



HAL
open science

Recherche de biomarqueurs prédictifs d'échec thérapeutique aux cellules CAR-T dans les lymphomes non hodgkiniens

Cécilia Bec

► **To cite this version:**

Cécilia Bec. Recherche de biomarqueurs prédictifs d'échec thérapeutique aux cellules CAR-T dans les lymphomes non hodgkiniens. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03853917

HAL Id: dumas-03853917

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03853917v1>

Submitted on 15 Nov 2022

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THÈSE D'EXERCICE / DOCTEUR JUNIOR

Phase d'Approfondissement du DES de Biologie Médicale

Soutenue le 23/09/2022

Par Mme Cécilia BEC
Née le 12/12/1995
À Annemasse

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de
Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE : Recherche de biomarqueurs prédictifs d'échec
thérapeutique aux cellules CAR-T dans les lymphomes non
hodgkiniens.**

----oOo----

JURY :

Président : Pr Florence SABATIER

Membres : Dr Claude LEMARIE, Dr Thibaut REICHERT, Dr Sophie THEVENET

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

| | |
|---|--|
| <i>Doyen :</i> | Mme Françoise DIGNAT-GEORGE |
| <i>Vice-Doyens :</i> | M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT |
| <i>Chargés de Mission :</i> | Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME |
| <i>Conseiller du Doyen :</i> | M. Patrice VANELLE |
| <i>Doyens honoraires :</i> | M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID, |
| <i>Professeurs émérites :</i> | M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS |
| <i>Professeurs honoraires :</i> | M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI |
| <i>Chef des Services Administratifs :</i> | Mme Chloé SIMON |
| <i>Chef de Cabinet :</i> | Mme Aurélie BELENGUER |
| <i>Responsable de la Scolarité :</i> | Mme Nathalie BESNARD |

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC
M. François DEVRED

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI
Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN
Mme Sandra GHAYAD

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU
Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Amandine BONIFAY

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE

Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL
M. Quentin ALBERT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine DEFOORT
M. Alain NICOLAY
Mme Estelle WOLFF
Mme Elise LOMBARD
Mme Camille DESGROUAS
M. Charles DESMARCHELIER
M. Mathieu CERINO

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Duje BURIC
M. Pascal PRINDERRE

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET
STRUCTURALE

Mme Sandrine ALIBERT
Mme Caroline DUCROS
M. Marc MONTANA
Mme Manon ROCHE
Mme Fanny MATHIAS

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE
HYDROLOGIE

M. Armand GELLIS
M. Christophe CURTI
Mme Julie BROGGI
M. Nicolas PRIMAS
M. Cédric SPITZ
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE

Mme Valérie MAHIOU-LEDDET
Mme Sok Siya BUN
Mme Béatrice BAGHDIKIAN
M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Cyril PUJOL

DROIT ET ETHIQUE

Mme Laurie PAHUS

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET
COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET
GESTION DE LA PHARMAFAC

Mme Félicia FERRERA

DISPOSITIFS MEDICAUX

Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

| | |
|----------------------------------|---|
| PHARMACIE CLINIQUE | M. Stéphane HONORÉ |
| PHARMACODYNAMIE | M. Benjamin GUILLET |
| TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE | M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI |
| TOXICOLOGIE GENERALE | Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU |

MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|----------------------------------|--|
| PHARMACIE CLINIQUE | M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE |
| PHARMACODYNAMIE | M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE |
| PHYSIOLOGIE | Mme Sylviane LORTET |
| TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE | Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE |
| TOXICOLOGIE GENERALE | M. Pierre-Henri VILLARD |

A.H.U.

| | |
|-----------------------------|------------------------------------|
| PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE | Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL |
|-----------------------------|------------------------------------|

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN
F. DIGNAT-GEORGE**

REMERCIEMENTS :

A Madame le Professeur SABATIER Florence, mes sincères remerciements pour l'honneur que vous me faites de présider mon jury de thèse. Je vous remercie pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre bienveillance à mon égard. Merci pour tout ce que vous m'avez appris à travers mes stages dans votre service.

A Madame le Docteur LEMARIE Claude, je te remercie d'avoir accepté d'être ma directrice de thèse. Un grand merci pour tes conseils, tes nombreuses relectures et ton aide précieuse tout au long de ce travail.

A Madame le Docteur THEVENET Sophie, je te remercie d'avoir accepté d'être membre de mon jury de thèse. Je te remercie également pour le temps accordé à la lecture et au jugement de ce travail.

A Monsieur, le Docteur REICHERT Thibaut, je te remercie d'avoir accepté d'être membre de mon jury de thèse. Je te remercie également pour ta gentillesse et ta disponibilité. Merci d'avoir pris le temps de m'apprendre les bases de la médecine nucléaire pour pouvoir effectuer ce travail.

Je remercie toute l'équipe du service de Thérapie Cellulaire de l'Institut Paoli-Calmettes du Pr CHABANNON pour son accueil chaleureux au sein de l'unité.

En particulier Bechara qui aura été d'un soutien incommensurable pendant ces 4 mois en particulier pendant les analyses statistiques. Je te remercie pour ton optimisme et tes encouragements au cours de ce travail.

Merci à Didier et Aurélie qui m'ont soutenue et encouragée pendant cette période (grosse pensée à nos blind test).

A L'équipe de Thérapie Cellulaire de la Conception, une équipe en or, merci à Anouck, Laurent, Gaëlle, Chloé, Julia, Delphine, Justine, Fanny et Yannis pour leur gentillesse, leur bonne humeur et leur soutien.

Pauline, une co-interne incroyable avec qui j'ai développé une complicité d'une rapidité déconcertante. Merci d'avoir toujours été à l'écoute et d'avoir partagé mes délires (grosse pensée à notre court métrage Magalonien).

Merci à Mélanie, pour ta gentillesse, tes conseils et ta disponibilité. Hâte de pouvoir, peut-être, partager un bureau avec toi en 2024.

Merci à Julie pour ta gentillesse et ta patience et pour tout ce que tu m'as appris durant mes stages.

Merci à Jérémy pour ta disponibilité et de m'avoir partagé ta passion de la Thérapie Cellulaire. C'est grâce à toi que j'ai choisi cette voie.

A ma famille

Maman, merci d'avoir toujours été là et d'avoir cru en moi en particulier pendant ces années de concours qui ont été bien difficiles. Merci de m'avoir encouragée sans cesse sur cette voie qui aboutit à ce jour.

Caro, merci pour tout le soutien que tu m'as apporté durant ces dernières années.

A mon père et Laurence, merci pour le soutien et l'écoute que vous m'avez accordé pendant toutes ses années (merci pour les corrections).

La famille Cellier, merci pour m'avoir soutenue à tout niveau pendant ces dernières années. Tous ces repas dominicaux qui me permettaient de faire un break avec l'internat m'ont bien aidés à garder le moral. Cathoune, merci pour ton écoute et pour l'énorme travail que tu as fait pour les corrections de ma thèse. Tonton merci d'avoir été là pour des tâches dans lesquelles mes compétences étaient clairement limitées (comme la voiture +++). Merci les cousins pour les bons moments de rigolades (et les trajets taxis).

Merci à Mamie, Julie, Aurélien, Jean-Pierre, Nathalie d'être présents aujourd'hui cela me fait chaud au cœur.

A mes amis de Thonon City :

Camille, ensemble depuis que la première année de maternelle. Tu resteras une de mes amies les précieuses. Je n'ai jamais eu autant de complicité avec une autre personne. Hâte de faire le tour du monde avec toi.

Guillaume, les pâtes carbonara tous les jeudis chez toi ainsi que nos parties de Slender me manquent. Même si on se voit maintenant en moyenne une fois par an (tristesse), c'est toujours

un plaisir de voir que l'on s'entend toujours aussi bien qu'il y a 10 ans et qu'on reste toujours aussi fusionnel.

A mes amis de Lyon,

Alexis, par où commencer, du quai du Rhône en P2 jusqu'à aujourd'hui tu es devenu mon meilleur ami. Même si nous avons connu de sombres dramas à une époque cela aura, je pense, contribué au fait qu'on soit aussi proche aujourd'hui. Tu as toujours été à l'écoute, toujours présent à me faire rire (malgré tes Alexis week / month / semestre). Tu es la seule personne, qui, lorsqu'elle est loin de moi, me manque tellement que j'en ai mal au ventre. Je suis contente de vivre ça avec toi. Et tu vas beaucoup me manquer.

*When the sun shines, we'll shine together
Told you I'll be here forever
Said I'll always be your friend
Took an oath, I'ma stick it out 'til the end
Now that it's raining more than ever
Know that we'll still have each other
You can stand under my umbrella*

Temporalité amitative, une sacrée combinaison de mots qui ne veut rien dire mais qui signifie beaucoup pour moi. Notre team Pharma pendant 5 belles années :

Alexiane, mon binôme de TP mais surtout de soirée. On aura vécu des belles années ensemble. De ta chute conduisant à ta cicatrice d'Harry Potter en passant par la rupture de mes croisées au petit Salon, on était vraiment les queens des soirées pharmas ! Merci d'avoir toujours été là pour moi.

Agathe, Anne-Claire, Camille, Clémence, Maxou, Julie, Matthieu, Baptiste, Mehdi, Manon, Rachel, Jeanne, Julie, Hortense merci pour toutes ces rigolades/ apéros qui nous ont faits clairement devenir des alcooliques chroniques mais pendant lesquels nous avons partagé tellement de bons moments.

Jbabe, de Lyon jusqu'à Marseille (qui l'aurait cru), on aura été dans le même groupe de TP jusqu'à être co-interne à Marseille, incroyable. Ton humour plein de finesse (la plupart du temps)

me fera toujours aussi rire. Merci d'être cette oreille attentive pendant mes nombreux monologues sur ma life.

A mes amis de Marseille bébé :

La chambre du ski :

Lola, la meilleure des colocs. Les karaokés au glam, les moult bières, les R2 etc. Sans toi Marseille aurait bien été triste. Tu es la Céline Dion de mon JJG (mdr).

Maurine, toujours une joie de vivre remarquable. Merci d'avoir ramené ton petit soleil corse dans ma vie.

Erwan, Mymy, Margaux, Moise merci pour toutes ces soirées et ces rigolades ensemble. Hâte de surveiller les patates en Corse avec vous.

Le 7 :

Juju, une amitié qui aura bien créé des dramas mais qui vaut tellement le coup. On se ressemble tellement, même humour, mêmes goûts musicaux /alimentaire (on partage les desserts ?). Comme tu le dis, je suis ton homologue féminin. Merci d'avoir été là dans des moments qui étaient bien sombres pour moi.

Et merci Riot games de nous avoir rapproché grâce à ces Worlds 2021 extrêmement décevants.

J'attends tes disponibilités pour le prochain karaoké.

Loulou (/ Charlemagne). Une sacrée rencontre qui aboutira à une amitié qui me tient beaucoup à cœur. Notre passion partagée pour les jeux vidéo ainsi que Britney Spears (ce qui n'est pas courant) nous permettras toujours de faire de soirées de folie. Mon partenaire de bar et de restos. Tu vas beaucoup me manquer le semestre prochain.

Léa, merci pour ta gentillesse et ton écoute. Une véritable Maman du 7. A nos prochaines soirées D&D qui seront, j'espère, plus couronnées de succès que la première !

Lolo, merci d'être cette personne sincère et naturelle avec qui j'aime tellement passer des soirées et faire l'ouverture du bunny's.

Margot, merci pour tous ces dîners / verres / soirées où on aura bien rigolé ensemble. Merci pour le soutien et l'écoute que tu m'as apporté ces dernières années.

Mon petit Rapit, enfin quelqu'un qui apprécie le youtube game comme moi ! Hâte de refaire des Karaokérateurs avec toi.

Pitou, El famoso DJ, merci de partager cet humour particulier que peu de gens comprennent.

Le quorum :

Sombre histoire de conversation Whatsapp qui terminera plutôt bien. Encore des sacrées soirées parfois d'adulte composées d'apéro dînatoire de vin et de fromage et parfois d'obscur shamrock arrosés de Vodka Get qui terminent par un mcdo dont je ne vois jamais la couleur.

La team de l'IHU :

Notre premier semestre ensemble, notre rencontre avec le monde de l'hôpital mais aussi de la première vague covid. On était vraiment une sacrée team, Alizée, PRP, Estelle, Céline, Dr Lola, Maelle, Antoine, Thomas, Yahya, Jimmy, Maylis, JB, Nicolas. Merci pour cette solidarité sans faille et ces karaokés au glam inoubliables (« inoubliables » QDOUT).

Valentine, merci pour tout le soutien, les soirées et les rigolades qui m'auront permis de garder la tête hors de l'eau pendant cet été de galère. Tu es une personne incroyable. Je suis vraiment contente de t'avoir rencontrée (merci Juju).

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

Table des matières

| | | |
|-------|---|----|
| I) | Introduction et objectifs :..... | 15 |
| II) | Revue de la littérature..... | 15 |
| 1) | La structure des cellules CAR-T | 15 |
| 2) | La production des cellules CAR-T | 18 |
| 3) | La réception et l'administration des cellules CAR-T | 20 |
| 4) | Les indications des cellules CAR-T | 20 |
| A) | Lymphomes non hodgkiniens..... | 23 |
| (i) | Lymphome B diffus à grandes cellules (LDGCB) | 23 |
| (ii) | Lymphome à cellules du manteau | 24 |
| (iii) | Lymphome folliculaire | 25 |
| B) | Les indications en dehors des LNH..... | 25 |
| 4) | Les effets indésirables des cellules CAR-T..... | 26 |
| 5) | Les limites de CAR-T..... | 28 |
| 6) | Aspects réglementaires des cellules CAR-T. | 29 |
| 7) | Les techniques de suivi des patients sous cellules CAR-T..... | 29 |
| A) | Les techniques d'imagerie..... | 29 |
| B) | Le monitoring biologique des cellules CAR-T : | 33 |
| III) | Description du circuit CAR-T au sein de l'Institut Paoli-Calmettes..... | 38 |
| 1) | La sélection des patients..... | 38 |
| 2) | La leucaphérèse | 39 |
| 3) | La réception des cellules CAR-T | 39 |
| 4) | Mise en place de la lymphodéplétion | 40 |
| 5) | Injection des cellules CAR-T. | 41 |
| 6) | Le monitoring des patients traités par cellules CAR-T | 41 |
| IV) | Etude rétrospective | 42 |
| 1) | Introduction | 42 |
| 2) | Matériels et méthodes..... | 43 |
| A) | Population étudiée | 43 |
| B) | Données Clinico – Biologiques analysées..... | 43 |
| C) | Analyses statistiques..... | 44 |
| 3) | Résultats | 45 |
| A) | Population de l'étude | 45 |

| | | |
|------|---|----|
| B) | Comparaison des groupes candidats et non-candidats à M1 | 46 |
| V) | Discussion | 54 |
| VI) | Conclusion et perspectives | 59 |
| VII) | Références bibliographiques | 60 |

Table des illustrations

| | | |
|-------------|--|----|
| Figure 1 : | Les différentes générations des CAR (Chimeric Antigen Receptor)..... | 17 |
| Figure 2 : | Répartition des indications des cellules CAR-T dans les essais cliniques. | 26 |
| Figure 3 : | Catégories des réponses métaboliques en fonction des scores de Deauville..... | 31 |
| Figure 4 : | Image de TEP scan d'une lésion tumorale. | 32 |
| Figure 5 : | Identification et quantification des cellules CAR-T par PCR et CMF. | 36 |
| Figure 6 : | Dossier de réception des cellules CAR-T mis en place à l'IPC | 40 |
| Figure 7 : | Diagramme organisationnel du circuit CAR-T à l'IPC | 42 |
| Figure 8 : | Caractéristiques de la population étudiée. | 46 |
| Figure 9 : | Logigramme représentant l'évolution de la réponse aux cellules CAR-T entre 1 mois et 6 mois | 50 |
| Figure 10 : | Répartition des scores de Deauville à M1. | 51 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Tableau 1 : | Comparaison des données sociodémographiques et cliniques avant injection entre les groupes de patients candidats et non-candidats à M1..... | 47 |
| Tableau 2 : | Comparaison des données biologiques avant injection entre les groupes de patients candidats et non-candidats à M1..... | 49 |
| Tableau 3 : | Comparaison des données d'imagerie et de l'incidence d'effets indésirables entre les groupes de patients candidats et non-candidats à M1..... | 52 |
| Tableau 4 : | Analyses univariées de la réponse à M1 (données d'imagerie, biologiques et sous- populations lymphocytaires). | 52 |
| Tableau 5 : | Analyses univariées de la réponse à M1 (facteurs diagnostiques et traitements). | 53 |

I) Introduction et objectifs :

L'arsenal thérapeutique en oncologie est, depuis ces dernières années, en plein renouvellement. En effet, les progrès techniques et la compréhension des différents mécanismes physiopathologiques ont permis de voir émerger de nouvelles approches thérapeutiques. En oncologie, l'immunothérapie a révolutionné la prise en charge de certains groupes de patients. Parmi les multiples approches développées, trois sont aujourd'hui commercialisées et utilisées à grande échelle, les produits ciblant les points de contrôle immunologiques par anticorps (Immune Check Point Inhibitors), les anticorps bispécifiques et la thérapie cellulaire par lymphocyte T à récepteur antigénique chimérique (Cellules CAR T) [1]. Mon travail se concentrera sur cette dernière technologie.

Les cellules CAR-T appartiennent à la catégorie des médicaments de thérapie innovante (MTI). Les MTI regroupent les médicaments de thérapie cellulaire somatique, de thérapie génique, les médicaments issus de l'ingénierie cellulaire et tissulaire, chacun pouvant éventuellement être combiné à des dispositifs médicaux. Les MTI sont régis par le règlement n°1394/2007 de la Commission Européenne (CE).

La première partie de ce manuscrit se présentera sous la forme d'une revue de la littérature où seront détaillés : la structure des cellules CAR-T, leurs indications, leurs effets indésirables, ainsi que les différentes techniques mises en œuvre pour suivre leur devenir dans l'organisme. Dans un second temps, nous développerons le circuit des cellules CAR-T au sein de l'Institut Paoli-Calmettes (IPC) permettant d'introduire la troisième partie de ce manuscrit. Celle-ci portera sur une étude rétrospective réalisée à l'IPC dans le but d'identifier des biomarqueurs prédictifs d'échec thérapeutique au traitement par cellules CAR-T chez les patients atteints d'un lymphome non hodgkinien. Et enfin nous terminerons par une discussion sur ce travail avec les différentes perspectives autour du monitoring des cellules CAR-T.

II) Revue de la littérature

1) La structure des cellules CAR-T

Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T autologues (ou allogéniques, en cours de développement) génétiquement manipulés *ex vivo* afin d'exprimer un récepteur antigénique spécifique de l'antigène tumoral d'intérêt. Le récepteur antigénique chimérique (CAR) est une

protéine transmembranaire synthétique exprimée à la surface des lymphocytes T. Ce récepteur combine les fonctions effectrices des lymphocytes T et la capacité des anticorps à reconnaître des antigènes de surface prédéfinis avec un haut degré de spécificité sans être restreints par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ce récepteur chimérique est composé de 3 à 4 domaines différents :

- Le domaine extracellulaire d'un anticorps reconnaissant l'antigène cible

C'est le fragment variable de liaison à l'antigène des immunoglobulines, il est constitué de la chaîne lourde variable fusionnée à la chaîne légère variable d'un anticorps par un peptide [2]. L'avantage de ce dernier est qu'il permet l'activation du lymphocyte T lorsque le récepteur CAR reconnaît son ligand directement exprimé à la surface de la cellule cible, à la différence du TCR endogène qui lui est soumis à la restriction HLA et ne reconnaît que les peptides présentés par le CMH. Les cellules CAR-T sont donc insensibles aux mécanismes d'échappement des tumeurs liés à la perte du CMH. Plus encore, des CAR bispécifiques et trispécifiques sont actuellement en cours d'évaluation en étude préclinique et clinique [3, 4], ces CAR ont la particularité d'être constitués de différents domaines extra cellulaires pouvant ainsi reconnaître plusieurs antigènes cibles.

- Le domaine intracellulaire

C'est le complexe intracellulaire d'activation des cellules T, il est composé de la chaîne CD3 ζ (également appelée CD247) du TCR des lymphocytes T.

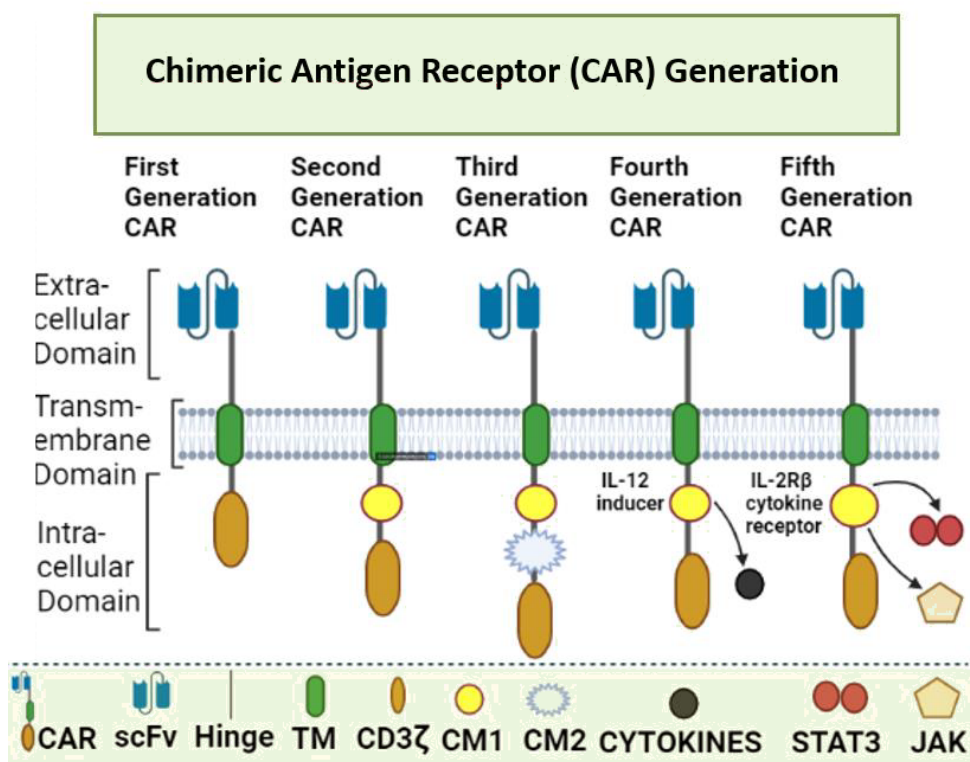
Des domaines de co-stimulation peuvent aussi être rajoutés à la chaîne CD3 ζ . L'ajout de ces domaines permet d'améliorer la prolifération cellulaire et la durée de survie in vivo et de renforcer l'activité anti-tumorale des cellules CAR-T. De nombreuses études explorent différentes combinaisons de domaines de co-stimulation afin d'optimiser au mieux la pharmacocinétique de ce MTI. Les molécules co-stimulatrices comprennent le CD27, CD28, OX40 (CD134), 4-1BB (CD137), le co-stimulateur inductible (ICOS ; CD278) et la protéine liée au récepteur du facteur de nécrose tumorale (TNF) induite par les glucocorticoïdes (GITR). Parmi ces molécules, le CD28, l'OX40 et le 4-1BB sont les plus couramment utilisés [5].

- Domaine transmembranaire

Il relie les domaines extracellulaires et intracellulaires et joue un rôle important dans la conformation et la flexibilité des CAR et donc dans leur capacité à se fixer à leur cible. Il permet d'ancrer le récepteur à la membrane cellulaire.

L'évolution de la structure du récepteur permet de distinguer différentes générations de CAR T (voir schéma ci-dessous) :

Figure 1 : Les différentes générations des CAR (Chimeric Antigen Receptor)



Abbasi, M., Riaz, A., Khawar, M., Farooq, A., Majid, A., & Sheikh, N. (2022). CAR-T-Cell Therapy: Present Progress and Future strategies. *Biomedical Research and Therapy*, 9(2), 4920-4929.

Légendes : CM1 domaine de co-stimulation 1, CM2 : domaine de co-stimulation 2

La première génération était composée classiquement d'un domaine extracellulaire (le scFv : fraction variable des chaînes légères et lourdes des immunoglobulines), un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire contenant le CD3ζ qui assure la transduction du signal. Elle a été décrite par Kuwana et al, en 1987 et Eshhar et al, en 1993 [6, 7], cependant

cette première génération n'a été testée cliniquement qu'à partir de 2006. Les résultats n'étaient malheureusement pas concluants en raison de la faible persistance des lymphocytes génétiquement modifiés dans l'organisme [8–10]. La deuxième et troisième générations se caractérisent par l'ajout respectivement d'un ou de deux domaines de co-stimulation [1]. Ces domaines de co-stimulation dérivent soit du CD28 soit du 4-1BB. L'incorporation de ces molécules de signalisation a permis de reproduire la co-stimulation naturelle et ainsi d'augmenter l'expansion et donc l'efficacité des cellules T modifiées [11–13]. Pour les cellules CAR T de la quatrième génération (également appelées T cells redirected for universal cytokine-mediated killing [TRUCKs]), les domaines de co-stimulation classiques sont remplacés par un domaine NFAT (nuclear factor of activated T cells). Ce domaine NFAT induit la formation d'une grande quantité de cytokines, notamment l'interleukine (IL)-12, permettant de moduler l'activation des cellules CAR-T mais également des lymphocytes présents dans le microenvironnement anti-tumoral [14].

Il existe aussi une cinquième génération de CAR en cours de développement. La structure du CAR est basée sur la deuxième génération, cependant un fragment du récepteur β de l'IL-2 (IL-2R β) est ajouté. Le fragment IL-2R β peut induire l'expression de Janus kinases (JAK) et de (STAT)-3/5 par transcription de l'ARNm.

Les cellules CAR-T actuellement commercialisées sont des CAR-T de 2^{ème} génération.

2) La production des cellules CAR-T

La première étape de fabrication des cellules CAR-T autologues consiste à prélever les cellules mononucléées sanguines autologues (incluant les lymphocytes T) du patient par aphérèse. La prise de traitements pouvant avoir un impact sur la concentration des cellules effectrices du système immunitaire, comme les corticoïdes, doit être arrêtée entre 3 à 7 jours avant la leucaphérèse. Ce produit de leucaphérèse est ensuite envoyé à l'établissement pharmaceutique assurant la fabrication du médicament.

La deuxième étape consiste en la séparation des lymphocytes T (ou des sous-populations CD4+ et CD8+ pour Breyanzi®) avant la transduction des lymphocytes T immuno-sélectionnés afin d'exprimer le récepteur CAR à leur surface. En effet, les produits de leucaphérèse sont constitués d'une population hétérogène de cellules comprenant les cellules T, les cellules myéloïdes, les cellules NK, mais aussi parfois, des cellules malignes. Dans le cas de certaines hémopathies malignes, comme la leucémie aigüe lymphoblastique, les cellules tumorales

peuvent constituer la majeure partie du produit de leucaphérèse conduisant à des échecs de production. La sélection positive des cellules CD3⁺ permet d'obtenir un produit cellulaire suffisamment pur pour limiter les contaminations par d'autres types de cellules pouvant entraver l'expansion des cellules CAR-T.

L'étape suivante consiste en la transduction des lymphocytes T afin d'exprimer le récepteur CAR à sa surface. Elle nécessite une procédure d'ingénierie génétique sécurisée et efficace, aujourd'hui principalement assurée par des vecteurs déficients rétro-ou lentiviraux de grade clinique. Afin d'obtenir des réponses cliniques durables, l'expression du transgène doit être permanente. Le choix du vecteur est un point central dans cette procédure, les gammaretrovirus et les lentivirus sont deux systèmes de vecteurs de thérapie génique disponibles qui permettent l'expression à long terme de transgènes CAR. Les vecteurs lentiviraux, en particulier les vecteurs auto-inactivants de troisième génération, présentent un risque extrêmement faible de mutagenèse insertionnelle ainsi qu'un rendement d'intégration élevé, adaptés à l'ingénierie génétique des cellules T humaines [15]. Ces vecteurs sont les plus utilisés dans la production des cellules CAR-T actuelles, mais seront probablement remplacés à terme par de nouvelles techniques d'ingénierie génétique comme les systèmes d'édition de gènes déjà en essais cliniques.

En effet, d'autres techniques peuvent être utilisées comme les sleeping beauty ou piggy bag où l'ADN est stocké dans des vecteurs non viraux, les transposons, et introduits par électroporation dans la cellule [16]. De nouveaux outils d'ingénierie génétique, comme l'édition génomique, offrent de nouvelles perspectives d'optimisation des cellules CAR-T. En effet, une des applications possibles de ces nouvelles techniques serait de produire des cellules CAR-T allogéniques qui permettraient d'avoir un produit directement disponible « sur étagère » et ainsi de s'affranchir du délai de production et de leurs possibles échecs [17, 18]. Pour cela, il faut limiter l'alloréactivité des cellules afin de diminuer le risque de GVHD, un des moyens mis en œuvre est d'éliminer le locus TCRalpha constant (TRAC) et/ou l'HLA de la surface du lymphocyte T.

La dernière étape de production des cellules CAR-T est la mise en culture des cellules viables exprimant le récepteur CAR dans des bioréacteurs afin d'activer et d'expander les cellules CAR-T. Celles-ci sont ensuite cédées à l'établissement de santé qui assurera l'injection au patient.

Le processus de production de MTI commerciaux doit être assuré par un établissement pharmaceutique autorisé par l'EMA (Agence Européenne du Médicament).

3) La réception et l'administration des cellules CAR-T

La réception, le stockage et la dispensation sont sous la responsabilité de la pharmacie à usage intérieur (PUI) de l'établissement de santé. La réception du MTI est contrôlée par le pharmacien de la PUI. La conformité du lot, l'identitovigilance, la conformité du transport (courbe de température de la sonde), la présence du bon nombre de poches de cellules CAR-T et l'intégrité de celles-ci sont vérifiées afin de valider la réception du MTI. Les CAR-T commerciaux aujourd'hui disponibles sont reçus cryopréservés. La poche est ensuite conservée congelée dans la phase vapeur de l'azote liquide ($< -150^{\circ}\text{C}$) jusqu'au jour de l'injection. Elle peut être conservée au maximum pendant 1 an.

Lors de la décongélation et avant l'administration du produit, une double vérification de l'identité du produit à injecter est obligatoire. L'intervalle de temps autorisé entre la décongélation et l'administration est compris entre 30 et 90 min selon le promoteur industriel incluant le transport entre la zone de décongélation et le service clinique. L'administration des cellules CAR-T se fait par voie intra-veineuse. Les patients doivent être suivis quotidiennement pendant les 10 premiers jours suivant la perfusion pour détecter d'éventuels signes et symptômes de CRS, d'effets neurologiques et d'autres toxicités potentielles.

4) Les indications des cellules CAR-T

Les cellules CAR-T ont révolutionné la prise en charge des patients en héματο-oncologie. Aujourd'hui, les cellules CAR-T utilisées en pratique clinique possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM)/accès précoce ciblent les antigènes pan B (CD19) et les antigènes de maturation (BCMA) de la lignée B largement exprimés à la surface des cellules malignes et normales [19].

Les 6 produits commercialisés en France sont :

- Le Tisagenlecleucel (tisacel, Kymriah®, Novartis [Novartis International AG, Basel, Suisse] CAR-T anti CD19) est indiqué pour :
 - Le traitement des enfants et jeunes adultes jusqu'à 25 ans inclus, atteints de leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) à cellules B réfractaires, en rechute après greffe ou après la deuxième rechute ou plus.
 - Le traitement des adultes atteints de lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) en rechute ou réfractaires après la deuxième ligne ou plus d'un traitement systémique.
 - Il possède aussi une autorisation d'accès précoce depuis juin 2022 pour le traitement des patients adultes présentant un lymphome folliculaire après au moins deux lignes de traitement, qui présentent une maladie réfractaire ou en rechute pendant ou dans les 6 mois qui suivent la fin de leur traitement d'entretien ou en rechute après une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques, uniquement lorsque toutes les options thérapeutiques ont été épuisées sur l'avis d'une réunion de concertation pluridisciplinaire.
- L'axicabtagene ciloleucel (axicel, Yescarta®, Gilead [Gilead Sciences, Foster City, CA] CAR-T anti CD19) est indiqué pour :
 - Le traitement des patients adultes atteints de lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) et de lymphomes médiastinaux primitifs à grandes cellules B (LMPGCB) réfractaires ou en rechute, après au moins deux lignes de traitement systémique.
 - Il possède également une autorisation d'accès précoce depuis avril 2022 pour le traitement des patients adultes atteints de lymphomes folliculaires en rechute ou réfractaires, après au moins trois lignes de traitement systémique.
- Le lisocabtagene maraleucel (lisocel, Breyanzi®, BMS [Bristol Myers Squibb Compagny New-York, USA] CAR-T anti CD19) est indiqué pour :

- Le traitement des patients adultes atteints de lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) et de lymphomes médiastinaux primitifs à grandes cellules B (LMPGCB) réfractaires ou en rechute, après au moins deux lignes de traitement systémique.
- Le brexucabtagène autoleucel (brexucel, Tecartus® Gilead [Gilead Sciences, Foster City, CA] CAR-T anti CD19) possède une autorisation de mise sur le marché conditionnelle indiquée pour le traitement des patients adultes atteints de lymphomes à cellules du manteau (LCM) réfractaires ou en rechute après au moins deux lignes de traitement systémique, dont un traitement par un inhibiteur de tyrosine kinase de Bruton (BTK). Et plus récemment pour les LAL B réfractaires ou en rechute, sans spécification d'âge. Ce MTI se différencie d'axicel et de tisacel par l'ajout d'une étape d'enrichissement des cellules T lors de sa production permettant d'éliminer les lymphoblastes circulants du produit de leucaphérèse.
- L'idécabtagène vicleucel (idecel, Abecma® BMS [Bristol Myers Squibb Compagny New-York, USA] CAR-T anti BCMA), possède une autorisation d'accès précoce pour le traitement des patients adultes atteints d'un myélome multiple en rechute et réfractaire ayant reçu au moins trois traitements antérieurs, incluant un agent immunomodulateur, un inhibiteur de protéasome et un anticorps anti-CD38, et dont la maladie a progressé au cours du dernier traitement.
- Un dernier MTI, le ciltacabtagène autoleucel (ciltacel, Carvykti®, Janssen Pharmaceuticals and Legend Biotech [Johnson & Johnson, Belgique] CAR-T anti BCMA) possède, lui aussi une autorisation de mise sur le marché conditionnelle pour le traitement des patients adultes atteints d'un myélome multiple en rechute et réfractaire ayant reçu au moins trois traitements antérieurs, incluant un agent immunomodulateur, un inhibiteur de protéasome et un anticorps anti-CD38, et dont la maladie a progressé pendant le dernier traitement.

Ce travail portant sur le traitement des lymphomes non Hodgkiniens, nous allons définir ces pathologies et détailler les différentes études pilotes évaluant l'efficacité de ces traitements dans ces indications.

A) Lymphomes non hodgkiniens

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) sont un groupe hétérogène de maladies définies par une prolifération anormale de cellules lymphoïdes, le plus souvent issues de la lignée B (85% des cas). On peut distinguer 2 catégories de LNH en fonction de leur mode évolutif et de leur comportement clinique : les lymphomes « agressifs » et les « lymphomes indolents ». Les lymphomes agressifs sont les plus fréquents (50 à 60% des LNH).

(i) Lymphome B diffus à grandes cellules (LDGCB)

C'est le type le plus fréquent des LNH agressifs (environ 60%). Il peut être primitif ou secondaire à un lymphome indolent à cellules B (LDGCB transformé). Le traitement de choix en première ligne repose sur une immunochimiothérapie d'induction de type R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide doxorubicine, vincristine et prednisolone). Cette première ligne permet d'obtenir une rémission chez 2/3 des patients.

Pour les patients qui ne répondent pas au traitement de 1^{ère} ligne ou qui rechutent à l'issue de ce traitement, une chimiothérapie intensive dans l'objectif de réaliser une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques peut être proposée en 2^{ème} ligne en fonction de l'éligibilité du patient.

A partir de la 3^{ème} ligne, chez les patients en échec d'une autogreffe ou en rechute après deux lignes antérieures, Yescarta® (axicabtagene ciloleucel) et Kymriah® (tisagenlecleucel), sont actuellement recommandés chez les patients dont l'espérance de vie est compatible avec les délais de traitement (entre l'aphérèse et l'injection).

L'étude pilote ayant permis l'obtention de l'AMM de Yescarta® dans cette indication est l'étude ZUMA-1. Il s'agit d'une étude de phase I/II multicentrique, non comparative où 111 patients atteints de LNH (LDGCB, Lymphome Médiastinal Primitif à grandes cellules B et lymphome folliculaire transformé) ont été inclus et suivis pendant 27.1 mois. Sur 101 patients injectés, on retrouve un pourcentage de réponse objective à 74% avec un pourcentage de réponse complète à 54%. La médiane de survie sans progression est de 5.9 mois. La médiane de survie globale n'étant pas atteinte lors de l'analyse en 2018, la courbe de Kaplan Meier

montre un pourcentage de survie globale estimé à 6, 9 et 12 mois respectivement de 79.8%, 68.4% et 54.5% [20].

L'étude pilote ayant permis l'obtention de l'AMM de Kymriah® dans cette indication est l'étude JULIET, une phase II multicentrique, non comparative où 115 patients (atteints de LBDGC et lymphome transformé) ont été traités. Le pourcentage de réponse globale est de 54.5% dont 41.4% de réponse complète. Avec un suivi médian de 2.6 mois, la survie sans progression est de 2.9 mois et la survie globale est de 11.1 mois sur un suivi médian de 9.4 mois. La probabilité de survie à 36 mois est de 36.2% dans cette étude [21].

Dans le lymphome B diffus à grandes cellules réfractaire ou en rechute après deux lignes de traitement, le taux de réponse complète est donc entre 40 et 60% après traitement par cellules CAR-T. Une étude comparative a évalué les réponses thérapeutiques d'un groupe de patients atteints de lymphomes B diffus à grandes cellules récidivants ou réfractaires (R/R) traité soit par cellules CAR-T soit par d'autres alternatives thérapeutiques (chimiothérapie traditionnelle, traitement en cours d'essai). La différence de résultat est remarquable, le taux de réponse complète est de 52% pour les cellules CAR-T contre 22% pour l'autre groupe [22].

(ii) Lymphome à cellules du manteau

Le lymphome à cellules du manteau (LCM) est une forme rare de lymphomes non Hodgkiniens (incidence en France 900 cas par an) qui affecte les lymphocytes B dans la zone du manteau du ganglion lymphatique. Il fait partie des LNH indolents. La stratégie thérapeutique dépend du stade de la maladie, de la masse tumorale et de l'âge des patients. La première ligne pour les patients jeunes (<65 ans) repose sur des protocoles de chimiothérapie incluant de la cytarabine associée au rituximab suivis d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques et d'un traitement d'entretien par rituximab. Pour les patients âgés de plus de 65 ans, la stratégie de 1^{ère} ligne repose sur l'immunochimiothérapie avec un entretien par rituximab.

A partir de la 2^{ème} ligne de traitement, chez les patients en rechute et/ou réfractaires, les recommandations mentionnent l'absence de standard de traitement de la maladie. Les options thérapeutiques recommandées sont des protocoles de polychimiothérapies associées au rituximab, à l'ibrutinib (inhibiteur de tyrosine kinase de Bruton), au lénalidomide. Néanmoins, plus de 50% des patients rechutent. Dans cette situation, une AMM conditionnelle a été autorisée pour Tecartus®. La commission de transparence de l'HAS a évalué le service médicale rendu par Tecartus® important avec une ASMR modérée dans cette indication.

L'étude pivot est l'étude ZUMA 2, une étude de phase II, multicentrique, non comparative. 74 patients ont été traités par Tecartus® et le taux de réponse globale est de 92% [23].

(iii) Lymphome folliculaire

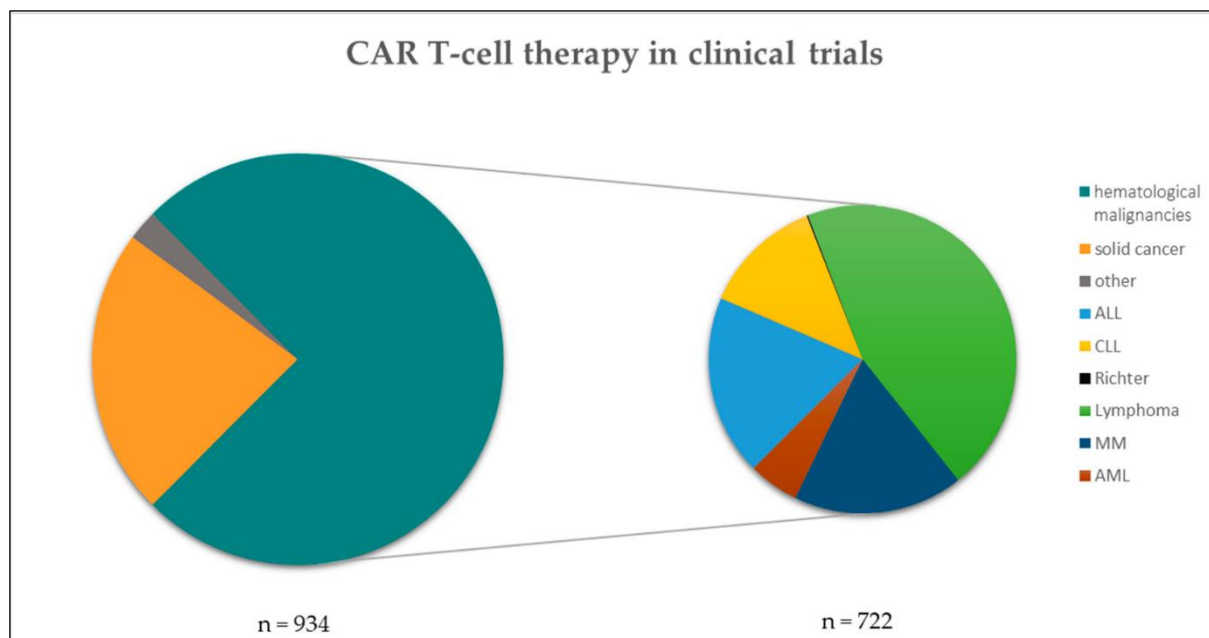
Le lymphome folliculaire fait partie de la catégorie des formes « indolentes » des lymphomes non Hodgkiniens. C'est la forme histologique la plus fréquente dans cette catégorie (environ 80%). L'incidence en France est de 3066 cas par an (données de 2018). Concernant la stratégie thérapeutique, la 1^{ère} ligne de traitement repose sur une immunochimiothérapie de type R-CHOP suivi par un traitement d'entretien à base de rituximab. En cas de non-réponse ou de progression, une analyse histologique de la biopsie d'un échantillon tumoral est recommandée afin d'éliminer une possible transformation en LDBGC, si aucune transformation n'est suspectée, une deuxième ligne de traitement est initiée. Elle peut comporter une nouvelle immunochimiothérapie, une radiothérapie et une auto ou allogreffe de CSH. En juin 2022, Kymriah® a obtenu une autorisation d'accès précoce dans le traitement du lymphome folliculaire après au moins deux lignes de traitement.

L'étude évaluant son efficacité est l'étude ELARA, une étude de phase II non comparative. Parmi les 97 patients traités par Kymriah®, 94 patients avaient une maladie mesurable à l'inclusion et ont été inclus dans la population d'analyse de l'efficacité. Le taux de réponse globale est de 86.2% à 6 mois dont 66% de réponse complète. La médiane de survie sans progression est de 18.4 mois et la durée médiane de survie globale n'a pas été atteinte mais la probabilité de survie à 12 mois et 18 mois sont respectivement de 95.3% et 91.6% [24].

B) Les indications en dehors des LNH

Aujourd'hui la thérapie par cellules CAR-T est principalement réalisée dans le contexte des hémopathies malignes, mais un nombre croissant d'essais sont également menés chez des patients atteints de tumeurs solides (figure ci-dessous) [25].

Figure 2 : Répartition des indications des cellules CAR-T dans les essais cliniques.



Haslauer T, Greil R, Zaborsky N, Geisberger R. CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):8996.

Légende : Le graphique de gauche indique le nombre (n) de thérapies par cellules CAR-T en cours d'essais cliniques, classées en trois catégories : cancers solides, hémopathies malignes et autres (n = 934). Les hémopathies malignes sont répertoriées dans le graphique de droite (n = 722). Données extraites de clinicaltrials.gov en 2021.

4) Les effets indésirables des cellules CAR-T

Les cellules CAR-T sont associées à des toxicités pouvant être sévères. La reconnaissance, la gestion et la classification des toxicités des cellules CAR-T sont primordiales pour une utilisation sûre et à grande échelle de cette thérapie. Deux types d'effets indésirables sont observés, ceux appelés effets systémiques et ceux appelés effets on-target / off-tumors (sur la cible mais pas sur la tumeur).

Les effets systémiques

- Le syndrome de relargage cytokinique (Cytokine release syndrome, CRS).

Il est observé chez la majorité des patients à des degrés divers. Il survient en moyenne entre 3 et 9 jours après l'injection. Ce syndrome est dû à la réaction inflammatoire déclenchée par les cytokines et chimiokines libérées par les cellules CAR-T après avoir été en contact avec

l'antigène cible. Les symptômes les plus fréquemment retrouvés sont une fièvre associée à une asthénie, des myalgies, des arthralgies, mais ils peuvent aussi évoluer vers une hypotension, une tachycardie, une tachypnée, une hypoxie, une arythmie, une insuffisance respiratoire, un choc et un dysfonctionnement des organes [26, 27]. Il y a 4 grades de CRS, la sévérité dépend du volume tumoral, de la nature de la pathologie, du type de CAR-T utilisé, de l'intensité du pic de prolifération des cellules CAR-T, du domaine de costimulation etc... [28–30]. La prise en charge thérapeutique doit être précoce et adaptée à la gravité des symptômes, le traitement spécifique du CRS repose sur l'administration d'un anticorps bloquant la voie de l'IL-6 (tocilizumab, siltuximab) permettant de diminuer l'intensité de la réaction inflammatoire.

- Le syndrome de neurotoxicité associé aux cellules immunitaires effectrices (Immune effector Cell associated neurotoxicity syndrome, ICANS).

Son incidence est variable, allant de 20 à 64% selon les publications. Il survient en moyenne autour du 8^{ème} jour après administration. On peut retrouver des convulsions, des états de confusion, une difficulté d'élocution, des pertes de connaissance. La réalisation d'un examen neurologique quotidien est indispensable en post injection des cellules CAR-T. La prise en charge de cet effet indésirable repose sur l'utilisation de corticoïdes à forte dose, comme la dexaméthasone.

Le traitement de ces effets secondaires est basé sur l'utilisation du tocilizumab, un anti IL6 qui permet de réduire l'intensité de la réponse inflammatoire, et de la dexaméthasone.

Il n'existe aujourd'hui aucun biomarqueur permettant de prédire la survenue de ces effets indésirables ou d'en mesurer la gravité. La CRP et la ferritine ont été proposées comme biomarqueurs pour la prédiction du CRS, car elles sont en corrélation avec la gravité de ce syndrome [31]. Cependant, la CRP ne précède pas toujours le CRS et a donc une faible valeur prédictive positive [32].

- Les cytopénies retardées.

Ces cytopénies sont multifactorielles, initialement dues au traitement lymphodéplétant administré avant les cellules CAR-T, elles sont généralement résolutes dans un délai de deux semaines. Cependant ces cytopénies, en particulier les neutropénies, peuvent persister au-delà de 3 à 4 semaines après l'injection. L'utilisation de facteurs de croissance granulocytaires (G-CSF) n'est pas recommandée avant la 3^{ème} semaine post injection car le G-CSF pourrait exacerber le CRS. L'administration de G-CSF et la mise en place d'une antibioprofylaxie sont

donc conseillées pour les patients à haut risque à partir de la 3^{ème} semaine [33]. Pour les patients ayant reçu une allogreffe de CSH avant la thérapie par cellules CAR-T, une nouvelle approche est en cours d'évaluation pour traiter ces cytopénies persistantes. Un boost de cellules souches sélectionnées CD34+ non conditionnées provenant du donneur de la greffe pourrait être administré pour améliorer la reconstitution immunitaire [34].

Les effets on-target/ off tumeurs :

Ils dépendent de la cible choisie. Pour les produits commercialisés qui ciblent les antigènes pan B, leur effet on-target est donc l'aplasie de la lignée B, car le CD19 est un marqueur presque exclusif des lymphocytes B, conduisant à des hypo- ou agammaglobulinémies pouvant requérir dans certains cas un traitement substitutif par immunoglobulines polyvalentes.

La surveillance des patients en post injection des cellules CAR-T est pluridisciplinaire. L'équipe d'hématologie clinique doit être en lien avec l'équipe de réanimation et le neurologue pour prendre en charge le plus rapidement possible le patient qui présenterait des effets secondaires graves. Il est obligatoire d'avoir au moins une dose de tocilizumab et un équipement d'urgence à disposition avant toute injection de cellules CAR-T.

5) Les limites de CAR-T

Ce MTI a montré des résultats sans précédents en onco-hématologie, cependant dans les tumeurs solides ces résultats sont limités. Cela peut être expliqué par l'environnement immunosuppresseur des tumeurs solides mais aussi par l'hétérogénéité d'expression des cibles antigéniques dans ces pathologies.

De plus, comme dans de nombreuses approches en immunothérapie, les cellules tumorales ont développé des mécanismes de résistance à ce MTI. Une des premières adaptations des cellules tumorales est la perte antigénique face à la pression de sélection de la thérapie ciblée. Cela conduit à une diminution de l'expression de la cible des CAR-T à la surface des cellules tumorales. Dans la leucémie aigüe lymphoblastique, 40% des patients présentent une perte du CD19 post injection CAR-T [35]. Sachant que ce MTI est sensible à une certaine densité antigénique, la perte antigénique conduit à une perte d'efficacité du traitement. La présence

d'un microenvironnement immunosuppresseur en particulier dans le cas des tumeurs solides limite fortement l'efficacité de cette thérapie par diminution de la fonctionnalité des CAR T. L'utilisation de CAR-T bispécifiques, ou l'association avec d'autres immunothérapies telles que les inhibiteurs de check point est en cours d'exploration pour pallier ce phénomène.

La résistance à la thérapie par CAR-T a également été attribuée à l'absence d'expansion in vivo. La qualité des lymphocytes T initiale, utilisés pour la production des cellules CAR-T, impacte probablement l'expansion in vivo et la fonctionnalité des cellules CAR-T [36]. La mise au point de cellules CAR-T dérivées de donneurs allogéniques sains à l'aide de technologies d'édition du génome pourrait permettre de contourner les problèmes associés aux défauts des cellules T autologues.

6) Aspects réglementaires des cellules CAR-T.

Les cellules CAR-T sont des médicaments de thérapie innovante, leur production est sujette aux régulations de l'Agence Européenne de Médecine (EMA) et des autorités nationales (ANSM) et régionales (ARS). La production des cellules CAR-T doit respecter les bonnes pratiques de fabrication (BPF) permettant de garantir la sécurité des médicaments produits. Les établissements de santé assurant l'injection des cellules CAR-T doivent être habilités par le ministère de la santé à stocker et manipuler des cellules génétiquement modifiées mais également habilités par l'ARS à prendre en charge les patients traités par cette thérapie.

7) Les techniques de suivi des patients sous cellules CAR-T

A) Les techniques d'imagerie

La technique d'imagerie utilisée est la tomographie par émission de positons (TEP) au fluorodésoxyglucose [^{18}F] (^{18}F -FDG) couplée à la tomodensitométrie (TDM). C'est une modalité d'imagerie médicale qui fournit la distribution tridimensionnelle d'une molécule marquée par un émetteur de positons et l'anatomie associée. Le ^{18}F -FDG est un médicament radio-pharmaceutique, dont le vecteur (FDG) est un analogue du glucose, permettant d'identifier les zones anormales avec une captivité métabolique élevée. Depuis 2007, la tomographie par émission de positons (TEP) au fluorodésoxyglucose [^{18}F] (^{18}F -FDG) est devenue la méthode standard d'évaluation de la réponse des traitements dans les lymphomes après révision des critères de réponse des LNH par l'International Working Group (IWG). Elle

a également été validée pour les lymphomes hodgkiniens. Elle a permis d'introduire la notion de réponse métabolique pouvant ainsi améliorer la qualité de l'évaluation au traitement. L'association avec un examen scanner a permis d'augmenter considérablement sa sensibilité et sa facilité de lecture. La TEP TDM s'intègre aujourd'hui dans le bilan initial des lymphomes B à grandes cellules et du lymphome de Hodgkin, il est aussi utilisé pendant et, en fin de traitement, permettant de classer la réponse clinique selon des critères validés pour ces pathologies (figure 3).

La TEP TDM consiste en une évaluation visuelle des sites tumoraux ganglionnaires et extra-ganglionnaires pour lesquels la captation du ^{18}F -FDG augmente. Cette hyperfixation doit cependant être différenciée de la captation physiologique ou pathologique accrue du FDG lors de processus inflammatoires et/ou infectieux.

L'intensité métabolique tumorale est mesurée par différents index mesurés ou calculés à partir des résultats de la TEP TDM :

La valeur de fixation normalisée (SUV; Standardized Uptake Value) est l'index le plus communément utilisé en médecine nucléaire pour caractériser la fixation du fluorodésoxyglucose (FDG) en tomographie par émission de positons (TEP).

La SUV est un indice semi-quantitatif de l'accumulation du radiotracer (^{18}F -FDG) permettant d'effectuer des comparaisons entre les examens, il dépend de la concentration d'activité mesurée (C_{TEP}) dans l'image TEP en Bq/cm^3 , de la masse (m) du patient en kilogramme et de l'activité injectée (A_i), rapportée au début de l'examen en Becquerel (Bq).

$$SUV = \frac{C_{\text{TEP}} \left[\text{Bq}/\text{cm}^3 \right] \cdot 10^3}{A_i \left[\text{Bq} \right]} \cdot m \left[\text{kg} \right]$$

La SUVmax est la SUV la plus utilisée en routine clinique. Cet index correspond à la valeur du voxel avec la fixation la plus intense en TEP TDM dans une région d'intérêt. La SUVmean est moins utilisée en routine clinique. Elle représente la SUV moyenne dans un volume sélectionné. Elle reflète l'activité métabolique moyenne de la cible. Elle est très

dépendante de l'utilisateur car nécessite de définir manuellement les contours du volume d'intérêt utilisé pour cette quantification.

Dans le cadre des lymphomes non hodgkiniens, la tomographie par émission de positons au 18F-fluorodésoxyglucose couplée à la tomодensitométrie (¹⁸F-FDG TEP/TDM) est largement utilisée pour le diagnostic, la classification et l'évaluation de la réponse thérapeutique. L'échelle de Deauville est particulièrement utilisée pour le suivi des patients en cours et en fin de traitement. Cette échelle permet une gradation en 5 points de la fixation des lésions résiduelles quelle que soit leur taille (figure 3). Le score est défini en comparant l'intensité de fixation (généralement sous la forme de SUVmax) des lésions résiduelles par rapport à la fixation physiologique de deux organes de référence : le foie et le médiastin.

Figure 3 : Catégories des réponses métaboliques en fonction des scores de Deauville

| Score | Résultat TEP-FDG | Catégorie |
|--|------------------|--|
| 1 : Absence de fixation supérieure au bruit de fond | TEP-FDG négative | 1 réponse métabolique complète |
| 2 : Fixation < au médiastin | TEP-FDG négative | 1 réponse métabolique complète |
| 3 : Fixation > médiastin mais < foie. Si la fixation du compartiment sanguin du médiastin est >= à celle du foie, l'activité de la lésion doit être comparée à la fixation hépatique. Fixation de la lésion < fixation hépatique = score 2 Fixation de la lésion >= fixation hépatique = score 3 | TEP-FDG négative | 1 réponse métabolique complète |
| 4 : Fixation modérée comparée à la fixation du foie | TEP-FDG positive | 2 réponse métabolique partielle |
| 5 : Augmentation prononcée de la fixation comparée à la fixation du foie | TEP-FDG positive | 3 absence de réduction significative de l'absorption ou apparition de nouvelles lésions. |
| Score 1, 2 ou 3 = TEP-FDG négative | | |
| Score 4, 5 fixation supérieure à la fixation du foie = TEP-FDG positive | | |

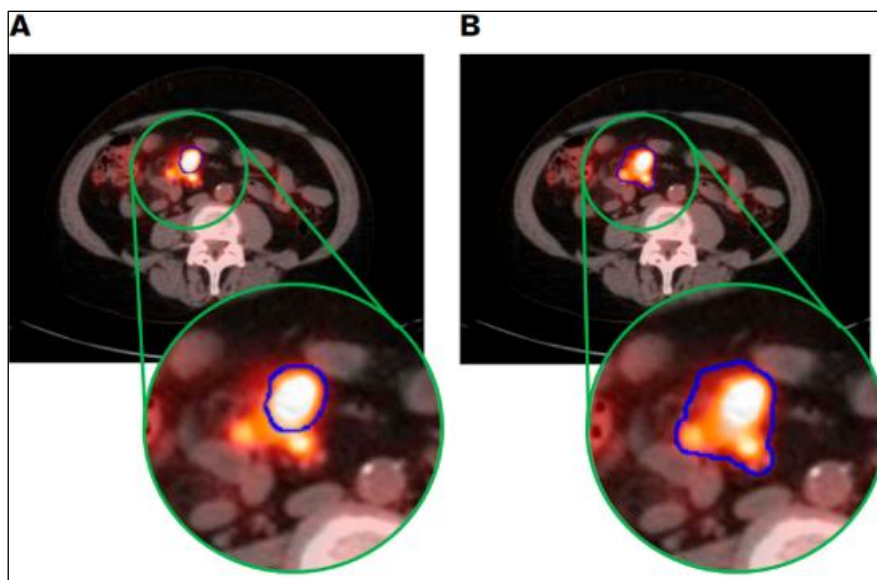
Source : *Lymphoma-care.fr*

En réalisant cet examen avant l'injection des cellules CAR-T (M-1) et à un mois (M1), M2, M3 et M6 après injection, nous pouvons utiliser les critères de Deauville pour évaluer la réponse thérapeutique en analysant les résultats du TEP scan initial et celui de suivi. Les scores 1, 2, 3 correspondent à un TEP-FDG négatif associés à une réponse métabolique complète. Les scores 4 et 5 sont associés à un TEP-FDG positif, signifiant une fixation lésionnelle supérieure à la fixation du foie. Le score 5 est associé à une fixation importante et/ou à l'apparition de nouvelles lésions hyper-métaboliques. Lorsque ce dernier critère est retrouvé, alors on considère que le patient est en progression et donc en échec thérapeutique aux cellules CAR-T. D'autres paramètres du TEP peuvent aussi être utilisés :

Le volume métabolique tumoral (MTV)

Il correspond à la somme des volumes métaboliques de chacune des lésions tumorales individuelles. Cette mesure peut être manuelle ou semi-automatique, par conséquent il est possible d'observer une variabilité inter opérateurs entraînant une incertitude des mesures. Il est possible aussi de mesurer le volume métabolique tumoral d'une seule lésion (MTVmax).

Figure 4 : Image de TEP scan d'une lésion tumorale. Figure A : Méthode semi-automatique de la mesure du MTV. Figure B : Méthode manuelle de mesure du MTV.



Source : Dean, Erin A et al. "High metabolic tumor volume is associated with decreased efficacy of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma." *Blood advances* vol. 4,14 (2020): 3268-3276.

Delta SUV Max :

C'est la différence entre le SUV de la lésion la plus intense au TEP initial, et le SUV de la lésion la plus intense au TEP de suivi.

La glycolyse totale de la lésion (GLT) :

C'est la multiplication du volume métabolique tumoral par la valeur moyenne d'hyperfixation au sein de la lésion. Elle représente l'activité tumorale glycolytique totale.

B) Le monitoring biologique des cellules CAR-T :

Lors des essais cliniques réalisés pour les cellules CAR-T, il a été démontré que certaines caractéristiques immunologiques des patients (au moment de l'aphérèse et après administration du traitement) [37], ou des cellules CAR-T elles-mêmes (pic de prolifération, persistance des cellules dans l'organisme) sont corrélées à la réponse au traitement ou à sa toxicité [38–42]. C'est pourquoi différents groupes de travail ont publié des recommandations sur le suivi immunologique des patients traités en vie réelle [43, 44]. Ils ont rapporté que différents facteurs pourraient influencer la réponse aux traitements comme la nature de l'hémopathie, les traitements antérieurs qui influencent la qualité des cellules immunes lors de l'aphérèse ou le type de traitement lymphodéplétant. Certains biomarqueurs pourraient aussi prédire les complications liées à l'injection des CAR-T comme le CRS ou les ICANS. Plus encore, un certain niveau d'expansion et de persistance des cellules CAR-T est nécessaire pour induire une rémission complète ou partielle. Cependant les biomarqueurs prédictifs et les mécanismes physiologiques associés à une prolifération, une persistance durable et à une réponse clinique favorable sont largement inconnus.

Les outils utilisés dans le monitoring biologique des cellules CAR-T sont actuellement la cytométrie en flux, la PCR et les techniques ELISA.

(i) La cytométrie en flux

C'est une technique permettant de quantifier et caractériser des particules en suspension dans un liquide. Ces particules sont marquées par un composé fluorescent (généralement anticorps couplé à un fluorochrome), puis passent une à une devant un ou plusieurs faisceau(x) laser, et des détecteurs permettent de capter les signaux émis par chaque cellule. L'analyse des signaux

transmis permet la mesure de la taille et de la granularité des cellules et l'analyse de l'expression des marqueurs ciblés par les anticorps fluorescents.

Dans le cadre du monitoring des cellules CAR-T, on utilise la CMF pour déterminer la concentration des cellules CAR-T mais aussi pour faire la numération des sous-populations lymphocytaires dans la poche de leucaphérèse et dans le sang circulant. Pour le dosage des cellules CAR-T, il existe une technique directe et une technique indirecte :

- La technique directe repose sur l'utilisation d'un anticorps monoclonal reconnaissant directement le CAR ou un marqueur (tag) spécifique inclus dans la structure du CAR. La limite de cette technique est l'absence de commercialisation des anticorps anti-CAR, ce sont donc des protéines recombinantes produites par différents fabricants qui sont utilisées. Pour les cellules CAR-T commercialisées, la protéine recombinante utilisée est la protéine CD19-Fc, directement couplée à un fluorochrome. Cette méthode est en une seule étape.
- Une technique alternative indirecte peut être utilisée. Elle repose sur 2 étapes : la première est le marquage, il repose sur l'utilisation d'une protéine recombinante cible biotinylée se fixant sur le CAR de la cellule. Ensuite, la deuxième étape consiste à rajouter un anticorps anti-biotine ou de la streptavidine, tous deux couplés à un fluorochrome, se fixant sur la biotine de la protéine cible recombinante [45]. Cette étape supplémentaire permet d'augmenter la sensibilité du signal.

Enfin on réalise la cytométrie en flux et on compare la population marquée à la population de lymphocytes totaux.

(ii) La PCR

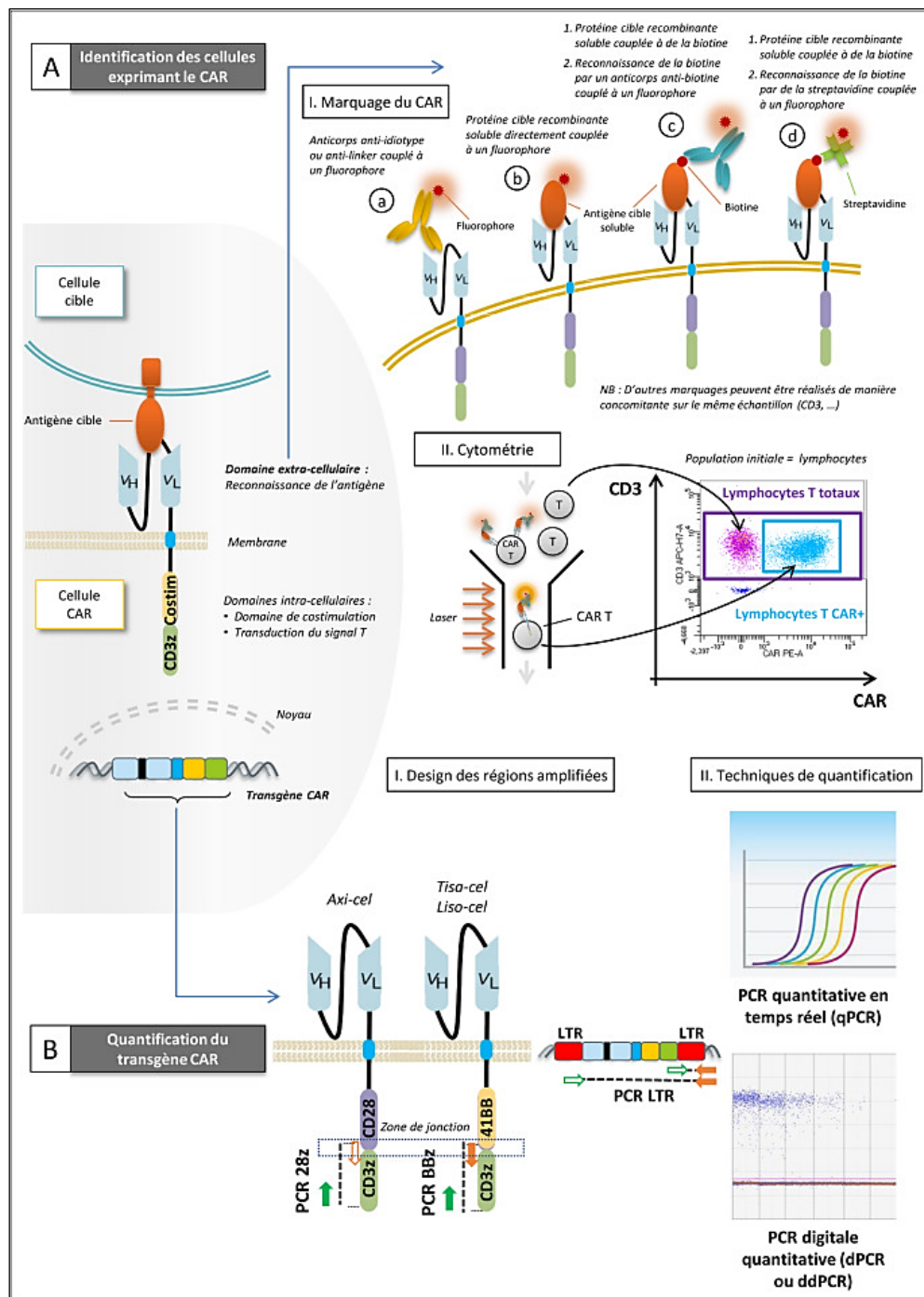
Les cellules CAR-T peuvent être également quantifiées par PCR quantitative en temps réel (qPCR) ou PCR digitale (dPCR) à partir de l'ADN extrait des cellules nucléées. Cette technique repose sur la présence de séquences spécifiques dans le transgène (séquence du vecteur, fragment du CAR, etc.). Il est alors possible d'amplifier ces séquences et de les détecter par la suite. Une autre approche est d'amplifier un fragment spécifique de la partie scFv du CAR mais il serait alors nécessaire d'adapter la technique pour chaque type de CAR T. La quantification par PCR est plus sensible que par CMF, elle est donc plus indiquée pour détecter la persistance des cellules CAR-T sur le long terme. Une des limites de la PCR est la possible surestimation de CAR-T car cette technique quantifie le nombre de transgènes et non pas le nombre de CAR

exprimés à la surface des cellules. Or l'intégration de plusieurs copies de transgène ou de silencing du transgène est parfois observée lors de la fabrication des cellules CAR-T ce qui pourrait faussement augmenter la numération des cellules. Cette technique est cependant plus sensible et est utilisée pour détecter les CAR-T circulants au-delà de 3 mois post injection, si nécessaire.

(iii) L'ELISA

Le dosage des cytokines par technique ELISA (Ella®) ou par fluorimétrie en flux (Luminex®) avant ou pendant le traitement par CAR-T peut présenter un intérêt pour la prédiction des effets secondaires. Cependant, aucun biomarqueur prédictif n'a pu être corrélé avec le CRS ou les ICANS de façon suffisamment spécifique. D'autre part, ces méthodes sont difficilement réalisables en temps réel et ne sont disponibles que dans les laboratoires spécialisés, rarement dans les laboratoires des établissements de santé où sont pris en charge les patients. Pour ces deux raisons, ces dosages ne sont pas effectués en routine pour la prédiction ou le diagnostic des effets secondaires.

Figure 5 : Identification et quantification des cellules CAR-T par PCR et CMF.



Source : Rubio MT, Varlet P, Allain V, et al. Immunomonitoring of patients treated with CAR-T cells for hematological malignancy: Guidelines from the CARTi group and the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC). Bull Cancer. 2021;108(12S):S53-S64.

8) La composition du produit des cellules CAR-T et leur devenir dans l'organisme

Lors d'une stimulation antigénique, les cellules T « naïves » (T_N) prolifèrent et se différencient en cellules T mémoires (T_M) et en cellules T effectrices (TEF). Les T_M jouent un rôle fondamental dans la réponse immunitaire anti-cancéreuse, leur composition est hétérogène et peuvent être divisées en deux groupes : les cellules T mémoires centrales (T_{MC}) qui expriment le CD45R0, CD62L, et CCR7, et les cellules T mémoires effectrices (T_{ME}) dépourvues de CD62L et CCR7. Une sous-population des cellules T mémoires, les cellules souches T mémoires (T_{SCM}) sont auto-prolifératrices et sont capables de se différencier en T_{MC}, T_{ME} et TEF. Les T_{SCM} présentent une persistance plus élevée ainsi qu'une activité antitumorale supérieure dans les modèles animaux par rapport à toutes les autres sous populations de cellules T [46]. La composition des sous-populations lymphocytaires T des cellules CAR-T influencerait la réponse à ce MTI et la connaissance de cette composition pourrait constituer un biomarqueur prédictif clé dans la réponse aux CAR-T. En effet, la richesse des cellules CAR-T en T_{SCM} contribuerait de manière significative à l'efficacité de cette thérapie [47, 48]. C'est pourquoi de nouvelles conditions de culture sont en cours d'étude, l'utilisation de milieux supplémentés en IL-7/IL-15 et IL-21 permettrait d'améliorer l'enrichissement des produits de cellules CAR-T en cellules T_{SCM} [49–51].

Le devenir des cellules CAR-T *in vivo* est encore non élucidé mais leur stimulation semble similaire à l'activation lymphocytaire physiologique précédemment décrite. L'analyse de la composition phénotypique des cellules CAR-T post expansion dans l'organisme a permis de caractériser les types de cellules majoritaires à des temps différents en post injection [48, 52]. Juste après l'activation et l'expansion des cellules, les fréquences plus élevées des T_{ME} et les fréquences plus faibles des T_N parmi les cellules CAR-T corrélaient avec une différenciation progressive des cellules T après une exposition à l'antigène cible. De plus, des fréquences plus élevées de cellules T CAR naïves ont été observées pendant la phase de persistance. Une explication possible tiendrait dans le raisonnement suivant : alors que les cellules T mémoires et effectrices entrent en apoptose progressivement, la proportion de cellules T naïves (ou de cellules souches mémoires) peut augmenter et jouer un rôle dans le maintien d'un pool de cellules T CAR mémoires de longue durée.

La persistance des CAR-T est un des défis principaux de cette technologie. Leur élimination de l'organisme pourrait expliquer la présence de rechutes en post injection des CAR-T. Les domaines de costimulation ont un impact sur l'expansion et la persistance de ces cellules dans l'organisme. En effet, des études pré-cliniques démontrent que les cellules CAR-T co-stimulées par CD28 présentent une expansion plus précoce et une plus grande activité cytotoxique que leurs homologues co-stimulés par 4-1BB in vivo, tandis que les cellules CAR-T co-stimulées par 4-1BB présentent une plus longue persistance à long terme[53, 54]. L'optimisation de la structure du CAR pourrait donc améliorer la persistance et donc l'efficacité thérapeutique des cellules CAR-T.

III) Description du circuit CAR-T au sein de l'Institut Paoli-Calmettes.

La logistique autour des cellules CAR-T est complexe et demande une collaboration entre les services d'hématologie clinique, le service de cytophérèse, le service de médecine nucléaire, la pharmacie à usage intérieur de l'hôpital et le laboratoire de thérapie cellulaire.

Afin d'illustrer ce propos, l'organisation de l'institut Paoli-Calmettes sera détaillée.

Tout d'abord, l'institut Paoli-Calmettes a été qualifié par deux laboratoires pharmaceutiques (Novartis en 02/2019) et (Cellgene en 09/2018) pour prélever les patients par leucaphérèse et assurer l'administration des cellules CAR-T.

1) La sélection des patients

En premier lieu, l'indication est posée par l'hématologue en charge du patient. Les hématologues organisent une consultation d'annonce afin d'expliquer à celui-ci les détails du parcours de soin, les visites de suivi, les particularités du traitement, etc. Si le patient accepte de commencer cette thérapie, un consentement éclairé est alors signé. Puis le prescripteur enregistre sur la plateforme de l'industriel la demande de production de cellules CAR T. Un bilan biologique comprenant un bilan de biochimie et d'hématologie complets est prescrit ainsi qu'un TEP scan de contrôle permettant de classifier la pathologie en fonction des critères de Deauville, 1 mois avant l'injection des CAR-T.

2) La leucaphérèse

Le service d'aphérèse est contacté afin de fixer une date pour la leucaphérèse. Le jour de la collecte, un prélèvement sanguin est envoyé dans le laboratoire de Thérapie Cellulaire afin de faire une numération des leucocytes et des sous populations lymphocytaires. Ces analyses servent à calculer le rendement de la collecte cellulaire (collection efficiency) de la cytophèrese. La cytophèrese dure environ 3h, pendant lesquelles 3 volumes de sang environ passent dans la spectra optia (Terumo BcT®). La poche de leucaphérèse est ensuite envoyée au laboratoire de Thérapie Cellulaire afin de réaliser des contrôles de qualité. Une numération des sous-populations lymphocytaires (TBNK) est réalisée. Un contrôle microbiologique est aussi réalisé afin de vérifier la stérilité de la poche. 1.5ml est injecté dans 2 flacons d'hémoculture bact/alert anaérobie et aérobie (BioMérieux) incubés pendant 10 jours. En fonction des promoteurs, la poche de leucaphérèse est envoyée soit fraîche (Yescarta®) soit congelée (Kymriah®). Différents contrôles de qualité ou informations peuvent être demandés par les industriels comme le volume de sang traité, la numération de cellules CD3+, les sérologies du patient etc.

3) La réception des cellules CAR-T

Après réception, l'industriel assure la production des cellules CAR-T, dans un délai moyen de 2-3 semaines. Un certificat de production est envoyé soit par la plateforme ou soit par le service de logistique de l'industrie pharmaceutique à l'hématologue et à la PUI de l'hôpital prescripteur afin de fixer la date d'envoi. En fonction de l'état général du patient et de l'organisation des différents services une date de réception des cellules est fixée au plus proche du jour d'injection.

La réception des cellules congelées est réalisée par le pharmacien de la PUI, où de nombreuses vérifications sont nécessaires afin de valider la réception du MTI : le contrôle de la conformité du lot, l'identitovigilance, la conformité du transport (courbe de température de la sonde), présence du bon nombre de poches etc (figure 6).

Après réception, les CAR-T sont conservées cryopréservées dans les conteneurs à vapeur d'azote de l'hôpital jusqu'au jour de l'injection au patient.

Figure 6 : Dossier de réception des cellules CAR-T mis en place à l'IPC

| POINTS DE CONTROLE | | CONFORMITE : | | |
|--|--|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| Adéquation commande (mail) et étiquettes Dry Shipper et packing slip: - cell order : - n°IP (promoteur industriel) : - n° lot : - date de péremption : | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| Intégrité du Dry Shipper : | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| Intégrité du scellé sur Dewar et contrôle du n° Série scellé conforme au bon réception : n°..... | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| Conformité temperature (<-150°C - absence d'alarme): | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| Conformité des informations patient (n°IP (promoteur industriel), Nom patient, IPP, date de naissance) et lot sur la <u>cassette</u> : | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| Conformité des informations patient (n° IP (promoteur industriel), Nom patient, IPP, date de naissance) et lot sur la <u>poche</u> : | | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Photo(s) n° ... |
| ⇒ Joindre documents réception : | | | | |
| - Packing Slip | | | | |
| - Mail Promoteur industriel | | | | |
| - Bon réception Dry Shipper | | | | |
| ⇒ Procéder à l'entrée en stock sur le logiciel de la PUI | | | | |
| - lot : | | | | |
| - péremption: | | | | |

4) Mise en place de la lymphodéplétion

Le patient est hospitalisé 5-7 jours en moyenne avant l'injection des cellules CAR-T, période durant laquelle il reçoit une chimiothérapie lymphodéplétive. L'association la plus couramment utilisée est la fludarabine et la cytarabine.

5) Injection des cellules CAR-T.

Le jour de l'injection, la poche de cellules CAR-T est décongelée dans le laboratoire de Thérapie Cellulaire par la technique Plasmatherm (Sebac) imposée par l'industriel. Elle est ensuite délivrée en main propre par le pharmacien de la PUI dans le service d'hématologie où est hospitalisé le patient. Si la dose de cellules CAR-T produite a été congelée en plusieurs poches, la décongélation de la deuxième poche est initiée lorsque la première poche a été complètement administrée.

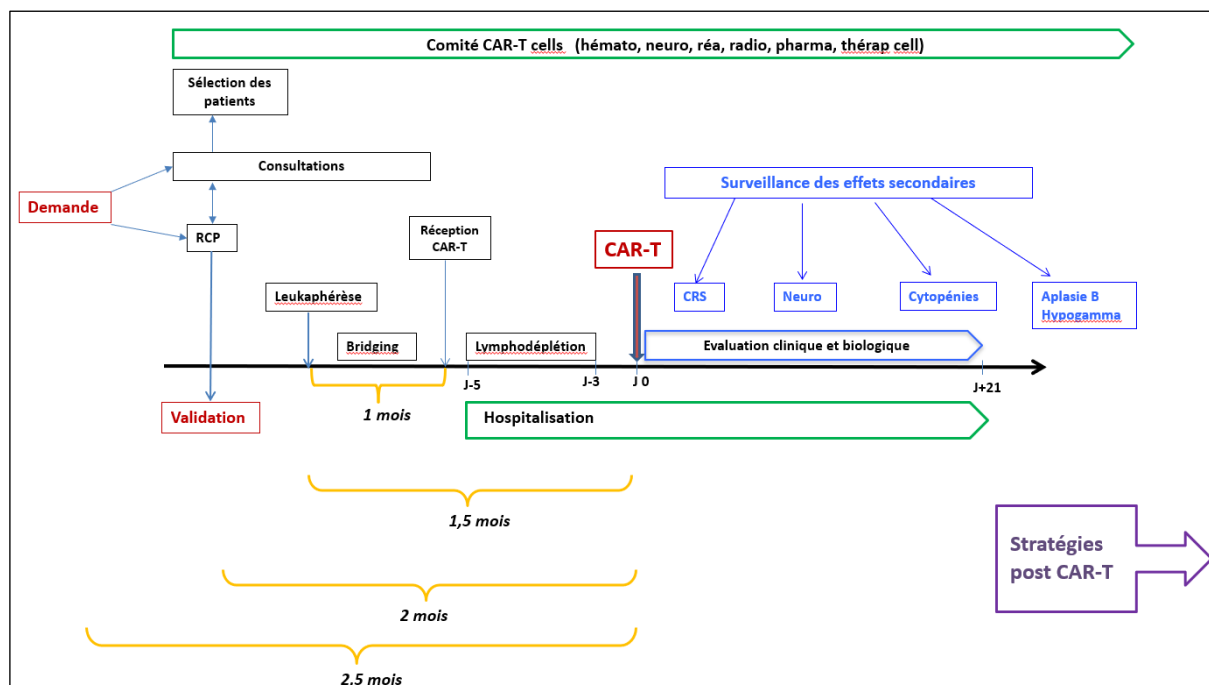
6) Le monitoring des patients traités par cellules CAR-T

Le patient est hospitalisé pendant 15 à 21 jours où des examens neurologiques et cliniques sont effectués quotidiennement. La numération des cellules CAR-T associée plus ou moins à une numération des sous populations lymphocytaires sont effectuées par le laboratoire de Thérapie Cellulaire à différents temps post injection (J5 J7 J10 J14 M1). Des réévaluations par TEP scan à un mois, deux mois, trois mois, six mois, neuf mois et un an sont effectuées. L'efficacité du traitement est évaluée en fonction du TEP scan, avec l'aide des critères de Deauville.

Ce circuit particulièrement complexe demande donc une parfaite organisation entre de nombreux services hospitaliers afin d'administrer un produit conforme répondant aux exigences des médicaments de thérapies innovantes.

Voici le diagramme résumant l'organisation du circuit CAR-T à l'Institut Paoli-Calmettes.

Figure 7 : Diagramme organisationnel du circuit CAR-T à l'IPC



IV) Etude rétrospective

1) Introduction

Malgré un certain nombre de succès cliniques, la réponse aux cellules CAR-T varie selon les patients. Aujourd'hui, il est donc nécessaire d'identifier des biomarqueurs qui permettront aux cliniciens de déterminer quels patients répondront à la thérapie par cellules CAR-T et chez quels patients ces traitements doivent être ajustés pour maximiser les effets thérapeutiques. De plus, il est aussi important de déterminer quels patients ne répondront pas à cette thérapie et à quelle date, après injection, pouvons-nous mettre en place une intervention thérapeutique dans le cas d'échec au traitement par cellules CAR-T. Mon travail s'inscrit dans cette démarche où, en collaboration avec le service de médecine nucléaire et le service d'hématologie clinique, nous avons réalisé une analyse rétrospective d'une cohorte de 51 patients présentant un lymphome non hodgkinien réfractaire ou en rechute, et ayant été traités par des cellules CAR-T anti CD19 à l'Institut Paoli-Calmettes. Nous avons recueilli et mis en commun les données clinico-biologiques et les paramètres de TEP scan à 1 mois avant l'injection des cellules CAR-T, puis

à 1 mois après le traitement. L'objectif de cette étude était l'identification de biomarqueurs prédictifs d'échec thérapeutique aux traitements par cellules CAR-T afin de mettre en place une thérapie alternative de manière précoce.

2) Matériels et méthodes

A) Population étudiée

La population étudiée est l'ensemble des patients atteints de lymphomes non hodgkiniens traités par cellules CAR-T anti CD19 à l'Institut Paoli-Calmettes entre janvier 2019 et novembre 2021.

B) Données Clinico – Biologiques analysées

(i) Données cliniques

Les données cliniques recueillies et analysées sont : le type histologique de lymphome, le nombre de lignes de chimiothérapie/ bridging et la présence d'effets indésirables post injection. Ces données ont été recueillies de manière rétrospective à partir des dossiers patients informatisés de l'IPC (logiciel Hopital Manager).

(ii) Numération des sous populations lymphocytaires

L'analyse des sous populations lymphocytaires sanguines a été effectuée par cytométrie en flux sur le FACS CANTO II (Becton-Dicknson®) du centre de Thérapie Cellulaire à partir des prélèvements sur tube EDTA à un mois avant l'injection des cellules CAR-T. Les sous populations lymphocytaires présentes dans la leucaphérèse ont été quantifiées sur le cytomètre FC 500 (Beckman Coulter). Le panel utilisé avec ce dernier cytomètre comporte un marqueur de viabilité (7-AAD) nécessaire pour caractériser la qualité des produits cellulaires comme les leucaphères par rapport aux analyses réalisées dans la circulation sanguine. Dans les deux cas, les volumes de réactifs utilisés étaient conformes aux recommandations du fournisseur. Les 2 méthodes ont été accréditées par le COFRAC selon la norme ISO 15189. Le protocole est le suivant : ajouter les anticorps CD45 / CD3 / CD4 / CD8 / CD16/56 / CD19 (+/- 7-AAD) à la suspension cellulaire. Vortexez et laissez incuber à température ambiante à l'obscurité puis ajoutez la solution de lyse des hématies, vortexez et laissez incuber à température ambiante à

l'obscurité. Ajouter les fluorosphères de comptage puis procéder à la numération sur le cytomètre. L'analyse des résultats s'effectue sur les logiciels cliniques fournisseurs (respectivement BD FACSCanto clinical Software et CXP).

(iii) Bilan biologique

Des bilans de biochimie et d'hématologie ont été réalisés 1 mois avant l'injection des cellules CAR-T. Les dosages de LDH, CRP, ferritine, les numérations des plaquettes, leucocytes et lymphocytes ont été sous-traités au laboratoire PC BIO. Les résultats ont aussi été recueillis de manière rétrospective, sur HM, pour tous les patients de l'étude.

(iv) Données d'imagerie

Les TEP TDM au ^{18}F -FDG ont été réalisés sur les appareils Siemens Healthcare BIOGRAPH Vision 450 et BIOGRAPH mCT à l'Institut Paoli-Calmettes. Les patients ont reçu une injection entre 2 et 3MBq/kg de ^{18}F -FDG approximativement 60 min avant le début de l'examen. Pour le TEP à un mois avant et après l'injection les paramètres suivants ont été documentés : le SUVmax, le MTV, le MTVmax, le GLT et le GLT max. Le volume métabolique total a été mesuré par un médecin nucléariste avec le logiciel propriétaire SyngoVia Siemens Healthcare.

La réponse thérapeutique a été évaluée suivant l'échelle de Deauville. Les patients candidats à une intervention thérapeutique précoce sont définis par le score 5 de Deauville, ce niveau de score étant caractérisé par une progression de la maladie. Les patients non-candidats ont été définis par les scores 1, 2, 3 et 4, représentant une réponse complète ou partielle aux traitements par cellules CAR-T. Cette évaluation a été réalisée sur le TEP scan à 1 mois post- injection.

C) Analyses statistiques

Les données ont été saisies avec le logiciel Microsoft Excel 2017 (Microsoft, Redmont, Washington, USA), Toutes les analyses statistiques ont été réalisées au niveau de significativité $\alpha=0.05$ et à l'aide du logiciel SAS® 9.4. Les caractéristiques sociodémographiques et cliniques de la population sont présentées à l'aide de nombres (pourcentages), moyennes (écarts types) et médianes [minimum-maximum] en fonction de la nature de la variable. Les données clinico-biologiques ainsi que les paramètres de TEP scan des deux groupes ont été comparées par des tests de Wilcoxon (variables quantitatives) ou de Khi²/Fisher (variables catégorielles). Des

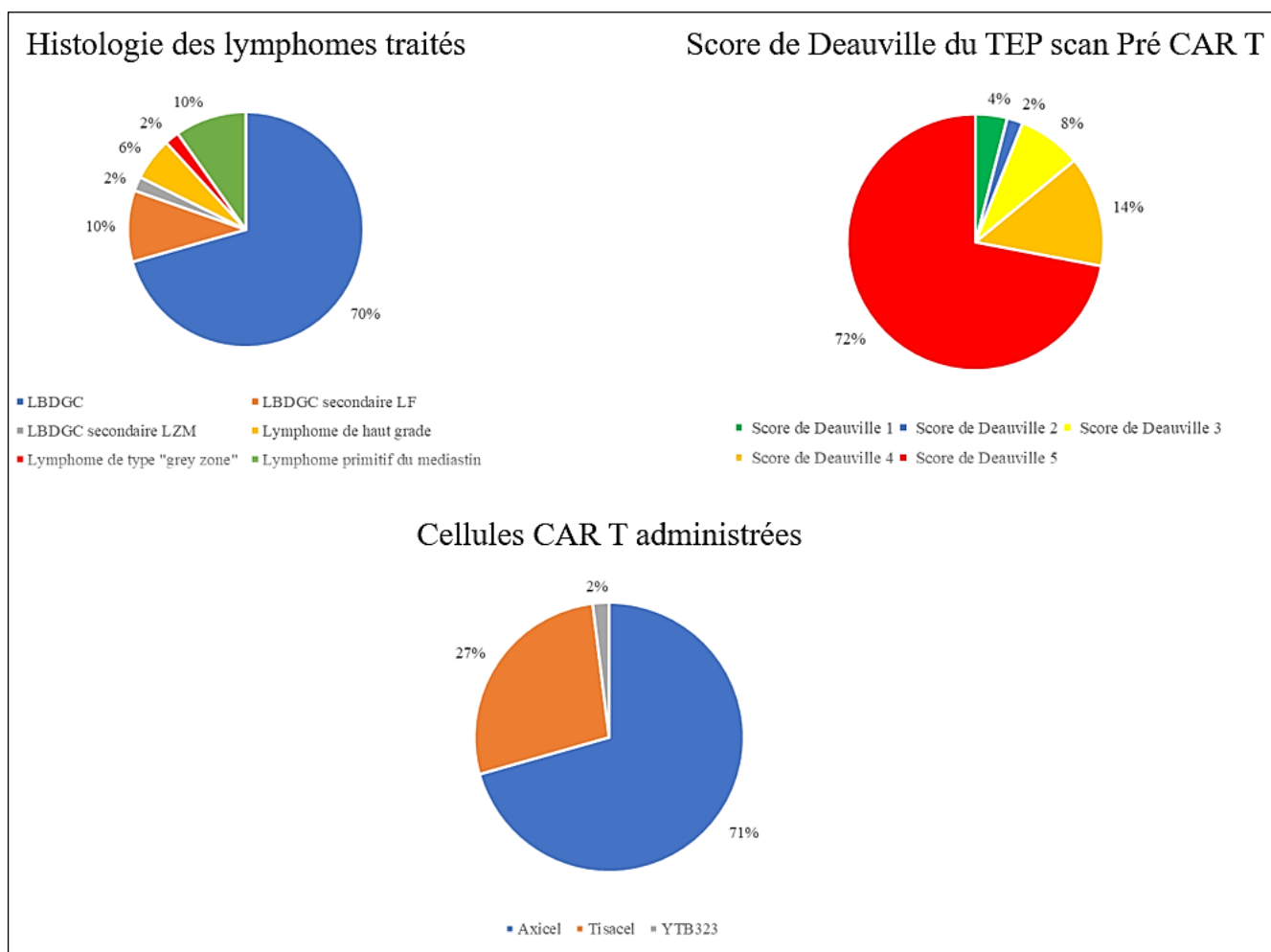
modèles logistiques univariés expliquant la réponse à M1 ont été utilisés pour évaluer l'impact prédictif des critères quantitatifs des données d'imagerie, biologiques et de sous-populations lymphocytaires, des facteurs diagnostiques (âge, histologie) et de traitements (nombre de lignes de bridging et de chimiothérapie, grades CRS et ICAN). Les Odds Ratios (OR) et les aires sous la courbe ROC (pour les variables quantitatives) associées ont été estimés avec leurs intervalles de confiance (IC) bilatéraux de niveau 95%.

3) Résultats

A) Population de l'étude :

Les caractéristiques de la population étudiée sont présentées dans la figure 1. Les patients inclus dans l'étude sont majoritairement atteints d'un lymphome B diffus à grandes cellules (71%), on retrouve environ 10% de lymphomes B diffus à grandes cellules secondaires à un lymphome folliculaire et 10% de lymphomes primitifs du médiastin. Les 10% restants sont des patients atteints de lymphomes de haut grade, le lymphome de type « Grey Zone » et le lymphome B diffus à grandes cellules secondaire à un lymphome de la zone marginale. L'âge moyen de la population est de 56 ans. On observe qu'il y a une majorité de patients âgés de moins de 60 ans (55%). Le traitement par cellules CAR-T le plus administré dans cette cohorte est axicel (71%). La majorité des patients ont reçu moins de 3 lignes de chimiothérapies antérieures (66%) et 84% des patients ont reçu un bridging. Concernant l'imagerie avant l'injection CAR-T, 72% des patients présentaient un score de Deauville à 5 entre le TEP à M-1 et les TEP scan antérieurs.

Figure 8 : Caractéristiques de la population étudiée.



B) Comparaison des groupes candidats et non-candidats à M1

(i) *Clinique et histologie*

Les résultats concernant la comparaison sociodémographique et clinique avant injection des cellules CAR-T des deux groupes sont résumés dans le tableau 1. Il n'y a pas de différence significative entre le groupe candidats et non-candidats pour l'âge, le type de lymphome, le nombre de lignes de chimiothérapies antérieures et la nécessité de bridging entre la leucaphérèse et l'injection des cellules CAR-T.

(ii) Imagerie pré CAR-T

On observe que le GLTmax, le GLTtotal et le MTVmax du TEP scan avant injection sont significativement plus faibles dans le groupe non-candidats avec des p-value respectivement égales à 0.022, 0.033 et 0.03. Aucune différence significative n'a été observée pour le MTV total et le SUV pré CAR-T (tableau 1). Les résultats des modèles logistiques univariés ont permis de montrer que le GLTmax, le GLTtotal et le MTVmax sont des paramètres aux performances intéressantes pour prédire la réponse aux cellules CAR-T à M1, avec une précision de respectivement, 75%, 73% et 73% (tableau 4).

Tableau 1 : Comparaison des données sociodémographiques et cliniques avant injection entre les groupes de patients candidats et non-candidats à M1.

| Catégorie | Sous catégories | Statistique | Score Deauville 5 à M1 | Score Deauville 1-4 à M1 | p-value |
|---|--------------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|---------|
| Population | | | 11 | 40 | |
| Age | | Médiane [Min-Max] | 55.0 [26.00-75.00] | 58.00 [19-74] | 0.90 |
| | <60 | n(%) | 6 (54.55) | 22 (55) | 1 |
| | ≥60 | n(%) | 5 (45.45) | 18 (45.00) | |
| Histologie | LBDGC | n(%) | 6 (54.55) | 30 (75) | 0.28 |
| | LBDGC secondaire LF | n(%) | 1 (9.09) | 4 (10.00) | |
| | LBDGC secondaire LZM | n(%) | / | 1 (2.50) | |
| | Lymphome de haut grade | n(%) | 2 (18.18) | 1 (2.50) | |
| | Lymphome de type « grey zone » | n(%) | / | 1 (2.50) | |
| | Lymphome primitif du médiastin | n(%) | 2 (18.18) | 3 (7.50) | |
| Nombre de lignes de chimio | <3 | n(%) | 7 (63.6) | 27 (67.5) | 1 |
| | ≥3 | n(%) | 4 (36.4) | 13 (32.5) | |
| Bridging | Présence | n(%) | 10 (90.9) | 33 (82.5) | 0.67 |
| | Absence | n(%) | 1 (9.09) | 7 (17.50) | |
| Bilan d'imagerie avant injection | | | 9 | 33 | |

Imagerie Pré CAR-T

| | | | | |
|------------|-------------------|-------------------------|-----------------------|-------|
| GLT Max | Médiane [Min-Max] | 370.58 [10.86-16973.00] | 54.04 [2.55-2291.00] | 0.022 |
| GLT Totale | Médiane [Min-Max] | 456.37 [10.86-16973] | 118.48 [2.55-7593.00] | 0.033 |
| MTV Max | Médiane [Min-Max] | 31.1 [4.11-1756.00] | 10.02 [0.39-161.80] | 0.036 |
| MTV total | Médiane [Min-Max] | 44.22 [4.11-1884.00] | 22.93 [0.40-711.60] | 0.108 |
| SUVmax | Médiane [Min-Max] | 18.60 [2.80-43.36] | 14.50 [2.30-49.20] | 0.262 |

(iii) Bilan biologique pré CAR-T

Au niveau du bilan de biochimie et d'hématologie, aucune différence significative n'a été observée (tableau 2). Concernant les modèles logistiques univariés, on remarque que les LDH et la CRP sont les facteurs biochimiques avec les meilleures performances prédictives, avec une précision de respectivement 69% et 63% (tableau 4).

Pour les modèles univariés en hématologie, les numérations des leucocytes et des lymphocytes sont prédictives d'une bonne réponse clinique avec une précision de 64% pour les deux variables (tableau 4). Aucune différence significative entre les deux groupes n'a été observée pour les numérations des sous-populations lymphocytaires dans le sang circulant à un mois avant injection et dans la poche de leucaphérèse.

Tableau 2 : Comparaison des données biologiques avant injection entre les groupes de patients candidats et non-candidats à M1

| Catégorie | Sous catégories | Statistique | Score Deauville 5 à M1 | Score Deauville 1-4 à M1 | p-value |
|---|-----------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|---------|
| Bilan biologique Pré CAR-T | | | | | |
| Biochimie | CRP | Médiane [Min-Max] | 6.00 [2.0-291.00] | 4.00 [1.00-55.00] | 0.17 |
| | Ferritine | Médiane [Min-Max] | 473.00 [56-2052.00] | 364.00 [37.00-2646.00] | 0.56 |
| | LDH | Médiane [Min-Max] | 241.00 [154.00-1892.00] | 206.50 [97.00-1039.00] | 0.12 |
| Hématologie | Leucocytes | Médiane [Min-Max] | 5.30 [1.80-8.50] | 4.20 [1.00-13.30] | 0.15 |
| | Lymphocytes | Médiane [Min-Max] | 0.42 [0.13-0.95] | 0.61 [0.08-1.78] | 0.16 |
| | Plaquettes | Médiane [Min-Max] | 235.00 [87.00-386.00] | 198.00 [44.00-472.00] | 0.29 |
| Numération sous population lymphocytaire (M-1) | | | | | |
| Poche leucaphérèse | CD3 | Médiane [Min-Max] | 6078.90 [1135.80-14012.00] | 8456.70 [1338.80-17310.70] | 0.23 |
| | CD4 | Médiane [Min-Max] | 3561.70 [522.95-6454.40] | 3904.93 [934.50-9720.90] | 0.38 |
| | CD8 | Médiane [Min-Max] | 2442.50 [592.59-8314.30] | 3994.79 [350.30-10983.60] | 0.24 |
| | CD56 CD16 | Médiane [Min-Max] | 1898.00 [481.17-3765.00] | 1669.67 [77.00-4877.00] | 0.82 |
| Sang circulant | CD3 | Médiane [Min-Max] | 562.55 [104.92-1350.00] | 448.01 [60.50-2029.40] | 1 |
| | CD4 | Médiane [Min-Max] | 262.51 [52.83-772.80] | 223.70 [43.20-1176.00] | 0.92 |
| | CD8 | Médiane [Min-Max] | 233.25 [12.00-1105.00] | 210.05 [12.60-1145.40] | 0.68 |
| | CD56 CD16 | Médiane [Min-Max] | 122.05 [28.17-194.00] | 115.03 [9.40-325.00] | 0.64 |
| | Ratio CD4/CD8 | Médiane [Min-Max] | 1.14 [0.20-25.58] | 1.18 [0.22-54.26] | 0.93 |

(iv) Bilan d'imagerie à 1 mois

Le GLTmax et le GLTtotal sont tous les deux significativement plus faibles dans le groupe non-candidats à une intervention thérapeutique (p=0.002 et p=0.01 respectivement). On retrouve une tendance statistique concernant le MTVmax et total montrant un volume métabolique tumoral plus faible dans le groupe non-candidats (tableau 3).

En ce qui concerne l'évolution de la réponse aux cellules CAR-T, 82% des patients présentent un score Deauville 5 à un mois et conservent ce score à 6 mois (figure 9). Et 82.5% des patients présentant un score Deauville entre 1-4 à 1 mois post injection conservent ce score à 6 mois.

La majorité des patients (73%) présentant un score Deauville 5 à M1 présentait ce même score sur le bilan d'imagerie pré CAR -T (figure 10).

Figure 9 : Logigramme représentant l'évolution de la réponse aux cellules CAR-T entre 1 mois et 6 mois

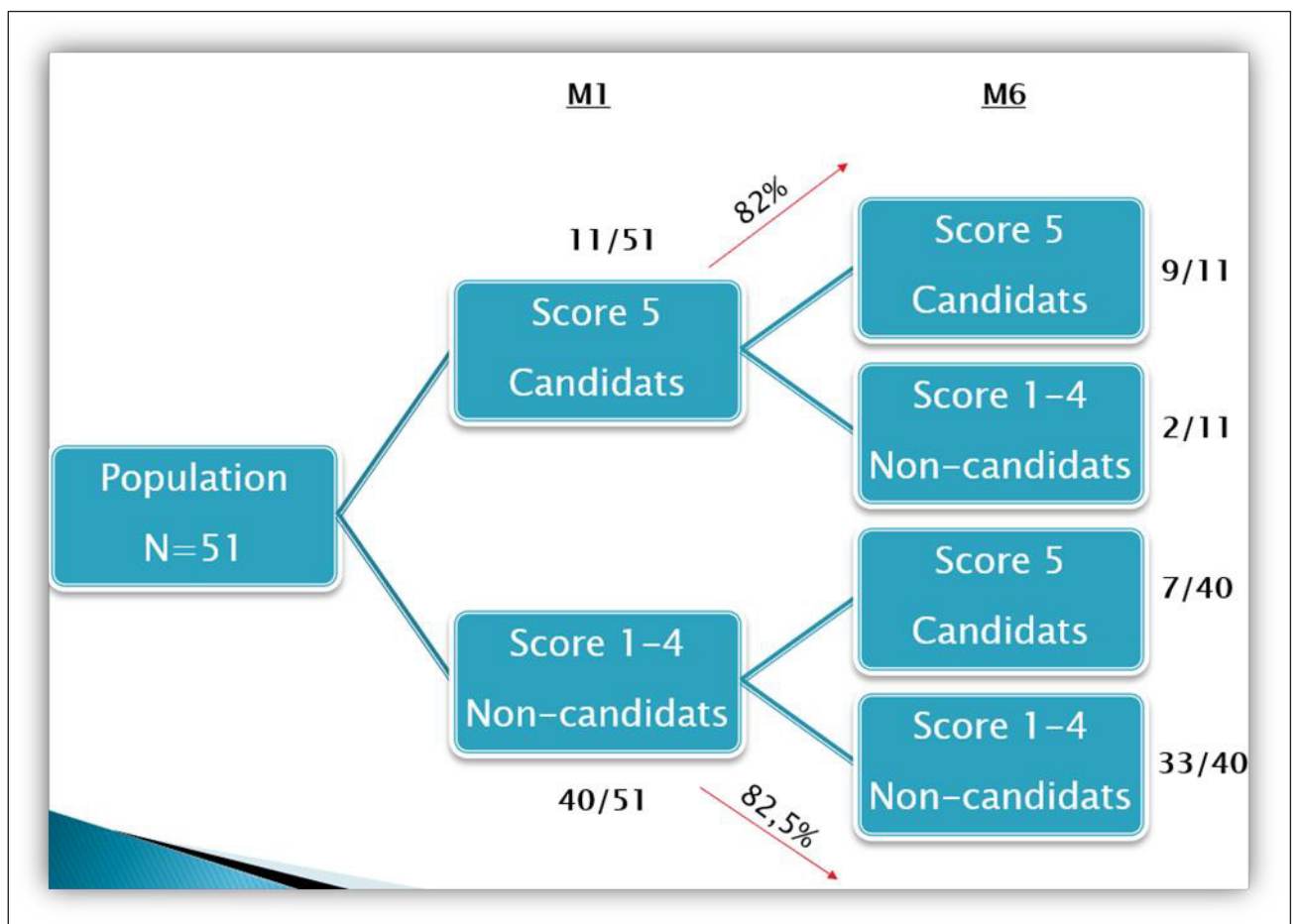
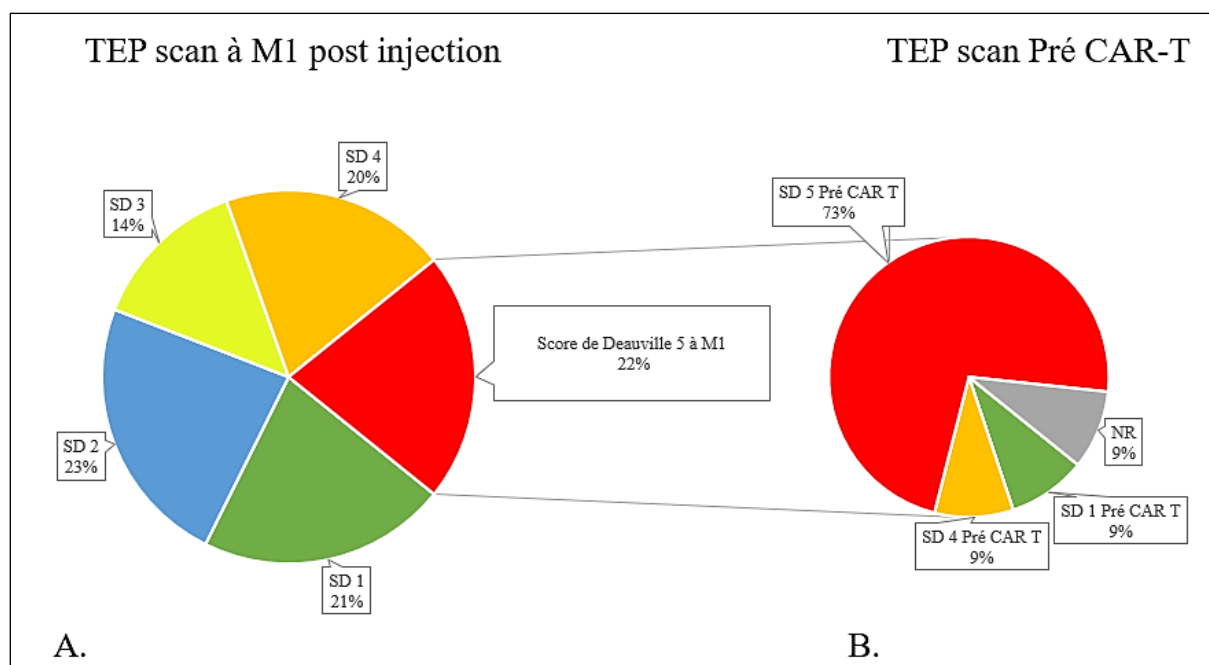


Figure 10 : Répartition des scores de Deauville à M1.

Légendes : Figure A : Score Deauville de la population étudiée. Figure B : Score Deauville Pré CAR T des patients candidats à une intervention thérapeutique. SD : Score de Deauville.



(v) Effets indésirables

La proportion de CRS de grade ≥ 2 est significativement plus grande dans le groupe non-candidats ($p=0.021$). Les modèles logistiques univariés confirment ce résultat, en effet la population présentant un CRS de grade ≥ 2 a significativement plus de chances de répondre au traitement avec un rapport de cote 6 fois plus élevé (tableau 6). On ne retrouve aucune différence significative concernant les ICANS.

Tableau 3 : Comparaison des données d'imagerie et de l'incidence d'effets indésirables entre les groupes de patients candidats et non-candidats à MI.

| Catégorie | Sous catégories | Statistique | Score Deauville 5 à MI | Score Deauville 1-4 à MI | p-value |
|--|-----------------|-------------------|------------------------|--------------------------|--------------|
| Imagerie à 1 mois | GLT Max | Médiane [Min-Max] | 120.00 [13.70-1695.10] | 28.10 [1.56-132.11] | 0.002 |
| | GLT Total | Médiane [Min-Max] | 293.00 [4.99-3505.06] | 30.56 [1.56-214.93] | 0.010 |
| | MTV Max | Médiane [Min-Max] | 18.49 [4.97-117.80] | 9.15 [0.30-54.03] | 0.114 |
| | MTV total | Médiane [Min-Max] | 54.35 [2.56-238.16] | 12.64 [0.30-110.72] | 0.089 |
| Effets indésirables | | | | | |
| • CRS grade ≥ 2 | | | | | |
| • ICANS | Oui | n(%) | 9 (81.82) | 17 (42.50) | 0.021 |
| | Non | n(%) | 2 (18.18) | 23 (57.50) | |
| | Présence | | 9 (81.82) | 25 (62.50) | 0.297 |
| Absence | | 2 (18.18) | 15 (37.50) | | |

Tableau 4 : Analyses univariées de la réponse à MI (données d'imagerie, biologiques et sous-populations lymphocytaires).

| Variable | Nb observations | Nb événements | Odds Ratio [95% CI] | p-value | Aire sous la courbe ROC [IC 95%] |
|----------------------------|-----------------|---------------|-------------------------|---------|-----------------------------------|
| Données d'imagerie | | | | | |
| GLTmax precarT | 42 | 33 | 0.999 [0.998,1.000] | 0.2497 | 0.751 [0.559,0.943] |
| GLTtotal precarT | 42 | 33 | 1.000 [0.999,1.000] | 0.1672 | 0.734 [0.533,0.935] |
| MTVmax precarT | 42 | 33 | 0.991 [0.971,1.012] | 0.3888 | 0.731 [0.552,0.909] |
| MTVtotal precarT | 42 | 33 | 0.998 [0.995,1.001] | 0.2031 | 0.677 [0.487,0.866] |
| SUVmax precarT | 51 | 40 | 0.976 [0.926,1.028] | 0.3573 | 0.611 [0.417,0.806] |
| Données biologiques | | | | | |
| CRP | 51 | 40 | 0.978 [0.953,1.004] | 0.0984 | 0.634 [0.453,0.815] |
| Ferritine | 51 | 40 | 1.000 [0.999,1.001] | 0.6082 | 0.558 [0.348,0.768] |
| GB | 51 | 40 | 0.884 [0.660,1.186] | 0.4113 | 0.642 [0.425,0.859] |
| LDH | 51 | 40 | 0.997 [0.994,1.000] | 0.0469 | 0.690 [0.502,0.877] |
| Lymphocytes | 51 | 40 | 5.161 [0.512,51.973] | 0.1637 | 0.641 [0.456,0.826] |
| Plaquettes | 51 | 40 | 0.997 [0.990,1.003] | 0.2993 | 0.606 [0.386,0.825] |

| Sous populations lymphocytaires | | | | | | |
|---------------------------------|----|----|------------------------|--------|------------------------|--|
| Poche leuca CD3 | 51 | 40 | 1.000 [1.000,1.000] | 0.2126 | 0.618 [0.414,0.823] | |
| Poche leuca CD4 | 51 | 40 | 1.000 [1.000,1.001] | 0.2612 | 0.586 [0.374,0.799] | |
| Poche leuca CD56 CD16 | 51 | 40 | 1.000 [0.999,1.001] | 0.9920 | 0.523 [0.322,0.724] | |
| Poche leuca CD8 | 51 | 40 | 1.000 [1.000,1.000] | 0.3152 | 0.616 [0.416,0.815] | |
| Sang circulant CD3 | 50 | 40 | 1.000 [0.998,1.002] | 0.9892 | 0.500 [0.282,0.718] | |
| Sang circulant CD4 | 50 | 40 | 1.000 [0.997,1.004] | 0.8233 | 0.510 [0.287,0.733] | |
| Sang circulant CD56 CD16 | 49 | 39 | 1.004 [0.994,1.015] | 0.4313 | 0.549 [0.355,0.742] | |
| Sang circulant CD8 | 50 | 40 | 1.000 [0.998,1.003] | 0.6229 | 0.543 [0.326,0.733] | |

Tableau 5 : Analyses univariées de la réponse à MI (facteurs diagnostiques et traitements).

| Variable | Nb. Observations | Nb. Evénements | Catégorie | Effectif (%) | Nb Score Deauville 1-4 à MI (%) | Contraste | Odds Ratio [95% CI] | p-value |
|------------|------------------|----------------|----------------------|--------------|---------------------------------|---|---------------------|---------|
| Age | 51 | 40 | <60 | 28 (54.90%) | 22 (78.57%) | >=60 vs <60 | 0.98 [0.26,3.75] | 0.9786 |
| | | | >60 | 23 (45.10%) | 18 (78.26%) | | | |
| Histologie | 51 | 40 | LBDGC | 36 (70.59%) | 30 (83.33%) | LB de haut grade vs LBDGC | 0.10 [0.01,1.29] | 0.0774 |
| | | | LB de haut grade | 3 (5.88%) | 1 (33.33%) | LBDGC secondaire LF vs LBDGC | | |
| | | | LBDGC secondaire LF | 5 (9.80%) | 4 (80.00%) | LBDGC secondaire LZM vs LBDGC | | |
| | | | LBDGC secondaire LZM | (1.96%) | 1 (100.00%) | Lymphome de type « grey zone » vs LBDGC | | |

| | | | | | | | | |
|------------------------------------|----|----|--------------------------------|-------------|-------------|---|-------------------|---------------|
| | | | Lymphome de type « grey zone » | 1 (1.96%) | 1 (100.00%) | Lymphome de type « grey zone » vs LBDGC | 64495.18 [0.00,.] | 0.9844 |
| | | | Lymphome primitif du médiastin | 5 (9.80%) | 3 (60.00%) | Lymphome primitif du médiastin vs LBDGC | 0.30 [0.04,2.20] | 0.2363 |
| Nombre lignes bridging>0 | 51 | 40 | non | 8(15.69%) | 7 (87.50%) | Oui vs Non | 0.47 [0.05,4.30] | 0.5051 |
| | | | oui | 43 (84.31%) | 33 (76.74%) | | | |
| Nombre lignes chimio>=3 | 51 | 40 | non | 34 (66.67%) | 27 (79.41%) | Oui vs Non | 0.84 [0.21,3.40] | 0.8099 |
| | | | oui | 17 (33.33%) | 13 (76.47%) | | | |
| CRS grade≥2 | 51 | 40 | non | 26 (50.98%) | 17 (65.38%) | Oui vs Non | 6.09 [1.16,31.87] | 0.0325 |
| | | | oui | 25 (49.02%) | 23 (92.00%) | | | |
| ICAN grade>0 | 51 | 40 | non | 34 (66.67%) | 25 (73.53%) | Oui vs Non | 2.70 [0.51,14.21] | 0.2411 |
| | | | oui | 17 (33.33%) | 15 (88.24%) | | | |

V) Discussion

Les cellules CAR-T prennent une place de plus en plus importante dans les stratégies thérapeutiques en onco-hématologie. Les résultats sont impressionnants et la gestion des effets indésirables est de plus en plus maîtrisée. Cependant ces traitements sont coûteux, avec un temps de production relativement long et des effets secondaires pouvant être sévères. La détermination de biomarqueurs précoces prédictifs d'un échec thérapeutique est donc nécessaire afin d'optimiser la sélection des patients bénéficiaires, de prédire les toxicités mais aussi d'introduire une nouvelle thérapie alternative le plus précocement possible. L'évaluation de la réponse aux cellules CAR-T à 1 mois post-injection est particulièrement intéressante car elle apparaît comme prédictive de la réponse au long terme [55]. Kuhn et al, ont montré dans une cohorte de 170 patients atteints de LBDGC traités par cellule CAR-T que 100% des patients

présentant un score Deauville 5 à un mois post injection étaient en progression à 6 mois [56]. Nous confirmons ces résultats dans notre étude, puisque 82% des patients présentant un score Deauville 5 à 1 mois restent en échec thérapeutique sur le long terme (figure 8). Cela conforte l'intérêt de réaliser une réévaluation par TEP scan à 1 mois post injection et pose la question d'une modification rapide de la thérapeutique en fonction du score Deauville retrouvé [56, 57].

De nombreuses études multicentriques évaluent l'approche optimale pour les patients en rechute/ réfractaires après des cellules CAR-T. Différentes stratégies thérapeutiques sont en cours d'étude, l'utilisation d'anticorps monoclonaux, d'anticorps armés (antibody-drug conjugate) ou encore des anticorps bispécifiques sont explorées dans différents essais cliniques [58]. Cependant, jusqu'à présent, les populations étudiées ne comportent pas assez de patients en situation de rechute post CAR-T pour avoir une vision globale de l'efficacité de ces traitements dans ce cadre [59–61].

Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires ont aussi été analysés dans le cadre de rechute aux cellules CAR-T. Comme pour les classes thérapeutiques précédentes, les effectifs de patients réfractaires aux cellules CAR-T restent faibles, et les résultats sont donc difficilement interprétables [62]. Cependant, certaines modifications du profil immunitaire des cellules CAR-T ont été découvertes à la suite de ces traitements. En effet, l'introduction de pembrolizumab chez les patients atteints d'un lymphome B réfractaire aux cellules CAR-T a conduit à une augmentation de la prolifération des cellules CAR-T lorsque l'administration de pembrolizumab était proche de l'injection des cellules CAR-T. De manière intéressante, plusieurs phases d'expansion de cellules CAR-T ont été observées chez les patients répondeurs au pembrolizumab [62]. Plus encore, le pembrolizumab aurait la capacité de restaurer les cellules CAR-T épuisées mais aussi de stimuler l'expansion de nouveaux clones et de limiter l'épuisement sur le long terme de ces cellules [63]. L'introduction de ce traitement à 1 mois post injection est donc une stratégie intéressante pour stimuler la réponse aux cellules CAR-T en cas d'échec. La possibilité de réaliser une allogreffe de CSH post CAR-T est aussi à l'étude, les résultats concernant la survie globale et la survie sans progression à deux ans sont encourageants (40% et 30% respectivement) [64]. Néanmoins, des études à plus grande échelle sont nécessaires pour mieux définir le rôle de l'allogreffe dans ce contexte et d'optimiser l'identification des sous-groupes de patients qui bénéficieraient le plus de ces combinaisons d'immunothérapies.

Concernant les biomarqueurs prédictifs analysés dans cette étude, les paramètres de TEP scan avant injection en particulier le GLTtotal, le GLTmax et le MTVtotal ont montré un intérêt dans la prédiction de réponses thérapeutiques à 1 mois. Dans la littérature, la supériorité du MTV par rapport au SUVmax comme facteur pronostic a été prouvée dans les tumeurs solides traitées par radiothérapie [65]. Plus encore, la détermination du MTV et du GLT juste avant injection pourrait prédire la survie globale et la survie sans progression dans le lymphome B [66]. Dans le cadre des LBDGC, le MTV à T0 a été identifié comme l'un des paramètres les plus précis associés à un pronostic défavorable [67, 68]. Une étude multicentrique a défini ce paramètre d'imagerie comme étant un des marqueurs pronostiques les plus significatifs dans le cadre du traitement par cellules CAR-T [69]. De plus, contrairement au SUVmax, le MTV est moins sujet aux variabilités liées aux protocoles d'acquisition et aux caractéristiques du patient (dose injectée, glycémie).

L'analyse du MTV a été réalisée majoritairement par le même médecin nucléaire. La détermination de ce paramètre de TEP scan est semi automatisée, il existe donc une variabilité inter opérateurs entraînant une incertitude de la mesure. Un projet d'harmonisation internationale est en cours concernant la mesure en routine du MTV [70]. La mise en place d'un seuil (cut-off) permettant de séparer les MTV hauts et bas pourrait être une voie d'homogénéisation des pratiques, cependant l'effet-centre lié aux caractéristiques de la patientèle de chaque établissement limite cette possibilité. En effet, les cut-off des MTV diffèrent de manière drastique d'une étude à une autre [71]. Concernant l'activité de médecine nucléaire en elle-même, il serait intéressant de mettre en place différents indicateurs de qualité, inspirés des contrôles intra voire inter laboratoires instaurés dans les laboratoires de biologie médicale, pour standardiser les pratiques dans l'attente d'une automatisation de la mesure du MTV. Sachant que les paramètres de TEP scan constituent le point central de l'évaluation de la réponse des cellules CAR-T, l'instauration de ces contrôles pourrait permettre de standardiser les pratiques et de faciliter l'analyse des résultats des études multicentriques. L'utilisation du score de Deauville de manière courante lors de l'interprétation des TEP scan est, dans cette optique d'harmonisation, le seul score utilisé permettant d'uniformiser l'analyse des résultats de médecine nucléaire dans le cadre du lymphome.

A propos des autres paramètres étudiés, aucun paramètre biologique n'a été corrélé avec la réponse clinique de manière significative dans cette étude. Dans la littérature, un taux élevé de LDH est associé à une survie sans progression plus faible. Sachant que ce paramètre est un

indicateur de la masse tumorale métabolique, cela corrèle avec les résultats retrouvés sur le MTV et cela rejoint la performance pronostique de la LDH identifiée dans notre étude[72].

Le nombre de lignes de chimiothérapies antérieures ainsi que la mise en place de chimiothérapies d'attente n'ont pas été significatives entre les deux groupes, différents essais ont montré ce résultat [73, 74]. Cependant, des études montrent que les chimiothérapies altèrent la fonctionnalité et modifient le phénotype des lymphocytes T [75]. La recherche de marqueurs d'épuisement des lymphocytes T au moment de l'aphérèse pourrait permettre d'évaluer l'impact des lignes de chimiothérapies antérieures sur la qualité des cellules immunes et d'identifier les patients à risque d'échec thérapeutique [76].

La présence d'un grade CRS supérieur ou égal à 2 est retrouvée significativement plus élevée dans le groupe non-candidats à 1 mois, sachant que le CRS est lié à une forte lyse tumorale, cela témoigne indirectement de l'activité clinique des cellules CAR-T et donc de la réponse au traitement. Shah et al, ont en effet récemment corrélé le CRS de haut grade à l'obtention d'une réponse complète et à l'expansion des CAR-T cells post injection [42].

De manière surprenante, les promoteurs industriels communiquent très peu d'informations sur le contenu de la poche de cellules CAR-T produites. En effet, la richesse des informations fournies varie d'un laboratoire pharmaceutique à un autre mais, dans tous les cas, reste très succincte ; aucun résultat de test fonctionnel n'est par exemple fourni. De plus, selon la réglementation, le produit fini correspond à la poche congelée. Cependant, l'injection des cellules CAR-T nécessite une étape de décongélation du produit fini et aucune analyse sur le produit décongelé n'est autorisée par l'industriel. Cela est un point critique car la décongélation altère la qualité des cellules d'une façon très variable entre deux individus. La détermination de la viabilité des cellules décongelées, la quantification en valeur absolue des cellules CAR-T présentes dans le produit décongelé, voire la réalisation d'un test fonctionnel, seraient nécessaires pour avoir une vision globale de la qualité du MTI injecté. En effet, la viabilité cellulaire pourrait être un facteur déterminant de la réponse clinique aux cellules CAR-T. L'étape de décongélation est une étape primordiale pour le produit injecté, celle-ci est réalisée à l'Institut Paoli-Calmettes dans le laboratoire de Thérapie Cellulaire par des techniciens expérimentés pour sécuriser et standardiser au mieux cette étape. Malgré ces précautions, la réalisation d'un phénotypage post décongélation apparaît comme indispensable afin de caractériser le produit injecté et de s'assurer de sa fonctionnalité. Un groupe de travail américain sur les immunothérapies, a mis en lumière différents éléments que le promoteur industriel

devrait fournir pour faciliter l'identification de biomarqueurs concernant la toxicité et l'efficacité de ce MTI. Le produit de cellules CAR-T devrait comporter une étiquette avec une description détaillée et un certificat d'analyse complet, le dosage des cellules CAR-T devrait être standardisé avec un réactif fourni par l'industriel pour la CMF et la PCR et enfin des échantillons du MTI devraient être envoyés au centre hospitalier pour effectuer des analyses plus approfondies [44].

En effet, la diversité moléculaire et cellulaire des cellules CAR-T injectées contribue à la variabilité de l'efficacité et de la toxicité parmi les patients traités. En effet, Deng & al ont montré que les patients atteints de lymphomes présentant une rémission complète à 3 mois post injection avaient un nombre plus élevé de cellules T CD8 avec un phénotype mémoire dans le produit injecté par rapport aux patients non répondeurs. Parallèlement, une augmentation des cellules T CD8 avec un phénotype d'épuisement a été retrouvée dans la poche de cellules CAR-T chez les patients non répondeurs [77]. Plus encore, Locke & al ont montré qu'un nombre de lymphocytes CD8 élevé dans le produit injecté était corrélé à une plus forte probabilité de réponses cliniques mais uniquement chez les patients avec une forte masse tumorale initiale [38]. Par conséquent, un phénotypage élargi des cellules T mémoires et naïves circulantes ou contenues dans le produit injecté pourrait être une possibilité pour déterminer des biomarqueurs prédictifs. En effet, il a été démontré dans plusieurs études que le pourcentage de CAR-T mémoires les plus immatures (TSCM) dans le sang pré-leucaphérèse, dans la cytophérèse, dans le produit cellulaire injecté ou dans le sang circulant post injection, était corrélé à l'obtention d'une meilleure réponse clinique au traitement [37, 38, 48]. Malheureusement, le phénotypage des sous-populations lymphocytaires réalisé dans notre étude ne permettait que de doser les lymphocytes B, T et les NK et nous n'avons pas pu explorer ces hypothèses. Plus encore, l'analyse de la clonalité des cellules CAR-T à 1 et 3 mois post-injection, serait corrélée à la persistance des CAR-T. Les cellules mémoires centrales et effectrices CAR-T des patients présentant une persistance à long terme sont restées hautement polyclonales, tandis que la diversité clonale a chuté rapidement chez les patients présentant une persistance limitée [48]. Enfin, l'analyse transcriptomique des cellules CAR-T ou encore l'identification des sites d'intégration du transgène seraient aussi des approches intéressantes car cela pourrait être prédictif de la persistance des cellules CAR-T [48, 77].

L'immuno-monitoring des cellules CAR-T est en cours d'optimisation, la prescription en routine du dosage des cellules CAR-T dans le sang périphérique, à intervalles de temps rapprochés, permettrait de suivre le pic d'amplification. La concentration des cellules CAR T a

été corrélée avec la réponse clinique dans le cadre de la leucémie aigüe lymphoblastique et de la leucémie lymphoïde chronique[40, 42]. Ce dosage a été instauré en routine à l'Institut Paoli-Calmettes à partir de février 2022 et n'a donc malheureusement pas pu être intégré dans notre étude.

Les limites principales de cette étude sont sa nature rétrospective ainsi que sa faible cohorte. Il est difficile de mettre en place une analyse rétrospective monocentrique sur un grand nombre de patients traités par cellules CAR-T du fait de son autorisation de mise sur le marché relativement récente et de la complexité du circuit de ce MTI.

VI) Conclusion et perspectives

L'installation des thérapies cellulaires dans le paysage médical a révolutionné la prise en charge thérapeutique de nombreux patients. La détermination de biomarqueurs est nécessaire pour optimiser ces thérapies. Dans le cadre des cellules CAR-T et des lymphomes non hodgkiniens, l'évaluation du volume métabolique total et de la glycolyse totale de la lésion à M-1 paraît intéressante pour identifier les potentiels échecs thérapeutiques. Les bilans biologiques de routine (biochimie et hématologie) réalisés dans cette étude avant et après 1 mois de l'injection des cellules CAR T n'ont pas été discriminants dans la prédiction de la réponse à ce MTI. Cependant, une caractérisation du produit de manière plus approfondie permettrait d'identifier des biomarqueurs complémentaires à ceux retrouvés en imagerie. L'optimisation et l'harmonisation de la sélection et du suivi des patients sont donc des enjeux majeurs dans le circuit des cellules CAR T afin de développer ces approches, de mieux sélectionner les patients susceptibles d'en bénéficier et d'adapter rapidement la séquence thérapeutique en vue d'améliorer l'efficacité clinique de ce type d'immunothérapie cellulaire.

VII) Références bibliographiques

1. Feins S, Kong W, Williams EF, Milone MC, Fraietta JA (2019) An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer. *Am J Hematol* 94:S3–S9. <https://doi.org/10.1002/ajh.25418>
2. Mullaney BP, Pallavicini MG (2001) Protein-protein interactions in hematology and phage display. *Exp Hematol* 29:1136–1146. [https://doi.org/10.1016/s0301-472x\(01\)00693-2](https://doi.org/10.1016/s0301-472x(01)00693-2)
3. Bielanowicz K, Fousek K, Byrd TT, Samaha H, Mukherjee M, Aware N, Wu M-F, Orange JS, Sumazin P, Man T-K, Joseph SK, Hegde M, Ahmed N (2018) Trivalent CAR T cells overcome interpatient antigenic variability in glioblastoma. *Neuro-Oncol* 20:506–518. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox182>
4. Shah NN, Johnson BD, Schneider D, Zhu F, Szabo A, Keever-Taylor CA, Krueger W, Worden AA, Kadan MJ, Yim S, Cunningham A, Hamadani M, Fenske TS, Dropulić B, Orentas R, Hari P (2020) Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nat Med* 26:1569–1575. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1081-3>
5. Qu J, Mei Q, Chen L, Zhou J (2021) Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC): current status and future perspectives. *Cancer Immunol Immunother* 70:619–631. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02735-0>
6. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, Nakanishi M, Arata Y, Itoh S, Nagase F, Kurosawa Y (1987) Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochem Biophys Res Commun* 149:960–968. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(87\)90502-x](https://doi.org/10.1016/0006-291x(87)90502-x)
7. Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG (1993) Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:720–724. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.2.720>

8. Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, Wang G, Eshhar Z, Mavroukakis SA, White DE, Wunderlich JR, Canevari S, Rogers-Freezer L, Chen CC, Yang JC, Rosenberg SA, Hwu P (2006) A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 12:6106–6115. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1183>
9. Lamers CHJ, Sleijfer S, Vulto AG, Kruit WHJ, Kliffen M, Debets R, Gratama JW, Stoter G, Oosterwijk E (2006) Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 24:e20-22. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.05.9964>
10. Park JR, Digiusto DL, Slovak M, Wright C, Naranjo A, Wagner J, Meechoovent HB, Bautista C, Chang W-C, Ostberg JR, Jensen MC (2007) Adoptive transfer of chimeric antigen receptor re-directed cytolytic T lymphocyte clones in patients with neuroblastoma. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther* 15:825–833. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300104>
11. Finney HM, Lawson AD, Bebbington CR, Weir AN (1998) Chimeric receptors providing both primary and costimulatory signaling in T cells from a single gene product. *J Immunol Baltim Md 1950* 161:2791–2797
12. Krause A, Guo HF, Latouche JB, Tan C, Cheung NK, Sadelain M (1998) Antigen-dependent CD28 signaling selectively enhances survival and proliferation in genetically modified activated human primary T lymphocytes. *J Exp Med* 188:619–626. <https://doi.org/10.1084/jem.188.4.619>
13. Imai C, Mihara K, Andreansky M, Nicholson IC, Pui C-H, Geiger TL, Campana D (2004) Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 18:676–684. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403302>
14. Chmielewski M, Abken H (2015) TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther* 15:1145–1154. <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.1046430>
15. Naldini L, Blömer U, Gallay P, Ory D, Mulligan R, Gage FH, Verma IM, Trono D (1996) In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 272:263–267. <https://doi.org/10.1126/science.272.5259.263>

16. Kebriaei P, Singh H, Huls MH, Figliola MJ, Bassett R, Olivares S, Jena B, Dawson MJ, Kumaresan PR, Su S, Maiti S, Dai J, Moriarity B, Forget M-A, Senyukov V, Orozco A, Liu T, McCarty J, Jackson RN, Moyes JS, Rondon G, Qazilbash M, Ciurea S, Alousi A, Nieto Y, Rezvani K, Marin D, Popat U, Hosing C, Shpall EJ, Kantarjian H, Keating M, Wierda W, Do KA, Largaespada DA, Lee DA, Hackett PB, Champlin RE, Cooper LJN (2016) Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Invest* 126:3363–3376. <https://doi.org/10.1172/JCI86721>
17. Nguyen S, Lacan C, Roos-Weil D (2021) Les CAR-NK allogéniques : une alternative prometteuse aux CAR-T autologues – État de la question, sources de cellules NK, limites et perspectives. *Bull Cancer (Paris)* 108:S81–S91. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2021.06.007>
18. Alcazer V, Depil S (2021) Développement des CAR-T allogéniques. *Bull Cancer (Paris)* 108:S73–S80. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2021.01.025>
19. Sadelain M, Rivière I, Riddell S (2017) Therapeutic T cell engineering. *Nature* 545:423–431. <https://doi.org/10.1038/nature22395>
20. HAS. Commission de la transparence avis du 24 mars 2021 Yescarta LBDGC. https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-19018_YESCARTA_PIC_REEV_AvisDef_CT19018.pdf. Accessed 14 Jul 2022
21. HAS. Commission de la transparence Avis 24 mars 2021 Kymriah LDGCB. https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-19042_KYMRIAH_LDGCB_PIC_REEV_AvisDef_CT19042.pdf. Accessed 14 Jul 2022
22. Sermer D, Batlevi C, Palomba ML, Shah G, Lin RJ, Perales M-A, Scordo M, Dahi P, Pennisi M, Afuye A, Silverberg ML, Ho C, Flynn J, Devlin S, Caron P, Hamilton A, Hamlin P, Horwitz S, Joffe E, Kumar A, Matasar M, Noy A, Owens C, Moskowitz A, Straus D, von Keudell G, Rodriguez-Rivera I, Falchi L, Zelenetz A, Yahalom J, Younes A, Sauter C (2020) Outcomes in patients with DLBCL treated with commercial CAR T cells compared with alternate therapies. *Blood Adv* 4:4669–4678. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002118>

23. HAS. Commission de la transparence Avis 21 avril 2021 TECARTUS. https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-19043_TECARTUS_PIC_INS_AvisDef_CT19043_EPI727.pdf. Accessed 12 Jul 2022
24. HAS. Commission de la transparence AVis 23 juin 2022 Kymriah Lymphome folliculaire. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-06/kymriah_decision_et_avis_ct.pdf. Accessed 14 Jul 2022
25. Haslauer T, Greil R, Zaborsky N, Geisberger R (2021) CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. *Int J Mol Sci* 22:8996. <https://doi.org/10.3390/ijms22168996>
26. Gupta S, Seethapathy H, Strohbehn IA, Frigault MJ, O'Donnell EK, Jacobson CA, Motwani SS, Parikh SM, Curhan GC, Reynolds KL, Leaf DE, Sise ME (2020) Acute Kidney Injury and Electrolyte Abnormalities After Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR-T) Therapy for Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found* 76:63–71. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.10.011>
27. Alvi RM, Frigault MJ, Fradley MG, Jain MD, Mahmood SS, Awadalla M, Lee DH, Zlotoff DA, Zhang L, Drobni ZD, Hassan MZO, Bassily E, Rhea I, Ismail-Khan R, Mulligan CP, Banerji D, Lazaryan A, Shah BD, Rokicki A, Raje N, Chavez JC, Abramson J, Locke FL, Neilan TG (2019) Cardiovascular Events Among Adults Treated With Chimeric Antigen Receptor T-Cells (CAR-T). *J Am Coll Cardiol* 74:3099–3108. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.10.038>
28. Hay KA, Hanafi L-A, Li D, Gust J, Liles WC, Wurfel MM, López JA, Chen J, Chung D, Harju-Baker S, Cherian S, Chen X, Riddell SR, Maloney DG, Turtle CJ (2017) Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy. *Blood* 130:2295–2306. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-793141>
29. Dw L, Jn K, M S-S, Yk C, C D, Sa F, Tj F, R O, M S, Nn S, Sm S, D S, N T, C Y, H Z, L Z, Sa R, As W, Cl M (2015) T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Lond Engl* 385:. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61403-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61403-3)

30. Zhang X, Lu X-A, Yang J, Zhang G, Li J, Song L, Su Y, Shi Y, Zhang M, He J, Song D, Lv F, Li W, Wu Y, Wang H, Liu H, Zhou X, He T, Lu P (2020) Efficacy and safety of anti-CD19 CAR T-cell therapy in 110 patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia with high-risk features. *Blood Adv* 4:2325–2338. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001466>
31. Teachey DT, Lacey SF, Shaw PA, Melenhorst JJ, Maude SL, Frey N, Pequignot E, Gonzalez VE, Chen F, Finklestein J, Barrett DM, Weiss SL, Fitzgerald JC, Berg RA, Aplenc R, Callahan C, Rheingold SR, Zheng Z, Rose-John S, White JC, Nazimuddin F, Wertheim G, Levine BL, June CH, Porter DL, Grupp SA (2016) Identification of Predictive Biomarkers for Cytokine Release Syndrome after Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Discov* 6:664–679. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0040>
32. Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, Wierda W, Gutierrez C, Locke FL, Komanduri KV, Lin Y, Jain N, Daver N, Westin J, Gulbis AM, Loghin ME, de Groot JF, Adkins S, Davis SE, Rezvani K, Hwu P, Shpall EJ (2018) Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol* 15:47–62. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.148>
33. Sharma N, Reagan PM, Liesveld JL (2022) Cytopenia after CAR-T Cell Therapy-A Brief Review of a Complex Problem. *Cancers* 14:1501. <https://doi.org/10.3390/cancers14061501>
34. Mullanfiroze K, Lazareva A, Chu J, Williams L, Burridge S, M Furtado Silva J, Chiesa R, Rao K, Lucchini G, Ghorashian S, O'Reilly M, Carpenter B, Grandage V, Hough RE, Roddie C, Amrolia PJ (2022) CD34⁺-selected stem cell boost can safely improve cytopenias following CAR-T therapy. *Blood Adv* bloodadvances.2022007572. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022007572>
35. Orlando EJ, Han X, Tribouley C, Wood PA, Leary RJ, Riester M, Levine JE, Qayed M, Grupp SA, Boyer M, De Moerloose B, Nemecek ER, Bittencourt H, Hiramatsu H, Buechner J, Davies SM, Verneris MR, Nguyen K, Brogdon JL, Bitter H, Morrissey M, Pierog P, Pantano S, Engelman JA, Winckler W (2018) Genetic mechanisms of target antigen loss in CAR19 therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 24:1504–1506. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0146-z>

36. Singh N, Perazzelli J, Grupp SA, Barrett DM (2016) Early memory phenotypes drive T cell proliferation in patients with pediatric malignancies. *Sci Transl Med* 8:320ra3. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad5222>
37. Fraietta JA, Lacey SF, Orlando EJ, Pruteanu-Malinici I, Gohil M, Lundh S, Boesteanu AC, Wang Y, O'Connor RS, Hwang W-T, Pequignot E, Ambrose DE, Zhang C, Wilcox N, Bedoya F, Dorfmeier C, Chen F, Tian L, Parakandi H, Gupta M, Young RM, Johnson FB, Kulikovskaya I, Liu L, Xu J, Kassim SH, Davis MM, Levine BL, Frey NV, Siegel DL, Huang AC, Wherry EJ, Bitter H, Brogdon JL, Porter DL, June CH, Melenhorst JJ (2018) Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med* 24:563–571. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0010-1>
38. Locke FL, Rossi JM, Neelapu SS, Jacobson CA, Miklos DB, Ghobadi A, Oluwole OO, Reagan PM, Lekakis LJ, Lin Y, Sherman M, Better M, Go WY, Wiecek JS, Xue A, Bot A (2020) Tumor burden, inflammation, and product attributes determine outcomes of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 4:4898–4911. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002394>
39. McLellan AD, Ali Hosseini Rad SM (2019) Chimeric antigen receptor T cell persistence and memory cell formation. *Immunol Cell Biol* 97:664–674. <https://doi.org/10.1111/imcb.12254>
40. Mueller KT, Maude SL, Porter DL, Frey N, Wood P, Han X, Waldron E, Chakraborty A, Awasthi R, Levine BL, Melenhorst JJ, Grupp SA, June CH, Lacey SF (2017) Cellular kinetics of CTL019 in relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 130:2317–2325. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-786129>
41. Mueller KT, Waldron E, Grupp SA, Levine JE, Laetsch TW, Pulsipher MA, Boyer MW, August KJ, Hamilton J, Awasthi R, Stein AM, Sickert D, Chakraborty A, Levine BL, June CH, Tomassian L, Shah SS, Leung M, Taran T, Wood PA, Maude SL (2018) Clinical Pharmacology of Tisagenlecleucel in B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 24:6175–6184. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-0758>

42. Shah NN, Lee DW, Yates B, Yuan CM, Shalabi H, Martin S, Wolters PL, Steinberg SM, Baker EH, Delbrook CP, Stetler-Stevenson M, Fry TJ, Stronck DF, Mackall CL (2021) Long-Term Follow-Up of CD19-CAR T-Cell Therapy in Children and Young Adults With B-ALL. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 39:1650–1659. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02262>
43. Rubio MT, Varlet P, Allain V, Ballot C, Cuffel A, Deschamps M, Ferrand C, Foguene J, Forcade E, Huynh A, Guihot A, Latouche J-B, Lemarie C, Martinroche G, Morin F, Nguyen S, Schmit K, Servais S, Simonetta F, Yakoub-Agha I, Caillat Zucman S (2021) Suivi immunologique des patients traités par cellules CAR-T pour hémopathie maligne: recommandations du groupe CARTi et de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bull Cancer (Paris)* 108:S53–S64. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2021.04.008>
44. Paczesny S, Pasquini MC, Pavletic SZ, Agarwal A, Spellman S, Kean L, Bernatchez C, Gust J, Staedtke V, Perales M-A (2021) Blueprint for the discovery of biomarkers of toxicity and efficacy for CAR T cells and T-cell engagers. *Blood Adv* 5:2519–2522. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021004604>
45. Hu Y, Huang J (2020) The Chimeric Antigen Receptor Detection Toolkit. *Front Immunol* 11:1770. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01770>
46. Klebanoff CA, Gattinoni L, Torabi-Parizi P, Kerstann K, Cardones AR, Finkelstein SE, Palmer DC, Antony PA, Hwang ST, Rosenberg SA, Waldmann TA, Restifo NP (2005) Central memory self/tumor-reactive CD8+ T cells confer superior antitumor immunity compared with effector memory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9571–9576. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503726102>
47. Alvarez-Fernández C, Escribà-Garcia L, Caballero AC, Escudero-López E, Ujaldón-Miró C, Montserrat-Torres R, Pujol-Fernández P, Sierra J, Briones J (2021) Memory stem T cells modified with a redesigned CD30-chimeric antigen receptor show an enhanced antitumor effect in Hodgkin lymphoma. *Clin Transl Immunol* 10:e1268. <https://doi.org/10.1002/cti2.1268>
48. Biasco L, Izotova N, Rivat C, Ghorashian S, Richardson R, Guvenel A, Hough R, Wynn R, Popova B, Lopes A, Pule M, Thrasher AJ, Amrolia PJ (2021) Clonal expansion of T

- memory stem cells determines early anti-leukemic responses and long-term CAR T cell persistence in patients. *Nat Cancer* 2:629–642. <https://doi.org/10.1038/s43018-021-00207-7>
49. Alvarez-Fernández C, Escribà-Garcia L, Vidal S, Sierra J, Briones J (2016) A short CD3/CD28 costimulation combined with IL-21 enhance the generation of human memory stem T cells for adoptive immunotherapy. *J Transl Med* 14:214. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0973-y>
 50. Cieri N, Camisa B, Cocchiarella F, Forcato M, Oliveira G, Provasi E, Bondanza A, Bordignon C, Peccatori J, Ciceri F, Lupo-Stanghellini MT, Mavilio F, Mondino A, Biciato S, Recchia A, Bonini C (2013) IL-7 and IL-15 instruct the generation of human memory stem T cells from naive precursors. *Blood* 121:573–584. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-431718>
 51. Hinrichs CS, Spolski R, Paulos CM, Gattinoni L, Kerstann KW, Palmer DC, Klebanoff CA, Rosenberg SA, Leonard WJ, Restifo NP (2008) IL-2 and IL-21 confer opposing differentiation programs to CD8+ T cells for adoptive immunotherapy. *Blood* 111:5326–5333. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-113050>
 52. Peinelt A, Bremm M, Kreyenberg H, Cappel C, Banisharif-Dehkordi J, Erben S, Rettinger E, Jarisch A, Meisel R, Schlegel P-G, Beck O, Bug G, Klusmann J-H, Klingebiel T, Huenecke S, Bader P (2022) Monitoring of Circulating CAR T Cells: Validation of a Flow Cytometric Assay, Cellular Kinetics, and Phenotype Analysis Following Tisagenlecleucel. *Front Immunol* 13:830773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.830773>
 53. Milone MC, Fish JD, Carpenito C, Carroll RG, Binder GK, Teachey D, Samanta M, Lakhali M, Gloss B, Danet-Desnoyers G, Campana D, Riley JL, Grupp SA, June CH (2009) Chimeric Receptors Containing CD137 Signal Transduction Domains Mediate Enhanced Survival of T Cells and Increased Antileukemic Efficacy In Vivo. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther* 17:1453–1464. <https://doi.org/10.1038/mt.2009.83>
 54. Carpenito C, Milone MC, Hassan R, Simonet JC, Lakhali M, Suhoski MM, Varela-Rohena A, Haines KM, Heitjan DF, Albelda SM, Carroll RG, Riley JL, Pastan I, June CH (2009) Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells

- containing CD28 and CD137 domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:3360–3365.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0813101106>
55. Chow VA, Gopal AK, Maloney DG, Turtle CJ, Smith SD, Ujjani CS, Shadman M, Cassaday RD, Till BG, Tseng YD, Warren EH, Shustov AR, Menon MP, Bhark S, Acharya UH, Mullane E, Hannan LM, Voutsinas JM, Gooley TA, Lynch RC (2019) Outcomes of patients with large B-cell lymphomas and progressive disease following CD19-specific CAR T-cell therapy. *Am J Hematol* 94:E209–E213.
<https://doi.org/10.1002/ajh.25505>
 56. Kuhn A, Roddie C, Kirkwood AA, Menne T, Cuadrado M, Marzolini MAV, Osborne W, Sanderson R, O'Reilly M, Townsend W, Benjamin R, Potter V, Patten PEM, Yallop D, Voo S, Petrides GS, Mulholland N, Kayani I (2022) Early FDG-PET response predicts CAR-T failure in large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 6:321–326.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005807>
 57. Cohen D, Luttwak E, Beyar-Katz O, Hazut Krauthammer S, Bar-On Y, Amit O, Gold R, Perry C, Avivi I, Ram R, Even-Sapir E (2022) [18F]FDG PET-CT in patients with DLBCL treated with CAR-T cell therapy: a practical approach of reporting pre- and post-treatment studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 49:953–962.
<https://doi.org/10.1007/s00259-021-05551-5>
 58. Caballero AC, Escribà-Garcia L, Alvarez-Fernández C, Briones J (2022) CAR T-Cell Therapy Predictive Response Markers in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Therapeutic Options After CART19 Failure. *Front Immunol* 13:904497.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.904497>
 59. Kahl BS, Hamadani M, Radford J, Carlo-Stella C, Caimi P, Reid E, Feingold JM, Ardesna KM, Solh M, Heffner LT, Ungar D, He S, Boni J, Havenith K, O'Connor OA (2019) A Phase I Study of ADCT-402 (Loncastuximab Tesirine), a Novel Pyrrolobenzodiazepine-Based Antibody-Drug Conjugate, in Relapsed/Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 25:6986–6994.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0711>
 60. Caimi PF, Ai W, Alderuccio JP, Ardesna KM, Hamadani M, Hess B, Kahl BS, Radford J, Solh M, Stathis A, Zinzani PL, Havenith K, Feingold J, He S, Qin Y, Ungar D, Zhang

- X, Carlo-Stella C (2021) Loncastuximab tesirine in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (LOTIS-2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 22:790–800. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00139-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00139-X)
61. Caimi PF, Ardeshtna KM, Reid E, Ai W, Lunning M, Zain J, Solh M, Kahl BS, Hamadani M (2022) The AntiCD19 Antibody Drug Immunoconjugate Loncastuximab Achieves Responses in DLBCL Relapsing After AntiCD19 CAR-T Cell Therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 22:e335–e339. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2021.11.005>
 62. Chong EA, Alanio C, Svoboda J, Nasta SD, Landsburg DJ, Lacey SF, Ruella M, Bhattacharyya S, Wherry EJ, Schuster SJ (2022) Pembrolizumab for B-cell lymphomas relapsing after or refractory to CD19-directed CAR T-cell therapy. *Blood* 139:1026–1038. <https://doi.org/10.1182/blood.2021012634>
 63. Chong EA, Melenhorst JJ, Lacey SF, Ambrose DE, Gonzalez V, Levine BL, June CH, Schuster SJ (2017) PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)–modified T cells: refueling the CAR. *Blood* 129:1039–1041. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-09-738245>
 64. Fried S, Danylesko I, Yerushalmi R, Shem-Tov N, Shouval R, Fein JA, Cohen Z, Jacoby E, Besser M, Nagler A, Shimoni A, Avigdor A (2021) Encouraging Survival and High Rates of Toxicity: Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation after Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy in Aggressive Lymphoma Patients. *Blood* 138:910. <https://doi.org/10.1182/blood-2021-147148>
 65. Satoh Y, Onishi H, Nambu A, Araki T (2014) Volume-based parameters measured by using FDG PET/CT in patients with stage I NSCLC treated with stereotactic body radiation therapy: prognostic value. *Radiology* 270:275–281. <https://doi.org/10.1148/radiol.13130652>
 66. Zhou M, Chen Y, Huang H, Zhou X, Liu J, Huang G (2016) Prognostic value of total lesion glycolysis of baseline 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget* 7:83544–83553. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13180>
 67. Vercellino L, Cottreau A-S, Casasnovas O, Tilly H, Feugier P, Chartier L, Fruchart C, Roulin L, Oberic L, Pica GM, Ribrag V, Abraham J, Simon M, Gonzalez H, Bouabdallah

- R, Fitoussi O, Sebban C, López-Guillermo A, Sanhes L, Morschhauser F, Trotman J, Corront B, Choufi B, Snauwaert S, Godmer P, Briere J, Salles G, Gaulard P, Meignan M, Thieblemont C (2020) High total metabolic tumor volume at baseline predicts survival independent of response to therapy. *Blood* 135:1396–1405. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003526>
68. Cottereau A-S, Lanic H, Mareschal S, Meignan M, Vera P, Tilly H, Jardin F, Becker S (2016) Molecular Profile and FDG-PET/CT Total Metabolic Tumor Volume Improve Risk Classification at Diagnosis for Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 22:3801–3809. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2825>
69. Vercellino L, Di Blasi R, Kanoun S, Tessoulin B, Rossi C, D’Aveni-Piney M, Obéric L, Bodet-Milin C, Bories P, Olivier P, Lafon I, Berriolo-Riedinger A, Galli E, Bernard S, Rubio M-T, Bossard C, Meignin V, Merlet P, Feugier P, Le Gouill S, Ysebaert L, Casasnovas O, Meignan M, Chevret S, Thieblemont C (2020) Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 4:5607–5615. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003001>
70. Barrington SF, Meignan M (2019) Time to Prepare for Risk Adaptation in Lymphoma by Standardizing Measurement of Metabolic Tumor Burden. *J Nucl Med* 60:1096–1102. <https://doi.org/10.2967/jnumed.119.227249>
71. Dean EA, Mhaskar RS, Lu H, Mousa MS, Krivenko GS, Lazaryan A, Bachmeier CA, Chavez JC, Nishihori T, Davila ML, Khimani F, Liu HD, Pinilla-Ibarz J, Shah BD, Jain MD, Balagurunathan Y, Locke FL (2020) High metabolic tumor volume is associated with decreased efficacy of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 4:3268–3276. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001900>
72. Nastoupil LJ, Jain MD, Feng L, Spiegel JY, Ghobadi A, Lin Y, Dahiya S, Lunning M, Lekakis L, Reagan P, Oluwole O, McGuirk J, Deol A, Sehgal AR, Goy A, Hill BT, Vu K, Andreadis C, Munoz J, Westin J, Chavez JC, Cashen A, Bennani NN, Rapoport AP, Vose JM, Miklos DB, Neelapu SS, Locke FL (2020) Standard-of-Care Axicabtagene Ciloleucel for Relapsed or Refractory Large B-Cell Lymphoma: Results From the US Lymphoma CAR T Consortium. *J Clin Oncol* 38:3119–3128. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02104>

73. Jacobson CA, Hunter B, Armand P, Kamihara Y, Ritz J, Rodig SJ, Wright K, Lipschitz M, Redd RA, Maus MV, Chen Y-B, Abramson JS, Kline J, Cohen JB, Maakaron J, Jaglowski S, Smith SD, Maloney DG, Gopal AK, Frigault MJ, Acharya UH (2018) Axicabtagene Ciloleucel in the Real World: Outcomes and Predictors of Response, Resistance and Toxicity. *Blood* 132:92. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117199>
74. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, Waller EK, Borchmann P, McGuirk JP, Jäger U, Jaglowski S, Andreadis C, Westin JR, Fleury I, Bachanova V, Foley SR, Ho PJ, Mielke S, Magenau JM, Holte H, Pantano S, Pacaud LB, Awasthi R, Chu J, Anak Ö, Salles G, Maziarz RT, JULIET Investigators (2019) Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 380:45–56. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804980>
75. Das RK, Vernau L, Grupp SA, Barrett DM (2019) Naïve T-cell Deficits at Diagnosis and after Chemotherapy Impair Cell Therapy Potential in Pediatric Cancers. *Cancer Discov* 9:492–499. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1314>
76. Finney OC, Brakke HM, Rawlings-Rhea S, Hicks R, Doolittle D, Lopez M, Futrell RB, Orentas RJ, Li D, Gardner RA, Jensen MC (2019) CD19 CAR T cell product and disease attributes predict leukemia remission durability. *J Clin Invest* 129:2123–2132. <https://doi.org/10.1172/JCI125423>
77. Deng Q, Han G, Puebla-Osorio N, Ma MCJ, Strati P, Chasen B, Dai E, Dang M, Jain N, Yang H, Wang Y, Zhang S, Wang R, Chen R, Showell J, Ghosh S, Patchva S, Zhang Q, Sun R, Hagemester F, Fayad L, Samaniego F, Lee HC, Nastoupil LJ, Fowler N, Davis RE, Westin J, Neelapu SS, Wang L, Green MR (2020) Characteristics of anti-CD19 CAR T-cell infusion products associated with efficacy and toxicity in patients with large B-cell lymphomas. *Nat Med* 26:1878–1887. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1061-7>

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ 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, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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