 2 : 75,8 %	CRS : 74 % CRS Grade 3-4 : 2,5 % Neurotoxicité non rapportée

CAR : chimeric antigen receptor ; LAL : leucémie aiguë lymphoblastique ; Cy : cyclophosphamide ; EHA : European Association of Hematology ; Flu : fludarabine ; MRD : minimal residual disease ; RC : rémission complète ; OS : overall survival ; ASH : American Society of Hematology ; NIH : National Institute of Health ; NCI : National Cancer Institute ; RFS : relapse-free survival ; CRS : cytokine release syndrome ; HYLDH : Hebei Yanda Lu Daopei Hospital.

## Les CAR dans les hémopathies malignes

- CAR T-cells anti-CD19 dans hémopathies lymphoïdes différenciées (Lymphomes, LLC) stades avancés, rechute et/ou réfractaire
  - Taux de réponses (RC et PR) entre 33 et 73%
- CAR T-cells anti-BCMA (B-cell maturation antigen)
  - Plasmocytes tumoraux dans myélome
  - Résultats encourageants
- CAR T-cells anti-CD22: hémopathies lymphoïdes
- CAR T-cells anti-CD30: maladie de Hodgkin
- CAR T-cells anti-CD123 ou anti-flt3: LAM, SM



TABLEAU II

## Résultats des principales études avec CAR T-cells autologues dans les LNH, LLC et myélome

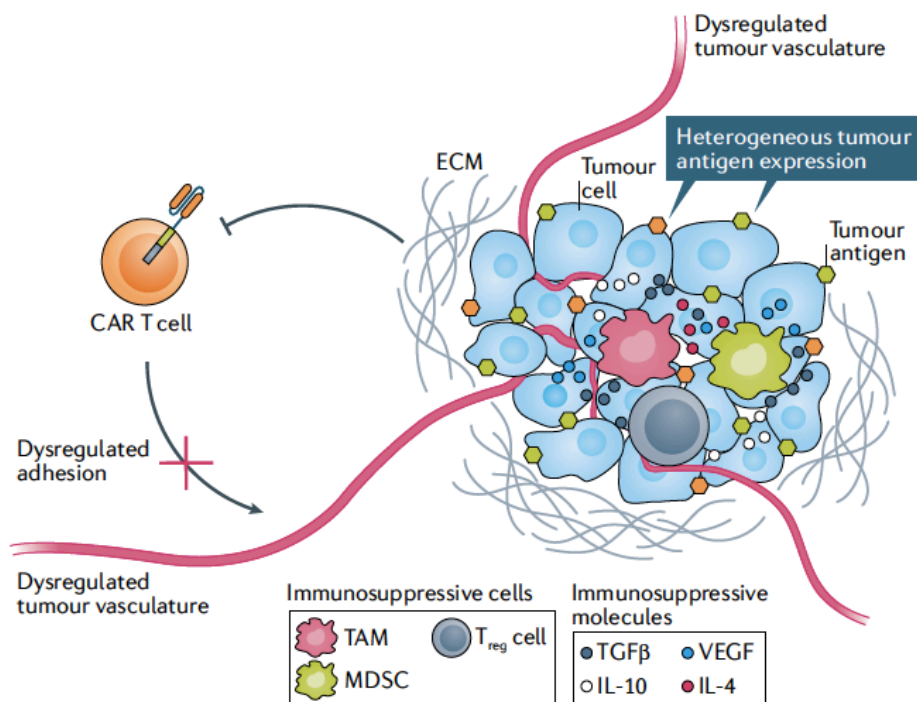
Équipe/Référence biblio et des essais cliniques	Nom/caractéristique CAR	Population	Lymphodéplétion	Taux et durée de Réponse	Toxicité
NIH/NCI [57]	CD19 CD28-CD3z	LNH-B n = 22	Flu 25 mg/m <sup>2</sup> × 5 + Cy 60 mg/kg × 1-2	RC : 55 % RP : 18 %	Fièvre : 91 % Neurotoxicité Grade 3-4 : 55 %
Fred Hutchinson Cancer Research Center [58]	JCAR014 4-1BB-CD3z	LNH-B n = 32	Flu 25 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 60 mg/kg	RC : 33 %	CRS sévère : 13 % Neurotoxicité Grade ≥ 3 : 28 %
JUJUE trial [59]	CTL019 4-1BB-CD3z	DLBCL n = 141	Flu 25 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 250 mg/m <sup>2</sup> × 3 Ou bendamustine 90 mg/m <sup>2</sup> × 2	RC : 43 % RP : 16 % RC à 3 mois : 37 % PR à 3 mois : 8 %	CRS : 57 % Neurotoxicité Grade 3-4 : 13 %
ZUMA-1 [64] Mis à jour ASH 2016 (LBA-6)	KTE-C19	LNH agressifs n = 111	Cyclophosphamide (500 mg/m <sup>2</sup> ) et fludarabine (30 mg/m <sup>2</sup> ) × 3	ORR : 76 % RC : 47 % RP : 29 %	CRS Grade 3-4 : 20 % Neurotoxicité : 29 % Un décès rapporté (syndrome d'activation macrophagique)
TRANSCEND trial [60]	JCAR017 4-1BB-CD3z	LNH en rechute/ réfractaire n = 67	Flu + Cy	CR : 52 % CR à 3 mois : 39 %	CRS Grade 3-4 : 2 % Neurotoxicité Grade 3-4 : 16 %
University of Pennsylvania [45]	CTL019 4-1BB-CD3z	LLC n = 14	Au choix de l'investigateur	RC MRD- : 28 % PR : 28 % Médiane RFS : 7 mois	CRS : 64 % (43 % grade 3-4) Neurotoxicité : 43 %
Fred Hutchinson Cancer Research Center [61]	JCAR014 4-1BB-CD3z	LLC n = 24	Cy ± Flu	ORR à 1 mois : 71 % RC MRD-negative : 4/ 24 patients	CRS : 83 % (8 % grade 3-4) Neurotoxicité : 33 % (25 % grade 3-5)
LEGEND-2 trial Xi'an Jiaotong University [62]	BCMA 4-1BB-CD3z	Myélome n = 22	Cy 300 mg/m <sup>2</sup> × 3	ORR : 100 % RC MRD-negative : 27 % VGPR : 64 %	CRS : 74 % (14 % grade 3-4) Pas de neurotoxicité rapportée
NIH/NCI [63]	BCMA 4-1BB-CD3z	Myélome n = 12	Flu 30 mg/m <sup>2</sup> × 3 + Cy 300 mg/m <sup>2</sup> × 3	ORR : 30 % RC : 1 patient VGPR : 2 patients	Probable CRS dans 50 % Pas de neurotoxicité rapportée

CAR : chimeric antigen receptor ; ASCO : American Society of Clinical Oncology ; Cy : cyclophosphamide ; DLBCL : diffuse large B-cell lymphoma ; MCL : mantle cell lymphoma ; FL : follicular lymphoma ; Flu : fludarabine ; MRD : minimal residual disease ; RC : rémission complète ; RP : réponse partielle, VGPR : very good partial response ; OS : overall survival ; ASH : American Society of Hematology ; NIH : National Institute of Health ; NCI : National Cancer Institute ; ORR : objective response rate, RFS : relapse-free survival ; CRS : cytokine release syndrome.

## Les CAR dans les hémopathies malignes

- Médicaments de thérapie innovante: Yescarta® (Gilead) et Kymriah® (Novartis): AMM en 2018, Tecartus® (Gilead) : AMM en 2021
- Patients en impasse thérapeutique : **en 3ème ligne de traitement**
- Yescarta® est indiqué dans le **lymphome diffus à grandes cellules B et lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B réfractaire ou en rechute, après au moins deux lignes de traitement** systémique, chez le patient **adulte**
- Kymriah® est indiqué chez les enfants et jeunes adultes **jusqu'à 25 ans** atteints de **leucémie aigüe lymphoblastique (LAL) à cellules B réfractaire, en rechute** après greffe ou après la deuxième rechute ou plus et chez les **adultes atteints de lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) en rechute ou réfractaire après la deuxième ligne ou plus** d'un traitement systémique.
- Tecartus® est indiqué dans le **lymphome à cellules du manteau réfractaire** ou en rechute après au moins deux lignes de traitement systémique dont un traitement par un inhibiteur de tyrosine kinase de Bruton.

## Les CAR dans les tumeurs solides



Hétérogénéité d'expression de la cible

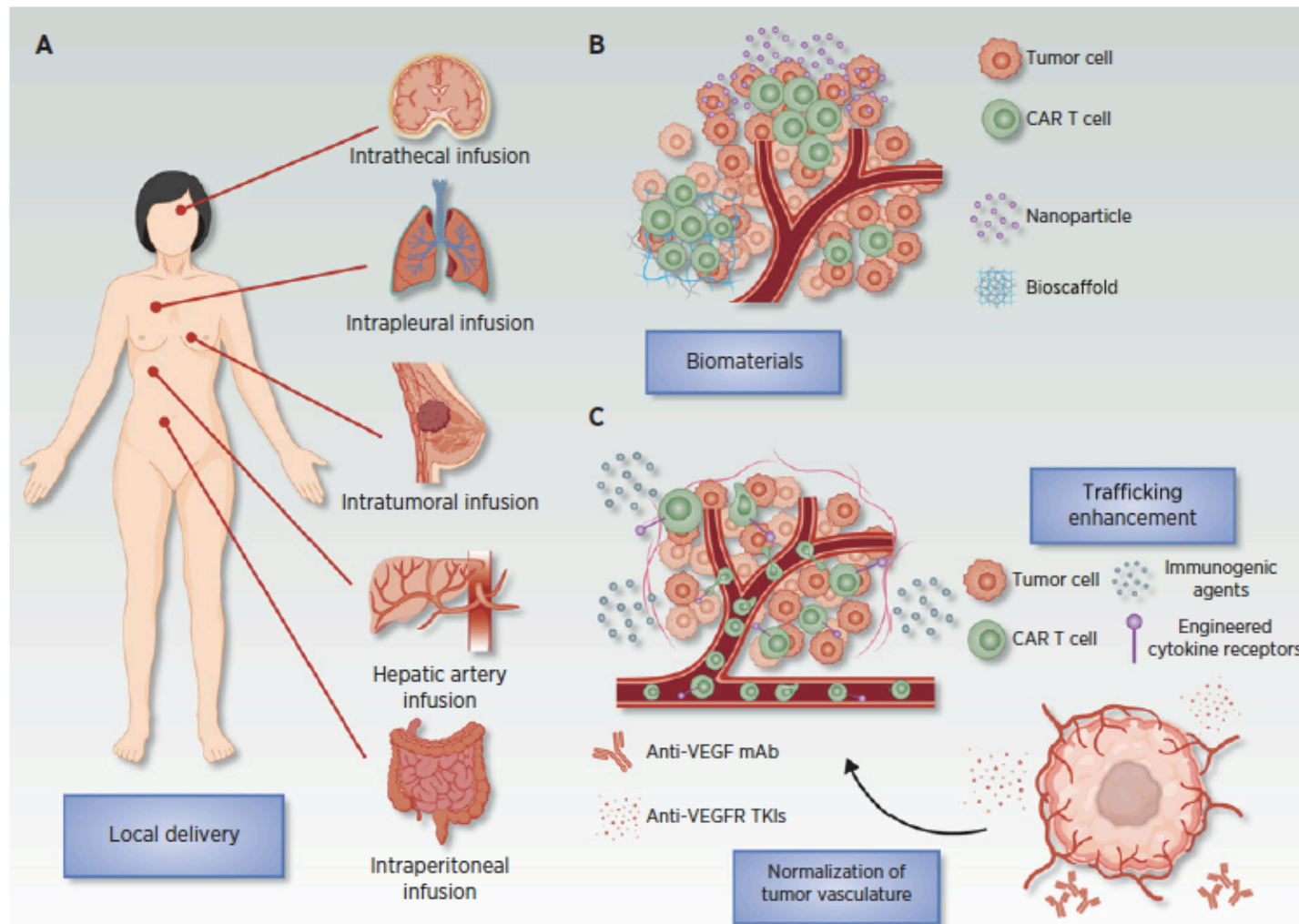
Immunosuppression induite par le microenvironnement tumoral

Difficultés d'accès des CAR-T au site tumoral

Absence de persistance des CAR-T au niveau tumoral

**Table 2.** Summary of the safety and activity data from published studies on CAR T-cell therapy in solid tumors.

Author (year)	Type of study	Patients treated	Target	Tumor type(s)	Costimulation	Route	Lymphodepletion	On-target toxicity	off-tumor	Objective responses	ORR n (%)
Morgan et al. (10)	Case report	1	HER2	Colorectal cancer	CD28+4-1BB		Yes	ARDS (fatal)		Not applicable	Not applicable
Ahmed et al. (14)	Phase I/II	19	HER2	Sarcoma	CD28	i.v.	No	No		Not observed	0/19 (0)
Ahmed et al. (25)	Phase I	17	HER2	Glioblastoma	Virus-specific T cells+CD28	i.v.	No	No		1 PR	1/17 (6)
Feng et al. (27)	Phase I	11	HER2	Biliary tract cancer Pancreatic cancer	4-1BB	i.v.	Yes	Liver enzymes increase		1 PR	1/11 (9)
Katz et al. (15)	Phase I	6	CEA	Liver metastases	CD28	Hepatic artery infusion	No	No		Not observed	0/6 (0)
Zhang et al. (24)	Phase I	10	CEA	Colorectal cancer	CD28	i.v.	Yes	No		2 PR	2/10 (20)
Thistlethwaite et al. (26)	Phase I	14	CEA	Colorectal cancer Gastro-esophageal cancer Pseudomyxoma peritonei Pancreatic cancer	—	i.v.	Yes	Transient acute respiratory toxicity		Not observed	0/14 (0)
Katz et al. (32)	Phase I	6	CEA	Liver metastases	CD28+use of selective internal radiation therapy (SIRT)	Hepatic artery infusion	No	No		1 metabolic CR	1/6 (17)
Louis et al. (11)	Phase I	19	GD2	Neuroblastoma	Virus-specific T cells	i.v.	No	No		3 CR	3/19 (16)
Gargett et al. (17)	Case report	4	GD2	Melanoma	CD28+OX40	i.v.	No/Yes	No		Not observed	Not applicable
Beatty et al. (13)	Case report	2	Mesothelin	Pleural mesothelioma Pancreatic cancer	4-1BB	i.v./intratumoral	No	No		1 PR	Not applicable
Beatty et al. (30)	Phase I	6	Mesothelin	Pancreatic cancer	4-1BB	i.v.	No	No		Not observed	0/6 (0)
Brown et al. (16)	Pilot study	3	IL13Ra2	Glioblastoma	—	Intracranial	No	Neurologic event		Not observed	0/3 (0)
Brown et al. (19)	Case report	1	IL13Ra2	Glioblastoma	4-1BB	Intracranial	No	No		1 CR	Not applicable
Feng et al. (21)	Phase I	11	EGFR	Non-small cell lung cancer	4-1BB	i.v.	No/Yes	Serum lipase increase		2 PR	2/11 (18)
Feng et al. (22)	Case report	1	EGFR/CD133	Cholangiocarcinoma	4-1BB	i.v.	No	Liver enzymes increase (aEGFR), rash and mucositis (aCD133)		1 PR	Not applicable
O'Rourke et al. (28)	Case report	10	EGFRvIII	Glioblastoma	4-1BB	i.v.	No	No		Not observed	Not applicable
Goff et al. (31)	Phase I	18	EGFRvIII	Glioblastoma	CD28+4-1BB	i.v.	Yes	ARDS (one treatment-related death)		Not observed	0/18 (0)
Kershaw et al. (8)	Phase I	14	$\alpha$ -folate receptor	Ovarian cancer	—	i.v.	No	No		Not observed	0/14 (0)
Park et al. (9)	Phase I	6	CD171	Neuroblastoma	—	i.v.	No	Lymphopenia, neutropenia, anemia, pneumonitis		1 PR	1/6 (17)
Lamers et al. (12)	Phase I	12	CAIX	Renal cell carcinoma	—	i.v.	No	Liver enzymes increase		Not observed	0/12 (0)
Junghans et al. (18)	Phase I	5	PSMA	Prostate cancer	—		Yes	No		2 PR	2/5 (40)
You et al. (20)	Case report	1	MUC1	Seminal vesicle cancer	CD28+4-1BB	Intratumoral	No	No		Not observed	Not applicable
Hege et al. (23)	Phase I	16	TAG-72	Colorectal cancer	—	i.v./hepatic artery infusion	No	Retinal artery occlusion		Not observed	0/16 (0)
Tchou et al. (29)	Phase 0	6	c-MET	Breast cancer	4-1BB	Intratumoral	No	No		Not observed	0/6 (0)



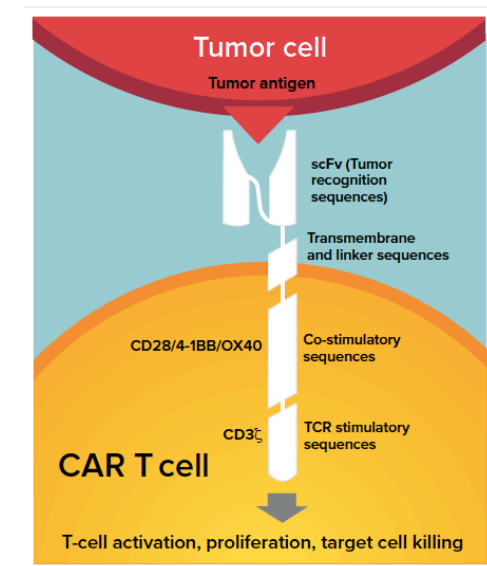
**Figure 1.**

Strategies to overcome physical barriers in solid tumors. Local T-cell delivery can maximize the accumulation of CAR T cells at the tumor site and may also improve the safety profile (A). Biomaterials can be used to enhance the persistence and functionality of locally delivered CAR T cells (B). CAR T cells can be combined with antiangiogenic drugs in the effort of normalizing the intratumoral blood flow or with immunomodulating agents or engineered with cytokine receptors to enhance the trafficking (C).



# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - **Les effets secondaires**
  - Aspect réglementaire
  - Conclusion et perspectives



# Les effets indésirables

## I- Le syndrome de relargage cytokinique (CRS)

- « Orage cytokinique »
- Complication la plus fréquente entre 50 et 100%
  - 2 à 50% de formes sévères (grades 3-4)
- Lié au degré d'activation et d'expansion des CAR T-cells *in vivo*
- FR: charge tumorale, dose de cellules infusées, type de construction, nature de la cible, type de chimiothérapie de conditionnement
- IL-6, IL-10, IFN, MCP-1, CRP, ferritine: augmentation taux sériques
- Apparition entre 1 et 14 jours post-infusion
- Durée entre 1 et 10 jours

# Les effets indésirables

## I- Le syndrome de relargage cytokinique (CRS)

- Symptômes:
  - Fièvre élevée (41°C)
  - Myalgie
  - Fatigue
  - Anorexie
  - Fuite capillaire
  - Hypotension et/ou hypoxie
  - Décès si CRS non maîtrisé rapidement
- Traitement:
  - Prise en charge rapide. Prévenir cas sévères
  - Symptomatique
  - Cas sévères:
    - Tocilizumab ou atilizumab: Ac mono contre rc IL-6
    - Corticoïdes



# Les effets indésirables

## II- La toxicité neurologique

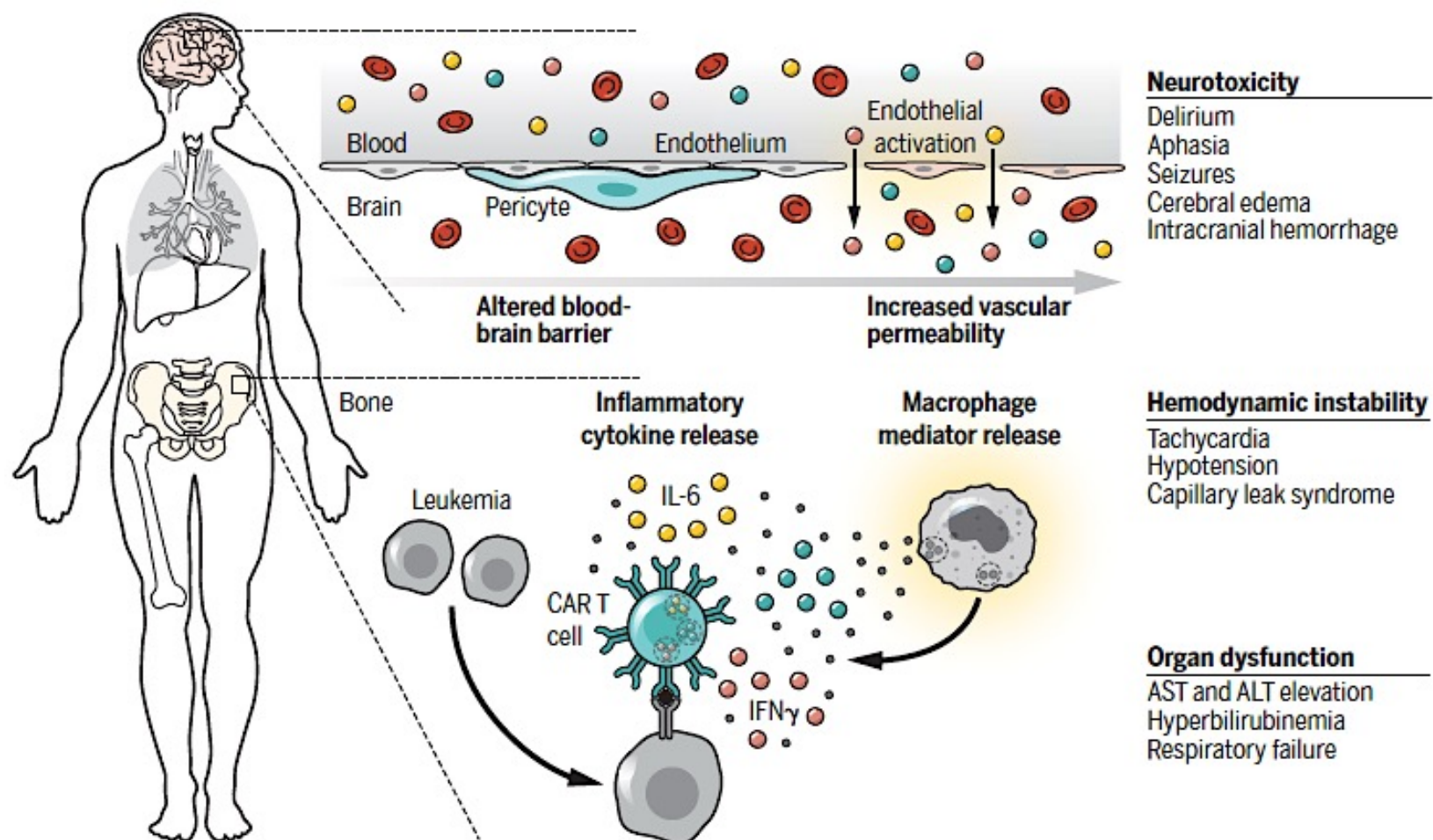
- Incidence varie entre 12 et 55%
- CAR T-cells anti-CD19. Absence avec CAR T-cells anti-BCMA
- Mécanisme pas entièrement élucidé
  - CAR pénètre dans le LCR
  - Hypothèse 1: toxicité directe des CAR et des cytokines
  - Hypothèse 2: atteinte des cellules endothéliales et des péricytes de la BHE
- Peut accompagner un CRS ou apparaître indépendamment et retardée
- Facteurs prédictifs: charge tumorale importante, tx IL-6 élevé à J1

# Les effets indésirables

## II- La toxicité neurologique

- Symptômes:
  - Signes d'encéphalopathie/crises convulsives
  - Céphalées
  - Aphasie
  - Apraxie
  - Paralysie faciale
  - Tremor
  - Hallucinations/délire
- Traitement:
  - Pas de ttt efficace
  - Tocilizumab et corticoïdes +/-
  - Résolution spontanée

## Les effets indésirables



## Les effets indésirables

### III- La lymphopénie B

- Présente chez tous les patients recevant CAR T-cells anti-CD19
  - Ne cible pas que les bastes
- Entre 2 semaines et 1 mois post-injection
- Part conditionnement/CAR T pas claire
- Peut être durable → 2 ans après ttt
- TTT: Ig IV → maintient taux IgG

## Les effets indésirables

### IV- Le syndrome de lyse tumorale

- Lié soit
  - À la chimiothérapie de conditionnement
  - À la toxicité directe des CAR T-cells
- Destruction massive des cellules tumorales
- Libération d'éléments intracellulaires
- Désordres biologiques: hyperU, hyperP, ... → Insuffisance rénale

## Les effets indésirables

### **V- Les réactions anaphylactiques**

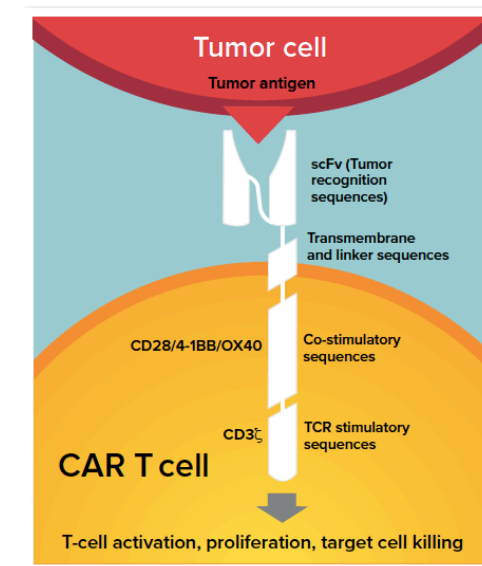
- IgE contre la séquence murine scFV
- Surviennent après la 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> injection de CAR T-cells

## Echappement au traitement et rechutes

- Incidence d'environ 20%
- Lié à la perte d'expression de CD19 à la surface des blastes
- Causes:
  - Emergence sous-clone tumoral préexistant CD19-
  - Perte totale de CD19
  - Modification de la protéine CD19 exprimée en surface
- Solutions:
  - CAR T-cells anti-CD22 (autre AG B)
  - CAR T-cells bivalents anti-CD19 et anti-CD22

# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - **Aspect réglementaire**
  - Conclusion et perspectives





## Aspects réglementaires

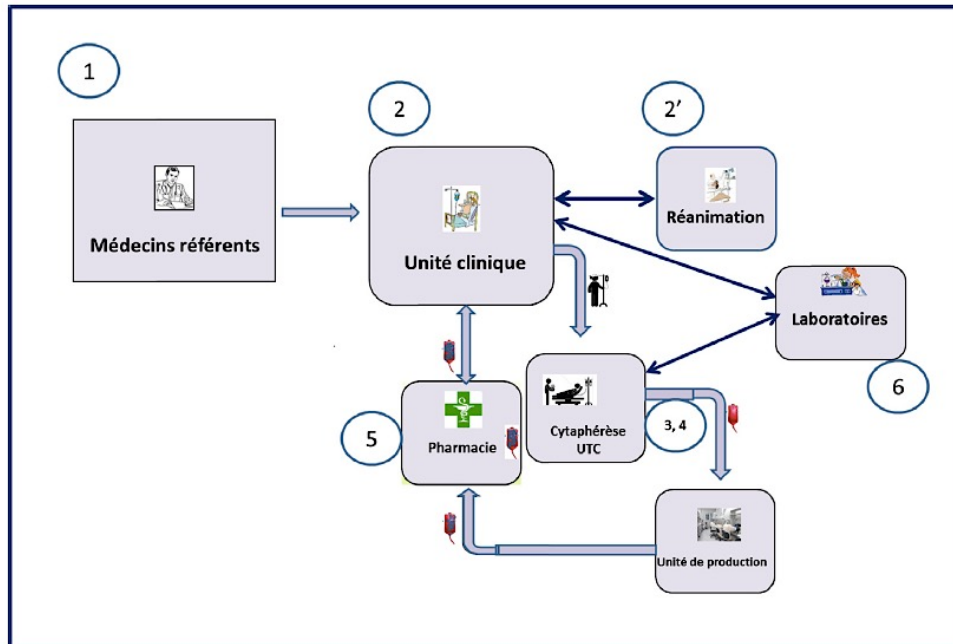


# Définition des MTI

- Médicament à usage humain
- Promesses de progrès important
- Médecine régénérative, Cancérologie, Hématologie, Immunologie
- Associés à des risques potentiels, mal connus en raison de leur nouveauté et de la complexité de leurs procédés de fabrication
- Fabrication par établissements pharmaceutiques autorisés ANSM
- Procédure centralisée de demande d'AMM
- Distribution par PUI
- Relèvent de la pharmacovigilance
- 4 catégories

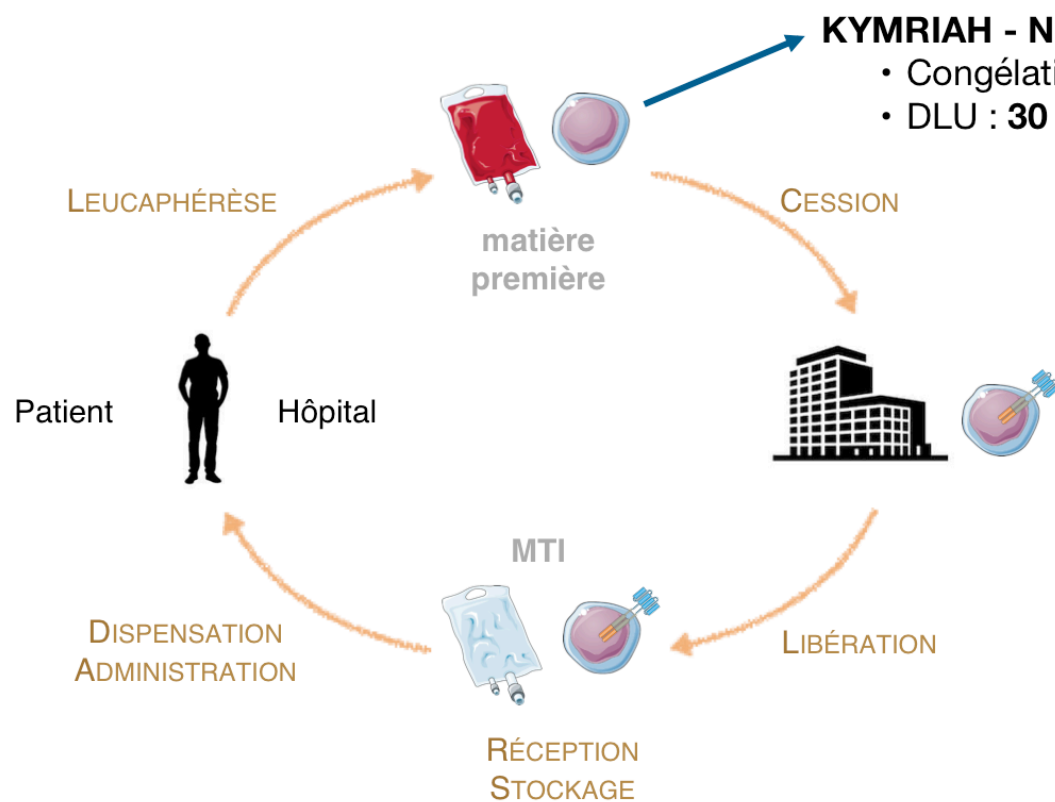


# Logistique autour des CAR T-cells



- Interaction coordonnée de multiples acteurs
  - Efficacité du médicament et sécurité du patient
- Médecins référents / Réanimation
  - Identification des malades
  - Validation de l'indication
  - Evaluation de la réponse
- Equipes et infrastructures greffes de CSH
- Unité de cytapphérèse
- Unité de thérapie cellulaire
- Une PUI
- Un laboratoire de biologie médicale
- Un laboratoire de recherche: bio-monitoring

# Circuit hospitalier

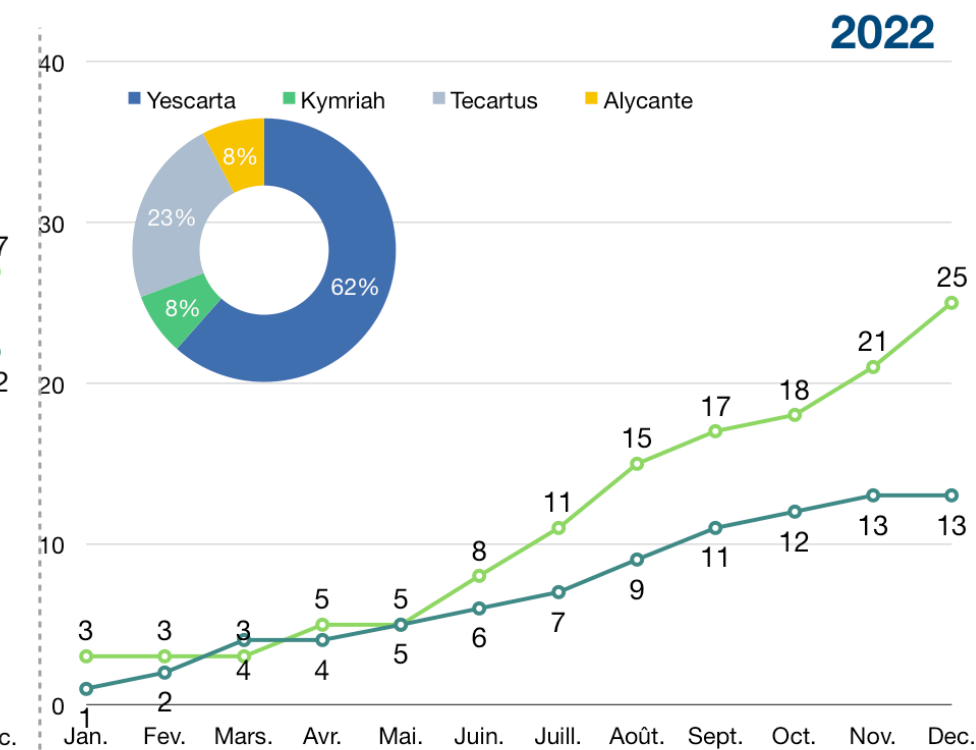
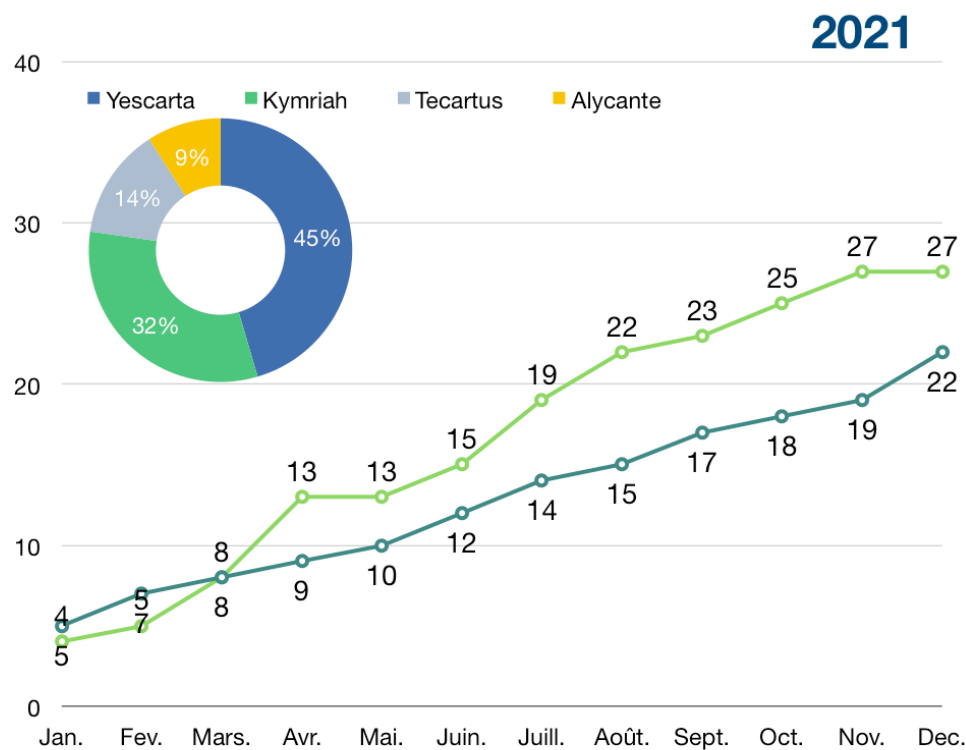


△ Mise à disposition [2021-2022]

30 jours → 25 jours

CAR-T cells	Délais moyens	Range (2021-2022)
YESCARTA (Kite-Gilead)	55 jours	[37-80] jours
TECARTUS (Kite-Gilead)	147 jours	[64-230] jours
KYMRIAH (Novartis)	50 jours	[35-69] jours

# Bilan d'activité

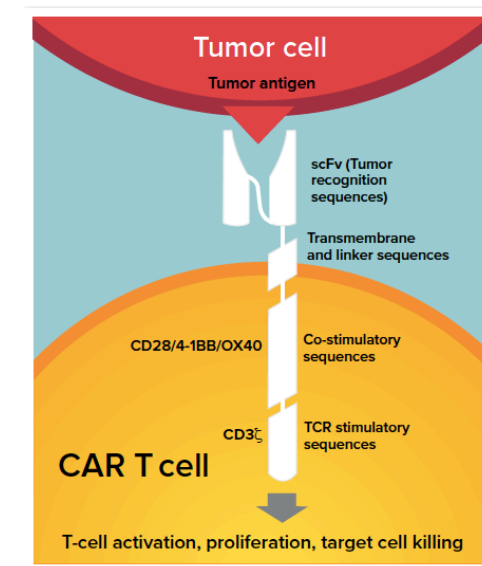


○ Aphérèses

◇ Décongélations

# Plan

- Tumeurs et système immunitaire
- Antigènes associés aux tumeurs
- Effecteurs immunitaires
- Mécanisme d'échappement des tumeurs
- Stratégies d'immunothérapie adoptive cellulaire
- **Les Récepteurs Chimériques d'Antigène**
  - Principe du CAR
  - Générations de CAR
  - Production des CAR en thérapeutique
  - Les CAR en clinique
  - Les effets secondaires
  - Aspect réglementaire
  - **Conclusion et perspectives**



## Conclusion

- Immunothérapie: nouvelle ère de ttt pour tumeurs hématologiques et cancers solides
- CAR T-cells: résultats spectaculaires rapportés dans les hémopathies malignes B exprimant l'AG CD19
- Point d'amélioration:
  - Sécurité
  - Efficacité
  - Procédé de fabrication

## Perspectives

### I- Sécurité

- **Méthode de prédiction individuelle**
  - Risque de CRS et neurotox
  - Adapter dose CAR T-cells et moment d'injection
- **Modulation de l'activité et la persistance des CAR T-cells**
  - Activation par une molécule thérapeutique
  - Système de gène « suicide » (gène pro-apoptotique)
  - Système d'expression transitoire
- **Amélioration de la spécificité des CAR T-cells**
  - TAA



## Perspectives

### II- Efficacité

- **Association avec d'autres thérapies**
  - Inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (anti-PD-1 ou anti-PD-L1)
  - Inhibiteurs de kinase
- **CAR T-cells de 4<sup>ème</sup> génération:** co-expression de cytokine pro-inflammatoire (IL-12 par exemple)
- **CAR T-cells bivalents:** anti-CD19 et anti-CD22 par exemple
- **scFV humains**

## Perspectives

### III- Procédé de fabrication

- **Banque de CAR T-cells allogéniques** dits « off the shelf »
- LT provenant d'un donneur capables d'être administrés à tout un chacun
- Pas limité par une lymphopénie profonde
- Inactivation TCR endogène (knock-out cellulaire: TALEN, CRISPR-Cas9) → suppression alloréactivité
- Seul le CAR capable d'activer les LT injectés
- Procédé de production simplifié et plus rapide