



HAL
open science

Les cellules CAR-T : état des lieux, défis et perspectives

Margaux Touraud

► **To cite this version:**

Margaux Touraud. Les cellules CAR-T : état des lieux, défis et perspectives. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03256461

HAL Id: dumas-03256461

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03256461>

Submitted on 10 Jun 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Margaux Touraud

**Les cellules CAR-T :
état des lieux, défis et
perspectives**

**Thèse soutenue à Rennes
le 06 juillet 2020**

devant le jury composé de :

Pr. Pascal Le Corre

PU-PH, Université de Pharmacie de Rennes 1 /
Président du jury

Dr. Emmanuelle Sabbah-Petrover

Directeur – Produits biologiques complexes, VCLS /
Directeur de thèse

Louis-Guillaume Marquier

Chef de projet clinique, VCLS / Membre du Jury

Dr. Catherine Hamon Bouer

Pharmacien Attaché – Essais cliniques, CHU
Rennes / Membre du Jury

THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Margaux Touraud

**Les cellules CAR-T :
état des lieux, défis et
perspectives**

**Thèse soutenue à Rennes
le 06 juillet 2020**

devant le jury composé de :

Pr. Pascal Le Corre

PU-PH, Université de Pharmacie de Rennes 1 /
Président du jury

Dr. Emmanuelle Sabbah-Petrover

Directeur – Produits biologiques complexes, VCLS /
Directeur de thèse

Louis-Guillaume Marquier

Chef de projet clinique, VCLS / Membre du Jury

Dr. Catherine Hamon Bouer

Pharmacien Attaché – Essais cliniques, CHU
Rennes / Membre du Jury

Liste des enseignants

PROFESSEURS		Pharmacien	HDR	Hospitao-U
BOUSTIE	Joël	X	HDR	
DONNIO	Pierre Yves	X	HDR	X
FAILI	Ahmad		HDR	
FARDEL	Olivier	X	HDR	X
FELDEN	Brice	X	HDR	
GAMBAROTA	Giulio		HDR	
GOUGEON	Anne	X	HDR	
LAGENTE	Vincent	X	HDR	
LE CORRE	Pascal	X	HDR	X
LORANT (BOICHOT)	Elisabeth		HDR	
MOREL	Isabelle	X	HDR	X
PORÉE	François-Hugues	X	HDR	
SERGENT	Odile	X	HDR	
SPARFEL-BERLIVET	Lydie	X	HDR	
TOMASI	Sophie	X	HDR	
VAN DE WEGHE	Pierre		HDR	
VERNHET	Laurent	X	HDR	

PROFESSEURS ASSOCIES		Pharmacien	HDR	Hospitao-U
BUREAU	Loïc	X		
DAVOUST	Noëlle	X		

PROFESSEURS EMERITES		Pharmacien	HDR	Hospitao-U
CILLARD	Jesiane	X	HDR	
GUILLOUZO	André		HDR	
URIAC	Philippe	X	HDR	

MAITRES DE CONFERENCES		Pharmacien	HDR	Hospitao-U
ABASQ-PAOFAI	Marie-Laurence			
ANINAT	Caroline	X	HDR	
AUGAGNEUR	Yoann		HDR	
BEGRICHE	Karima			
BOUSARGHIN	Latifa		HDR	
BRANDHONNEUR	Nolwenn			
BRUYERE	Arnaud	X		
BUNETEL	Laurence	X		
CHOLLET-KRUGLER	Marylène	X		
COLLIN	Xavier	X		
CORBEL	Jean-Charles	X	HDR	

DELALANDE	Olivier			
DELMAIL	David		HDR	
DION	Sarah	X		
DOLLO	Gilles	X	HDR	X
GICQUEL	Thomas	X		X
GILOT	David		HDR	
GOUAULT	Nicolas		HDR	
HITTI	Eric			
JEAN	Mickaël	X		
JOANNES	Audrey			
LEUREUR	Valérie		HDR	
LE FERREC	Eric	X		
LE GALL-DAVID	Sandrine			
LE PABIC	Hélène			
LEGOVIN-GARGADENNEC	Béatrice			
LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	X	HDR	
MARTIN-CHOULY	Corinne		HDR	
NOURY	Fanny			
PINEL-MARIE	Marie-Laure			
PODECHARD	Normand			
POTIN	Sophie	X		X
RENAULT	Jacques	X	HDR	
ROVILLON	Astrid			

**ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
(AHU)**

		Pharmaciens	HDR	Hospitalo-U
AUTIER	Brice	X		X
BACLE	Astrid	X		X
BOUVRY	Christelle	X		X
MENARD	Guillaume	X		X

ATER

		Pharmaciens	HDR	Hospitalo-U
KOWOUVI	Koffi	X		

LRU

		Pharmaciens	HDR	Hospitalo-U
AFONSO	Damien			
BELLAMRI	Nessrine	X		
GUILLORY	Xavier			

Remerciements

A mon jury :

Au Docteur Emmanuelle Sabbah-Petrover, merci d'avoir accepté la direction de ce travail. Je te remercie pour ta gentillesse, ta disponibilité et ton optimisme tout au long de la rédaction de cette thèse. Ce fut un réel plaisir d'échanger avec toi.

Au Professeur Pascal le Corre, merci de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse.

A Louis-Guillaume, merci d'avoir un jour évoqué les CAR-T cells quelque part entre Caen et Rennes, tu es l'initiateur et le catalyseur de cette thèse. Je te remercie pour le temps que tu m'as accordé et le soutien que tu m'as apporté durant ces mois de rédaction.

Au Docteur Catherine Hamon Bouer, merci d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.

A ma famille :

A mes parents, un immense merci pour votre soutien durant toutes ces années.

A Jeanne, Marie et Louis, merci d'être ces trois joyeux lurons que j'aime tant.

A mes grands-parents, oncles et tantes, merci pour votre bienveillance et votre écoute.

A mes amis :

A François, mon binôme de toujours, je te remercie d'avoir rendu ces 6 années épicées comme un Biryani partagé à Wadi Shab. Merci d'avoir été présent pour réaliser des suppositoires ou pour se faire arrêter à la frontière bosniaque.

A Alex, à nos déjeuners coucou rennais et nos diners Angello, le tout enrobé d'une bonne dose de bienveillance et de discussions Basket.

A Nadège, merci d'être toujours disponible et prête à rendre service, tu es le ciment de notre groupe.

A Romain, merci pour ta gentillesse qui n'a d'égale que la taille de ton lit.

A Thomas, merci d'avoir toujours été une oreille attentive et le meilleur professeur de pharmacocinétique à J-2 des examens.

A (Chef) Cyrille, merci d'avoir égayé nos papilles à maintes reprises.

A tous mes autres copains de promo, merci pour les bons moments que nous avons partagé au cours des dernières années.

A mes différentes coéquipières, qui m'ont, d'une manière ou d'une autre, apporté leur soutien lorsque concilier études et basket s'avérait compliqué.

A Louise, merci pour ton oreille attentive et ton optimisme à toute épreuve.

A mes petits foies de veau de collègues :

Aux membres du bureau « Derek la pinaille », Marie, Régine et Louis-Guillaume, merci pour l'amour et la bonne humeur que vous véhiculez. Marie, merci d'avoir partagé ton expertise OGM avec moi. Régine, merci pour ton soutien et tes conseils sur la rédaction d'une thèse.

A mon acolyte Clara, dont le soutien pour la rédaction de cette thèse a été aussi efficace que l'homéopathie. Néanmoins, merci d'avoir partagé les vibrisses et surtout la couenne d'Onyx lors de nos apéros KL. You da best Buzz, ministre de la conquête spatiale !

A Caro, collègue Astro/Zotero au rire super rigolo, merci d'avoir été à l'écoute et d'avoir toujours été présente quand la motivation ne l'était pas.

A Tata, merci pour les cafés du vendredi midi, petit bol d'air frais entre l'écriture de 2 chapitres.

A François, merci d'avoir pris le temps de discuter de cette thèse de temps en temps et de m'avoir fourni de la biblio.

A Aurore, Claire, Nonoche, Nathalie, Cécile et tous les autres, merci de vous être enquis, sans relâche, de l'avancée de la rédaction de ce manuscrit.

Serment de Galien

En présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples, je jure :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

-De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Table des matières

Liste des figures	11
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	13
1. Introduction	15
2. Généralités sur les cellules CAR-T	18
2.1 Contexte réglementaire en Europe	18
2.1.1 Définitions	18
2.1.2 Contexte	19
2.1.3 Comités.....	19
2.1.4 Aides au développement	21
2.2 CAR.....	27
2.2.1 Structure	27
2.2.2 Les différentes générations de CAR.....	28
2.3 Circuit de production des cellules CAR-T	31
2.3.1 Leucaphérèse et lavage des cellules	32
2.3.2 Enrichissement et appauvrissement	32
2.3.3 Activation des cellules T	33
2.3.4 Transfert de gènes	34
2.3.5 Croissance des cellules.....	36
2.3.6 Conditionnement	37
2.3.7 Cryoconservation	37
2.3.8 Retour du produit et administration au patient.....	38
3. Etat des lieux	39
3.1 Cellules CAR-T approuvées en Europe.....	39
3.1.1 Généralités.....	39

3.1.2	Aides au développement	41
3.1.3	Engagements post-AMM	42
3.1.4	Résultats cliniques.....	44
3.2	Cellules CAR-T en développement.....	47
3.2.1	Essais cliniques	47
3.2.2	Pathologies ciblées	49
3.2.3	Antigènes ciblés	50
4.	Défis des cellules CAR-T.....	51
4.1	Réglementaire.....	51
4.1.1	Essais cliniques	51
4.1.2	Difficultés notées par les développeurs.....	56
4.2	Fabrication et qualité	57
4.2.1	Variabilité.....	58
4.2.2	Contrôle et assurance qualité des cellules CAR-T.....	58
4.2.3	Chaîne d’approvisionnement.....	59
4.2.4	Automatisation	60
4.3	Toxicité et effets indésirables	61
4.3.1	Syndrome de relargage de cytokines (SRC)	62
4.3.2	Toxicité neurologique	63
4.3.3	Toxicité on-target off-tumor.....	64
4.3.4	Anaphylaxie	64
4.4	Coût, remboursement et financement des cellules CAR-T	64
4.4.1	Evaluation des médicaments en France	64
4.4.2	Problématiques sur le financement du traitement	68
5.	Perspectives des cellules CAR-T	71
5.1	Cancers hématologiques	71

5.1.1	Cibler le CD22 pour les leucémies lymphoblastiques à cellules B.....	71
5.1.2	Cibler le CD5 et/ou le CD7 pour les leucémies aiguës lymphoblastiques à cellules T	71
5.1.3	Cibler le CD33 et/ou le CD123 pour les leucémies aiguës myéloïdes.....	72
5.1.4	Cibler le CD20 pour les lymphomes B	72
5.1.5	Cibler le CD30 pour le lymphome de Hodgkin et le lymphome anaplasique à grandes cellules	72
5.2	Tumeurs solides.....	73
5.2.1	Trafic des cellules CAR-T vers les sites tumoraux	73
5.2.2	Microenvironnement immunosuppresseur tumoral	75
5.2.3	Autres	77
5.3	Diminutions des effets indésirables et de la toxicité	78
5.3.1	Gène suicide	78
5.3.2	« Elimination genes ».....	79
5.3.3	Inactivation du GM-CSF	79
5.3.4	Activation des cellules CAR-T par administration d'un médicament	80
5.3.5	CAR d'expression transitoire	81
5.4	Nouvelle génération de CAR.....	81
5.5	Association avec d'autres immunothérapies	83
5.6	Amélioration de la production des cellules CAR-T	84
5.7	Cellules CAR-T allogéniques.....	84
5.7.1	Les sources de cellules CAR-T allogéniques.....	85
5.7.2	Eviter la réaction du greffon contre l'hôte	87
5.7.3	Les défis des cellules CAR-T allogéniques.....	89
5.7.4	La cellule CAR-T allogénique idéale.....	91
5.8	Cellules CAR-T multi-spécifiques	91
6.	Conclusion.....	93

Bibliographie..... 94

Liste des figures

Figure 1 : Demandes d'éligibilité du programme PRIME en fonction des aires thérapeutiques (9)	25
Figure 2 : Structure du CAR (12).....	27
Figure 3 : Représentation schématique des 4 générations de CAR (13).....	29
Figure 4 : Les différentes étapes de la production des cellules CAR-T (12).....	32
Figure 5 : Répartition géographique des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T enregistrés sur clinicaltrials.gov en 2019 (31)	47
Figure 6 : Nombre d'essais cliniques impliquant des cellules CAR-T par phase et par année d'enregistrement (31).....	48
Figure 7 : Répartition des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T en fonction de la pathologie ciblée (31).....	49
Figure 8 : Distribution des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T en fonction de l'antigène ciblé (31)	50
Figure 9 : Obstacles à la thérapie par les cellules CAR-T (23).....	74
Figure 10 : Technologie GoCAR-T (53).....	80
Figure 11 : Un CAR idéalisé (31)	83
Figure 12 : La cellule CAR-T idéale (60)	91

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé et comparaison des 4 générations de CAR (14)	30
Tableau 2 : Informations générales sur les deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché (25–27).....	40
Tableau 3 : Aides au développement par l'EMA dont ont bénéficié les deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché (25)	42
Tableau 4 : Engagements post-AMM pour Kymriah® (28)	42
Tableau 5 : Engagements post-AMM pour Yescarta® (29)	44

Tableau 6 : Les différents niveaux de confinement en fonction de la classe de l'OGM au niveau européen (38).....	56
Tableau 7 : SMR et taux de remboursement associé	66
Tableau 8 : Progrès thérapeutique et ASMR.....	66
Tableau 9 : SMR et ASMR des deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché	67

Liste des abréviations

AC : Autorité Compétente

ADN : Acide désoxyribonucléique

AIFA : *Agenzia Italiana del Farmaco*

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ARN : Acide ribonucléique

ASMR : Amélioration du service médical rendu

BPC : Bonnes pratiques cliniques

BPF : Bonnes pratiques de fabrication

CAR : *Chimeric Antigen Receptor*

CAT : *Committee for Advanced Therapies*

CE : Comité d'éthique

CEC : Clofarabine + Etoposide + Cyclophosphamide

CEPS : Comité économique des produits de santé

CEu : Commission européenne

CHMP : *Committee for Medicinal Products for Human Use*

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

COMP : *Committee for Orphan Medicinal Products*

CPA : Cellule présentatrice d'antigène

CPP : Comité de protection des personnes

CRP : Protéine C réactive

CT : Commission de la transparence

DV : Dissémination volontaire

EMA : *European Medicines Agency*

FDA : *Food and Drug Administration*

GM-CSF : *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*

HAS : Haute autorité de santé

HCB : Haut conseil des biotechnologies

HLA : *Human Leukocyte Antigen*

HR : *Hazard ratio*

ICH : *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*

IL : Interleukine

LAL : Leucémie aigüe lymphoblastique

LDGCB : Lymphome diffus à grandes cellules B

LMPGCB : Lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B

ME-OGM : Médicament expérimental contenant des OGM ou consistant en des OGM

MESRI : Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation

MTI : Médicament de Thérapie Innovante

NK : Cellule Natural Killer

OGM : Organisme génétiquement modifié

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

PIP : *Paediatric Investigation plan*

PRIME : *Priority Medicines*

RCP : Résumé des caractéristiques du produit

ScFv : *Single -chain variable fragment*

SMR : Service medical rendu

SNIF : *Summary Notification Information Format*

SRC : Syndrome de relargage des cytokines

TCR : Récepteur des cellules T

Treg : Lymphocyte T régulateur

UC : Utilisation confinée

UE : Union européenne

UNCAM : Union nationale des caisses d'assurance maladie

1. Introduction

Avec pas loin de 400 000 nouveaux cas par an en France, le cancer reste la première cause de mortalité en France aujourd'hui. Néanmoins, au cours des dernières décennies, la prise en charge et le traitement du cancer ont connu des avancées majeures avec l'immunothérapie. L'immunothérapie permet de moduler la réponse du système immunitaire et de déjouer les mécanismes d'échappement mis en place par les cellules cancéreuses en stimulant, corrigeant, ou supprimant ces réactions immunitaires. On retrouve actuellement sur le marché, des anticorps monoclonaux, des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire ainsi que des lymphocytes T modifiés génétiquement pour leur faire exprimer un *Chimeric Antigen Receptor* (CAR), plus communément appelés cellules CAR-T. Ces derniers révolutionnent la prise en charge de certains cancers depuis quelques mois. En effet, ces médicaments de thérapie innovante émergent de l'avancée de la médecine personnalisée que nous vivons actuellement et représentent une révolution thérapeutique.

Les recherches sur les cellules CAR-T ont commencé dans les années 80 aux Etats-Unis, néanmoins leur utilisation clinique est assez récente. L'histoire commence en 2010 lorsque les médecins diagnostiquent à Emily Whitehead, alors âgée de 5 ans, une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). Après deux cycles de chimiothérapie et le développement de très lourds effets indésirables, elle participe à un essai clinique et est la première enfant à recevoir des cellules CAR-T anti-CD19. Elle est aujourd'hui une jeune adolescente qui par sa survie a contribué à stimuler une ligne de recherche.

Les cellules CAR-T sont des médicaments de thérapie génique. En effet, des lymphocytes T sont prélevés au patient par aphaérèse puis modifiés génétiquement ex vivo pour leur permettre d'exprimer un récepteur antigénique chimérique spécifique d'un antigène exprimé par la tumeur du patient. Ces lymphocytes T modifiés passent par une phase de multiplication puis sont réinjectés au patient ayant subi une chimiothérapie permettant de limiter les risques de rejet des lymphocytes génétiquement modifiés. Les cellules CAR-T sont à ce jour considérées comme une thérapie « one shot », c'est-à-dire qu'une seule injection semble suffisante pour obtenir l'effet thérapeutique attendu. Néanmoins, ceci pourrait être amené à changer avec l'obtention de données de vie réelle recueillies sur du long terme.

Bien que la recherche s'oriente vers de nouvelles cibles antigéniques, le CD19 est l'antigène qui jusqu'ici a été le plus ciblé dans le développement des cellules CAR-T. En particulier, les résultats prometteurs de deux thérapies, aux taux de rémission excellents, leur ont permis d'arriver sur le marché, d'abord aux Etats-Unis puis en Europe à l'été 2018. La première thérapie est Kymriah® du laboratoire Novartis, indiquée dans le traitement de la LAL à cellules B chez les patients de moins de 25 ans en troisième ligne de traitement, et dans le traitement du lymphome B à grandes cellules chez les patients adultes en rechute ou réfractaire en troisième ligne de traitement. Yescarta® du laboratoire Gilead est également indiquée dans le traitement du lymphome B à grandes cellules chez les patients adultes en rechute ou réfractaire en troisième ligne de traitement.

La révolution dans la prise en charge de certains cancers et l'espoir que les CAR-T suscitent sont aussi accompagnés par quelques incertitudes. Les effets indésirables à la suite de l'injection des cellules CAR-T sont à ce jour importants, parfois même fatals, et la prise en charge de ces derniers est complexe. Le syndrome de relargage des cytokines est l'effet indésirable le plus fréquent suivant l'administration des lymphocytes T modifiés et même si celui-ci peut être en partie contrôlé, une surveillance accrue du patient est cruciale. De plus, ces traitements suscitent des questions relatives à l'identification des patients chez qui le traitement aura des chances de fonctionner et au maintien de la réponse au traitement et à la tolérance à moyen et long terme. Les cellules CAR-T sont également face à de nombreux défis, le principal étant certainement le défi économique lié à la mise sur le marché de ces traitements. Le coût de Kymriah® et Yescarta® est aujourd'hui supérieur à 300,000€ et pose une réelle problématique pour les autorités compétentes en matière de remboursement des médicaments et pousse à envisager de nouveaux modèles basés sur la réponse du patient au traitement.

Malgré tous les défis auxquels les cellules CAR-T devront faire face dans les mois et les années à venir, les perspectives positives sont également nombreuses. De nombreux essais cliniques impliquant des cellules CAR-T visant de nouvelles cibles, notamment sur des tumeurs solides, sont menés en ce moment principalement aux Etats-Unis et en Chine. Des recherches ont également lieu pour améliorer la structure des récepteurs antigéniques chimériques en vue de diminuer les effets indésirables, d'améliorer le contrôle de leur prolifération et d'augmenter leur efficacité in vivo grâce à mécanismes d'inactivation inductibles. Un des grands travaux actuels est la mise au point de cellules CAR-T allogéniques qui pourraient être stockées et

utilisées en fonction de la demande. Elles permettraient de limiter les réactions de rejet. Néanmoins, le développement de cette technologie se heurte à ce jour à d'importantes réactions immunitaires induites par l'administration de ces cellules.

Dans un premier temps, nous étudierons les caractéristiques générales des cellules CAR-T en s'intéressant notamment au contexte réglementaire encadrant ces thérapies en Europe, à la structure du récepteur antigénique chimérique ainsi qu'à la production de ces cellules génétiquement modifiées. Dans un second temps nous analyserons en détail les deux thérapies actuellement sur le marché, Kymriah® et Yescarta®, et nous nous pencherons également sur les cellules CAR-T en développement. Enfin, nous discuterons des défis que ces thérapies prometteuses devront relever en termes de réglementation, fabrication, qualité, logistique, sécurité et d'accès au marché. Nous nous intéresserons aux perspectives d'avenir des cellules CAR-T face aux limites qu'elles rencontrent.

2. Généralités sur les cellules CAR-T

Les cellules CAR-T sont considérés comme des médicaments de thérapie innovante (MTI) d'après le règlement européen CE 1394/2007. Parmi les MTI, les cellules CAR-T appartiennent à la catégorie des médicaments de thérapie génique, qui est une sous-catégorie des MTI. En effet, les cellules CAR-T résultent de l'introduction d'une séquence d'ADN recombinant codant pour le récepteur antigénique chimérique.

2.1 Contexte réglementaire en Europe

2.1.1 Définitions

i. Médicament de thérapie innovante

D'après le règlement CE 1394/2007 (1), un médicament de thérapie innovante (MTI) est défini comme l'un des médicaments à usage humain suivants :

- « Un médicament de thérapie génique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,
- Un médicament de thérapie cellulaire somatique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,
- Un produit issu de l'ingénierie tissulaire,
- Un médicament combiné de thérapie innovante »

Comme spécifié plus haut, les cellules CAR-T appartiennent à la sous-catégorie des médicaments de thérapie génique.

ii. Médicament de thérapie génique

Les médicaments de thérapie génique sont définis dans la Directive 2001/83/CE (2) de la façon suivante :

« Par médicament de thérapie génique, on entend un médicament biologique qui a les caractéristiques suivantes :

- a) Il contient une substance active qui contient ou constitue un acide nucléique recombinant administré à des personnes en vue de réguler, de réparer, de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique ;

- b) Son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou au produit de l'expression génétique de cette séquence. »

2.1.2 Contexte

Les médicaments de thérapie innovante représentent une promesse de traitement pour des maladies lourdes et auparavant incurables, notamment les maladies génétiques. Entre 2009 et 2017, plus de 500 essais cliniques impliquant des médicaments de thérapie innovante ont été menés ce qui a conduit à 19 demandes d'autorisation de mise sur le marché à l'agence européenne du médicament (EMA, *European Medicines Agency*). Sur ces 19 demandes seules 10 ont abouti à des autorisations centralisées de mise sur le marché. Parmi celles-ci, trois compagnies ont par la suite retiré leurs licences et une a arrêté de commercialiser son produit, toutes pour des raisons commerciales. (3)

Le domaine européen des médicaments de thérapie innovante en est toujours à ses débuts et les développeurs rencontrent des défis à plusieurs niveaux. Ces derniers sont multifactoriels et représentent un mélange entre des aspects spécifiques aux médicaments de thérapie innovante et des aspects de développement plus généraux, tels que les indications orphelines, les nouvelles technologies et le manque d'expérience, ce qui ajoute de la complexité aux efforts de développement. (3)

Pour favoriser le développement et l'accès au marché de ces médicaments de thérapie innovante, l'EMA a mis en place des mesures permettant d'accompagner et de guider les développeurs.

2.1.3 Comités

i. Committee for Advanced Therapies (CAT)

Le CAT est un comité de l'agence européenne du médicament chargé d'évaluer la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments de thérapie innovante et de suivre les évolutions scientifiques dans le domaine. Il a été établi en accord avec le règlement CE n° 1394/2007 sur

les médicaments de thérapie innovante en tant que comité multidisciplinaire réunissant certains des meilleurs experts européens.

Son rôle principal est de préparer un projet d'avis pour chaque demande de mise sur le marché d'un médicament de thérapie innovante soumise à l'agence européenne du médicament, avant que le comité des médicaments à usage humain (CHMP, *Committee for Medicinal Products for Human Use*) n'adopte un avis final sur l'autorisation de mise sur le marché du médicament.

Le CAT participe également à la mise en place de procédures sur le suivi d'efficacité, la pharmacovigilance, les systèmes de management du risque pour les médicaments de thérapie innovante et fournit des recommandations scientifiques pour la classification des médicaments de thérapie innovante. Il conseille également le CHMP pour les médicaments de thérapie innovante nécessitant une expertise sur l'évaluation de sa qualité, de sa sécurité et de son efficacité (par exemple dans le cadre d'avis scientifique) et rédige les lignes directrices (« guidelines ») pour les développeurs concernant les médicaments qui sont de son ressort. (4)

ii. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)

Le CHMP est le comité de l'EMA chargé des médicaments à usage humain.

Le CHMP joue un rôle essentiel dans l'autorisation de mise sur le marché des médicaments dans l'Union européenne (UE) même si pour des médicaments de thérapie innovante, le CAT (cf plus haut) occupe un rôle clé. Dans la procédure centralisée décrite dans le règlement CE 726/2004, le CHMP est notamment responsable de procéder à l'évaluation initiale des demandes d'autorisation de mise sur le marché à l'échelle de l'Union Européenne ainsi que d'évaluer les modifications ou extensions d'une autorisation de mise sur le marché déjà existante.

Le CHMP évalue également les médicaments autorisés au niveau national pour une position harmonisée à travers l'Union Européenne. De plus, le CHMP et ses groupes de travail contribuent au développement des médicaments à usage humain et de la réglementation qui les encadre en :

- Fournissant des avis scientifiques aux entreprises qui recherchent et développent de nouveaux médicaments

- Elaborant des directives scientifiques et réglementaires pour aider les laboratoires pharmaceutiques à préparer des demandes d'autorisation de mise sur le marché pour des médicaments à usage humain
- Coopérant avec des partenaires internationaux pour l'harmonisation des exigences réglementaires.

Outre la mise en place de ces différents comités, l'EMA propose de fournir des aides au développement particulièrement intéressants pour des médicaments de thérapie innovante. (5)

2.1.4 Aides au développement

i. Classification des MTI

La recommandation scientifique sur la classification des MTI est une procédure facultative pour les demandeurs, qui implique le CAT.

Le but de cette procédure est de permettre aux demandeurs de clarifier, en cas de doute, la classification d'un produit donné à base de gènes, cellules ou tissus pour déterminer s'il répond aux critères scientifiques qui définissent les MTI, afin de répondre, dans les meilleurs délais, aux questions frontière avec d'autres domaines tels que les cosmétiques ou les dispositifs médicaux, qui peuvent survenir à mesure au cours du développement.

La demande de classification peut se faire avant de soumettre une demande d'avis scientifique, d'assistance au protocole (forme spéciale d'avis scientifique disponible pour les développeurs de médicaments orphelins), une évaluation de plan d'investigation pédiatrique (PIP), une désignation de médicament orphelin ou une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Dans les 60 jours calendaires suivant la réception d'une demande valide, le CAT remet sa «recommandation scientifique sur la classification du MTI» après consultation de la Commission européenne (CEu). L'EMA publiera également des résumés de cette recommandation, après suppression de toutes les informations de nature commerciale confidentielle. (6)

ii. Avis scientifique

Les avis scientifiques consistent en des recommandations formulées par le CHMP à l'EMA en réponse à des questions soulevées par un développeur. Ces questions peuvent porter par exemple sur les tests qualité du produit ; les études non cliniques les plus appropriées ou le développement clinique (design d'une ou plusieurs études). Cela a été mis en place dans le but de faciliter le développement et la disponibilité de médicaments de haute qualité, efficaces et d'une sécurité acceptable, dans l'intérêt des patients.

La demande d'avis scientifique à l'EMA peut être effectuée à n'importe quel moment du développement du médicament, que le médicament soit éligible à la procédure d'autorisation centralisée ou pas.

Les avis scientifiques aident à garantir que les développeurs effectuent les tests et études appropriés, de sorte qu'aucune objection majeure concernant les données disponibles et le développement du produit ne soit susceptible d'être soulevée lors de l'évaluation de la demande de mise sur le marché. Des objections majeures peuvent retarder considérablement la commercialisation d'un produit et, dans certains cas conduire à un refus de l'autorisation de mise sur le marché.

Les conseils sont donnés sur la base des connaissances scientifiques actuelles et de la documentation fournie par le développeur du médicament.

Les avis scientifiques sont de nature prospective. Ils se concentrent sur les stratégies de développement plutôt que sur la pré-évaluation des données pour appuyer une demande d'autorisation de mise sur le marché. De plus, ils ne sont juridiquement contraignant ni pour l'Agence ni pour le développeur du médicament en ce qui concerne les futures demandes d'autorisation de mise sur le marché du médicament en question. (7)

Il existe également des avis scientifiques au niveau national. C'est le cas en France avec la possibilité d'obtenir un avis scientifique de l'ANSM. L'avis scientifique au niveau national a la même vocation que la demande d'avis scientifique à l'échelle européenne. Néanmoins, la demande d'avis scientifique sera refusée :

- Si l'entreprise a déjà obtenu un avis scientifique de l'EMA (ou en a déjà fait la demande)

- Lorsque le rapporteur et le co-rapporteur pour la demande d'AMM ont déjà été désignés par le CHMP
- Pour un problème soulevé par l'ANSM dans le cas de l'évaluation d'une demande d'essai clinique ou d'une autorisation de mise sur le marché.

L'avis scientifique obtenu auprès de l'ANSM aide à l'identification de points importants qui seront discutés plus tard lors de l'avis européen. En outre, la personne référente de l'avis scientifique de l'ANSM peut demander à être l'un des deux coordinateurs de l'avis européen.
(8)

iii. Priority medicines (PRIME)

Le programme PRIME (priority medicines) est un programme lancé par l'EMA en mars 2016 pour renforcer son soutien au développement de médicaments ciblant des besoins médicaux non satisfaits. Ce programme volontaire repose sur une interaction renforcée et un dialogue précoce avec les développeurs de médicaments prometteurs afin d'optimiser les plans de développement et ainsi d'accélérer l'évaluation pour que les patients puissent bénéficier de ces médicaments pouvant améliorer de manière significative leur qualité de vie le plus tôt possible.

Le programme PRIME s'appuie sur le cadre réglementaire existant et sur les outils déjà disponibles tels que les avis scientifiques et l'évaluation accélérée. Cela signifie que les développeurs d'un médicament ayant bénéficié du PRIME peuvent espérer une évaluation accélérée au moment de la demande d'autorisation de mise sur le marché c'est-à-dire en 150 jours au lieu des 210 jours classiques.

Principaux avantages pour les candidats :

Une fois qu'un médicament candidat a été sélectionné pour le programme PRIME, l'EMA :

- Désigne un rapporteur du CAT dans le cas d'un médicament de thérapie innovante afin de fournir un soutien continu et d'aider à l'acquisition de connaissances sur le produit par l'agence avant la demande d'autorisation de mise sur le marché. Le rôle du rapporteur du CAT est de diriger l'évaluation de la candidature.

- Organise une réunion de lancement avec le rapporteur du CAT et un groupe d'experts multidisciplinaires afin qu'ils fournissent des orientations sur le plan de développement global et la stratégie de réglementation ;
- Assigne un point de contact à l'agence dédié ;
- Fournit des conseils scientifiques aux principales étapes du développement en impliquant d'autres parties telles que les organismes d'évaluation des technologies de la santé, afin de permettre aux patients d'accéder plus rapidement au nouveau traitement ;
- Confirme le potentiel d'évaluation accélérée lors d'une demande d'autorisation de mise sur le marché.

Critères d'éligibilité :

Le programme se concentre sur les médicaments qui peuvent offrir un avantage thérapeutique majeur par rapport aux traitements existants ou bénéficier aux patients sans option de traitement. Ces médicaments sont considérés comme des médicaments prioritaires par l'EMA.

Pour être accepté dans le programme PRIME, le médicament doit pouvoir montrer son potentiel de bénéfice clinique sur la base de données cliniques précoces. (9)

Therapeutic areas

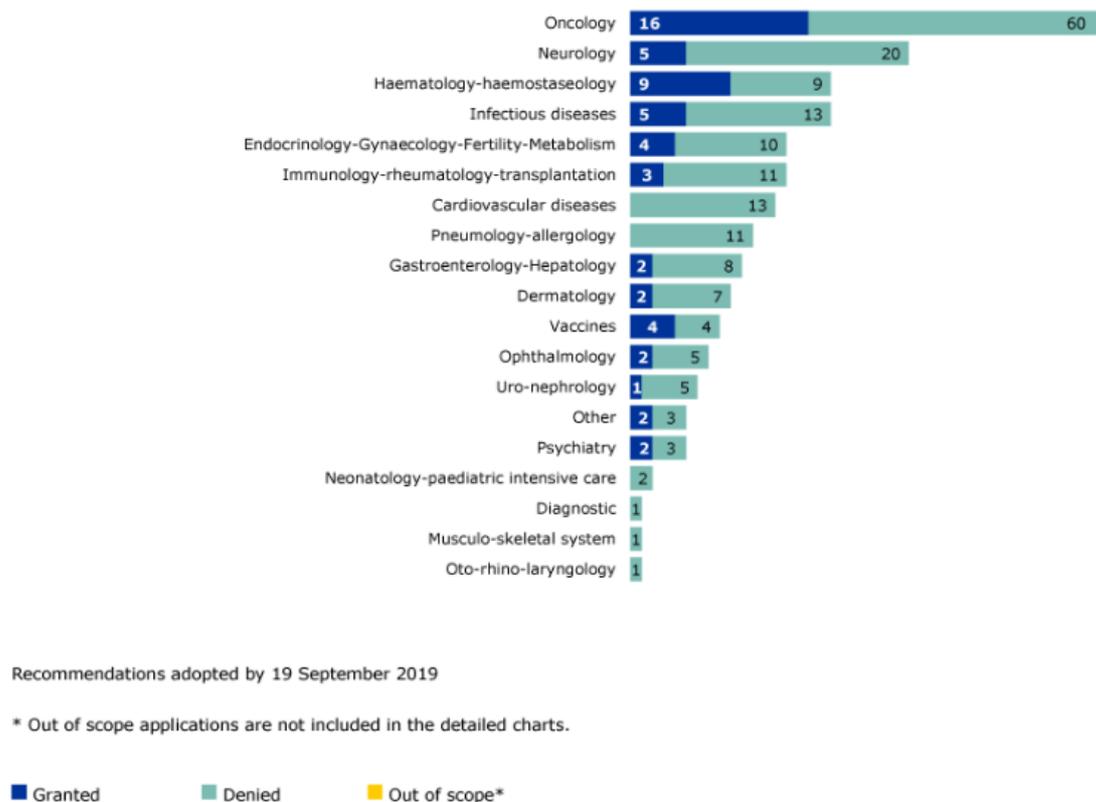


Figure 1 : Demandes d'éligibilité du programme PRIME en fonction des aires thérapeutiques (9)

L'hématologie est la deuxième aire thérapeutique après l'oncologie à bénéficier de programmes PRIME. De plus, elle présente le meilleur ratio de programmes acceptés par rapport au nombre de demandes. Cela démontre notamment un besoin important de traitement pour des niches thérapeutiques en hématologie et ceci passe actuellement par les cellules CAR-T.

iv. *Désignation orpheline*

Afin de faciliter et encourager le développement de médicaments qui ciblent des maladies rares – tels que les CAR-T- les promoteurs de médicaments dits « orphelins » bénéficient d'un certain nombre d'avantages dans l'Union Européenne.

Pour bénéficier du statut de médicament orphelin, une demande de désignation orpheline doit être soumise auprès de l'EMA. (10)

L'EMA est chargée d'examiner les demandes de désignation orpheline de la part des promoteurs. Pour pouvoir bénéficier de la désignation orpheline un médicament doit répondre à un certain nombre de critères :

- Il doit être destiné au traitement, à la prévention ou au diagnostic d'une maladie mortelle ou chroniquement invalidante ;
- La prévalence de la maladie dans l'Union Européenne ne doit pas dépasser 5 pour 10000 habitants ou alors, la probabilité que la commercialisation du médicament génère des retours suffisants pour justifier les investissements nécessaires à son développement doit être faible ;
- Il n'existe pas de méthode satisfaisante de diagnostic, de prévention ou de traitement de la maladie, ou si une telle méthode existe, le médicament doit présenter un avantage significatif pour les personnes touchées par l'affection.

Les demandes de désignation orpheline sont examinées par le comité des médicaments orphelins (COMP, *Committee for Orphan Medicinal Products*) de l'EMA, à l'aide du réseau d'experts que le comité a constitué. Le processus d'évaluation prend maximum 90 jours à compter de la date de validation.

Les promoteurs qui obtiennent une désignation orpheline bénéficient de l'assistance à la rédaction du protocole, d'avis scientifiques spécifiques aux médicaments orphelins et de l'exclusivité commerciale une fois le médicament commercialisé. Des réductions de frais sont également disponibles en fonction du statut du promoteur et du type de service requis.

Une fois la désignation orpheline octroyée, les promoteurs doivent soumettre à l'Agence un rapport annuel résumant l'état d'avancement de développement du médicament.

Au moment de l'autorisation de mise sur le marché, les promoteurs doivent également soumettre une demande de maintien de la désignation orpheline pour pouvoir bénéficier de l'avantage d'exclusivité du marché d'une durée de dix ans. (10)

Les cellules CAR-T sont des MTI et plus précisément des médicaments de thérapie génique. En effet, les cellules T sont modifiées génétiquement pour qu'elles expriment un récepteur antigénique chimérique (CAR, *Chimeric Antigen Receptor*).

2.2 CAR

La technique du CAR, qui a suscité un grand intérêt dans l'immunothérapie pour les tumeurs, est une méthode de modification de la spécificité des lymphocytes T pour qu'ils ciblent les cellules cancéreuses. Le CAR a été développé pour la première fois dans les années 80. (11)

2.2.1 Structure

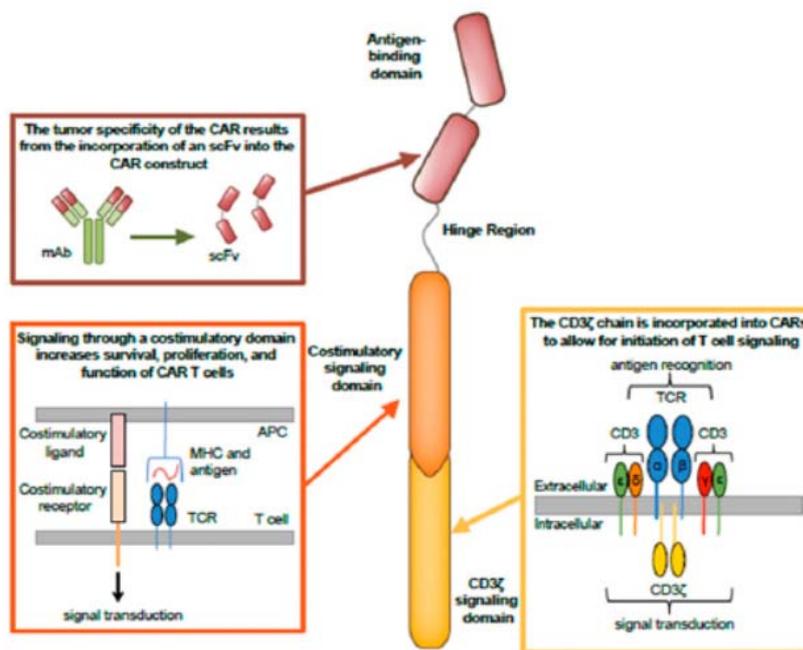


Figure 2 : Structure du CAR (12)

Le CAR combine un fragment d'anticorps avec des domaines de signalisation intracellulaire, générant une seule protéine chimérique. La thérapie par les cellules CAR-T combine la spécificité d'un anticorps avec les fonctions cytotoxiques et les fonctions mémoire des lymphocytes T. La spécificité du CAR provient du domaine extracellulaire, dérivé du site de liaison à l'antigène d'un anticorps monoclonal. Un fragment variable à chaîne unique (scFv, *single-chain variable fragment*) est généré en liant les chaînes lourde et légère de la région variable. Un lieu peptidique flexible est inclus, et ce domaine extracellulaire est fusionné à un domaine intracellulaire via une séquence transmembranaire. Le domaine intracellulaire reproduit la série normale d'événements par lesquels les cellules T sont activées. Les

modifications répétées du domaine intracellulaire ont conduit à la mise au point de CAR de différentes générations. (12)

2.2.2 Les différentes générations de CAR

i. Première génération

Les CAR de première génération ne comprennent que le domaine de signalisation de la chaîne CD3 ζ et les domaines de reconnaissance de l'antigène du récepteur des cellules T (TCR, *T cell Receptor*). (12)

L'utilisation des CARs de première génération dans les essais cliniques pour le traitement de certains lymphomes et cancers ovariens a montré une efficacité modeste, principalement à cause d'une faible persistance des cellules *in vivo*. (12)

ii. Deuxième génération

La seconde génération de CAR a été développée pour incorporer des domaines de costimulation comme le CD-28 ou le 4-1BB (CD137) au domaine de stimulation CD3 ζ cytoplasmique pour augmenter la survie et la prolifération des cellules CAR-T, la sécrétion de cytokines et la résistance à l'apoptose dans le but d'augmenter l'activité antitumorale. (12,13)

Le signal de costimulation le mieux caractérisé est l'interaction entre le CD-28 et le ligand de costimulation B7 (B7-1 ou B7-2) présent à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). La costimulation CD28-B7-1/2 active l'expansion clonale et la différenciation des cellules T activées.

Un autre signal de costimulation est l'interaction entre le ligand 4-1BB qui est exprimé sur les cellules dendritiques activées, sur les macrophages et sur les lymphocytes B avec le 4-1BB (CD137) exprimé sur les lymphocytes T.

Kymriah® et Yescarta®, les deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché, possèdent des CAR de deuxième génération.

iii. *Troisième génération*

Les CARs de troisième génération présentent au moins deux signaux de costimulation (CD28, 4-1BB, OX40, CD27...) liés au domaine de stimulation CD3 ζ cytoplasmique. Cette troisième génération de CAR a montré une amélioration des fonctions effectrices des cellules CAR-T et de leur persistance in vivo. (12,13)

iv. *Quatrième génération*

Les CARs de quatrième génération aussi appelés « TRUCKs » or « armored CARs » associent l'expression d'un CAR de deuxième génération à des facteurs renforçant l'efficacité antitumorale, tels que les cytokines, les ligands de costimulation ou les enzymes dégradant la matrice extracellulaire des tumeurs solides. Cette quatrième génération de CAR est actuellement testée dans les essais cliniques. (13)

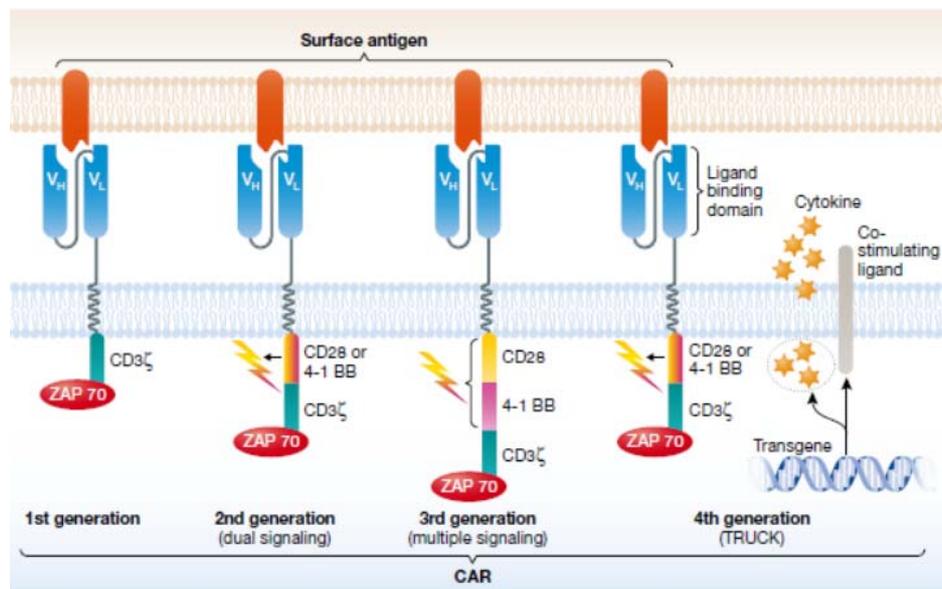


Figure 3 : Représentation schématique des 4 générations de CAR (13)

Tableau 1 : Résumé et comparaison des 4 générations de CAR (14)

Table 1
Summary and comparison of four generations of CAR-T therapy

CAR generations	Signal domain	Target antigen	Associated diseases	Profile
1st				
	CD3 ζ	TAG72	Metastatic colorectal cancer	Limited persistence
	CD3 ζ	FR α	Ovarian cancer	Limited persistence
	CD3 ζ	L1-CAM	Metastatic neuroblastoma	Limited persistence
2nd				
	CD3 ζ + CD28/CD137 (41BB)	CD19	B cell lymphomas	Enhanced expansion, persistence and anti-tumor effect
	CD3 ζ + 41BB(CD137)	IL13R α 2	GBM	Improved anti-tumor activity and T cell persistence
	CD3 ζ + 41BB (CD137)	FR α	Ovarian cancer	Augmented cytokine secretion and proliferation
3rd				
	CD3 ζ + CD28 + 41BB(CD137)	CD19	ALL	Superior activation and proliferation capacity
	CD3 ζ + CD28 + 41BB(CD137)	PMSA	-	Promoted cytokine release, T-cell survival and tumor elimination
	CD3 ζ + CD28 + CD137 (41BB)	Mesothelin	Mesothelioma	Prolonged persistence
	CD3 ζ + CD28 + 41BB(CD137)	CD22	ALL	Inferior antileukemic activity
4th				
	CD3 ζ + iL-12+ co-stimulator	CEA	CEA' tumors	Improved antitumor efficacy

TAG72 tumor-associated glycoprotein 72, CEA carcinoembryonic antigen, IL13R α 2 IL-13 receptor- α , L1-CAM L1-cell adhesion molecule, PSMA prostate-specific men

2.3 Circuit de production des cellules CAR-T

En tant que médicaments, les cellules CAR-T sont soumises à des contraintes de qualité notamment de contrôle, de libération de lots ainsi qu'à une production selon les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

Les cellules CAR-T doivent donc être produites conformément aux BPF. Les BPF décrivent la norme minimale qu'un fabricant de médicaments doit respecter dans ses processus de production. L'EMA coordonne les inspections pour vérifier la conformité à ces normes et joue un rôle clé dans l'harmonisation des activités BPF au niveau de l'Union européenne. Les réglementations BPF fournissent un système par lequel les cellules seront produites dans des conditions contrôlées, vérifiables et reproductibles.

La fabrication des cellules CAR-T est aujourd'hui largement centralisée et est majoritairement réalisée aux Etats-Unis.

Néanmoins, Novartis et Gilead ont récemment acquis ou construit des unités de production en Europe pour compléter leurs sites de production aux Etats-Unis, respectivement à Morris Plains et El Segundo. Novartis a donc inauguré un site à Stein en Suisse en novembre 2019 (15) et a racheté CELLforCURE filiale du groupe pharmaceutique LFB aux Ulis, en France en 2018 (16,17). Gilead a choisi de s'implanter à Amsterdam à proximité de l'aéroport en 2018 (18).

Pour produire des cellules CAR-T, des lymphocytes T provenant du patient (autologues) ou d'un donneur (allogéniques) sont modifiés ex vivo pour leur faire exprimer un CAR.

La production de cellules CAR-T autologues peut être réalisée selon différents processus. Néanmoins, il existe des étapes communes à ces différents procédés de fabrication. Dans un premier temps, les leucocytes du patient sont isolés par leucaphérèse et sont lavés. Ensuite, les cellules T sont activées, c'est-à-dire transduites avec le CAR transgène : on introduit la séquence désirée à l'aide d'un vecteur, puis passent par une phase d'expansion pour atteindre le nombre de cellules requis et passent finalement par une étape de formulation et de remplissage. (19)

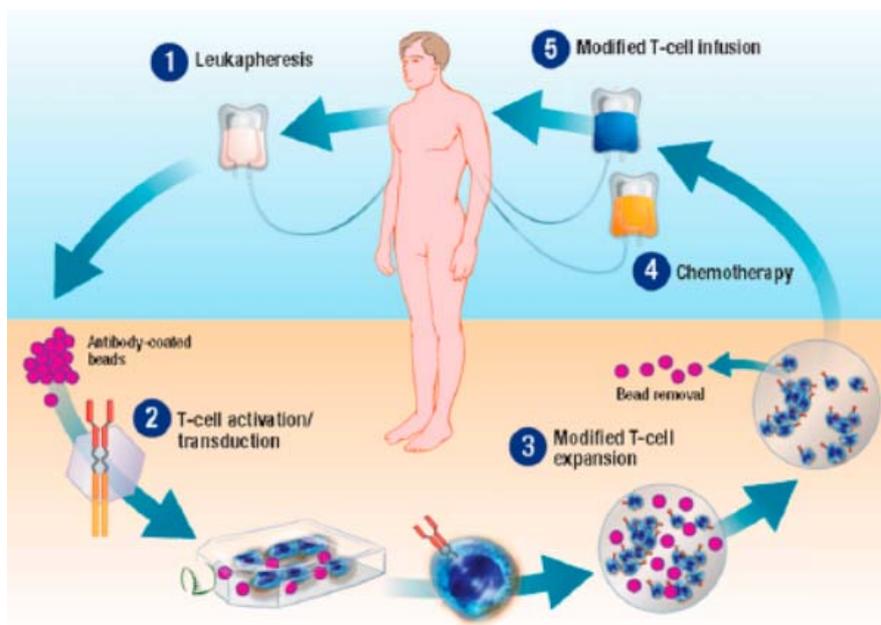


Figure 4 : Les différentes étapes de la production des cellules CAR-T (12)

2.3.1 Leucaphérèse et lavage des cellules

Cette première étape consiste à séparer les leucocytes du patient du sang total par aphérèse. Les différents constituants sont séparés en fonction de leur densité par centrifugation.

Les hématies, les plaquettes et les anticoagulants ajoutés ou collectés lors de l'aphérèse représentent des potentielles contaminations et sont éliminés lors de la phase de lavage. En effet, les anticoagulants peuvent altérer le comportement des cellules durant la phase d'activation, les hématies peuvent influencer l'efficacité clinique tandis les plaquettes peuvent entraîner l'agglutination des cellules. Pour le lavage, une centrifugation en gradient de densité au Ficoll ou un laveur de cellules automatisé sont utilisés. Après le lavage, les cellules sont soit directement utilisées pour poursuivre la production des cellules CAR-T soit congelées pour mettre en attente la production. (19)

2.3.2 Enrichissement et appauvrissement

Il est possible d'enrichir ou d'appauvrir des sous-ensembles de cellules spécifiques en utilisant des anticorps liés à des billes paramagnétiques. Ces billes magnétiques sont des particules d'oxyde de fer incorporées dans une matrice de résine époxy d'un diamètre de 0,5 μm . Elles sont commercialisées avec divers groupes activés tels que les groupes amine, carboxyle ou

encore aldéhyde pour permettre d'augmenter la fixation des anticorps. La récupération de la bille se fait à l'aide d'un aimant. Certains centres enrichissent les leucocytes avec des cellules CD4⁺ (lymphocyte T auxiliaire, *T helper*) et CD8⁺ (lymphocyte T cytotoxique) dans le but d'infuser un produit avec un ratio CD8⁺/CD4⁺ défini. D'autres solutions consistent à enrichir les leucocytes avec des lymphocytes T à mémoire (CD62L⁺) ou encore à réaliser une déplétion de cellules NK qui ralentissent la culture des cellules T en ajoutant des billes magnétiques CD56⁺. (19)

2.3.3 Activation des cellules T

In vivo, les cellules T naïves prolifèrent et se différencient à la suite du contact avec des cellules présentatrices d'antigène (CPA) telles que les cellules dendritiques. Les cellules T sont activées par des interactions entre le TCR et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) situé à la surface des cellules dendritiques ainsi que par des molécules de co-stimulation comme CD28, 4-1BB et OX-40. Pour éviter la lourdeur de ce procédé de co-stimulation avec les cellules dendritiques, plusieurs méthodes imitant la stimulation naturelle ont été développées et utilisées. (1)

i. Anticorps monoclonaux et interleukines

L'approche commune consiste à ajouter OKT3 (anticorps monoclonal anti-CD3) et de l'interleukine (IL) 2. Néanmoins, l'utilisation d'IL-2 en concentration excessive peut conduire à l'épuisement des cellules T et entraîner une apoptose rapide. Le remplacement de l'IL-2 par de l'IL-7 et de l'IL-15 abouti à un plus haut pourcentage de cellules mémoire. (19)

ii. Billes magnétiques couplées à l'anticorps anti-CD3/CD28

Cette association de billes magnétiques couplées avec l'anticorps anti-CD3/CD28 a montré une production de cytokines entre dix et cent fois supérieure à la méthode utilisant l'association anticorps anti-CD3 et IL-2. Les billes électromagnétiques ont un diamètre de 4,5 µm et sont éliminés facilement en utilisant un électro-aimant laissant moins de 100 billes résiduelles pour 3x10⁶ cellules à la fin de la production. De plus, l'activation des cellules avec cette association permet l'obtention d'une population de cellules T moins appauvrie et donc plus persistante qu'avec l'association anticorps anti-CD3et IL-2. (19)

iii. Cellules présentatrices d'antigènes artificielles

Dans certaines études récentes, des cellules T ont été activées par des cellules présentatrices d'antigène non-viable, telles que les lignées cellulaires K562 co-exprimant les molécules stimulantes souhaitées et un antigène associé à la tumeur. (19)

La méthode la plus utilisée pour l'activation des cellules T est l'association des billes magnétiques couplées à l'anticorps anti-CD3/CD28. Elle a été utilisée dans 626 sur 952 essais reportés entre 2002 et 2017. L'association anticorps monoclonaux anti-CD3/CD28 et IL-2 est la deuxième plus utilisée, 279 sur 952 essais. C'est la méthode qui a été utilisée pour l'activation des cellules T de Yescarta® du laboratoire Gilead récemment approuvé en Europe. (19)

2.3.4 Transfert de gènes

Le transfert des gènes dans les lymphocytes T sélectionnés (comme dans tout autre type cellulaire) peut être réalisé par des méthodes virales et non-virales. Dans le cas des cellules CAR-T, l'électroporation d'ADN nu, des systèmes transposon/transposases à base de plasmides et de vecteurs viraux, principalement des lentivirus et des rétrovirus sont utilisés. (19)

i. Transduction virale

Un transfert de gène par un vecteur rétroviral ou lentiviral possède une efficacité de transduction élevée (entre 4 et 70%) mais est nettement plus coûteux que la transfection plasmidique. Une haute efficacité dans la transduction utilisant des rétrovirus ou des lentivirus nécessite l'activation des cellules T. La prolifération des cellules T est essentielle pour une transduction efficace surtout pour les rétrovirus qui ne transduisent que des cellules en division. Les vecteurs lentiviraux sont les plus utilisés car la transduction peut être réalisée même si les cellules ne se divisent pas. La transduction virale représente toujours un risque car les vecteurs rétroviraux et lentiviraux s'intègre dans le génome des cellules hôtes. Un autre risque mis en évidence est l'insertion du vecteur dans une région proto-oncogénique du génome déclenchant une cascade conduisant à l'apparition d'une tumeur, on parle alors de mutagenèse insertionnelle. Néanmoins, à ce jour, aucun cas n'a été reporté pour des thérapie avec des cellules CAR-T. (19)

Il existe des vecteurs dits « non-intégratifs », c'est-à-dire que le gène thérapeutique est présent dans la cellule mais ne s'intègre pas au génome de l'hôte. Par conséquent, le gène ne s'exprime que le temps de la durée de vie de la cellule. Cette méthode transitoire, nécessitant un renouvellement régulier du traitement, ne semble pas adaptée à la production des cellules CAR-T.

ii. Transfert de gènes par des plasmides

L'utilisation d'un système transposon / transposase pour le transfert du gène CAR est une approche relativement nouvelle. Le transgène CAR peut être inséré dans une séquence transposon dans un plasmide avec la transposase codée soit dans le transposon soit séparément. Les plasmides sont électroporés dans les cellules T avant l'activation, puis la transposase excise le transposon contenant le CAR et insère la séquence dans le génome des cellules T. L'utilisation d'un système de transposon augmente l'efficacité de l'intégration des gènes par rapport à l'électroporation de l'ADN nu, donnant des rendements plus proches de ceux de la transduction virale.

Le système de transposon / transposase Sleeping Beauty (SB) est utilisé pour produire des cellules CAR-T. Cette méthode de transfert de gènes élimine la nécessité de générer un vecteur viral de qualité clinique et est comparativement peu coûteuse. L'inconvénient majeur de cette méthode par rapport à une transduction virale est que le nombre de cellules requis doit être supérieur d'où un temps de production plus élevé. Il est important de noter que, comme dans le cas d'une transduction virale, l'insertion du gène peut entraîner une mutagenèse insertionnelle. (19)

La transduction virale est la méthode la plus utilisée pour la production des cellules CAR-T, avec une utilisation de la transduction lentivirale légèrement supérieure à celle de la transduction rétrovirale. Avec les deux méthodes, des produits sûrs et efficaces peuvent être générés avec une efficacité de transduction élevée, mais ils sont quelque peu coûteux. Les premières études avec une simple transfection d'ADN plasmidique ont donné des résultats cliniques moins impressionnants. Des méthodes basées sur un système transposon / transposase ont été introduites plus récemment et les résultats prometteurs doivent être confirmés. S'il peut être prouvé qu'il est possible de créer un produit sûr et efficace en utilisant cette voie, cette approche deviendrait particulièrement intéressante pour la production de cellules CAR-T, le

transfert de gène basé sur le système transposon / transposase offrant des avantages économiques importants par rapport à la transduction virale. (19)

2.3.5 Croissance des cellules

i. Flacon de culture cellulaire et poche de culture cellulaire

Lors de la croissance des cellules T transduites ou transfectées, le volume de culture est modifié. Cette croissance nécessite l'utilisation de récipients de volume de plus en plus important ou un plus grand nombre de récipients. De plus, la croissance des cellules requiert une main d'œuvre qualifiée pour réaliser les changements fréquents de milieux de culture dans un environnement de biosécurité adéquat. L'utilisation de plaques ou de flacons de culture cellulaire ne convient pas à la fabrication à grande échelle car elle implique un nombre important de manipulations à l'air libre qui ne sont acceptables pour des normes industrielles. Les poches de culture cellulaire sont couramment utilisées pour la croissance cellulaire et peuvent être reliées par des tubes de manière stérile, ce qui minimise les interactions de manipulation. Ces poches sont faciles à utiliser et conviennent mieux à la production des cellules CAR-T que les flacons et les plaques dans la mesure où elles nécessitent moins de manipulation et sont par conséquent plus sûres. (19)

ii. Bioréacteur à mouvements oscillants

Cette technique minimise les interactions avec le milieu extérieur. En effet, le bioréacteur permet l'application d'un régime de perfusion du milieu. Cette perfusion permet l'élimination des substances inhibant la croissance des cellules et garantit le maintien d'une quantité constante de nutriments. L'utilisation d'un bioréacteur réduit l'intensité du travail de 33% et la consommation du milieu de 50% et a montré que son utilisation permettait d'obtenir un produit final contenant plus de cellules CD4+ donc un ratio produit/impuretés meilleur. Le passage à grande échelle avec ce type de réacteur reste toutefois un défi et une défaillance mécanique du dispositif à bascule peut entraîner une défaillance du lot. (19)

Les méthodes du processus de croissance des cellules T peuvent être divisées en trois approches. 147 études sur 679 ont utilisé des plaques ou des flacons de culture cellulaire. Cette méthode nécessite des opérateurs qualifiés et ne peut être réalisée que pour des petites cohortes

de patients. 237 études ont utilisé des poches de culture cellulaire soit directement dès le début de la croissance cellulaire soit après un passage par plaque ou flacon. La troisième et dernière approche consiste en l'utilisation d'un bioréacteur après passage des cellules sur plaques ou flacons. Cette méthode a été utilisée pour 295 études, principalement dans le cas d'importantes cohortes de patients.

2.3.6 Conditionnement

Le conditionnement est une étape cruciale de la fabrication des cellules CAR-T car elle survient à la fin de la production du produit. Cette étape nécessite une attention particulière car toute erreur à ce stade, notamment une contamination, peut aboutir à la perte d'un produit extrêmement coûteux. En raison d'un besoin en équipements spécialisés nécessitant une expertise particulière, cette étape est souvent externalisée. (20)

Elle consiste en un remplissage d'un volume déterminé de cellules CAR-T, puis le scellage d'une ou plusieurs poches dans des conditions aseptiques. Ce processus de remplissage nécessite une coordination étroite et des interactions complexes entre le personnel, le produit stérilisé, le système d'équipement de remplissage, les salles blanches et les récipients stériles. (21)

2.3.7 Cryoconservation

La cryoconservation des cellules CAR-T avant la perfusion est une pratique courante. Elle permet notamment une planification flexible de l'infusion au patient et du temps nécessaire pour effectuer les tests de contrôle de qualité requis pour l'examen et la libération du produit par la personne qualifiée. Cette étape est cruciale car une cryoconservation sous-optimale peut entraîner une réduction du nombre de cellules, une altération de la viabilité et du fonctionnement cellulaire. La plupart des sites de production de cellules CAR-T utilisent des méthodes de cryoconservation développées pour les cellules hématopoïétiques, c'est-à-dire, la remise en suspension dans un tampon isotonique contenant 10% de diméthylsulfoxyde (DMSO) puis le transfert dans un congélateur à taux contrôlé ou le stockage à plus long terme dans de l'azote liquide. (22)

2.3.8 Retour du produit et administration au patient

Le produit est finalement renvoyé à l'hôpital dans lequel le patient est hospitalisé sous forme d'une dispersion congelée de lymphocytes T. Le produit sera administré après décongélation et après que le patient ait subi la chimiothérapie lymphodéplétive prévue.

Ce processus de fabrication qui a une durée de 20-30 jours comprend un nombre important d'étapes et chaque étape représente une potentielle source de contamination. De plus, il arrive que le patient se trouve en Europe et que les lymphocytes prélevés doivent traverser l'Atlantique pour être génétiquement modifiés aux Etats-Unis puis renvoyés auprès du patient. Cela implique une logistique et un suivi importants tout au long du circuit de production des cellules CAR-T.

A ce jour, les deux thérapies commercialisées à base de cellules CAR-T ciblent le CD19. Nous allons voir pourquoi cet antigène a rapidement été considéré comme une cible intéressante dans le développement et la production de cellules CAR-T.

3. Etat des lieux

Les essais cliniques impliquant des cellules CAR-T se sont rapidement orientés vers le traitement des tumeurs à cellules B. En effet, les tumeurs à cellules B représentent une cible intéressante pour les cellules CAR-T car elles expriment des molécules spécifiques de la lignée des cellules B (CD19, CD20 et CD22) qui ne sont pas exprimés sur d'autres tissus. (23)

Le CD19 est une cible très intéressante car présente à la surface des lymphocytes B et des précurseurs et retrouvé dans une très grande proportion de LAL-B en pédiatrie mais également dans le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) et de lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B (LMPGCB). Le CD19 peut également être retrouvé dans certains cancers du poumon, de la prostate et du sein. De surcroît, le CD19 n'est pas présent sur les cellules souches hématopoïétiques. L'expression du CD19 est donc réduite à une lignée cellulaire. (24)

Un effet indésirable attendu du ciblage du CD19 est une élimination des cellules B CD19+ saines. La perte transitoire, voire prolongée, de ces cellules B peut être gérée cliniquement. Cependant, la conception de vecteurs permettant l'élimination des cellules CAR-T et le rétablissement du nombre de cellules B sont efficaces sur des modèles animaux et pourraient être appliqués chez les patients qui obtiennent une rémission durable et dont les cellules CAR-T sont persistantes.

Aujourd'hui, les deux cellules CAR-T sur le marché, Yescarta® et Kymriah®, ciblent le CD19.

3.1 Cellules CAR-T approuvées en Europe

3.1.1 Généralités

A la date de soumission de cette thèse, deux thérapies à base de cellules CAR-T ont été approuvées en Europe.

Kymriah® est une thérapie génique commercialisée par le laboratoire Novartis. Elle correspond à des lymphocytes T autologues génétiquement modifiés ex vivo au moyen d'un vecteur lentiviral codant pour un CAR anti-CD19 tandis que Yescarta® est la propriété du laboratoire Gilead. Cette thérapie génique correspond également à des cellules T autologues génétiquement modifiées ex vivo par transduction rétrovirale pour faire exprimer un CAR aux cellules dirigées contre le CD19.

Les lymphocytes T modifiés sont ensuite réinjectés au patient en une administration unique.

Tableau 2 : Informations générales sur les deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché (25–27)

	Kymriah®	Yescarta®
Date AMM	23 Août 2018 (procédure centralisée)	23 Août 2018 (procédure centralisée)
Laboratoire	Novartis	Kite/Gilead
DCI	Tisagenlecleucel	Axicabtagène ciloleucel
Indication(s)	<ul style="list-style-type: none"> • Enfants et jeunes adultes jusqu'à 25 ans atteints de LAL à cellules B réfractaire, en rechute après greffe ou après la deuxième rechute ou plus. • Adultes atteints de LDGCB en rechute ou réfractaire après la deuxième ligne ou plus d'un traitement systémique. 	<ul style="list-style-type: none"> • Adultes atteints de LDGCB et de (LMPGCB réfractaire ou en rechute, après au moins deux lignes de traitement systémique.
Population	<ul style="list-style-type: none"> • LAL : 3-25 ans • LDGCB : adulte 	<ul style="list-style-type: none"> • LDGCB/LMPGCB : adulte
Mécanisme d'action	Kymriah® est une thérapie anticancéreuse immunocellulaire autologue impliquant la reprogrammation des lymphocytes T du patient à l'aide d'un transgène codant pour un CAR, afin d'identifier et d'éliminer les cellules exprimant le CD19. Le CAR est constitué d'un fragment d'anticorps murin à chaîne unique qui reconnaît le CD19 et est fusionné aux domaines de signalisation intracellulaire de 4-1BB (CD137) et CD3 zêta. Le composant CD3 zêta est essentiel pour initier l'activation des lymphocytes T et l'activité anti-	Yescarta®, un produit d'immunothérapie constitué de cellules T autologues génétiquement modifiées, se lie aux cellules cancéreuses et aux lymphocytes B normaux exprimant le CD19. Suite à la liaison des cellules CAR T anti-CD19 avec les cellules cibles exprimant le CD19, les domaines de co-stimulation CD28 et CD3-zêta activent la cascade de signalisation qui conduit à l'activation, la prolifération, à l'acquisition de fonctions effectrices et à la sécrétion des cytokines et des chimiokines inflammatoires. Cette cascade d'événements conduit à l'apoptose

	tumorale, tandis que le 4-1BB favorise l'expansion et la persistance de tisagenlecleucel. Lors de la liaison aux cellules exprimant le CD19, le CAR transmet un signal favorisant l'expansion des lymphocytes T et la persistance de tisagenlecleucel.	et à la nécrose des cellules cibles exprimant le CD19.
Posologie	<p>LAL à cellules B :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Patients de 50 kg et moins : $0,2$ à 5×10^6 lymphocytes T viables porteurs d'un CAR/kg de poids corporel • Patients de plus de 50 kg : $0,1$ à $2,5 \times 10^8$ lymphocytes T viables porteurs d'un CAR (indépendamment du poids) <p>LDGCB :</p> <ul style="list-style-type: none"> • De $0,6$ à 6×10^8 lymphocytes T viables porteurs d'un CAR (indépendamment du poids) 	2×10^6 cellules viables porteuses du CAR/kg de poids corporel (ou maximum 2×10^8 cellules viables porteuses du CAR pour les patients d'un poids ≥ 100 kg)
Conditions de prescription et de délivrance / statut particulier	<p>Médicament réservé à l'usage hospitalier.</p> <p>Prescription réservée aux spécialistes en hématologie ou aux médecins compétents en maladie du sang.</p> <p>Médicament nécessitant une surveillance particulière pendant le traitement et devant être administré dans un établissement de santé qualifié.</p>	

3.1.2 Aides au développement

Avant la demande d'AMM, ces deux thérapies ont bénéficié de certaines aides au développement détaillées dans la partie 2.1.4. Ces aides ont permis de faciliter le développement et la disponibilité de ces produits. Les développeurs ont de plus, bénéficié d'incitations pour le développement de ces thérapies.

Tableau 3 : Aides au développement par l'EMA dont ont bénéficié les deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché (25)

	Kymriah®	Yescarta®
Désignation PRIME	23 Juin 2016	26 Mai 2016
Avis scientifique	Sur la qualité et les aspects cliniques et non-cliniques en 2014, 2016 et 2017	Sur la qualité et les aspects cliniques et non-cliniques en 2015 et 2017
Désignation orpheline	<ul style="list-style-type: none"> • 2014 : LAL • 2016 : lymphome anaplasique à grandes cellules 	<ul style="list-style-type: none"> • 2014 : LDGCB • 2015 : LAL, leucémie lymphoïde chronique, LMPGCB, lymphome folliculaire
PIP	En 2015 : LAL 2017 : lymphome anaplasique à grandes cellules	En 2017

Les développeurs ont très certainement également contacté des agences nationales dans le but d'obtenir des avis scientifiques. Cependant, cette information n'étant pas publique il est impossible d'apporter plus de précisions.

Le fait que ces deux produits aient obtenu la désignation PRIME souligne que l'EMA les voyait déjà en 2016 – date de lancement du programme PRIME – comme très prometteurs.

3.1.3 Engagements post-AMM

Les développeurs de ces deux thérapies se sont engagés à réaliser des études de sécurité et de sécurité à long terme post-AMM. En effet, les données issues des essais cliniques le sont dans une période de temps relativement courte. Il est donc nécessaire de pouvoir évaluer la sécurité et la tolérance de ces produits en vie réelle.

i. Kymriah®

Tableau 4 : Engagements post-AMM pour Kymriah® (28)

Description	Date

<p>Étude de sécurité post-autorisation non interventionnelle : Afin de caractériser de manière plus approfondie la sécurité – incluant la sécurité à long terme – de Kymriah®, le demandeur devra conduire et soumettre une étude de recueil de données issues d'un registre de maladie pour les patients atteints de LAL et LDGCB.</p>	<p>Rapports mis à jour : Rapports de sécurité annuels et rapports intermédiaires tous les 5 ans</p> <p>Rapport final des résultats de l'étude : Décembre 2038</p>
<p>Étude d'efficacité post-autorisation : Afin d'évaluer de manière plus approfondie l'efficacité et la sécurité de Kymriah® chez les patients LAL âgés de moins de 3 ans, le demandeur devra conduire et soumettre une étude de recueil de données issues d'un registre de maladie pour les patients atteints de LAL.</p>	<p>Rapports mis à jour : Partie incluse dans les rapports annuels de l'étude de sécurité post-autorisation non interventionnelle</p> <p>Rapport final: Décembre 2023</p>
<p>Étude d'efficacité post-autorisation : Afin d'évaluer l'efficacité de Kymriah® chez les patients avec un LDGCB en rechute/réfractaire, le demandeur devra conduire et soumettre une étude prospective observationnelle chez des patients avec un LDGCB r/r de recueil de données issues d'un registre comprenant la mesure des résultats d'efficacité en adéquation avec l'étude C2201, et en incluant les détails des délais de fabrication (c-à-d le délai depuis la dernière rechute ou de la confirmation du statut réfractaire, le délai depuis la décision de traiter, et le délai entre la leucaphérèse et la perfusion).</p>	<p>Juin 2022</p>
<p>Étude d'efficacité post-autorisation : Afin de caractériser de manière plus approfondie l'efficacité et la sécurité à long terme de Kymriah® dans le LDGCB en rechute/réfractaire, le demandeur devra soumettre le suivi des patients inclus dans l'étude de cohorte principale pendant 24 mois et le suivi de tous les patients perfusés de l'étude C2201 pendant 24 mois. De plus, le demandeur devra soumettre le rapport d'étude clinique final qui inclut les 5 ans de suivi.</p>	<p>Rapports mis à jour : Septembre 2019, Novembre 2020</p> <p>Rapport d'étude clinique final : Août 2023</p>
<p>Étude d'efficacité post-autorisation : Afin de caractériser de manière plus approfondie l'efficacité et la sécurité à long terme de Kymriah® dans le LDGCB en rechute/réfractaire, le demandeur devra soumettre les résultats de l'étude CCTL019H2301 – étude de phase III, en ouvert, évaluant Kymriah® <i>versus</i> soins standards chez les patients adultes atteints de lymphome non-Hodgkinien (LNH) à cellules B agressif en rechute ou réfractaire.</p>	<p>Juin 2022</p>

ii. *Yescarta*®Tableau 5 : Engagements post-AMM pour *Yescarta*® (29)

Description	Date
Étude de sécurité post-autorisation non interventionnelle : afin d'évaluer le profil de sécurité, y compris la sécurité à long terme chez les patients atteints de tumeurs malignes des lymphocytes B traités par axicabtagene ciloleucel dans le cadre de la surveillance après mise sur le marché, le demandeur doit réaliser et soumettre une étude basée sur un registre.	<ul style="list-style-type: none"> - Rapports actualisés : rapports de sécurité annuels et rapports intermédiaires à 5 ans - Rapport final des résultats de l'étude : décembre 2038

3.1.4 Résultats cliniquesi. *Kymriah*®

Les résultats des essais cliniques démontrent la supériorité du tisagenlecleucel par rapport aux traitements de rattrapage actuellement disponibles (blinatumomab, chimiothérapie clofarabine + étoposide + cyclophosphamide (CEC), clofarabine en monothérapie, autres chimiothérapies de rattrapage), que ce soit sur la survie globale, sur la survie sans rechute et sur la réponse au traitement (rémission globale). (28)

En effet, pour la survie globale, les résultats obtenus sont les suivants :

- Un hazard ratio (HR) versus blinatumomab compris entre 0,235 et 0,512 ($p < 0,192$)
- Un HR versus CEC compris entre 0,313 et 0,390 ($p < 0,0001$)
- Un HR versus clofarabine en monothérapie compris entre 0,249 et 0,292 ($p < 0,0001$)
- Un HR versus les autres chimiothérapies de rattrapage compris entre 0,148 et 0,191 ($p < 0,0001$)

Pour la survie sans rechute :

- Un HR versus blinatumomab compris entre 0,291 et 0,42 ($p < 0,0276$)

Pour la réponse au traitement (rémission globale) :

- Un HR versus CEC compris entre 2,538 et 3,697 ($p \leq 0,0032$)
- Un HR versus clofarabine en monothérapie compris entre 10,011 et 13,918 ($p < 0,0001$)

- Un HR versus autres chimiothérapies de rattrapage compris entre 6,112 et 9,531 ($p < 0,001$)

Concernant la tolérance de cette thérapie, les études ont mis en évidence les effets indésirables fréquents suivants :

- Syndrome de relargage des cytokines (SRC) (>77% des patients)
- Hypogammaglobulinémie (>38%)
- Fièvre (>37%)
- Diminution de l'appétit (>36%)
- Neutropénie (>34%)
- Anémie (>31%)
- Vomissements (>31%)
- Diminution des globules blancs et des plaquettes (>30%)

Le SRC est l'effet indésirable d'intérêt particulier. C'est en effet l'effet indésirable le plus fréquent et le plus susceptible d'être fatal. Il a lieu dans les 8 semaines suivant l'administration de la thérapie. La prise en charge de cet effet indésirable nécessite une hospitalisation en service de soins intensifs dans la moitié des cas. Néanmoins, ce dernier peut être minimisé par l'administration de tocilizumab. Le Résumé des caractéristiques du produit (RCP) de Kymriah® insiste sur la nécessité d'avoir à disposition un minimum de 4 doses de tocilizumab ainsi qu'un équipement d'urgence avant la perfusion de Kymriah®. (28)

Des essais cliniques de phase II sont actuellement menés pour évaluer l'efficacité de Kymriah® dans de nouvelles indications : lymphome folliculaire, lymphome du manteau, lymphomes non hodgkiniens des enfants, myélome multiple et la LAL chez les adultes.

Des essais sont également menés pour étudier le potentiel impact positif de traitements après l'administration unique de cellules CAR-T : greffe, anti PD1 et anti PD-L1. La possibilité d'avoir recours à plus d'une injection de cellules CAR-T est également à l'étude. (30)

ii. Yescarta®

L'analyse principale du pourcentage de réponse objective (critère de jugement principal) réalisée avec un suivi médian de 8,7 mois a montré les résultats suivants. Le pourcentage de réponse objective pour les patients ayant reçu Yescarta® s'élève à 82% dont 54% de réponse complète et 28% de réponse partielle selon l'évaluation de l'investigateur. Ces chiffres diminuent légèrement lors de l'évaluation par un comité indépendant : 71% comprenant 51% de réponse complète et 20% de réponse partielle.

L'analyse réalisée avec un suivi médian de 15,1 mois a montré les résultats suivants : un pourcentage de réponse objective de 83% dont 58% de réponse complète et 25% de réponse partielle selon l'évaluation de l'investigateur et 72% dont 51% de réponse complète et 21% de réponse partielle lors de l'évaluation par un comité indépendant. (29)

Tout comme pour Kymriah®, l'effet indésirable le plus fréquent est le SRC retrouvé chez 93% des patients de l'étude ZUMA-1. D'autres effets indésirables sont également retrouvés :

- Troubles neurologiques (28%)
- Cytopénies (89%)
- Neutropénies fébriles (33%)
- Hypogammaglobulinémie (19%)
- Infections de grades ≥ 3 (22%)

Yescarta® doit être administré dans un établissement de santé qualifié. Le traitement par Yescarta® doit être instauré sous la responsabilité et supervisé par un professionnel de santé expérimenté dans le traitement des hémopathies malignes et formé à l'administration et la prise en charge de patients traités par Yescarta®. Comme Kymriah®, au minimum quatre doses de tocilizumab à utiliser en cas de SRC et un équipement d'urgence doivent être disponibles avant la perfusion. (29)

3.2 Cellules CAR-T en développement

3.2.1 Essais cliniques

i. Répartition géographique

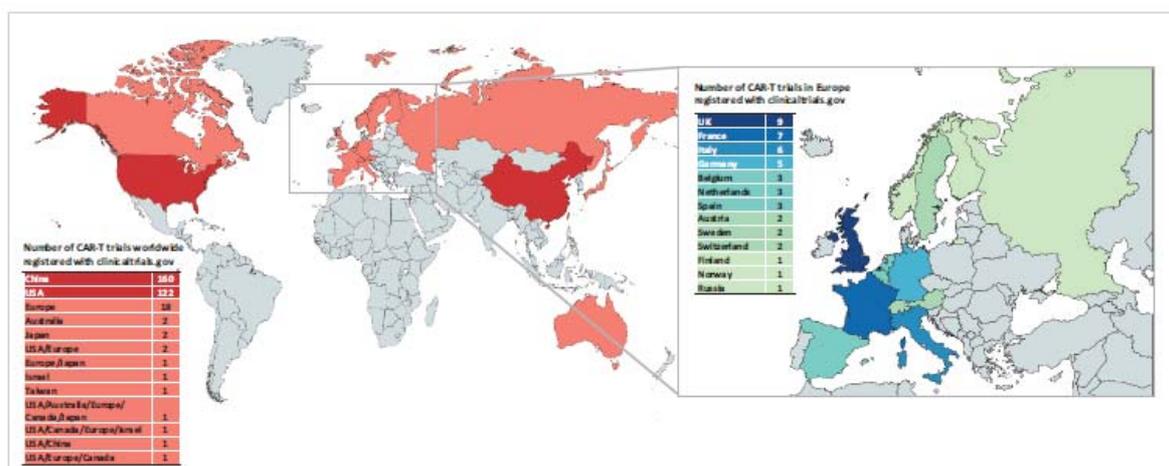
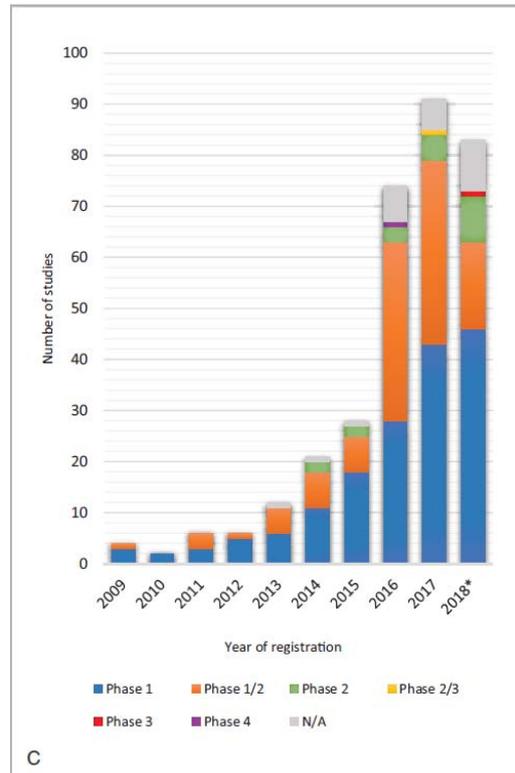


Figure 5 : Répartition géographique des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T enregistrés sur clinicaltrials.gov en 2019 (31)

Le nombre d'essais cliniques impliquant des cellules CAR-T enregistrés dans le monde a connu une envolée spectaculaire en 2016 et poursuit sur la même lancée depuis avec une moyenne de 100 nouveaux essais cliniques enregistrés chaque année. Ce nombre grandissant d'essais cliniques s'explique en partie par le fait que les projets de recherche et développement de plusieurs laboratoires notamment académiques, sont arrivés à maturité en même temps et ont permis le démarrage des premiers essais cliniques avec des résultats concluants malgré des problèmes importants de sécurité. De plus, les agences soutiennent le développement de ces thérapies comme détaillé dans la partie 2.1.4.

Les essais sont essentiellement menés dans l'hémisphère Nord avec une très grande majorité des essais enregistrés aux Etats-Unis et en Chine. En Europe, le Royaume-Uni, la France et l'Italie sont les pays qui mènent le plus d'essais cliniques avec des cellules CAR-T. (31)

ii. Répartition par phase et par année



**jusqu'au 7 décembre 2018*

Figure 6 : Nombre d'essais cliniques impliquant des cellules CAR-T par phase et par année d'enregistrement (31)

Comme décrit plus haut, nous pouvons constater sur la Figure 6 une envolée du nombre d'essais cliniques de cellules CAR-T au cours des dernières années. Cette augmentation est extrêmement visible à partir de l'année 2016, avec plus de 70 nouveaux essais enregistrés cette année-là. Les essais actuellement menés sont très majoritairement des phases 1 et des phases 1/2. Cette proportion importante d'essais de phase précoce démontre la récence de l'application clinique des cellules CAR-T.

3.2.2 Pathologies ciblées

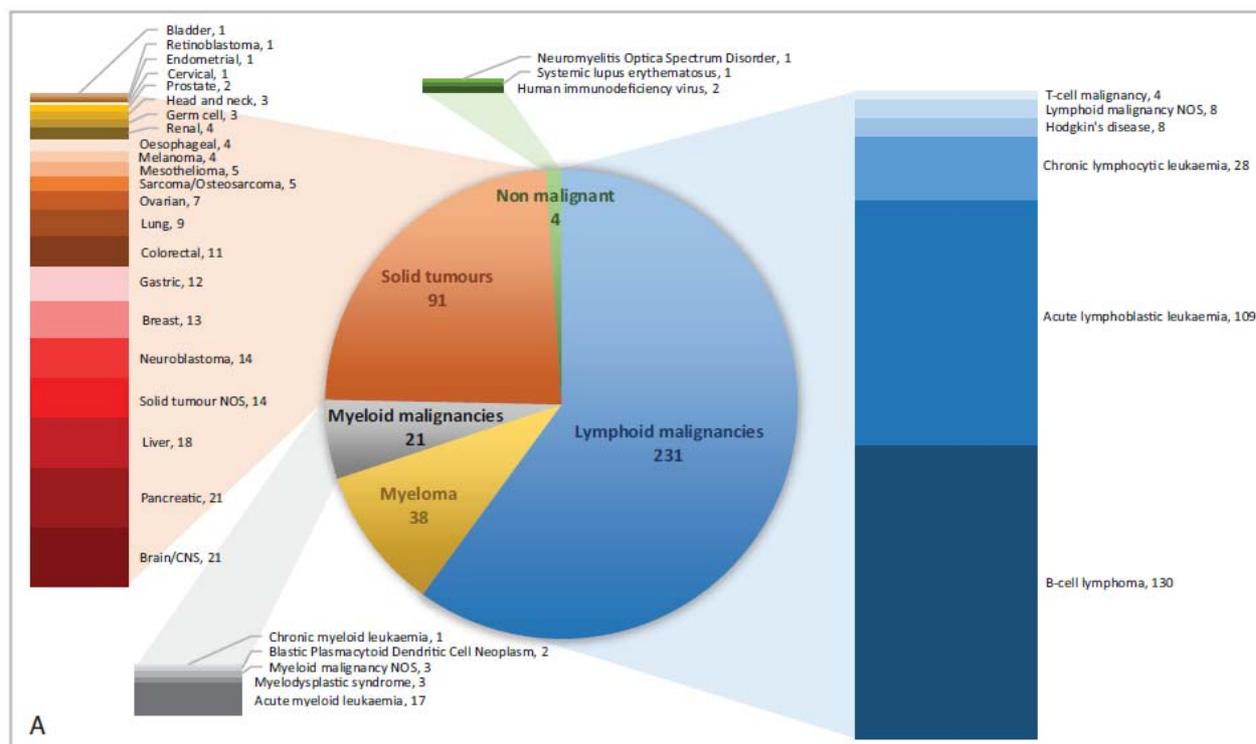


Figure 7 : Répartition des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T en fonction de la pathologie ciblée (31)

Les tumeurs lymphoïdes malignes représentent la majorité des pathologies ciblées par les cellules CAR-T actuellement et notamment la leucémie aigüe lymphoblastique et les lymphomes à cellules B. Les pathologies lymphoïdes malignes constituent en effet le premier domaine de recherche dans l'histoire du développement des cellules CAR-T. Plus récemment, la recherche s'est orientée vers le traitement des tumeurs solides notamment des cancers du cerveau, du pancréas et du foie, qui sont les plus représentés. Les myélomes et tumeurs myéloïdes arrivent ensuite.

Le myélome représente une pathologie intéressante à cibler. En effet, le BCMA est exprimé dans presque tous les cas de myélomes et n'est pas présent sur les cellules souches hématopoïétiques ni sur les cellules non hématologiques.

3.2.3 Antigènes ciblés

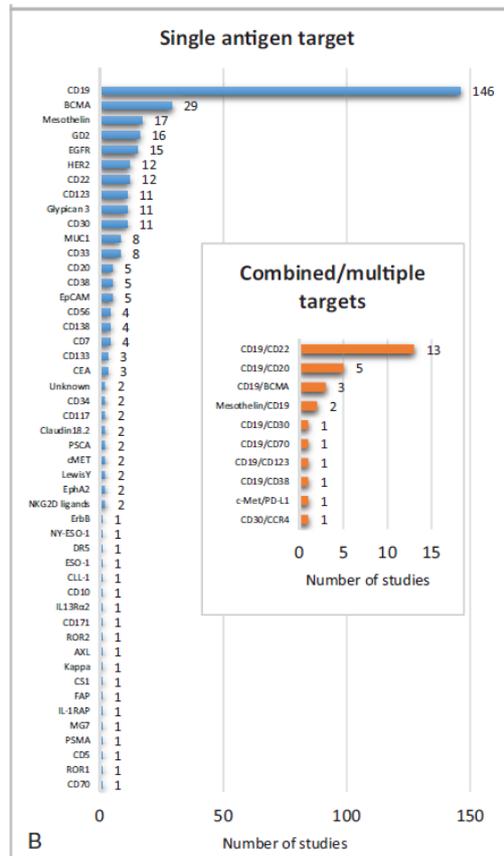


Figure 8 : Distribution des essais cliniques impliquant des cellules CAR-T en fonction de l'antigène ciblé (31)

Comme Kymriah® et Yescarta® récemment approuvés, un nombre important de cellules CAR-T en développement ciblent le CD19 mais d'autres antigènes semblent être des cibles intéressantes et sont actuellement étudiés. C'est le cas du BCMA évalué dans le myélome multiple en rechute/réfractaire, de la mésothéline ou encore de l'EGFR. De plus, des cellules CAR-T bispécifiques ont également été conçues. Le CD19 est présent dans les huit fréquentes associations.

4. Défis des cellules CAR-T

4.1 Réglementaire

4.1.1 Essais cliniques

i. Cadre réglementaire des essais cliniques en Europe

Les essais cliniques sont définis, selon la Directive 2001/20/CE (32), comme « toute investigation menée chez l'homme, afin de déterminer ou de confirmer les effets cliniques, pharmacologiques et/ou les autres effets pharmacodynamiques d'un ou de plusieurs médicaments expérimentaux, et/ou de mettre en évidence tout effet indésirable d'un ou de plusieurs médicaments expérimentaux, et/ou d'étudier l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination d'un ou de plusieurs médicaments expérimentaux, dans le but de s'assurer de leur innocuité et/ou efficacité. ».

La Directive 2001/20/CE est le texte de loi fondamental encadrant les essais cliniques en Europe. Elle fournit des informations détaillées sur la demande et la conduite des essais cliniques. Elle est transposée dans les lois nationales des états membres européens. Cette directive trouve son origine, entre autres, dans les ICH E6 (33) relatifs aux Bonnes Pratiques Cliniques (BPC) (34). *The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), a comme son nom l'indique, vocation à harmoniser les procédures d'enregistrement de médicaments dans le monde. Les différentes recommandations qui en découlent sont reconnues internationalement et généralement transposés dans les législations nationales.

L'expérience démontre que, malgré la Directive 2001/20/CE, la réglementation des essais cliniques n'a été que partiellement harmonisée notamment parce que les différents états membres ne l'ont pas transposée de la même manière dans leurs réglementations nationales.

Un nouveau règlement européen a donc été adopté par la Commission Européenne en 2014, il s'agit du Règlement (UE) n°536/2014 (35). Ce texte (qui est un « règlement » et non une « directive ») est directement applicable sans transposition dans les états membres européens. Il prévoit la mise en place d'un portail et d'une base de données permettant le dépôt d'un dossier unique d'une demande d'essai clinique que ce dernier ait lieu dans un seul ou plusieurs états

membres de l'Union Européenne (UE). Ceci permettra une évaluation coordonnée de l'étude par les différents pays impliqués. De plus, les informations relatives à l'étude seront regroupées sur le portail et en partie accessibles au public. L'application ne sera effective qu'au moment de la mise à disposition du portail et de la base de données, attendue en 2021.

ii. Procédure de soumission nationale d'un essai clinique

Il est nécessaire, pour pouvoir mener un essai clinique en Europe, d'obtenir une autorisation de l'autorité compétente (AC) nationale mais également un avis positif d'un ou de plusieurs comités d'éthique (CE). Pour certains pays, en Italie par exemple, il est nécessaire de faire une demande à plusieurs comités d'éthique : un comité d'éthique central et des comités d'éthique locaux. D'autres pays exigent aussi de notifier des autorités compétentes fédérales. C'est le cas en Allemagne avec les Länder par exemple.

Selon la Directive 2001/20/CE, les AC et les CE ont soixante jours maximum pour examiner une demande d'essai clinique à compter de la date de réception d'une demande valide, c'est-à-dire contenant l'ensemble des documents attendus. Dans le cas des médicaments de thérapie génique, et donc pour les cellules CAR-T, une prolongation de 30 jours est accordée. Cette période de revue de quatre-vingt-dix jours, pour les médicaments de thérapie génique, peut être prolongée de quatre-vingt-dix jours supplémentaires en cas de consultation d'un groupe ou d'un comité conformément aux réglementations et procédures de l'Etat membre concerné. En pratique, ces périodes de revue varient d'un état à l'autre.

Il est important de noter que, pour les cellules CAR-T comme pour tous les produits de thérapie génique, les délais de revue sont plus longs.

iii. Essais cliniques avec des médicaments expérimentaux contenant des OGM ou consistant en des OGM

Un organisme génétiquement modifié (OGM) est défini d'après la Directive 2001/18/CE comme « un organisme, à l'exception des êtres humains, dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou recombinaison naturelle. ». (36)

Les cellules CAR-T sont des OGM car une séquence nucléique a été introduite dans leur génome pour leur permettre d'exprimer un CAR.

La législation européenne concernant l'utilisation des OGM a été initialement établie pour les plantes génétiquement modifiées dans le but de protéger les consommateurs et les cultures de la contamination. De ce fait, la réglementation et les exigences relatives aux OGM ne sont pas spécifiques aux médicaments utilisés dans le cadre d'essais cliniques. A la suite d'une réunion d'experts multipartite sur les MTI, un plan d'action a été lancé et a abouti à la publication de requis harmonisés à l'échelle de l'UE pour les procédures de revue de médicaments expérimentaux OGM en octobre 2018. (37)

Ni la Directive 2001/20/CE (32) ni le Règlement n° 536/2014 (35), mentionnés plus haut, ne traitent spécifiquement des aspects environnementaux. Les essais cliniques avec des médicaments expérimentaux contenant des OGM ou consistant en des OGM (ME-OGM) doivent également se conformer aux exigences applicables dans le cadre réglementaire des OGM.

La conduite d'essais cliniques est dans ce cas soit réglementée par la Directive 2001/18/CE (36) sur la dissémination volontaire (DV) des OGM dans l'environnement soit par la Directive 2009/41/CE (38) sur l'utilisation confinée (UC) des micro-organismes génétiquement modifiés.

La DV est définie comme « toute introduction intentionnelle dans l'environnement d'un OGM ou d'une combinaison d'OGM pour laquelle aucune mesure de confinement spécifique n'est prise pour limiter leur contact avec l'ensemble de la population et l'environnement et pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité » tandis que l'UC est définie comme « toute opération dans laquelle des micro-organismes sont génétiquement modifiés ou dans laquelle des micro-organismes génétiquement modifiés sont cultivés, stockés, transportés, détruits, éliminés ou utilisés de toute autre manière et pour laquelle des mesures de confinement spécifiques sont prises pour limiter le contact de ces micro-organismes avec l'ensemble de la population et l'environnement ainsi que pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité ». Un essai clinique doit donc être conduit dans l'un de ces deux cadres, en fonction de la législation nationale et du type de ME-OGM.

Généralement, l'AC chargée de l'évaluation des aspects OGM est différente de celle qui évalue la demande d'autorisation d'essai clinique sauf dans certains pays où la revue de l'AC englobe à la fois les aspects OGM et la demande d'autorisation d'essai clinique dans un dossier unique. La coordination de ces deux soumissions réglementaires est l'un des défis pour obtenir une autorisation d'essai clinique avec un ME-OGM dans l'UE.

Comme l'évaluation des OGM relève de la responsabilité de chaque État membre et par conséquent des réglementations nationales, la procédure de ces demandes n'est pas harmonisée au sein de l'UE. La procédure OGM peut soit faire partie de la demande d'autorisation d'essai clinique, soit être évaluée par une AC dédiée. Dans le second cas, la demande peut soit avoir lieu avant la demande d'évaluation d'essai clinique, soit être soumise en parallèle de la demande d'autorisation d'essai clinique.

Un besoin de « conseils/ligne directrice » (guidance) a rapidement été identifié au niveau européen sur l'application du cadre réglementaire des OGM à différents types de ME-OGM dans le but de faciliter la conduite d'essais cliniques en tenant compte des caractéristiques spécifiques de ces médicaments expérimentaux et des risques pour la santé publique et l'environnement. Les services de la Commission Européenne en collaboration avec les AC des États membres responsables de la mise en œuvre de la législation sur les OGM ont publié en 2018 un ensemble de documents harmonisés (39) pour les soumissions OGM dans le cadre d'un essai clinique (couvrant la plupart des MTI en phase de développement clinique à ce jour) :

- Des documents de bonnes pratiques apportant des « conseils/ligne directrice » sur la mise en œuvre des exigences réglementaires liées aux OGM (DV ou UC) applicables à la conduite d'essais cliniques ;
- Des formulaires de demande communs mettant en œuvre les exigences de la Directive 2009/41/CE ou de la Directive 2001/18/CE adaptées aux caractéristiques spécifiques du type de médicament expérimental utilisé dans l'essai clinique concerné. (37)

Les documents mentionnés ci-dessus ont été approuvés par plusieurs AC nationales dans l'UE (notamment par la France) mais pas par toutes à ce jour.

De plus, pour les demandes dans le cadre de la DV, un formulaire SNIF (*Summary Notification Information Format*) publié suite à la décision du Conseil 2002/813/CE et conformément à l'article 2002/813/CE et conformément à l'article 11 de la Directive 2001/18/CE (36), doit également faire partie du dossier. Il sera utilisé par les États membres pour le transfert d'informations résumées concernant les notifications de DV à la Commission Européenne pour le registre des OGM. (37)

Exemple de la France :

En France, les essais cliniques impliquant des OGM sont conduits en UC.

Le site impliqué dans une essai clinique avec un ME-OGM doit soumettre au Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI) une demande de classification du produit OGM et d'autorisation d'utiliser l'OGM sur le site clinique. Cette demande sera ensuite transmise au Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) pour avis. Le HCB dispose de 45 jours pour donner son avis sur la classification de l'OGM et le niveau de sécurité sur le site investigateur. Ce délai de revue peut être étendu à 90 jour en fonction de la classe de niveau de sécurité biologique de l'OGM (plus la classe est élevée plus l'évaluation sera longue) ainsi que du risque que son utilisation peut représenter pour l'environnement. Si le promoteur et/ou le site clinique ne sont pas en mesure de se conformer aux recommandations émises par le HCB, le MESRI peut revenir vers le promoteur ou le site afin qu'ils soumettent un dossier de DV au Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation.

L'autorisation d'utilisation est valable pour une période maximale de 5 ans. Depuis la publication de la loi n ° 2012-300 du 3 mars 2012 (loi Jardé), cette procédure peut être effectuée en parallèle de la demande d'essai clinique auprès de l'ANSM et en parallèle de la demande d'opinion au Comité de Protection des Personnes (CPP), qui est le CE en France.

Tableau 6 : Les différents niveaux de confinement en fonction de la classe de l'OGM au niveau européen (38)

Classe 1	Opérations pour lesquelles le risque est nul ou négligeable, c'est-à-dire les opérations pour lesquelles le niveau 1 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement.
Classe 2	Opérations présentant un risque faible, c'est-à-dire les opérations pour lesquelles le niveau 2 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement.
Classe 3	Opérations présentant un risque modéré, c'est-à-dire les opérations pour lesquelles le niveau 3 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement.
Classe 4	Opérations présentant un risque élevé, c'est-à-dire les opérations pour lesquelles le niveau 4 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement.

4.1.2 Difficultés notées par les développeurs

Le domaine réglementaire représente probablement un des plus grands défis dans le développement des cellules CAR-T. (3)

Les premiers défis réglementaires rencontrés ne sont pas propres aux cellules CAR-T mais touchent les médicaments de thérapie innovante en général. Les développeurs de ces produits mettent en avant la complexité à naviguer dans le cadre réglementaire européen ainsi que des difficultés à comprendre les documents attendus lors de la composition des dossiers pour les agences. Malgré les dispositifs et procédures mis en place par l'EMA, permettant plus d'interactions entre les différentes parties, les demandes de l'EMA demeurent parfois complexes pour les développeurs. De plus, les données supplémentaires demandées par l'EMA et par les différentes AC au moment de la demande d'essai clinique, entraînent généralement des recherches et coûts non prévus initialement. (3)

Les cellules CAR-T ont également des défis qui ont trait à leur statut de thérapie génique et de médicament OGM. La réglementation des médicaments OGM est particulièrement complexe. En effet, elle était à l'origine destinée au secteur agro-alimentaire et établie par la Commission Européenne mais interprétée et transposée à l'échelle de chaque état membre (il s'agit de « directives »). Cette interprétation locale entraîne une grande variété d'instances dirigeantes et

de procédures à l'échelle nationale voire locale. Le fait de se conformer à cette réglementation OGM est vécue par les développeurs comme une monopolisation de ressources considérable, une multiplication des demandes et des inspections entraînant des retards sans pour autant en retirer de bénéfices pour le patient ou le produit. (3)

Les développeurs notent également une grande variabilité d'expertise relative aux médicaments de thérapie innovante ainsi que des conseils scientifiques parfois contradictoires de la part des différentes agences européennes. Certains développeurs affirment choisir les pays participant aux essais cliniques en fonction de l'application des réglementations locales et de l'expérience de l'agence du pays concerné pour les médicaments de thérapie innovante. (3)

De plus, lors de la compilation des dossiers qu'ils soient relatifs à une demande d'essai clinique ou à une demande d'AMM, les développeurs se disent incertains quant au contenu attendu de la part des agences (3).

4.2 Fabrication et qualité

La production complexe, notamment l'application du procédé à grande échelle, et la difficulté de mettre en place un contrôle qualité des médicaments de thérapie innovante sont fréquemment mentionnés. (3)

Comme la réglementation relative aux OGM, les BPF sont transposées de façon différente au sein des états membres. En plus des informations demandées par le CAT, les différents états membres ont parfois des demandes spécifiques notamment en termes de standards ou de contrôle de la qualité. Cette variabilité entraîne une certaine confusion et conduit à la réalisation d'une multiplicité de tests de qualité et de production. Les développeurs de médicaments de thérapie génique ont exprimé le besoin d'obtenir des directives de qualité en ce qui concerne l'efficacité du médicament, le dosage et les impuretés. De plus, un des problèmes également mentionnés est le besoin de grandes quantités de produit pour les tests de qualité qui sont donc inutilisables pour le patient. Ceci pose un problème éthique dans la mesure où cela demande davantage de matériel du donneur. (3)

Les médicaments doivent obligatoirement être fabriqués à partir de matières premières de qualité appropriée pour se conformer aux BPF. Des défis dans la chaîne d'approvisionnement

ont également été décrits de par la nature hautement personnalisée du produit. Les difficultés sont causées par la courte durée de vie du produit qui requiert le développement de solutions quant à l'expédition, à la conservation ainsi qu'au contrôle qualité. Pour surmonter ces difficultés, certaines sociétés choisissent de passer d'un produit autologue à un produit allogénique ; c'est-à-dire un CAR-T « universel » et non fabriqué pour chacun des patients à traiter. (3)

Le transport de produits à base de cellules humaines à travers les différents états membres est vécu comme un défi important par les développeurs.

4.2.1 Variabilité

Les procédés de fabrication actuels utilisent des technologies variées qui entraînent des compositions de produit différentes. D'une part, les produits d'aphérèse (matière de départ) sont extrêmement différents d'un patient à l'autre. Cette variabilité s'applique également à la phase de croissance ainsi qu'à la phase de transduction des cellules. En effet, dans certaines études, la transduction rétrovirale a montré une efficacité comprise entre 4 et 70% tandis qu'une transduction lentivirale a démontré entre 5,5% et 45,3% d'efficacité. Cette variabilité à différentes étapes du processus de fabrication rend difficile la comparaison entre les études cliniques et les procédés de fabrication. (19)

4.2.2 Contrôle et assurance qualité des cellules CAR-T

Les protocoles de fabrication adhèrent aux BPF actuellement applicables en ce qui concerne les tests de sécurité de pureté et d'activité. Les critères de libération des lots en matière de sécurité sont notamment, la stérilité et l'absence de virus compétents pour la réplication (pour des cellules transduites avec des vecteurs viraux). La présence de rétro ou de lentivirus compétents pour la réplication est généralement testée avec un dosage cellulaire ou par PCR (polymerase chain reaction) quantitative. L'enrichissement ou l'épuisement de types ou de sous-ensembles de cellules spécifiques peut permettre d'obtenir une matière de départ d'une plus grande pureté. Il peut sembler également intéressant de tester les populations de cellules contaminantes, comme les cellules Natural Killer (NK). Les autres impuretés qui peuvent être retrouvées sont les endotoxines, les mycoplasmes ainsi que des résidus du procédé de fabrication comme les

billes magnétiques qui pourraient causer des dommages, en activant des lymphocytes T endogènes si elles sont injectées au patient. (19)

Le produit doit être efficace, ce qui est généralement testé indirectement par l'évaluation de l'efficacité de la transduction ou par des tests de cytotoxicité *in vitro*. Le nombre de copies de vecteur CAR T peut être déterminé en cours de production et constitue une mesure de l'efficacité de la transduction. Cependant, le nombre de copies ne reflète pas nécessairement le niveau d'expression de CAR. Le nombre de cellules CAR positives peut être déterminé par immunophénotypage des cellules CAR T à la fin de la production. (19)

Un nombre important de cellules CAR-T est produit en utilisant un procédé manuel, représentant un travail conséquent, des difficultés à le transposer à grande échelle ainsi qu'une plus grande variabilité. (19)

4.2.3 Chaîne d'approvisionnement

Pour relever les défis d'une production de cellules CAR-T à grande échelle, les laboratoires ont besoin de technologies de pointe et de stratégies innovantes. Le développement clinique de Yescarta® et Kymriah® ayant été très rapide, il n'a pas été possible d'envisager une production robuste et évolutive au cours du développement clinique. Ce n'est que maintenant, après l'approbation, que certaines des considérations relatives à l'industrialisation et à la chaîne d'approvisionnement ont été intégrées pour faciliter la fabrication et la distribution commerciale. (40)

La réussite de la chaîne d'approvisionnement passe par une bonne cartographie de l'ensemble du processus et une identification des points critiques et des risques liés à chaque étape de la fabrication. Étant donné que les cellules CAR-T sont des thérapies personnalisées, les fabricants doivent également veiller à ce que la chaîne de surveillance et l'identité du patient soient préservés tout au long du processus de fabrication. L'absence de documentation et de contrôle de la provenance des échantillons peut avoir des conséquences désastreuses pour le patient et ne garantit plus l'uniformité, la robustesse ou le contrôle de la qualité.

Outre les défis de logistique, les fabricants de cellules CAR-T doivent produire un produit systématiquement sûr et efficace à partir d'un matériau de départ très variable. Les patients qui fournissent la matière première (dans le cas de CAR-T autologues) ont des antécédents génétiques, des stades de maladie et des antécédents médicaux différents, qui peuvent tous

introduire une complexité et une variabilité en amont dans le processus de production. En effet, le matériau de départ est à chaque fois différent en fonction du donneur et de la condition de ses cellules.

i. Sous-traitance de la chaîne d'approvisionnement

Construire une chaîne d'approvisionnement robuste avec l'équipement et les protocoles nécessaires pour répondre à la demande peut s'avérer difficile et fastidieux pour les entreprises qui ne sont pas familières de ce genre de processus. Un groupe externe, comme une « entreprise de fabrication en sous-traitance » (*Contract Manufacturing Organization*), peut aider certaines entreprises expertes dans la biologie de leurs produits mais manquant d'expérience pour passer d'une production manuelle à petite échelle à une production automatisée à plus grande échelle pouvant répondre aux besoins de dizaines voire de centaines de milliers de patients dans le monde.

Cette sous-traitance permet également aux fabricants d'éviter d'investir dans un système et des installations de grande envergure si leurs produits n'obtiennent pas l'autorisation réglementaire.

Si une entreprise décide d'externaliser la production de son CAR-T, elle doit s'efforcer de comprendre les décisions relatives à la mise en place du procédé de production afin d'être capable de le rapatrier au moment voulu, si tel est le souhait. Dans le cas contraire, le développeur du CAR-T peut se trouver « démuné » face au fabricant qu'il aura choisi, seul détenteur de l'expertise quant à la production dudit produit.

Il semble important de commencer tôt à réfléchir à ces questions de production et d'options de sous-traitance. En effet, si une entreprise attend que le produit soit prêt à être commercialisé, elle devra probablement faire face à des délais et des frustrations en tentant de rattraper le retard ou en travaillant avec des contraintes qu'elle souhaiterait modifier.

4.2.4 Automatisation

La plupart des thérapies cellulaires sur le marché, sinon toutes, sont indiquées pour de petites populations de patients mais si elles sont amenées à devenir plus largement disponibles pour de multiples indications, des améliorations de l'automatisation, une simplification des processus et de la gestion de la chaîne logistique seront nécessaires pour répondre à la demande. L'objectif

de traiter des milliers de patients chaque année présente des défis totalement différents de ceux qui existaient jusqu'à présent.

Pour changer d'échelle, les procédés doivent passer d'ouverts et manuels à fermés et automatisés pour permettre de réduire les risques et contaminations et d'augmenter l'uniformité et l'efficacité du produit tout en assurant la traçabilité des matières premières et du produit tout au long du processus de fabrication. Avec une automatisation plus importante, les opérateurs peuvent mesurer certaines caractéristiques cruciales associées au produit lors d'étapes critiques et mieux contrôler la variabilité du produit de départ.

Le timing est un autre aspect important de l'automatisation. En effet, la réflexion quant à l'automatisation des procédés doit avoir lieu au bon moment dans la phase de développement clinique ou de recherche. Si elle arrive trop tard il y a un risque de multiplication des études pour prouver aux autorités réglementaires que l'introduction d'un équipement automatisé ne modifie pas la qualité du produit.

Les entreprises développent de plus en plus de technologies de rupture pour automatiser les procédés et assurer leur succès futur. Les systèmes peuvent être entièrement automatisés, c'est-à-dire que toutes les étapes du processus ont lieu dans un seul appareil, ou ils peuvent être modulaires, les différentes étapes sont alors effectuées sur des équipements distincts. Chaque système présente ses avantages et ses inconvénients. La solution tout en un et entièrement automatisée est très attrayante et présente de nombreux avantages mais peut présenter des inconvénients en termes de coût, de temps et d'espace pour chaque étape. De plus, le système entièrement automatisé immobilise l'entièreté de l'équipement pendant plusieurs jours ce qui entraîne une perte de temps. Dans un système modulaire, tous les équipements ne sont pas utilisés en même temps ce qui peut permettre de lancer la production de plusieurs lots en parallèle, et entraîne donc une plus grande efficacité.

4.3 Toxicité et effets indésirables

Les effets indésirables consécutifs à une thérapie à base de cellules CAR-T peuvent être immédiats, retardés, légers, sévères, et peuvent persister pendant toute la durée de vie des lymphocytes T modifiés. (41)

La prévention et la gestion de cette toxicité est devenue un des éléments clé de l'utilisation clinique de cette nouvelle thérapie. Idéalement, la prédiction de la sévérité et du début de ces

effets indésirables pour chaque patient permettrait d'envisager un traitement prophylactique pour anticiper et mieux gérer cette toxicité. (41)

4.3.1 Syndrome de relargage de cytokines (SRC)

A ce jour, l'effet indésirable le plus fréquent suivant l'infusion de cellules CAR-T est une activation immunitaire : le syndrome de relargage de cytokines. La caractéristique principale du SRC est une activation immunitaire par le biais de cytokines inflammatoires élevées. Les caractéristiques cliniques du SRC comprennent : fièvre importante, malaise, fatigue, myalgie, nausées, anorexie, tachycardie, hypotension, hyperperméabilité capillaire, dysfonction cardiaque, insuffisance rénale, insuffisance hépatique, coagulation intravasculaire disséminée. (41)

Certains essais cliniques ont été suspendus par la Food and Drug Administration (FDA) suite à des décès de patients par SRC. La FDA a également créé, pour la première fois, un registre des événements indésirables liés aux cellules CAR-T dans les essais cliniques pour tous les promoteurs.

Des élévations spectaculaires de cytokines, notamment d'interféron-gamma, de GM-CSF (facteur stimulant les colonies de macrophages granulocytes, *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), d'interleukine-6 (IL-6) et d'interleukine-10 (IL-10) ont été mises en évidence suite à l'injection de cellules CAR-T. (41)

Le coût et les difficultés liés à la surveillance en temps réel de l'élévation de cytokines sériques ont empêché l'utilisation de cette technologie pour suivre l'évolution du SRC. L'utilisation de la CRP (*C-reactive protein*), produite par les hépatocytes en réponse à l'IL-6, est actuellement évaluée en tant que marqueur de début et de sévérité du SRC. Le degré de sévérité du SRC est étroitement lié à l'avancement de la maladie au moment de la perfusion. En effet, les patients avec une charge tumorale importante sont plus enclins à développer un SRC intense. Le résultat clinique n'est pas fondé sur le développement d'un SRC car les patients peuvent présenter une réponse antitumorale en l'absence de cette toxicité. Toutefois, dans le contexte des hémopathies malignes, la majorité des patients qui répondent présentent au moins un SRC léger (fièvre) après la perfusion de cellules CAR-T. (41)

Une fois le SRC mis en évidence, le défi a été de trouver des traitements capables de diminuer les symptômes et de contrôler l'inflammation sans toutefois diminuer la réponse antitumorale des cellules CAR-T. Des corticoïdes à usage systémique ont montré une diminution rapide des symptômes du SRC sans compromettre la réponse antitumorale. Cependant, l'utilisation prolongée (de plus de quatorze jours) de corticoïdes à forte dose entraîne une importante diminution de l'effet anti leucémique des cellules CAR-T. Une alternative efficace aux corticoïdes est l'utilisation de Roactemra (Tocilizumab), anticorps monoclonal anti-interleukine 6, utilisé dans le traitement de certaines polyarthrites. Il a démontré un rapide renversement du SRC. Il reste néanmoins à déterminer les conséquences d'un blocage des récepteurs à l'IL-6 sur la prolifération des cellules CAR-T ainsi que sur l'effet antitumoral. Malgré ces incertitudes l'utilisation du Roactemra a été accepté comme traitement de première ligne du SRC suite à l'injection de cellules CAR-T. (41)

Le CHMP a en effet recommandé d'ajouter le traitement du SRC aux indications de ce médicament. (25)

Des recherches sont également en cours pour déterminer si un blocage de récepteurs à d'autres cytokines pourrait également traiter efficacement le SRC et maintenir une efficacité antitumorale importante. (41)

De plus, le groupe Cellectis a récemment mis en évidence le rôle clé joué par le GM-CSF dans le développement du SRC. Ils ont également démontré que l'inactivation génétique du GM-CSF dans les cellules CAR-T diminuait considérablement le GM-CSF et mettait un terme à la sécrétion de biomarqueurs du SRC macrophage dépendant, comme la monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), l'IL-6 et l'IL-8. L'inactivation du GM-CSF n'a pas diminué la fonction antitumorale ou la capacité de prolifération des cellules CAR-T in vitro. Cette approche pourrait éliminer l'utilisation d'un traitement spécifique contre le SRC ainsi que ses coûts additionnels et pourrait par conséquent améliorer la sécurité des cellules CAR-T dans le traitement des cancers. (42)

4.3.2 Toxicité neurologique

Le développement d'une toxicité neurologique a été rapportée chez les patients ayant reçu des cellules CAR-T anti-CD19. Cette toxicité neurologique prend différentes formes : confusion,

délire, aphasie, perte de sensibilité, myoclonie et convulsions. Un niveau de cytokines élevé ou une toxicité directe des cellules CAR-T dans le système nerveux central sont des causes possibles de cette toxicité mais n'ont pas été démontrées. Cette toxicité neurologique s'est montrée réversible dans la majorité des cas mais il reste encore à déterminer si elle est spécifique aux cellules CAR-T anti-CD19 ou si elle se présente également pour des cellules CAR-T ciblant d'autres antigènes. (41)

4.3.3 Toxicité on-target off-tumor

L'antigène ciblé par les cellules CAR-T est généralement également présent dans des tissus sains. Un certain degré de toxicité est donc lié à l'action des cellules CAR-T sur des tissus sains. La gravité des éléments rapportés va de l'aplasie des cellules B à une toxicité sévère, entraînant la mort. Dans le cas de cellules CAR-T anti-CD19, qui par conséquent vont cibler les lymphocytes B sains et entraîner une aplasie, une infusion d'immunoglobulines peut être nécessaire en prophylaxie de complications infectieuses. (41)

4.3.4 Anaphylaxie

Les cellules CAR-T utilisées dans les essais cliniques contiennent majoritairement des domaines de reconnaissance de l'antigène dérivés d'anticorps murins. Par conséquent, il n'est guère surprenant que le rejet à la fois cellulaire et humoral des cellules CAR-T ait été démontré en raison de l'immunogénicité de la protéine étrangère. Des efforts sont en cours pour humaniser les composants des protéines exprimées dans le but d'améliorer la persistance et potentiellement l'efficacité. (41)

Une surveillance importante, une reconnaissance rapide et un traitement immédiat de cet effet indésirable menaçant le pronostic vital sont essentiels pour les patients recevant des cellules T génétiquement modifiées. (41)

4.4 Coût, remboursement et financement des cellules CAR-T

4.4.1 Evaluation des médicaments en France

Une fois l'AMM obtenue, le médicament est à nouveau évalué à l'occasion de la fixation de son prix et de l'accès au remboursement par la Haute Autorité de Santé (HAS), en France. Pour

avoir le droit au remboursement le médicament doit être inscrit sur la liste des spécialités pharmaceutiques remboursables aux assurés sociaux (« marché de ville ») et/ou sur la liste des spécialités pharmaceutiques agréées à l'usage des collectivités et divers services publics (« marché à l'hôpital »). La décision de l'inscription du médicament sur ces listes est prise par le ministre des Solidarités et de la Santé.

i. Commission de la transparence (CT)

Le médicament va donc être évalué par la HAS, et notamment par deux commissions :

- La commission de la transparence (CT) :

Elle est chargée d'analyser et synthétiser les données cliniques ainsi que la sécurité et de conclure sur le service médical rendu (SMR) et sur l'amélioration du service médical rendu (ASMR).

- o SMR : il est déterminé selon différents critères tels que la gravité de l'affection, l'efficacité et les effets indésirables du médicament, le caractère préventif, curatif, symptomatique du médicament, sa place dans la stratégie thérapeutique et son intérêt pour la santé publique : gravité de la maladie, prévalence, besoin médical et réponse, impact sur la qualité de vie, impact en termes de morbi-mortalité et sur l'organisation des soins. Le SMR est évalué tous les cinq ans et est transmis à l'Union nationale des caisses d'assurance maladie (UNCAM) pour lui permettre d'arrêter un taux de remboursement, détaillé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : SMR et taux de remboursement associé

SMR	Taux de remboursement
Important	65%
Modéré	30%
Faible	15%
Insuffisant	Non remboursé

- ASMR : il est déterminé par rapport aux comparateurs, par rapport à des données comparatives disponibles (directes ou indirectes) en termes d'efficacité et de tolérance : niveau de preuve, quantité d'effet, extrapolation en pratique clinique ; au besoin thérapeutique et de sa couverture ainsi que par rapport à l'impact sur la qualité de vie. Le niveau d'ASMR (détaillé dans le tableau ci-dessous) est transmis au Comité économique des produits de santé (CEPS) et au ministre pour la fixation du prix du médicament.

Tableau 8 : Progrès thérapeutique et ASMR

Progrès thérapeutique - ASMR		
Majeure	ASMR I	Possibilité d'un prix supérieur à celui des comparateurs
Importante	ASMR II	
Modérée	ASMR III	
Mineure	ASMR IV	
Pas de progrès thérapeutique		
Nul	ASMR V	Ne peut être inscrit au remboursement que s'il apporte une économie dans les coûts de traitement

Tableau 9 : SMR et ASMR des deux thérapies de cellules CAR-T actuellement sur le marché

	Kymriah®	Yescarta®
SMR	Important	Important
ASMR	<ul style="list-style-type: none"> • LDGCB : Niveau IV • LAL : Niveau III 	Niveau III

ii. Commission évaluation économique et de santé publique (CEESP)

Elle est sollicitée pour les médicaments considérés comme innovants (ASMR de I à III) et ayant un impact significatif sur les dépenses de l'assurance maladie. Elle réalise alors une analyse médico-économique et fournit un avis d'efficacité et une analyse d'impact budgétaire. L'avis d'efficacité apporte des informations au CEPS et au ministre quant à la fixation du prix. Il compare le nouveau médicament aux spécialités de référence pour une même indication dans le but d'estimer le juste prix de cette nouvelle spécialité. Le surcoût du nouveau médicament est comparé aux bénéfices pour la santé. Cette comparaison est le ratio du coût supplémentaire en euros par année de vie gagnée en bonne santé (ou Qaly : quality adjusted life year). L'analyse d'impact budgétaire permet d'anticiper l'impact sur le budget de l'assurance maladie pour la prise en charge de la nouvelle spécialité.

À la suite des avis rendus par la CT et la CEESP, un prix est fixé, un taux de remboursement est arrêté et une décision est prise par le ministre pour l'inscription au remboursement.

Les prix temporaires de Yescarta® et Kymriah® ont été fixés respectivement à 350 000 euros et 320 000 euros par patient. Ces prix ont été décidés par les fabricants, Gilead et Novartis, pour la période allant de la fin de l'Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) à la fixation d'un prix par l'Etat par l'intermédiaire du Comité Economique des Produits de Santé (CEPS). Depuis le laboratoire Gilead et le CEPS ont trouvé un accord sur le prix de Yescarta® : 327 000 euros l'injection. Ceci a fait l'objet d'une publication au Journal Officiel. (43) Il n'y a, au jour de l'écriture de cette thèse, pas d'accord trouvé entre le laboratoire Novartis et le CEPS pour Kymriah®.

La HAS a rendu un avis favorable pour le remboursement de Yescarta® et Kimriah®. Des données d'efficacité et de sécurité à long terme en vie réelle sont attendues pour déterminer l'efficacité réelle de ces produits.

De nouveaux modèles de paiement doivent être envisagés et leur applicabilité aux cellules CAR-T doit être évaluée. La curabilité potentielle des maladies en question pourrait faire passer des coûts de traitement élevés à long terme à des paiements initiaux élevés et uniques. Pour répondre à cette problématique, des modèles de paiements périodiques sont mentionnés dans la littérature pour alléger les contraintes d'un paiement unique, initial et élevé. (44)

4.4.2 Problématiques sur le financement du traitement

i. Incertitudes sur l'administration unique

Les avis d'efficacité de la CT sur Kymriah® et Yescarta® mettent en avant l'incertitude concernant l'administration unique de ces thérapies (28,29). L'ATU de Kymriah® notifie la possibilité pour certains patients de recevoir une deuxième injection tandis que dans l'essai ZUMA-1 de Yescarta®, certains patients se sont vu administrer une deuxième injection. Cette deuxième injection était prévue au protocole de l'étude dans le cas de progression de la maladie et de rechute confirmée par biopsie. Dans ce cas, le protocole prévoyait l'injection de la même dose de produit précédée de la même dose de chimiothérapie lymphodéplétive.

Compte tenu du prix conséquent de ces thérapies et étant donné que ce dernier est le socle de la modélisation médico-économique, une seconde injection aurait un impact budgétaire extrêmement important qu'il est nécessaire de prendre en compte.

De plus, il est déjà arrivé dans le cas d'ATU ou lors d'essais cliniques que des patients ayant subi la leucaphérèse prévue par la procédure n'aient finalement pu recevoir la thérapie pour des raisons autres que des difficultés de production du traitement (décès, survenue d'événements indésirables ne permettant pas l'injection du traitement, etc.). Ceci pose un problème majeur et a un énorme impact sur le budget car le produit avait quand même été fabriqué donc les coûts de production dépensés.

Un autre point important lié au financement de ces traitements a trait à la répartition des centres habilités à les administrer en France (et dans le monde). Les familles de certains patients

éligibles au traitement devront être hébergées à proximité de l'hôpital durant la période d'hospitalisation. De plus, le patient devra rester à proximité de l'hôpital durant les 4 à 8 semaines suivant l'injection pour permettre une prise en charge rapide si besoin. Des coûts de transport sont également associés ainsi que des coûts liés à la modification de l'organisation des vies de famille et professionnelle. Le montant restant à la charge de la famille pourrait dissuader certaines familles d'avoir recours au traitement ou alors leur entraîner un certain endettement.

ii. Nouveaux modèles de paiement

Les prix extrêmement élevés de ces thérapies par les cellules CAR-T mettent actuellement une grosse pression sur les systèmes de santé des pays ayant autorisé la mise sur le marché de ces médicaments. Le problème est d'autant plus important que les essais cliniques actuellement menés laissent entrevoir l'arrivée prochaine sur le marché de cellules CAR-T dans de nombreuses autres indications. Il est donc crucial d'envisager de nouveaux modèles de paiement pour permettre l'accès à ces thérapies.

Le paiement à la performance, déjà utilisé notamment pour les traitements onéreux de l'hépatite C du laboratoire Gilead (45), permet aux systèmes de santé de payer les laboratoires seulement en cas de rémission du patient. Il est également envisageable d'échelonner le paiement du traitement sur une période donnée et de l'arrêter lorsque le traitement cesse d'être efficace, lorsque le patient rechute.

L'agence italienne des médicaments (AIFA, *Agenzia Italiana del Farmaco*) a déjà mis en pratique ce système de paiement à la performance pour Kymriah® (46). En effet, les paiements sont répartis en trois versements :

- Lors de l'inscription au programme de traitement
- Pendant le traitement
- Dans la 5^{ème} année de survie du patient

Aux Etats-Unis, Novartis et le CMS (*Centers for Medicare & Medicaid Services*) (entité responsable de la fixation des remboursements des assurances Medicare et Medicaid) sont tombés d'accord pour un remboursement entier du traitement par Novartis en cas d'échec à un mois. (47)

Ce système de paiement à la performance est néanmoins compliqué à mettre en place aux Etats-Unis à cause de la concurrence que se livrent les assurances entraînant des changements réguliers d'assurances pour les patients. Si le patient est répondeur au traitement et qu'il change d'assurance santé durant la phase de remboursement, la question se pose alors de savoir qui aura la responsabilité du remboursement.

5. Perspectives des cellules CAR-T

Malgré l'arrivée sur le marché de Kymriah® et Yescarta®, les cellules CAR-T doivent continuer à être améliorées pour leur permettre de traiter plus de pathologies, d'être plus sûres et moins onéreuses. L'objectif de cette partie est de donner un aperçu de la situation actuelle et des perspectives.

5.1 Cancers hématologiques

Actuellement, l'objectif est de trouver de nouvelles cibles pour les cellules CAR-T dans le traitement des cancers hématologiques.

5.1.1 Cibler le CD22 pour les leucémies lymphoblastiques à cellules B

Après traitement par des cellules CAR-T ciblant le CD 19 certains patients développent une résistance à l'immunothérapie anti CD19, on voit alors apparaître des cellules leucémiques CD19⁺. L'antigène CD22 étant présent sur la plupart des cellules leucémiques de la lignée B, il semble être une cible intéressante et fait l'objet d'études actuellement dans le traitement de LAL à cellules B réfractaire ou en rechute. Un CAR incluant différents épitopes de CD22 associés aux domaines de signalisation du TCR 4-1 BB et CD28 a montré une efficacité potentielle. Des cellules CAR-T ciblant à la fois le CD19 et le CD22, dits « bi-spécifiques », sont également à l'étude. (24)

5.1.2 Cibler le CD5 et/ou le CD7 pour les leucémies aiguës lymphoblastiques à cellules T

Traiter des pathologies malignes à cellules T apparaît plus compliqué que de traiter des pathologies malignes à cellules B car les antigènes de surface pouvant être pris pour cible par des cellules CAR-T sont à la fois présents sur des cellules T saines et sur les cellules T pathologiques. Par conséquent, un ciblage du CD5 ou du CD7 semblerait entraîner une aplasie des cellules T et conduire à la disparition des cellules CAR-T injectées.

Un essai clinique de phase I est actuellement mené aux États-Unis avec des cellules CAR-T ciblant le CD5 pour le traitement de la LAL à cellules T ainsi que du lymphome lymphoblastique à cellules T qui est un LNH rare. (24)

5.1.3 Cibler le CD33 et/ou le CD123 pour les leucémies aigües myéloïdes

Présent sur les cellules de leucémies aigües myéloïdes dans 87% des cas, le CD33 semble être une cible intéressante. Néanmoins, il est également retrouvé sur les progéniteurs myéloïdes normaux ce qui a entraîné une myélotoxicité sévère en préclinique ainsi qu'une suppression des blastes myéloïdes humains.

Pour déjouer ce phénomène de toxicité à long terme, un ARN modifié a été utilisé de sorte que les cellules CAR-T soient exprimées seulement de manière transitoire.

Le CD123 est quant à lui retrouvé dans 78% des leucémies aigües myéloïdes et est présent également sur les progéniteurs et les cellules hématopoïétiques matures des cellules de la lignée myéloïde. Il semble être une cible intéressante en ciblant les cellules souches leucémiques.

Des CAR de deuxième génération bispécifiques CD33/CD123 d'expression transitoire ont montré une efficacité *in vivo* intéressante sur des modèles précliniques. (24)

5.1.4 Cibler le CD20 pour les lymphomes B

La mise sur le marché d'anticorps monoclonaux tels que le rituximab qui se lie spécifiquement à l'antigène transmembranaire CD20 retrouvé sur les lymphocytes pré-B et B matures et exprimé dans plus de 95% des cellules B des lymphomes non hodgkiniens (48), a révolutionné la prise en charge de ces lymphomes. Des études cliniques sont actuellement menées avec des cellules CAR-T CD20 pour traiter des lymphomes B réfractaires. (24)

5.1.5 Cibler le CD30 pour le lymphome de Hodgkin et le lymphome anaplasique à grandes cellules

Retrouvé dans des pathologies lymphoïdes telles que le lymphome de Hodgkin et le lymphome anaplasique à grandes cellules, le CD30 est également une cible intéressante. Des cellules CAR-T CD30 exprimant également le CD28 (molécule de costimulation) sont actuellement à l'étude. (24)

5.2 Tumeurs solides

Des cellules CAR-T ayant pour indication des tumeurs solides (neuroblastomes, glioblastomes, sarcomes) sont en ce moment développées. Cependant, les résultats apparaissent bien plus contrastés que pour les cancers hématologiques. En effet, jusqu'à présent les résultats obtenus pour le traitement de cancers solides avec des cellules CAR-T de première, deuxième ou troisième génération ciblant des antigènes uniques ont été très décevants. Dans un domaine avec très peu d'options curatives pour les cancers métastatiques il y a clairement un besoin clinique non satisfait.

Une des premières problématiques rencontrées est que les antigènes de surface présents sur les cellules cancéreuses sont également présents sur les cellules saines. Cibler ces antigènes conduit alors à des effets indésirables potentiellement graves à plus ou moins long terme et une augmentation significative de la toxicité. D'autres contraintes existent, notamment la spécificité du microenvironnement tumoral qui limite l'accès des cellules CAR-T à la tumeur. (24)

Ces résultats décevants semblent par rapport aux cancers du sang peuvent s'expliquer de différentes manières. La première étant la difficulté pour les cellules CAR-T d'accéder aux cellules cibles situées dans des masses tumorales mal vascularisées, isolées par des cellules inflammatoires non malignes et des tissus conjonctifs. La deuxième raison s'explique par la présence d'un microenvironnement tumoral hostile, hypoxique et anti-inflammatoire, atténuant considérablement la cytotoxicité potentielle des cellules CAR-T. Enfin, pour les cellules CAR-T qui parviennent à pénétrer une tumeur solide et à conserver un potentiel cytotoxique, il existe un autre problème fondamental, le manque de cibles comportant un seul antigène. Non seulement il y a un manque d'antigènes tumoraux exprimés de façon homogène, mais aussi un manque de spécificité avec des antigènes à la fois présents sur la tumeur et sur les tissus sains. (31)

5.2.1 Trafic des cellules CAR-T vers les sites tumoraux

Pour se lier à leurs protéines cibles à la surface des tumeurs, les cellules CAR-T doivent d'abord être acheminées vers les sites tumoraux. C'est la condition fondamentale pour que l'immunothérapie à base de cellules T fonctionne correctement. Contrairement aux tumeurs

malignes hématologiques, dans le cas des tumeurs solides, le trafic et l'infiltration des cellules T vers les sites tumoraux sont souvent très limités par le microenvironnement immunosuppresseur. (49) L'analyse du microenvironnement tumoral a mis en évidence une multitude d'obstacles tels que le trafic, les molécules et cellules immunosuppressives et les points de contrôle immunitaires que les cellules CAR-T devront surmonter. (23)

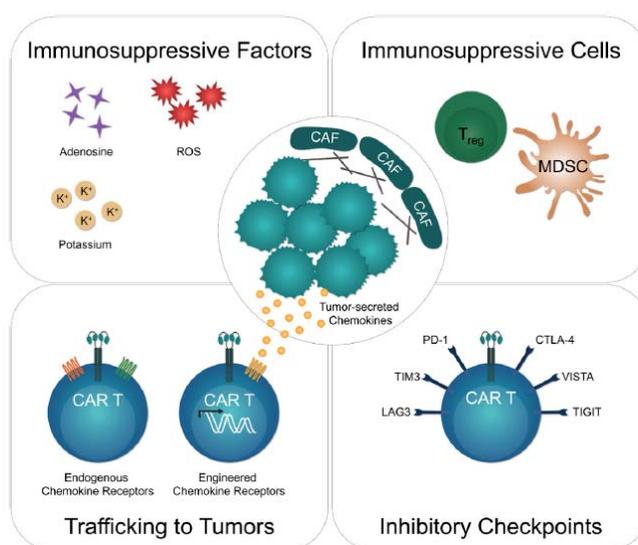


FIGURE 2. Barriers to CAR T cell therapy for solid tumors. Bottom left, CAR T cell trafficking depends on expression of receptors for chemokines secreted by the tumor. CAR T cells endogenously express chemokine receptors like CXCR3 and CCR5, but their cognate ligands are often not highly expressed by solid tumors. CAR T cells can be engineered to express receptors (e.g., CCR2, CCR4) for chemokines naturally secreted by the tumor to improve trafficking to tumors. Bottom right, Ag-activated CAR T cells in the TME upregulate expression of inhibitory receptors, which can lead to T cell dysfunction. Upper left, TME are rich in factors like adenosine, extracellular potassium, and ROS, which can inhibit T cells directly or indirectly. Upper right, Immunosuppressive cells like Tregs and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) can promote tumor growth and inhibit T cell activity both directly and indirectly. CAFs deposit extracellular matrix to limit T cell penetration and can recruit other immunosuppressive cells.

Figure 9 : Obstacles à la thérapie par les cellules CAR-T (23)

La reconnaissance des tumeurs solides par les cellules T nécessite une sortie du sang de celles-ci vers le site de la tumeur et de nombreuses tumeurs évoluent de manière à empêcher l'infiltration des cellules T. Dans les cas où la tumeur est localisée, une administration « locale » plutôt que systémique des cellules CAR-T pourrait être efficace. (23)

Contrairement aux tumeurs hématologiques malignes qui sont faciles à cibler et à atteindre par les cellules CAR-T, certaines des chimiokines telles que CXCL1, CXCL12 et CXCL5 sécrétées par des tumeurs solides empêchent les cellules T de se diriger et de s'infiltrer dans les lésions tumorales. En raison du manque de récepteurs de chimiokines correspondants exprimés sur les cellules T, il est difficile pour eux de circuler et de s'infiltrer dans les sites tumoraux. Par conséquent, afin de surmonter cet obstacle, les cellules T devront être modifiées pour exprimer le récepteur de chimiokine qui correspond à la chimiokine dérivée de la tumeur correspondante

(49). Les cellules CAR-T peuvent être conçues pour exprimer des récepteurs tels que le CCR2 et le CCR4 qui sont spécifiques des chimiokines naturellement surexprimées par les tumeurs, ce qui leur permet de se déplacer plus efficacement vers les tumeurs. Plutôt que de modifier les cellules CAR-T en fonction du profil de chimiokines de chaque tumeur, la solution la plus simple serait d'amener la tumeur à sécréter des chimiokines auxquelles les cellules CAR-T sont déjà sensibles. (23)

D'autres modifications sont envisageables pour favoriser l'inflammation au niveau du site tumoral. C'est le cas de la combinaison des cellules CAR-T avec des virus oncolytiques. (23) Une étude a mis en évidence l'utilisation d'un virus oncolytique pour distribuer la chimiokine CCL5 à la tumeur. Les cellules CAR-T expriment déjà des récepteurs (CCR1, CCR3 et CCR5) du CCL5, une thérapie combinée avec le virus oncolytique exprimant le CCL5 et des cellules CAR-T a amélioré la survie et la disparition de la tumeur dans des modèles précliniques. (50)

L'accès des cellules CAR-T aux tumeurs pourrait également être amélioré en combinant cette thérapie cellulaire adoptive avec des médicaments capables d'induire une apoptose immunogène des cellules tumorales. Contrairement à la mort cellulaire physiologique où les cellules mourantes sont éliminées sans réaction inflammatoire, l'apoptose immunogène induit la libération de motifs moléculaires associés aux dommages qui activent directement les cellules dendritiques pour sécréter des chimiokines attirant les cellules T et présenter les antigènes tumoraux. (23)

La radiothérapie locale et certains agents chimiothérapeutiques induisent une apoptose immunogène et activent les réponses des cellules T endogènes contre les antigènes tumoraux. De plus, cela inhibe ou élimine des sous-ensembles de cellules immunosuppressives dans le microenvironnement tumoral, entraînant un état pro-inflammatoire global et une amélioration de la réponse immunitaire. Un schéma thérapeutique similaire pourrait améliorer l'infiltration des cellules CAR-T en induisant la production de chimiokines et en créant un environnement favorable à leur fonction effectrice. (23)

5.2.2 Microenvironnement immunosuppresseur tumoral

Le microenvironnement immunosuppresseur au sein d'une tumeur solide présente des caractéristiques histopathologiques particulières se manifestant par une perméabilité vasculaire importante, une mauvaise intégrité de la structure des tissus, etc. Ces changements entraînent un pH bas, une hypoxie, l'absence de nutriments essentiels, la présence de cellules

immunosuppressives et de cytokines d'origine tumorale. Ces paramètres inhibent les cellules T. (23,49)

Il existe trois facteurs principaux qui affectent les effets antitumoraux des cellules T.

i. Les cellules immunosuppressives

Les tumeurs solides sont généralement constituées d'un grand nombre de cellules immunosuppressives telles que les lymphocytes T régulateurs (Treg), les cellules myéloïdes suppressives et les macrophages associés aux tumeurs. Toutes ces cellules jouent un rôle pour protéger les cellules tumorales solides de la destruction par le système immunitaire de l'hôte. (49) L'expansion des cellules myéloïdes suppressives étant dépendante du GM-CSF et le PD-L1 (protéine entraînant l'inactivation des lymphocytes T) étant exprimé sur les cellules myéloïdes suppressives, ces deux intermédiaires représentent une approche potentielle pour améliorer les effets antitumoraux des cellules CAR-T. (51)

Plusieurs groupes ont tenté d'améliorer l'activité des cellules CAR-T en les combinant avec des modulateurs du microenvironnement tumoral. Une voie prometteuse est l'utilisation d'inhibiteurs de points de contrôle immunitaire ciblant les voies PD-1/PD-L1 ou CTLA-4, qui seuls ont montré leur efficacité dans certains cancers. (23) Le nivolumab (Opdivo®), inhibiteur PD-1, a obtenu son AMM en Juin 2015 tandis que l'ipilimumab (Yervoy®), anti-CTLA-4 a obtenu son AMM en Juillet 2011.

ii. Les cytokines dérivées de tumeurs

Les cytokines dérivées de tumeurs sont des facteurs solubles qui diminuent l'efficacité de l'immunothérapie anticancéreuse pour les tumeurs solides. Le TGF- β est une cytokine tumorale inhibitrice qui joue un rôle majeur dans l'atténuation de la réponse antitumorale. Le TGF- β régule à la baisse la fonction des cellules T effectrices CD8⁺ et régule à la hausse la maturation des lymphocytes T régulateurs. En revanche, la neutralisation du TGF- β par des anticorps améliore les fonctions des cellules T CD8⁺ et améliore la réponse antitumorale en augmentant le nombre, l'infiltration et la persistance des cellules T transférées. De plus, l'activation de l'IL-2 et de l'IL-15, améliore les effets antitumoraux des cellules CAR-T. L'IL-12 altère le microenvironnement tumoral, élimine les cellules tumorales n'exprimant pas l'antigène, et prolonge la survie des lymphocytes T pour augmenter l'efficacité de l'immunothérapie en

recrutant et en activant des macrophages et d'autres cellules immunitaires innées. Des cellules CAR-T ont été mises au point pour sécréter des cytokines pro-inflammatoires afin d'améliorer l'efficacité des cellules CAR-T dans le microenvironnement tumoral. (49)

iii. Ligands inhibiteurs des points de contrôle du système immunitaire

Les cellules tumorales surexpriment à leur surface des ligands inhibiteurs des points de contrôle (PD-L1) ciblant des récepteurs présents à la surface des lymphocytes (PD1, CTLA4). Les cellules cancéreuses détournent le système des checkpoints à leur avantage et induisent la fonction suppressive de la réponse immunitaire. (52) L'utilisation d'anticorps anti PD-L1 ou d'anticorps anti PD1 permet ainsi de lever l'inhibition de la réponse immunitaire. L'association d'immunothérapies anti-checkpoints et de cellules CAR-T est de plus en plus étudiées dans les essais cliniques. (49)

Des améliorations dans la conception des cellules CAR-T offrent le potentiel d'infiltrer et de contrer un microenvironnement immunosuppresseur et des efforts expérimentaux sont en cours pour augmenter l'expression des antigènes associés aux tumeurs en utilisant la radiothérapie ou la thérapie épigénétique dans le but d'augmenter l'efficacité des cellules CAR-T. Le bénéfice clinique des cellules CAR-T dans les tumeurs solides pourrait donc ne pas être obtenu par l'utilisation de cellules CAR-T seules mais en association d'une chimiothérapie, d'une radiothérapie ou d'une rémission induite chirurgicalement dans une maladie à haut risque de rechute.

En conclusion il semble délicat d'atteindre un bénéfice clinique avec les thérapies à base de cellules CAR-T dans les tumeurs solides en répétant simplement les techniques utilisées dans les cancers du sang. Néanmoins, les besoins non satisfaits dans le traitement des cancers solides ; les approches mentionnées ci-dessus et un marché potentiellement très lucratif pour les investisseurs devraient donner des résultats intéressants dans les années à venir. (31)

5.2.3 Autres

i. On-target off-tumor toxicity

Un autre défi pour les cellules CAR-T ciblant les tumeurs solides est la liaison de ces cellules CAR-T aux antigènes cibles mais exprimés sur des tissus sains, pouvant entraîner la destruction

de cellules et organes sains. En effet, la plupart des antigènes ciblés par les cellules CAR-T ne sont pas spécifiques aux cellules tumorales. Cette toxicité peut être minimisée en contrôlant l'activité des cellules CAR-T en manipulant l'expression du CAR et en introduisant un interrupteur qui peut être déclenché dans le cas de la survenue d'un effet indésirable grave. (49)

ii. Spécificité de l'antigène

Les cellules tumorales présentent différents profils morphologiques et phénotypiques. L'une des caractéristiques biologiques les plus importantes est leur hétérogénéité. Cette hétérogénéité affecte significativement l'efficacité de l'immunothérapie dans la mesure où la cible des cellules CAR-T se limite à une certaine population de cellules tumorales, celles exprimant l'antigène « cible ».

L'EGFRvIII se révèle être exclusivement exprimé par les cellules cancéreuses. Par conséquent, les cellules CAR-T ciblant l'EGFRvIII sont utiles pour augmenter l'efficacité et réduire la toxicité. Le manque d'antigènes spécifiques aux tumeurs limite considérablement l'utilisation de cellules CAR-T. (49)

5.3 Diminutions des effets indésirables et de la toxicité

Comme détaillé plus haut, les cellules CAR-T peuvent entraîner des effets indésirables importants pouvant dans certains cas être fatals. Des travaux sont en cours pour trouver des solutions et permettre de diminuer ou contrôler ces effets indésirables. La gestion des toxicités décrites précédemment représente un point crucial dans le succès du développement clinique des cellules CAR-T. Plusieurs méthodes sont proposées pour tenter de maîtriser cette toxicité, notamment une immunosuppression non spécifique ou une diminution sélective des cellules modifiées à travers des gènes « suicide » ou « élimination ». (41)

5.3.1 Gène suicide

Compte tenu du large éventail de toxicités, l'intégration d'un gène suicide pour permettre une diminution sélective des cellules CAR-T pourrait être un élément essentiel dans le développement de cette technologie. Plusieurs méthodologies ont été décrites et rapportées avec succès lors d'essais précliniques et cliniques. (41)

5.3.2 « Elimination genes »

Une autre méthode pour induire la déplétion sélective des cellules génétiquement modifiées est l'expression d'une fraction pouvant être ciblée. Les cellules peuvent être programmées pour exprimer un antigène de surface connu, comme CD20 ou EGFR. La mort cellulaire est alors permise par administration de l'anticorps monoclonal associé (Rituximab pour le CD20 et Centuximab pour EGFR). De plus, l'expression d'antigènes connus à la surface des cellules CAR-T présente plusieurs avantages en plus de permettre l'élimination des cellules si besoin : elle permet également de sélectionner (ex vivo) et de suivre (in vivo) les cellules génétiquement modifiées. Cette méthode présente toutefois un inconvénient : des effets indésirables inhérents à la liaison de l'anticorps monoclonal à sa cible sur un tissu sain. (41)

5.3.3 Inactivation du GMCSF

Le SRC provient d'une sécrétion massive de cytokines et peut mettre la vie en danger, mais il est généralement géré avec une administration de mAb anti-IL-6Ra ou une administration de glucocorticoïdes. Cependant, ces traitements ne traitent que les symptômes du SRC. Par conséquent, des stratégies alternatives pouvant prévenir le SRC et la neurotoxicité associées au traitement des cellules CAR-T sont nécessaires.

À l'aide d'un test de profilage des cytokines, il a été montré que le GM-CSF était une protéine clé favorisant le SRC.

Grâce à une combinaison d'expériences in vitro ainsi qu'à la technologie d'édition de gènes, il a été démontré que la neutralisation médiée par des anticorps ou l'inactivation génétique médiée par TALEN (enzymes de restriction) du GM-CSF dans les cellules CAR-T diminue considérablement le GM-CSF disponible et annule la sécrétion des biomarqueurs du SRC dépendante des macrophages, y compris la MCP-1, l'IL-6 et l'IL-8.

Ceci est d'autant plus intéressant que l'inactivation génétique du GM-CSF n'affecte pas la fonction antitumorale ou la capacité de prolifération des cellules CAR-T in vitro. Il serait donc envisageable de prévenir le SRC en utilisant des cellules CAR-T GM-CSF-knockout.

Cette approche pourrait permettre d'éliminer la nécessité d'un traitement anti-SRC et pourrait améliorer la sécurité globale des thérapies à base de cellules CAR-T. (42)

5.3.4 Activation des cellules CAR-T par administration d'un médicament

La société Celectis a développé une technologie, désormais cédée sous licence à Servier et Allogene, qui comprend un système de contrôle de commutation qui active uniquement les lymphocytes T modifiés lorsque le patient reçoit un certain médicament. La thérapie est actuellement en phase I, après avoir sauvé deux bébés atteints de leucémie agressive dans le cadre d'ATU. Aux États-Unis, Bellicum Pharmaceuticals développe une technologie similaire, appelée GoCAR-T, qui requiert l'administration Rimiducide pour activer les cellules CAR-T. (53)

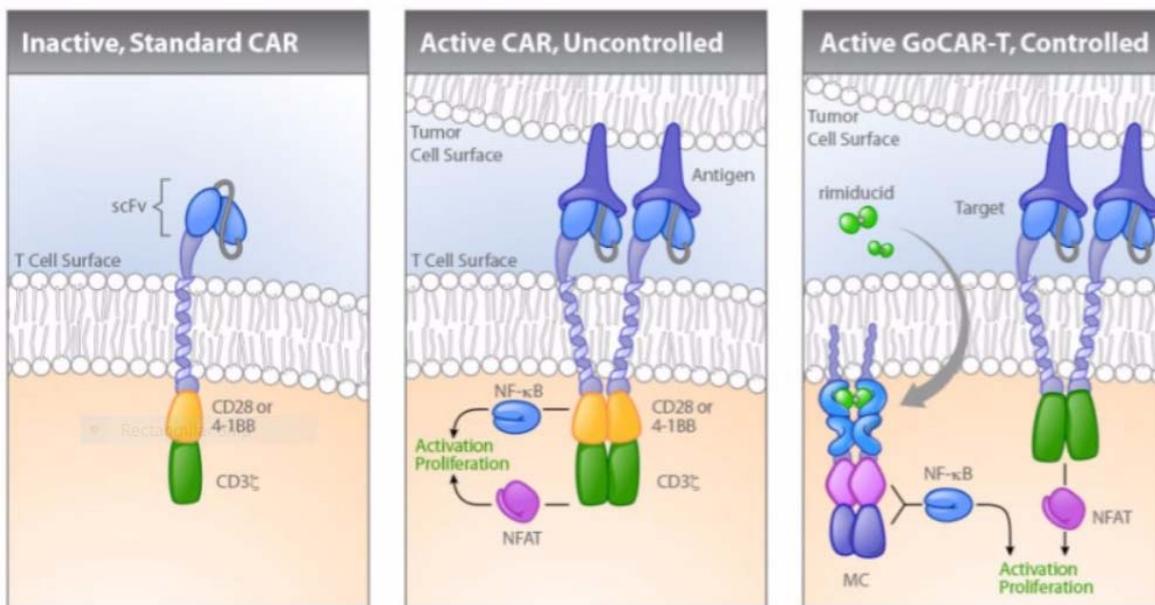


Figure 10 : Technologie GoCAR-T (53)

De son côté, Celyad développe une version de cellules CAR-T qui oblige les cellules T à porter le récepteur d'un autre type de cellules immunitaires, les cellules NK. Ce récepteur se lie à huit ligands différents qui sont exprimés dans plus de 80% des cancers solides et hématologiques. La société a récemment lancé l'un des plus vastes essais du secteur, ciblant sept indications.

5.3.5 CAR d'expression transitoire

Pour limiter les risques d'auto-immunité à la suite de l'injection de cellules CAR-T et éliminer rapidement les cellules infusées en cas de survenue d'événements indésirables graves, une équipe a réussi à mettre au point un mécanisme inductible dans les cellules CAR-T permettant d'entraîner la mort de la cellule lors de l'administration d'une certaine molécule.

Ce système est basé sur la fusion de la caspase 9 à une protéine de liaison FK humaine modifiée, permettant une dimérisation conditionnelle. Lorsqu'il y a exposition à une molécule de dimérisation synthétique, la caspase 9 inductible (iCasp9) devient activée et conduit à la mort rapide des cellules exprimant cette construction. (54)

Ce système de suicide cellulaire iCasp9 permettrait d'accroître la sécurité des thérapies cellulaires et d'étendre leur application clinique.

5.4 Nouvelle génération de CAR

Il y a eu depuis quelques temps une grande variété d'innovations dans la conception technique des cellules CAR-T dans le but d'améliorer l'efficacité, de réduire la toxicité et de lutter contre les tumeurs solides.

Le ciblage de plusieurs antigènes est une approche qui permet d'augmenter la spécificité, de capturer une variété de clones tumoraux et de réduire les rechutes dues à la perte de l'antigène à la surface des cellules cancéreuses. Cela a conduit au développement de cellules CAR-T à « déclenchement sécurisé ». Les effets « on-target/off-tumor » peuvent être minimisés par l'ajout de circuits fermés nécessitant la présence des deux antigènes pour que le CAR soit activé ou de circuits non déclenchés non déclenchés qui ne s'activeront en présence d'un antigène que si l'autre n'est pas présent. Le ciblage de deux antigènes peut être réalisé soit en infusant deux populations distinctes de cellules CAR-T soit en transduisant deux CAR dans la même cellule soit par une cellule CAR-T bispécifique. (31)

Les CAR « blindés » de quatrième génération utilisent une grande variété de techniques pour lutter contre un environnement immunosuppresseur (retrouvé dans les tumeurs solides). Cela comprend la sécrétion de cytokines par les TRUCKs (T cell redirected for universal cytokine killing) et notamment de l'IL-12 lors de la rencontre avec l'antigène cible qui entraîne un changement du microenvironnement tumoral en faveur d'une activation immunitaire et de la

destruction des cellules tumorales. D'autres développements ont permis au microenvironnement tumoral hostile d'être utilisé pour diriger et activer les cellules CAR-T avec l'ajout de récepteurs de chimiokines pour faciliter le trafic ou d'éléments activateurs en présence d'hypoxie par exemple. (31)

L'augmentation du potentiel d'activation immunitaire des cellules CAR-T augmente théoriquement le risque de toxicité immunitaire. Ce problème a été résolu par l'ajout d'interrupteurs suicide qui peuvent être déclenchés si nécessaire pour permettre la destruction rapide du produit cellulaire. Ce principe a été étendu avec des interrupteurs « marche/arrêt » où l'expression du CAR dépend de l'administration continue d'un médicament, avec le potentiel de permettre un contrôle externe de l'activation des cellules CAR-T en fonction de la réponse et de la toxicité. L'idéal pourrait être de reproduire le comportement normal du système immunitaire adaptatif, avec des cellules CAR-T qui répondent à une maladie maligne, disparaissent efficacement pendant la rémission, prolifèrent et s'activent lors de la réémergence de l'antigène cible lors de la rechute de la maladie. (31)

En plus des changements dans la conception structurelle, les progrès actuels dans l'édition génomique à l'aide du système CRISPR/Cas 9 permettent au transgène CAR d'être ciblé sur un locus génétique spécifique ce qui permet à la fois d'augmenter l'efficacité et de diminuer les problèmes de mutagenèse. Cette technologie permet également d'éliminer les gènes « non désirés », tels que les signaux inhibiteurs ou les antigènes cibles auto-exprimés (dans le cas de tumeurs malignes à cellules T). (31)

La figure 11 ci-dessous reprend certains points discutés auparavant en vue de la conception d'un CAR idéalisé.

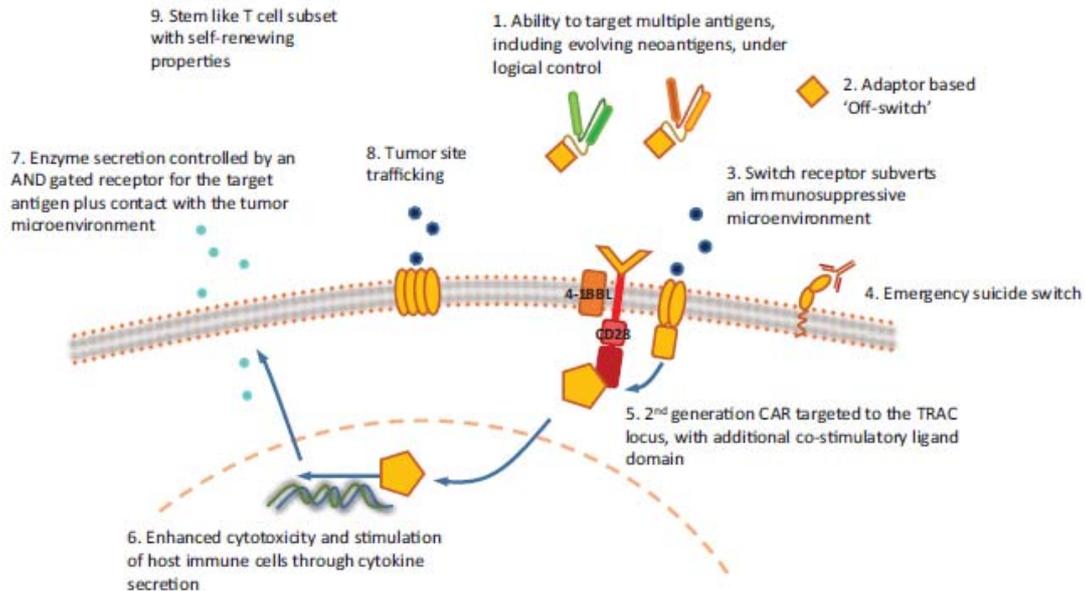


Figure 11 : Un CAR idéalisé (31)

Le domaine des cellules CAR-T ne se développera pas de façon isolée. Il est probable que les réponses tumorales seront mieux obtenues et maintenues avec des combinaisons de traitements spécifiques à chaque patient en fonction de sa maladie, notamment des associations avec des modulateurs épigénétiques et immunitaires, des chimiothérapies et des thérapies basées sur des anticorps. Il existe actuellement plusieurs essais qui n'offrent pas de CAR spécifique mais qui vont plutôt concevoir un CAR en fonction de l'immunophénotypage de la maladie du patient. Il sera alors nécessaire de mener des études contrôlées randomisées sophistiquées pour identifier la meilleure façon de combiner cette gamme d'options de traitement à l'ère de la médecine personnalisée. (31)

5.5 Association avec d'autres immunothérapies

L'utilisation d'un inhibiteur de tyrosine kinase, Ibrutinib, en association avec des cellules CAR-T a permis d'augmenter l'activité des cellules CAR-T en préclinique, par une diminution des récepteurs inhibiteurs à leur surface. (24)

D'autres combinaisons ont montré des résultats intéressants. C'est le cas de l'association de cellules CAR-T CD19 avec le pembrolizumab, inhibiteur de PD1. Cette association a montré

une augmentation de la persistance des cellules CAR-T dans la prise en charge de la LAL B en rechute chez l'enfant. (24)

5.6 Amélioration de la production des cellules CAR-T

Parallèlement aux progrès dans l'ingénierie des CAR, les progrès dans le processus de fabrication seront essentiels pour élargir la disponibilité de ces thérapies. Actuellement, la fabrication ex vivo est centralisée sur des sites souvent éloignés de l'hôpital où est pris en charge le patient ce qui contribue à augmenter les coûts et le temps de fabrication ainsi que la complexité logistique. Des progrès dans ce domaine permettraient donc d'élargir l'accès de ces thérapies aux patients dont le développement de la maladie est rapide, à ceux vivant loin des centres de fabrication actuels et à ceux vivant dans des milieux moins bien pourvus. (31)

Dans un processus idéal, les cellules obtenues après leucaphérèse pourraient être introduites dans une machine en circuit fermé dans laquelle plusieurs caractéristiques du CAR souhaité pourraient être sélectionnées et le produit final obtenu quelques jours plus tard. En allant encore plus loin, nous pourrions imaginer que la production ait lieu in vivo, avec un transgène ciblé sur les cellules T et un véhicule de transfert directement infusés au patient. En plus des défis liés à la faisabilité technique, cela soulèverait des problèmes majeurs de sécurité et de contrôle, néanmoins cette perspective est séduisante. (31)

Une autre solution pour améliorer la production des cellules CAR-T serait l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques.

5.7 Cellules CAR-T allogéniques

Réussir à développer des cellules CAR-T à partir de cellules T de donneurs sains présenterait de nombreux avantages par rapport aux cellules CAR-T autologues.

En effet, l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques permettrait une disponibilité immédiate des lots cryoconservés, la standardisation possible du produit à base de cellules CAR-T, une diminution des temps de modifications cellulaires multiples ainsi qu'une réduction des coûts grâce à un processus industrialisé et unique. (55)

Les produits allogéniques pourraient être administrés rapidement aux patients pour lesquels une quantité suffisante de cellules autologues ne peut être récoltée. L'efficacité et la sécurité sont, à ce jour, loin d'être établies, mais la rapidité potentielle de la disponibilité et la capacité à produire des lots à grande échelle pourraient éventuellement réduire le poids financier énorme attaché aux produits autologues existants.

Aujourd'hui, le procédé de fabrication des cellules CAR-T autologues nécessite approximativement 3 semaines entre la leucaphérèse et l'injection du produit fini au patient. Ce délai peut être particulièrement problématique chez des patients atteints de maladies hautement prolifératives. En effet, la maladie peut montrer une progression importante et le patient peut ne plus être apte à recevoir le traitement le temps que ce dernier soit produit. De plus, les lymphocytes T autologues sont impactés négativement par les précédentes lignes de traitement. Ces différents points mettent en évidence le fait que, dans certains cas, produire des cellules CAR-T à partir de lymphocytes T autologues s'avère compliqué. Enfin, le coût de cette approche thérapeutique complexe reste élevé et représente un réel défi pour les systèmes de santé.

Néanmoins, l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques est compromise par leur potentiel alloréactif élevé pouvant entraîner une réaction du greffon contre l'hôte et entraîner une élimination des cellules CAR-T par le système immunitaire de l'hôte. (55) Le TCR est naturellement enclin à réagir contre les tissus non autologues, reconnaissant soit des molécules HLA allogéniques soit d'autres produits génétiques polymorphes (antigènes mineurs d'histocompatibilité). Les progrès récents d'édition génomique permettent la fabrication de cellules CAR-T à partir d'une leucaphérèse de donneurs sains où la qualité et la quantité de cellules T peuvent être présélectionnées suivi d'une technologie d'édition génomique pour empêcher l'expression de TCR endogène afin de minimiser le risque de provoquer une réaction du greffon contre l'hôte chez des receveurs non HLA appariés. (49)

5.7.1 Les sources de cellules CAR-T allogéniques

Les cellules T actuellement utilisées pour la fabrication des cellules CAR-T proviennent principalement des cellules mononucléées du sang périphérique et, rarement, du sang de cordon

ombilical. En principe, ces cellules T pourraient également être dérivées de cellules souches telles que les cellules souches pluripotentes induites ou les cellules souches embryonnaires. (55)

i. Les cellules mononucléées du sang périphérique

La fabrication de cellules CAR T allogéniques à partir de cellules mononucléées du sang périphérique recueillies auprès de donneurs sains permet de fabriquer suffisamment de produits pour plusieurs patients à partir d'un seul produit d'aphérèse, et donc permet un accès rapide aux produits précédemment fabriqués. En outre, il est possible de générer une banque de cellules qui expriment les différents sous-types du CMH pour sélectionner potentiellement des lots qui correspondent au CMH du patient. De plus, comme les cellules CAR-T allogéniques sont créées à partir de cellules de donneurs sains, elles sont générées à partir de cellules immunitaires qui n'ont pas été affectées par les effets immunitaires du cancer ou par l'exposition à des agents chimiothérapeutiques, contrairement aux cellules T autologues des patients. La sélection des donneurs sur la base de leurs caractéristiques immunitaires est susceptible d'être un facteur clé dans la diminution de l'hétérogénéité du produit cellulaire final. (55)

ii. Les cellules dérivées du sang de cordon

L'utilisation de cellules CAR-T dérivées de sang de cordon peut être associée à une incidence et une gravité réduites de réaction du greffon contre l'hôte, ce qui permet des restrictions moins strictes sur le nombre de disparités de CMH. En effet, les cellules T dérivées de sang de cordon ont un statut antigénique unique qui peut être lié à la diminution de l'alloréactivité des cellules de sang de cordon greffées. (55)

iii. Les cellules souches pluripotentes induites

Les cellules T dérivées des cellules souches pluripotentes induites peuvent également être une source de cellules CAR-T. Théoriquement, une lignée de cellules souches pluripotentes induites a une capacité illimitée de se renouveler et peut être mise de côté et utilisée indéfiniment. Une banque de cellules souches pluripotentes induites avec des haplotypes HLA (*Human Leukocyte Antigen*) communs peut être générée pour minimiser le risque de rejet des cellules CAR-T. Un avantage de l'utilisation des cellules souches pluripotentes induites est que les cellules CAR-T

sont générées à partir d'une lignée cellulaire pluripotente modifiée par clonage et sont donc homogènes. L'innocuité et l'efficacité de cette approche n'ont pas encore été évaluées cliniquement. (55)

5.7.2 Eviter la réaction du greffon contre l'hôte

Les risques potentiels associés à la thérapie cellulaire allogénique ont été démontrés dans le contexte de la transplantation de cellules souches allogéniques. Les décalages HLA entre le donneur et le receveur déclenchent une reconnaissance immunitaire, conduisant potentiellement à un rejet de la transplantation ou à la réaction du greffon contre l'hôte.

La réaction du greffon contre l'hôte est la principale cause de morbidité et de décès dans les transplantations de cellules souches allogéniques, et des études ont montré que les cellules T $\alpha\beta$ sont au cœur de la pathogenèse de la réaction du greffon contre l'hôte aiguë et chronique.

Le TCR dans les cellules T $\alpha\beta$ reconnaît les peptides présentés par les molécules du CMH. Le locus du CMH est la région la plus polymorphe du génome humain, conduisant à plusieurs milliers de variantes exprimées du CMH. Les lymphocytes T $\alpha\beta$ alloréactifs, car ils interagissent avec des molécules du CMH étrangères sont des médiateurs clés du rejet de la transplantation (les lymphocytes T du receveur sont alloréactifs contre la greffe) et de la réaction du greffon contre l'hôte (cellules T du donneur alloréactives contre les tissus du receveur). (55)

Plusieurs approches ont été développées pour l'administration de cellules CAR-T allogéniques avec un risque réduit de réaction du greffon contre l'hôte : utilisation de cellules T allogéniques chez des receveurs de greffe de cellules souches, utilisation de cellules T mémoire virus-spécifiques, utilisation de cellules T non $\alpha\beta$ et édition de gènes avec délétion du TCR dans les cellules T $\alpha\beta$.

i. Utilisation de cellules CAR-T allogéniques chez un patient ayant déjà reçu des cellules souches du même donneur

Cette approche est limitée aux patients qui ont reçu une greffe de cellules souches allogéniques mais qui ont par la suite rechuté. Dans ce cas, les cellules CAR T peuvent être dérivées du donneur d'origine. Comme les donneurs sont HLA appariés avec le patient, les cellules CAR-T générés à partir de leurs cellules T sont moins susceptibles d'entraîner une réaction du greffon

contre l'hôte et comme elles sont identiques aux cellules précédemment transplantées, elles ne devraient pas attaquer la greffe. (56) Les résultats d'études récentes montrent des résultats satisfaisants (forte diminution du nombre de réactions du greffon contre l'hôte) suggérant que l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques chez un patient ayant déjà reçu une greffe de cellules souches du même donneur pourraient être étendue pour renforcer l'effet du greffon contre la tumeur sans augmenter le risque de réaction du greffon contre l'hôte. (55)

ii. Utilisation de cellules T mémoire virus-spécifiques

Une autre approche potentielle pour diminuer le risque de réaction du greffon contre l'hôte dans les thérapies allogéniques à base de cellules T est l'utilisation de cellules T mémoire virus-spécifiques. Contrairement aux donneurs de cellules souches les donneurs de cellules T virus-spécifiques ne sont que partiellement HLA appariés avec le patient. Ces cellules ont été utilisées pour traiter des infections virales après transplantation. (57) Malgré les correspondances HLA, les cellules CAR-T ne montrent qu'une minime réaction du greffon contre l'hôte et, chez les patients répondeurs, elles ont persisté entre 14 et 90 jours. (58) Considérant que le risque d'alloréactivité est proportionnel à la quantité de cellules T et à la diversité TCR, une explication possible de l'absence de réaction du greffon contre l'hôte est le répertoire restreint de ces cellules T mémoire. (55) Cependant, les taux de réponse utilisant des cellules CAR-T virus-spécifiques dérivées de donneurs de cellules souches ont été décevants avec 1 patient sur 6 traités obtenant une rémission complète (59) et l'efficacité de l'utilisation de cellules CAR-T virus-spécifiques appariées uniquement HLA n'a pas encore été démontrée.

L'exigence d'une correspondance HLA partielle ne ferait pas non plus de ces produits un produit réellement universel. (56)

iii. Utilisation de cellules T non $\alpha\beta$

Une autre solution envisagée consiste à éviter complètement l'utilisation de cellules $\alpha\beta$ T et à concevoir un autre type de cellule pour porter un CAR. En théorie, un type de cellule approprié pour l'immunothérapie adoptive CAR doit avoir des propriétés cytotoxiques qui peuvent être redirigées via un récepteur de surface cellulaire, doit être disponible à partir de sources accessibles telles que les cellules mononucléées du sang périphérique ou les cellules souches renouvelables, et doit être relativement facilement transduit et étendu.

5.7.3 Les défis des cellules CAR-T allogéniques

i. Expansion des cellules CAR-T allogéniques

La prolifération initiale des cellules CAR T est un facteur majeur du succès de cette approche thérapeutique. Il a bien été établi qu'une chimiothérapie lymphodéplétive est nécessaire pour une expansion efficace in vivo des cellules T administrées. Les cellules T subissent un processus appelé expansion homéostatique après leur transfert dans un hôte lymphopénique. Cette expansion est due aux cytokines homéostatiques telles que l'IL-7 et l'IL-15 et à l'exposition aux auto-antigènes et à d'autres antigènes. La lymphodéplétion est donc incluse dans la plupart des protocoles de thérapie cellulaire CAR-T. L'augmentation de l'intensité de la lymphodéplétion peut conduire à l'épuisement des lymphocytes T régulateurs et à une plus grande prise de greffe des lymphocytes T infusés. Cependant, cette stratégie est limitée par la toxicité associée à la chimiothérapie à plus forte dose ainsi qu'à un risque plus élevé de syndrome de libération de cytokines. (55)

L'expansion des cellules CAR-T allogéniques avec perturbation du TCR pourrait alors être provoquée par l'activation du CAR lui-même en présence de l'antigène cible et/ou par des cytokines homéostatiques. On ignore encore comment la perturbation du TCR influe sur la prolifération des cellules T in vivo dans ce contexte. Cellectis, Pfizer et Servier, ont développé des cellules CAR-T anti CD19 TCR- (UCART19) pour lesquelles la technologie TALEN a été utilisée pour perturber les fonctions des gènes $TCR\alpha$ et CD52. (60) Les données préliminaires obtenues avec UCART19 suggèrent que ces cellules CAR-T allogéniques peuvent se développer efficacement chez les patients. Une variabilité inter-patient est néanmoins notée ce qui suggère que des facteurs spécifiques à l'hôte sont également impliqués dans l'expansion des cellules T injectées. Enfin, la qualité de la lymphodéplétion est probablement plus importante dans une stratégie allogénique, car les cellules T hôtes persistantes peuvent immédiatement rejeter les cellules CAR-T allogéniques exprimant le CMH. (55)

Le CD 52 étant exprimé sur de nombreuses cellules immunitaires (lymphocytes T et B, monocytes, macrophages, cellules NK et cellules dendritiques), il est possible d'avoir recours à des anticorps monoclonaux ciblant le CD52 pour épuiser ces cellules immunitaires et augmenter l'intensité et la durée de la lymphodéplétion.

ii. Persistance des cellules CAR-T allogéniques

Dans le cas d'une administration de cellules CAR-T autologues, certaines rémissions de longue durée ont coïncidé avec la détection de cellules CAR T des mois ou des années après le traitement (61). Cependant, la durée optimale de la persistance des cellules CAR T peut différer selon la nature de la maladie, la charge tumorale et d'autres facteurs, tels que l'activité biologiques des cellules T administrées et la conception moléculaire du CAR (62).

Théoriquement, deux scénarios de maladie peuvent être envisagés. Dans le premier, une majorité de cellules tumorales exprimant l'antigène cible sont accessibles aux cellules CAR T. Si un nombre suffisant de cellules effectrices atteignant les cellules cibles est obtenu après l'expansion, il n'est peut-être pas nécessaire de maintenir une persistance à long terme des cellules CAR-T après l'élimination des cellules tumorales. Dans le second cas, probablement plus fréquent, une population de cellules tumorales intrinsèquement moins sensible à la destruction des lymphocytes T persiste en rémission clinique complète (sous forme de cellules souches quiescentes) (63). Dans ce cas, il est nécessaire d'envisager un contrôle à long terme de la maladie résiduelle par les cellules CAR-T. De ce point de vue-là, les cellules CAR T autologues ont l'avantage d'une persistance potentielle à long terme. Cependant, comme l'approche allogénique n'est pas limitée par la quantité de cellules T, elle permet de réadministrer les cellules CAR T chez tous les patients, en ciblant le même ou d'autres antigènes tumoraux. (55) Il est alors possible d'envisager plusieurs cycles d'administration allogénique de cellules CAR T après la première administration comme traitement de consolidation visant à maintenir un nombre suffisant de cellules CAR T et ainsi éliminer les cellules tumorales persistantes.

5.7.4 La cellule CAR-T allogénique idéale

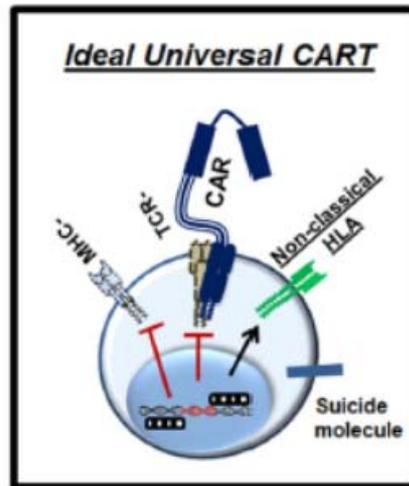


Figure 12 : La cellule CAR-T idéale (60)

La cellule CAR-T universelle idéale doit être HLA et TCR négative et inclure un HLA non classique pour éviter la lyse par les cellules NK. Il devrait également inclure un système de suicide pour contrôler la toxicité potentielle.

5.8 Cellules CAR-T multi-spécifiques

Compte tenu de l'hétérogénéité tumorale et des possibilités d'échappement de l'antigène ciblé, une des voies actuellement étudiées est le développement de cellules CAR-T ciblant plus d'un antigène. Cette approche augmente les chances d'éliminer plusieurs simultanément plusieurs populations sous-clonales en ciblant plusieurs antigènes associés aux tumeurs ainsi que d'autres facteurs dans le microenvironnement tumoral.

Il existe plusieurs façons de créer des cellules CAR-T multi-spécifiques.

La première approche consiste à construire un pool avec deux populations ou plus de cellules CAR-T uni-spécifiques. Ces deux populations sont coadministrées simultanément.

La deuxième approche consiste à infuser des cellules CAR-T ciblant deux ou trois antigènes soit en transduisant deux/trois CAR dans la même cellule soit par une cellule CAR-T bi- ou tri-

spécifique. Une cellule CAR-T bi- ou tri-spécifique ne possèdera qu'un domaine de signalisation contrairement à une cellule CAR-T transduite par deux ou trois CAR. (49)

Les cellules CAR-T multi-spécifiques ont un avantage potentiel par rapport aux cellules CAR-T uni-spécifiques, elles diminuent drastiquement la toxicité on-target/off-tumor. En effet, l'activation des cellules T dépend de l'interaction simultanée des CARs avec leurs antigènes respectifs. Il est donc possible, dans le cas de cellules CAR-T multi-spécifiques, de cibler un antigène non spécifique de la tumeur (c'est-à-dire également retrouvé sur des tissus sains) sans risquer une trop grande toxicité car la cellule T cible efficacement les tissus exprimant les différents antigènes mais pas les tissus positifs avec un seul des antigènes. (49)

6. Conclusion

L'arrivée sur le marché de deux thérapies à base de cellules CAR-T, Yescarta® et Kymriah®, marque le début d'une ère nouvelle à la fois prometteuse mais apportant également son lot d'incertitudes et d'interrogations. En effet, même si les indications de ces deux thérapies sont pour l'instant restreintes, les excellents résultats obtenus lors des essais cliniques, qui devront néanmoins être confirmés en vie réelle, sont sans précédents dans le traitement des hémopathies malignes. Les recherches actuellement menées pour trouver de nouvelles cibles devraient permettre l'arrivée prochaine sur le marché de cellules CAR-T indiquées dans le traitement d'autres hémopathies malignes. Un des grands chantiers actuels des cellules CAR-T est leur application à des tumeurs solides. Néanmoins, le développement se heurte aux caractéristiques intrinsèques des tumeurs solides. La potentielle application de ces cellules CAR-T à un grand nombre d'indications que ce soit pour des hémopathies malignes ou des tumeurs solides met en lumière le plus gros défi à relever : le défi financier. Actuellement, avec deux produits sur le marché, la pression pèse déjà sur les systèmes de santé pour le financement de ces thérapies. De nouveaux modèles de paiement doivent être envisagés notamment le paiement à la performance déjà utilisé pour certaines thérapies onéreuses. Une autre solution est de réussir à diminuer les coûts de production de ces cellules CAR-T grâce à l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques. Intéressantes financièrement, elles permettraient, en s'affranchissant des longues étapes de production, une administration au patient de deux à trois semaines plus rapide qu'avec des cellules CAR-T autologues. Cependant, plusieurs obstacles devront être surmontés pour voir l'arrivée de cellules CAR-T allogéniques sur le marché : le risque de rejet et le risque de réaction du greffon contre l'hôte.

Bibliographie

1. RÈGLEMENT (CE) No 1394/2007 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 13 novembre 2007 [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R1394&from=FR>
2. DIRECTIVE 2001/83/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 6 novembre 2001 [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_cons2009/2001_83_cons2009_fr.pdf
3. Ten Ham RMT, Hoekman J, Hövels AM, Broekmans AW, Leufkens HGM, Klungel OH. Challenges in Advanced Therapy Medicinal Product Development: A Survey among Companies in Europe. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 14 déc 2018;11:121-30.
4. Anonymous. Committee for Advanced Therapies (CAT) [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-advanced-therapies-cat>
5. Anonymous. Committee for Medicinal Products Human Use (CHMP) [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-medicinal-products-human-use-chmp>
6. Anonymous. Advanced therapy classification [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 15 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation/advanced-therapies/advanced-therapy-classification>
7. Anonymous. Scientific advice and protocol assistance [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-advice-protocol-assistance>
8. Avis scientifique de médicament - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 7 mars 2020]. Disponible sur: [https://www.ansm.sante.fr/L-ANSM/Avis-scientifique-de-medicament/Avis-scientifique-de-medicament/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/L-ANSM/Avis-scientifique-de-medicament/Avis-scientifique-de-medicament/(offset)/0)
9. Anonymous. PRIME: priority medicines [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/prime-priority-medicines>
10. Anonymous. Orphan designation: Overview [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/orphan-designation-overview>
11. Yi L, Weifan Y, Huan Y. Chimeric antigen receptor–engineered regulatory T lymphocytes: promise for immunotherapy of autoimmune disease. *Cytotherapy*. sept 2019;21(9):925-34.
12. Maus MV, Levine BL. Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for the Community Oncologist. *The Oncologist*. 2016;21(5):608-17.

13. Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ. Clinical development of CAR T cells-challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med*. 2017;9(9):1183-97.
14. Pang Y, Hou X, Yang C, Liu Y, Jiang G. Advances on chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for oncotherapy. *Mol Cancer*. 16 2018;17(1):91.
15. Novartis opens facility for innovative cell and gene therapies in Switzerland [Internet]. Novartis. [cité 29 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.novartis.com/news/novartis-opens-facility-innovative-cell-and-gene-therapies-switzerland>
16. Conclusion de la vente de CELLforCURE à Novartis. [Internet]. LFB corp. [cité 29 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.groupe-lfb.com/actualites/lfb-annonce-realisation-de-vente-de-cellforcure-a-novartis/>
17. Novartis annonce que ses traitements innovants CAR-T contre le cancer seront produits aux Ulis (Essonne), preuve de son engagement en France | Novartis France [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.novartis.fr/actualites/communiqués-de-presse/novartis-annonce-que-ses-traitements-innovants-car-t-contre-le>
18. Kite Announces New Worldwide Facilities and Expanded Collaboration With National Cancer Institute to Support Cell Therapy Pipeline [Internet]. [cité 29 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2018/5/kite-announces-new-worldwide-facilities-and-expanded-collaboration-with-national-cancer-institute-to-support-cell-therapy-pipeline>
19. Vormittag P, Gunn R, Ghorashian S, Veraitch FS. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol*. 2018;53:164-81.
20. Langer E. Fill/Finish Outsourcing [Internet]. [cité 13 mai 2020]. Disponible sur: <http://www.pharmtech.com/fillfinish-outsourcing>
21. Overview of Aseptic Fill/Finish Manufacturing [Internet]. BioRealty, Inc. 2016 [cité 13 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.biorealty.com/blog/overview-of-aseptic-fillfinish-manufacturing/>
22. Roddie C, O'Reilly M, Dias Alves Pinto J, Vispute K, Lowdell M. Manufacturing chimeric antigen receptor T cells: issues and challenges. *Cytotherapy*. 2019;21(3):327-40.
23. Srivastava S, Riddell SR. Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy: Challenges to Bench-to-Bedside Efficacy. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 2018;200(2):459-68.
24. Dourthe M-É, Yakouben K, Chaillou D, Lesprit E, Dalle J-H, Baruchel A. CAR-T cells : indications actuelles en pédiatrie et perspectives de développement. *Bull Cancer (Paris)*. déc 2018;105:S147-57.
25. Anonymous. First two CAR-T cell medicines recommended for approval in the European Union [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-two-car-t-cell-medicines-recommended-approval-european-union>

26. RCP Yescarta [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yescarta-epar-product-information_fr.pdf
27. RCP Kymriah [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_fr.pdf
28. HAS. Avis de la Commission de la transparence Kymriah [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-12/kymriah_lal_pic_ins_avis3_ct17202.pdf
29. HAS. Avis de la Commission de la transparence Yescarta [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-12/yescarta_pic_ins_avis3_ct17214.pdf
30. HAS. Avis d'efficience Kymriah [Internet]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2019-03/kymriah_ldgcb_15012019_avis_efficience.pdf
31. Charrot S, Hallam S. CAR-T Cells: Future Perspectives. HemaSphere. avr 2019;3(2):e188.
32. DIRECTIVE 2001/20/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 4 avril 2001 [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:02001L0020-20090807&from=ES>
33. ICH E6 (R2) [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-6-r2-guideline-good-clinical-practice-step-5_en.pdf
34. Décision du 24 novembre 2006 fixant les règles de bonnes pratiques cliniques pour les recherches biomédicales portant sur des médicaments à usage humain.
35. RÈGLEMENT (UE) No 536/2014 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 16 avril 2014 [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0536&from=FR>
36. DIRECTIVE 2001/18/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 12 mars 2001 [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2001L0018:20080321:FR:PDF>
37. Marie Michel EGD Julie Liberman. Clinical trials with GMOs in the EU – from regulatory to sites. Regul Rapp. juin 2020;
38. DIRECTIVE 2009/41/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 6 mai 2009 [Internet]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009L0041&from=FR>
39. DAUE R. GMO requirements for Investigational Products [Internet]. Public Health - European Commission. 2017 [cité 18 avr 2020]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/human-use/advanced-therapies_en

40. Cell Therapy Manufacturing: The Supply Chain Challenge [Internet]. GEN - Genetic Engineering and Biotechnology News. 2018 [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.genengnews.com/insights/cell-therapy-manufacturing-the-supply-chain-challenge/>
41. Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, Curran KJ. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Mol Ther Oncolytics*. 2016;3:16011.
42. Sachdeva M, Duchateau P, Depil S, Poirot L, Valton J. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor inactivation in CAR T-cells prevents monocyte-dependent release of key cytokine release syndrome mediators. *J Biol Chem*. 5 avr 2019;294(14):5430-7.
43. Avis relatif aux prix de spécialités pharmaceutiques publiés en application de l'article L. 162-16-6 du code de la sécurité sociale.
44. Jørgensen J, Kefalas P. Annuity payments can increase patient access to innovative cell and gene therapies under England's net budget impact test. *J Mark Access Health Policy*. 2017;5(1):1355203.
45. Médicaments : quel bilan pour les contrats de prix à la performance ? [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.celtipharm.com/Pages/Actualites/2017/05/Medicaments%E2%80%89-quel-bilan-pour-les-contrats-de-prix-a-la-performance.aspx>
46. AIFA announces funding of CAR-T cell therapy using new reimbursement approach - MAP BioPharma [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://mapbiopharma.com/home/2019/08/aifa-announces-funding-of-car-t-cell-therapy-using-new-reimbursement-approach/>
47. La révolution des CAR-T cells : le casse-tête du financement [Internet]. [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: https://www.alcimed.com/wp-content/uploads/2018/10/Alcimed_Communicu%C3%A9-de-Presse_-CART-T-cells_030918.pdf
48. VIDAL - Rituximab [Internet]. [cité 29 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/substances/18205/rituximab/>
49. Ma S, Li X, Wang X, Cheng L, Li Z, Zhang C, et al. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors. *Int J Biol Sci*. 2019;15(12):2548-60.
50. Nishio N, Diaconu I, Liu H, Cerullo V, Caruana I, Hoyos V, et al. Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors. *Cancer Res*. 15 sept 2014;74(18):5195-205.
51. Burga RA, Thorn M, Point GR, Guha P, Nguyen CT, Licata LA, et al. Liver myeloid-derived suppressor cells expand in response to liver metastases in mice and inhibit the anti-tumor efficacy of anti-CEA CAR-T. *Cancer Immunol Immunother* CII. juill 2015;64(7):817-29.
52. Vuagnat P, Champiat S. Immunothérapies anti-checkpoints : aspects fondamentaux. *MISE AU POINT*. 2018;6.

53. CAR-T CRF-10/09/2019 8 mins-, Features. A Cure for Cancer? How CAR T-Cell Therapy is Revolutionizing Oncology [Internet]. Labiotech.eu. 2019 [cité 2 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.labiotech.eu/car-t/car-t-therapy-cancer-review/>
54. Di Stasi A, Tey S-K, Dotti G, Fujita Y, Kennedy-Nasser A, Martinez C, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med*. 3 nov 2011;365(18):1673-83.
55. Depil S, Duchateau P, Grupp SA, Mufti G, Poirot L. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 3 janv 2020 [cité 21 févr 2020]; Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41573-019-0051-2>
56. Graham C, Jozwik A, Pepper A, Benjamin R. Allogeneic CAR-T Cells: More than Ease of Access? *Cells*. 1 oct 2018;7(10).
57. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 27 juin 2013;121(26):5113-23.
58. O'Reilly RJ, Prockop S, Hasan AN, Koehne G, Doubrovina E. Virus-specific T-cell banks for « off the shelf » adoptive therapy of refractory infections. *Bone Marrow Transplant*. sept 2016;51(9):1163-72.
59. Cruz CRY, Micklethwaite KP, Savoldo B, Ramos CA, Lam S, Ku S, et al. Infusion of donor-derived CD19-redirected virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase 1 study. *Blood*. 24 oct 2013;122(17):2965-73.
60. Ruella M, Kenderian SS. Next-Generation Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Going off the Shelf. *BioDrugs Clin Immunother Biopharm Gene Ther*. déc 2017;31(6):473-81.
61. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *N Engl J Med*. 16 oct 2014;371(16):1507-17.
62. Guedan S, Posey AD, Shaw C, Wing A, Da T, Patel PR, et al. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation. *JCI Insight*. 11 2018;3(1).
63. Lytle NK, Barber AG, Reya T. Stem cell fate in cancer growth, progression and therapy resistance. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(11):669-80.

TOURAUD, Margaux. Les cellules CAR-T : état des lieux, défis et perspectives

99 feuilles, illustrations, graphiques, tableaux, 30 cm.- Thèse : Pharmacie (Industrie); Rennes 1; 2020 ; N° .

Résumé français

Les cellules CAR-T sont des médicaments de thérapie innovante et plus précisément de thérapie génique reflétant l'avancée de la médecine personnalisée dans le domaine de l'immunothérapie. Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T prélevés au patient par apheresèse puis modifiés génétiquement pour leur permettre d'exprimer un récepteur antigénique chimérique (CAR) spécifique d'un antigène exprimé par la tumeur du patient. Les deux thérapies à base de cellules CAR-T actuellement sur le marché européen sont indiquées dans le traitement de certaines hémopathies malignes exprimant le CD19. Il s'agit de Kymriah® du laboratoire Novartis ainsi que de Yescarta® du laboratoire Gilead. Les cellules CAR-T doivent aussi faire face à un nombre important de défis notamment en ce qui concerne leur production, la gestion de la toxicité et des effets indésirables ou encore leur coût et remboursement.

Résumé anglais

CAR-T cells are advanced therapy medicinal products and more specifically gene therapy medicinal products reflecting the advancement of personalized medicine in the field of immunotherapy. CAR-T cells are T lymphocytes taken from the patient by apheresis and then genetically modified to allow them to express a chimeric antigen receptor (CAR) specific for an antigen expressed by the patient's tumor. The two CAR-T cells currently on the European market are indicated in the treatment of certain malignant hemopathies expressing CD19. These are Kymriah® from Novartis and Yescarta® from Gilead. CAR-T cells also face a significant number of challenges, particularly with regard to their production, the management of toxicity and adverse effects, and also their cost and reimbursement.

Rubrique de classement : ONCOLOGIE

Mots-clés : Lymphocytes T, immunothérapie, tumeur, thérapie génique

Mots-clés anglais MeSH: T-Lymphocytes, immunotherapy, tumor, gene therapy

Président : Monsieur Pascal Le Corre

JURY :
Assesseurs : Madame Emmanuelle Sabbah-Petrover [directeur de thèse]
Monsieur Louis-Guillaume Marquier
Madame Catherine Hamon Bouer