



HAL
open science

Thérapies cellulaires : de l'avancée scientifique aux nouvelles perspectives de traitement du cancer du sein

Alexandra Blondeau

► **To cite this version:**

Alexandra Blondeau. Thérapies cellulaires : de l'avancée scientifique aux nouvelles perspectives de traitement du cancer du sein. Sciences pharmaceutiques. 2024. dumas-04730085

HAL Id: dumas-04730085

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04730085v1>

Submitted on 10 Oct 2024

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.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2024

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 12 avril 2024

Par

Alexandra BLONDEAU

**THÉRAPIES CELLULAIRES : DE L'AVANCÉE SCIENTIFIQUE AUX
NOUVELLES PERSPECTIVES DE TRAITEMENT DU CANCER DU SEIN**

Directeur de thèse : **Mme Caroline Decombat**

Jury

Président :	M. Ghislain Garrait	Professeur des Universités, UFR de Pharmacie de Clermont-Ferrand
Membres :	Mme Caroline Decombat	Docteur en Pharmacie, Maître de conférences des Universités, UFR de Pharmacie de Clermont-Ferrand
	Mme Florence Caldefie-Chezet	Docteur en Pharmacie, Professeure des Universités, UFR de Pharmacie de Clermont-Ferrand
	M. Hugo Veysièrè	Docteur en Biologie, International Clinical Trial Association

REMERCIEMENTS

À ma directrice de thèse,

Madame Caroline Decombat, Maître de Conférences à la faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Pour votre disponibilité et votre bienveillance tout au long de ce travail mais aussi durant mon stage de troisième année et pendant tout mon parcours universitaire. Pour votre sympathie à mon égard depuis toutes ces années. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance ainsi que de mon profond respect.

À mon président de thèse et mes jurés,

Monsieur Ghislain Garrait, Professeur à la faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand,

Pour m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse. Pour votre aide et votre encadrement durant mes dernières années d'étude. Je vous adresse mes remerciements les plus sincères.

Madame Florence Caldefie-Chezet, Professeure à la faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand,

Pour avoir aimablement accepté d'être membre de mon jury de thèse. Pour le partage de vos connaissances durant mes études et pour m'avoir accueillie comme stagiaire dans votre laboratoire il y a quelques années. Mes sincères remerciements.

Monsieur Hugo Veysière, Docteur en Biologie,

Pour avoir accepté d'endosser ce rôle de juré. Pour tes conseils et ta gentillesse, dans la rédaction de cette thèse mais aussi dans le cadre professionnel. Un grand merci pour tous tes commentaires, même les moins pertinents...

À mes parents,

À mon père,

Pour ton soutien indéfectible et ta fierté à mon égard, dans la réussite comme dans l'échec. En souvenir de notre journée de visite d'appartements en cet été 2016.

À ma mère,

Pour ta présence et tes encouragements depuis toujours.

Que vous trouviez dans ce travail le témoignage de toute ma gratitude.

À ma grande sœur Olivia,

Pour être plus qu'une grande sœur, merci pour ta présence et merci d'avoir veillé sur moi depuis toujours. Merci d'avoir séché mes larmes mais, surtout, merci pour mes plus beaux fous-rires. Que tu puisses être fière de moi en ce jour.

À mon beau-frère François,

Merci pour ton humour et ta sérénité, merci pour tous ces trajets en voiture sans lesquels mon parcours universitaire aurait été insipide.

À mes neveux Jean et Louisa,

Si petits et pourtant si grands, merci pour vos sourires et vos câlins. Puissiez-vous garder votre âme d'enfant et aimer l'école autant que votre tata (préférée).

À Thomas,

Pour ton soutien et tes connaissances précieuses lors de mes longues séances de rédaction. Tu seras peut-être un vrai Docteur, mais moi, je resterai pour toujours la première.

Avec tout mon amour.

À mes amies de longue date,

À Aurore,

Pour avoir compris mieux que quiconque les difficultés et les obstacles des études de santé, merci pour la PACES, à distance mais ensemble.

À Sandra,

Pour avoir cru en moi plus que moi-même et pour m'avoir appris à lâcher prise, il est toujours bon d'avoir une psy dans son entourage.

Merci pour toutes ces années et pour les prochaines, merci d'être là mais surtout merci d'être vous.

À mes deux grands-mères,

Mamie Michèle et Mémé Jacqueline,

Pour votre courage et votre résilience face à cette maladie.

Cette thèse, je vous la dédie.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	4
LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES.....	9
LISTE DES ABRÉVIATIONS	10
PRÉAMBULE	13
PARTIE 1 : LES THÉRAPIES CELLULAIRES.....	14
1. Histoire et définition.....	14
2. Les biothérapies : généralités	15
2.1. Qu'est-ce que la thérapie cellulaire ?.....	15
2.2. Principe	16
2.2.1. Les cellules souches	16
2.2.1.1. Les cellules souches adultes	18
2.2.1.2. Les cellules souches embryonnaires humaines hESC	20
2.2.1.3. Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC)	22
2.2.2. L'immunothérapie	23
2.2.2.1. Lymphocytes T infiltrants	24
2.2.2.2. La technologie CAR.....	24
3. Marché des thérapies cellulaires : taille et croissance	32
4. Traitements actuels et essais cliniques	34
4.1. Cellules mésenchymateuses	34
4.2. Cellules souches embryonnaires	35
4.3. Cellules iPS.....	35
4.4. Cellules CAR.....	36
5. Des défis à relever	38
5.1. Immunogénicité.....	38
5.2. Industrialisation et coût	39
5.3. Aspect réglementaire.....	40
5.3.1. Législation.....	40
5.3.2. Bioéthique	41
PARTIE 2 : LE CANCER DU SEIN	43
1. Physiopathologie	43
1.1. Anatomie générale et physiologie du sein.....	43
1.1.1. Anatomie	43
1.1.2. Développement hormonal	44
2. Le cancer	45

2.1.	Processus de cancérogénèse.....	45
2.2.	Anatomopathologie.....	47
2.3.	Épidémiologie.....	49
2.4.	Diagnostic.....	50
2.4.1.	Dépistage organisé.....	50
2.4.2.	Clinique.....	51
2.4.3.	Imagerie.....	52
2.4.3.1.	Mammographie.....	52
2.4.3.2.	Echographie mammaire.....	53
2.4.3.3.	Imagerie par Résonance Magnétique mammaire.....	54
2.4.4.	Cas particuliers.....	54
2.5.	Scores pronostiques et classifications moléculaires.....	55
2.6.	Facteurs de risque.....	57
3.	Démarche thérapeutique actuelle.....	58
3.1.	Thérapie non médicamenteuse.....	60
3.1.1.	Traitement chirurgical.....	60
3.1.1.1.	Traitement chirurgical conservateur.....	60
3.1.1.2.	Traitement chirurgical radical ou mastectomie.....	61
3.1.1.3.	Curage ganglionnaire axillaire – technique du ganglion sentinelle.....	61
3.1.2.	Radiothérapie.....	62
3.2.	Thérapie médicamenteuse.....	63
3.2.1.	Chimiothérapie.....	63
3.2.1.1.	Chimiothérapie néoadjuvante.....	64
3.2.1.2.	Chimiothérapie adjuvante.....	64
3.2.2.	Traitements adjuvants anti-hormonaux ou hormonothérapie.....	65
3.2.2.1.	Femmes non ménopausées.....	65
3.2.2.2.	Femmes ménopausées.....	66
3.2.3.	Immunothérapie.....	66
3.2.4.	Thérapies ciblées.....	67
PARTIE 3 : L'AVENIR DES THÉRAPIES CELLULAIRES DANS LE CANCER DU SEIN.....		69
1.	Des applications en pleine croissance.....	69
1.1.	Les cellules CAR-T.....	69
1.1.1.	Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK).....	69
1.1.1.1.	Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER2).....	70
1.1.1.2.	Epidermal Growth factor Receptor (EGF-R).....	71
1.1.1.3.	Hepatocyte Growth Factor Receptor (HGFR).....	71
1.1.1.4.	Récepteur orphelin 1 de type tyrosine kinase (ROR1).....	71
1.1.2.	Protéines de surface cellulaire.....	72
1.1.2.1.	Mucine 1 (MUC1).....	72
1.1.2.2.	Mésothéline (MSLN).....	73
1.1.2.3.	CD70 et CD44v6.....	73
1.1.2.4.	Molécule d'adhésion des cellules épithéliales (EpCAM).....	73
1.1.2.5.	Chondroïtine sulfate protéoglycane 4 (CSPG4).....	73
1.1.2.6.	Molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM1).....	74
1.1.2.7.	Disialoganglioside (GD2).....	74

1.2.	Les cellules souches mésenchymateuses	75
1.2.1.	Des cellules souches mésenchymateuses génétiquement modifiées.....	76
1.2.2.	Les effets paracrines des CSM	77
1.2.3.	Cellules souches mésenchymateuses adipeuses.....	77
1.3.	Les cellules NK	77
1.4.	La thérapie TIL	78
1.5.	Les cellules dendritiques	78
1.6.	La piste des vésicules extracellulaires	79
2.	Des défis à relever pour l'avenir	80
2.1.	Soutien à la recherche et au développement	80
2.2.	Adaptation des établissements de santé.....	82
CONCLUSION		85
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		87

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau I : Principales caractéristiques des vecteurs viraux utilisés pour la transduction	26
Tableau II : Thérapies à cellules CAR-T ayant reçu une approbation de la FDA associées à leurs types de cancer en 2022	37
Tableau III : Classification selon le système BI-RADS de l’American College of Radiology	53
Figure 1 : Schéma de la différenciation des cellules souches	17
Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse	20
Figure 3 : Les premières étapes de l'embryogenèse	21
Figure 4 : Production et utilisation des cellules iPS	22
Figure 5 : Principe de la transduction appliquée aux cellules CAR-T	27
Figure 6 : Représentation schématique d'un Chimeric Antigen Receptor	28
Figure 7 : Schéma de la production des cellules CAR-T et CAR-NK	29
Figure 8 : Implantation des entreprises de biotechnologies dans le monde en 2021	33
Figure 9 : Graphique représentant le nombre d'essais cliniques de thérapies cellulaires en fonction des phases en 2020	33
Figure 10 : Schéma anatomique du sein en coupe sagittale	43
Figure 11 : Les différentes étapes de la cancérogénèse	45
Figure 12 : Hallmarks of cancer selon Hanahan et Weinberg	46
Figure 13 : Taux d'incidence standardisés en fonction de l'âge des cancers dans le monde en 2020, en pourcentage	50
Figure 14 : Parcours diagnostique du cancer du sein	51
Figure 15 : Les sous-types moléculaires majeurs du cancer du sein	56
Figure 16 : Arbre décisionnel pour la prise en charge du cancer du sein primitif traduit de l’European Society for Medical Oncology (ESMO)	60
Figure 17 : Cascade des thérapies du cancer du sein	67
Figure 18 : Croissance tumorale chez la souris traitée par HER2-CAR-T suivie par bioluminescence	70
Figure 19 : Coloration par immunofluorescence de cellules tumorales sur modèles 3D	72
Figure 20 : Croissance tumorale chez la souris traitée par ICAM1-CAR-T suivie par bioluminescence	74
Figure 21 : Croissance tumorale chez la souris traitée par CSM suivie par bioluminescence	77
Figure 22 : Analyse des différences morphologiques de macrophages au microscope optique	79
Figure 23 : Schéma du processus de fabrication d'un médicament de thérapie cellulaire	83

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAV : Virus Adéno-Associés

ACR : *American College of Radiology*

ADCC : Cytotoxicité à médiation Cellulaire Dépendante des Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé

ARNm : ARN messenger

ARNt : ARN de transfert

ATMP : *Advanced Therapy Medicinal Products*

BI-RADS : *Breast Imaging-Reporting And Data System*

BPC : Bonnes Pratiques Cliniques

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

BRCA1/2 : *BReast Cancer Associated gene 1 & 2*

CAR-T : *Chimeric Antigen Receptor lymphocytes T*

CAT : *Committee for Advanced Therapies*

CDK : *Cyclines Dependent Kinases*

CGA : Antigènes Germinaux du Cancer

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPP : Comité de Protection des Personnes

CSF1 : *Colony Stimulating Factor 1*

CSM : Cellule Souche Mésoenchymateuse

CSPG4 : Chondroïtine sulfate protéoglycane 4

CSTN : Cancer du Sein Triple Négatif

CTA : Chimiothérapie Adjuvante

CTNA : Chimiothérapie Néoadjuvante

DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Âge

EGF : *Epidermal Growth Factor*

EMA : *European Medicine Agency*

EpCAM : Molécule d'adhésion des cellules épithéliales

ER : Récepteurs aux Estrogènes

ES : Cellules souches embryonnaires

ESMO : *European Society for Medical Oncology*

FDA : *Food and Drug Administration*

FGF : *Fibroblast Growth Factor*

FISH : *Fluorescent In Situ Hybridation*

FSH : *Follicle Stimulating Hormone*

GD2 : Disialoganglioside

GFP : *Green Fluorescent Protein*

GnRH : *Gonadotropin-releasing hormone*

GvHD : *Graft versus Host Disease*

hESC : *human Embryonic Stem Cell*

HER2 : *Human Epidermal growth factor Receptor 2*

HGFR : *Hepatocyte Growth Factor Receptor*

HLA : *Human Leukocyte Antigen*

ICAM1 : Molécule d'adhésion intercellulaire-1

IHC : Immunohistochimie

iPSC : *Induced Pluripotent Stem Cells*

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique

LH : *Luteinizing Hormone*

MCI : Masse Cellulaire Interne

MSLN : Mésothéline

MTI : Médicaments de Thérapie Innovante

MTI-PP : Médicaments de Thérapie Innovante Préparés Ponctuellement

MUC1 : Mucine 1

NK : *Natural Killer*

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

PARP : Poly(ADP-ribose) Polymérase

PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*

PHRC : Programme hospitalier de recherche clinique

PHRIP : Programme hospitalier de recherche infirmière et paramédicale

PR : Récepteurs à la Progestérone

PREPS : Programme de recherche sur la performance du système de soins

PRME : Programme de recherche médico-économique

PRT : Programme de recherche translationnelle

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

RCP : Réunions de Concertation Pluridisciplinaire

ROR1 : Récepteur orphelin 1 de type tyrosine kinase

RTK : Récepteurs à activité Tyrosine Kinase

SBR : grade Scarff-Bloom et Richardson

SERM : *Selective Estrogen Receptor Modulator*

TAA : Antigènes Associés aux Tumeurs

TGF- β : *Transforming Growth Factor β*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

TRUCKS : *T-Cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing*

TSA : Antigènes Spécifiques de la Tumeur

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

VEGFR : *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*

PRÉAMBULE

Le cancer, du latin « *crabe* », est pour la première fois observé par le médecin grec Hippocrate qui, environ 400 ans avant J.-C., le compare à quelque chose d'animal, de rond, et qui s'étend. Un autre illustre médecin, Galien, le décrira de façon très précise environ 150 ans après J.-C., en mentionnant pour la première fois la nécessité de réaliser une opération pour en guérir (1).

Près de 2000 ans plus tard, en France, comme dans le monde, le cancer est encore d'actualité. Le cancer du sein demeure la tumeur maligne la plus fréquente et la principale cause de décès chez la femme. Depuis plusieurs années, la baisse notable de mortalité est la conséquence d'un dépistage de plus en plus précoce et d'une amélioration constante de la prise en charge des patientes. Néanmoins, son hétérogénéité rend le pronostic plus variable et imprévisible et ne facilite en rien sa prise en charge. Cette complexité des cancers du sein est un des principaux freins à l'optimisation des traitements. Un des espoirs grandissant pour la prise en charge de cette maladie repose sur le développement d'une médecine toujours plus personnalisée notamment par l'utilisation de thérapies innovantes comme les thérapies cellulaires. L'essor actuel de ces thérapies bouscule le champ des possibles et ouvre la voie à de nouveaux traitements pouvant répondre à des besoins médicaux encore non satisfaits.

La première partie de cette thèse dressera un état des lieux des thérapies cellulaires, leurs différentes catégories, leurs principes ainsi que leurs applications actuelles, tandis que la seconde partie explore la physiopathologie du cancer du sein et les démarches thérapeutiques existantes. Enfin, il sera mis en avant le développement des thérapies cellulaires comme nouvelle stratégie prometteuse dans la prise en charge de la maladie.

PARTIE 1 : LES THÉRAPIES CELLULAIRES

1. Histoire et définition

Parmi les Médicaments de Thérapie Innovante (MTI) de la médecine personnalisée, les thérapies cellulaires ont émergé depuis maintenant plusieurs années. Ces nouvelles thérapies consistent à greffer des cellules pour restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe. Ces cellules thérapeutiques sont obtenues à partir de **cellules souches** provenant du patient lui-même (autologues) ou d'un donneur (allogéniques), qui vont être modifiées avant d'être réinjectées (2).

On pourrait imaginer que la première notion de régénération cellulaire nous vient de la mythologie grecque avec l'histoire de Prométhée. Ce titan grec, en dérobant le feu aux dieux, aurait volé le savoir divin de l'Olympe et de son roi Zeus. Pour le punir, ce dernier condamna Prométhée à être attaché à un rocher et à se faire dévorer le foie par l'aigle du Caucase. Ainsi, tous les jours le rapace réduisait son foie en charpie mais, toutes les nuits, il repoussait, rendant son châtement éternel. Près de 4000 ans plus tard, on sait que lorsqu'on subit une opération d'hépatectomie partielle, l'ablation d'une partie du foie, il va se régénérer, non pas en une seule nuit mais plutôt plusieurs semaines, et ce grâce à l'activité des cellules souches (3).

L'histoire des thérapies cellulaires débute il y a plus d'un siècle. En 1914, au début de la Première Guerre Mondiale, on réalise les premières transfusions sanguines d'hématies, de leucocytes et de plaquettes. Avec elles émergent les notions de groupes sanguins, le scientifique Karl Landsteiner découvre les antigènes majeurs présents sur la membrane des érythrocytes à l'origine d'accidents d'incompatibilité. Cinquante ans plus tard, en 1968, on observe les premiers succès de greffe de moelle osseuse qui abrite les cellules souches donnant naissance aux cellules de tout type. Les allogreffes principalement, mais aussi des autogreffes, permettront de traiter certaines maladies de la moelle osseuse, génétiques ou acquises, telles que les leucémies. Là encore, de nouveaux groupes d'histocompatibilité HLA (*Human Leukocyte Antigen*) sont identifiés par le scientifique Jean Dausset. L'année 1969 marque l'apparition des greffes de peau, essentiellement des autogreffes d'épiderme chez les grands brûlés : des cellules souches de kératinocytes sont cultivées en laboratoire avant d'être greffées. Dans les années 1990 débutent les greffes de cellules du cartilage pour réparer des

lésions traumatiques dans les articulations. Les premières immunothérapies datent de 1998, elles utilisent des lymphocytes T et NK (*Natural Killer*) et permettront de combattre de nombreux cancers et autres infections virales. Plus récemment, en 2014, des **cellules souches pluripotentes induites** sont utilisées pour la première fois dans le cadre de greffe de cellules rétiniennes (4). Si, en cent ans, les progrès en matière de thérapies cellulaires sont évidents, leur avenir n'en est que plus prometteur. Il convient, en premier lieu, d'expliquer les tenants et les aboutissants d'une telle innovation.

2. Les biothérapies : généralités

2.1. Qu'est-ce que la thérapie cellulaire ?

La thérapie cellulaire est une branche de la médecine régénérative, la médecine visant à réparer, remplacer ou régénérer des gènes, cellules ou organes défectueux (5). Cette médecine régénérative est elle-même une branche des biothérapies, thérapies basées sur l'utilisation de médicaments dérivés de molécules biologiques naturelles. A l'origine, on utilise des cellules matures, c'est-à-dire déjà différenciées, que l'on injecte dans un organisme malade afin de pallier au dysfonctionnement. On peut citer, entre autres, l'injection de cellules pancréatiques matures et fonctionnelles issues de donneur dans le cadre du diabète de type I afin de produire l'insuline manquante. L'utilisation de cellules matures provenant de donneurs présente des inconvénients, tels que le rejet de greffe et le manque de cellules disponibles, qui pourraient être évités par l'utilisation de cellules dite immatures (6).

Dans le cadre du traitement de certaines maladies graves, la thérapie cellulaire consiste en l'injection, aussi appelée greffe, de cellules humaines modifiées, principalement des cellules souches pluripotentes ou embryonnaires dont les spécificités seront plus amplement abordées dans la partie suivante (2). Ce terme englobe également la thérapie génique *ex vivo* qui utilise des cellules génétiquement modifiées. Toute leur complexité réside dans cette « modification », par la mise au point d'un milieu de culture qui permettra d'orienter les cellules vers le type cellulaire désiré de manière stable et durable. Si une seule de ces cellules venait à ne pas être modifiée, ou différenciée, l'injecter dans un organisme serait synonyme de cancer potentiel (7).

2.2. Principe

Les premières étapes de tout traitement par thérapie cellulaire consistent au prélèvement des cellules, chez le patient ou un donneur, et leur purification. Une fois modifiées, elles sont amplifiées puis réimplantées au niveau du tissu ou du groupe cellulaire dysfonctionnel (8). La thérapie cellulaire est d'avantage "naturelle" en ce sens où elle utilise des cellules qui sont déjà présentes dans l'organisme humain et qui ont développé des mécanismes immuns. Elle potentialise leurs effets bénéfiques à des fins thérapeutiques. En les reprogrammant, ces cellules exercent de façon amplifiée le rôle pour lequel elles ont été conçues (9).

2.2.1. Les cellules souches

Comme vu précédemment, la thérapie cellulaire est synonyme de greffe de cellules différenciées et fonctionnelles qui ont été obtenues par la reprogrammation de plusieurs sortes de cellules souches. Ces cellules particulières présentes dans tous les tissus de l'organisme se définissent par leurs propriétés principales : **l'auto-renouvellement** et la **différenciation**. En d'autres termes, elles ont la capacité de produire à chaque division une cellule fille identique ainsi qu'une cellule fille engagée dans une voie de différenciation spécifique pour donner une cellule spécialisée, parmi tous les types cellulaires, on parle de division asymétrique. Les cellules souches peuvent être embryonnaires ou adultes, les premières sont contenues dans l'œuf fécondé et dans l'embryon et ont un potentiel formidable puisqu'elles sont à l'origine de toutes les cellules spécialisées. Les cellules souches adultes ne pourront, elles, donner que certains types de cellules (3).

Les rythmes de renouvellement sont différents d'un tissu à l'autre, le renouvellement est très rapide dans l'épithélium de l'intestin, dans la moelle osseuse et dans la peau. *A contrario*, il est plutôt lent dans l'épithélium du foie, du pancréas ou encore des poumons. En outre, les cellules souches neuronales se renouvellent très faiblement (4).

On divise ces cellules souches en quatre grandes catégories (Figure 1) (10) :

- Les cellules souches **totipotentes** donneront naissance à tous les types cellulaires des trois feuilletts embryonnaires (ectoderme, mésoderme, endoderme) ainsi que les cellules germinales et peuvent donc permettre le développement complet d'un individu ;

- Les cellules souches **pluripotentes** donneront naissance aux trois feuillets embryonnaires soit plus de 200 types cellulaires représentatifs de tous les tissus de l'organisme ;
- Les cellules souches **multipotentes** pourront constituer plusieurs lignées cellulaires (les cellules souches myéloïdes sont à l'origine des globules rouges, des plaquettes, des leucocytes, ...) ;
- Les cellules souches **unipotentes** ne seront à l'origine que d'une seule lignée cellulaire.

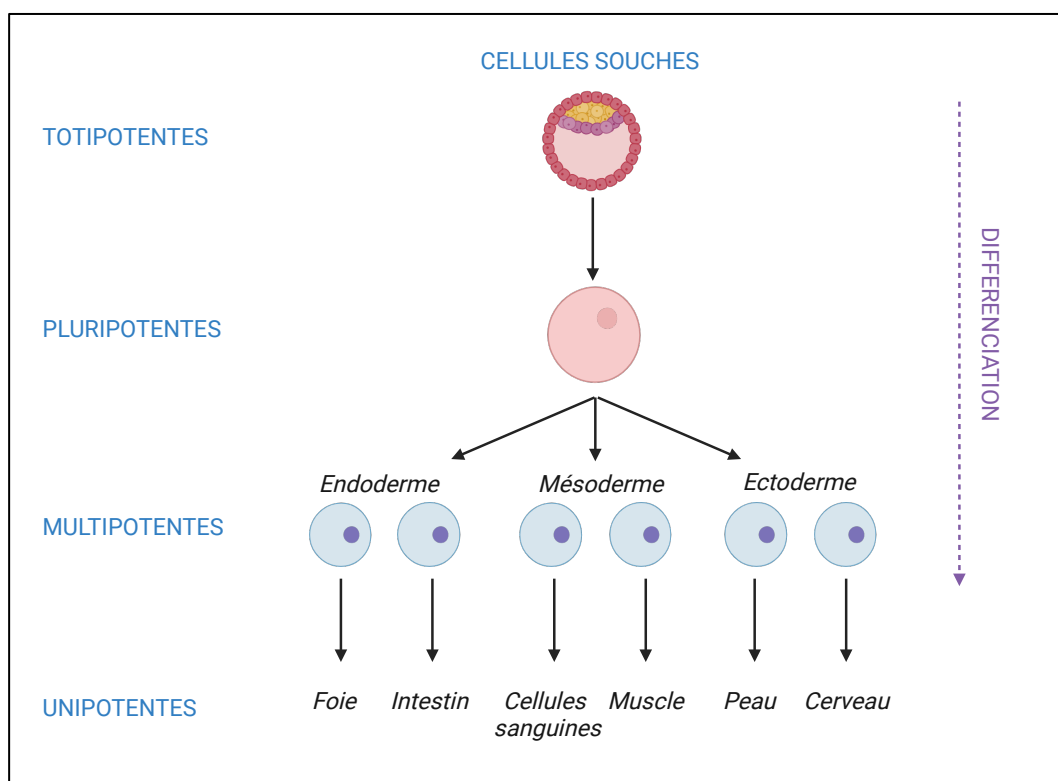


Figure 1 : Schéma de la différenciation des cellules souches

Ces cellules sont d'abord quiescentes, c'est-à-dire qu'elles ne se divisent pas, et se trouvent au sein d'une niche au métabolisme minimal. Lorsque le tissu nécessite d'être renouvelé, certaines d'entre elles entrent en division puis en différenciation et d'autres s'auto-renouvellent. Dans un souci de compréhension, il convient de définir le concept de plasticité cellulaire qui s'articule autour de la dédifférenciation et de la transdifférenciation.

La **dédifférenciation** correspond au retour de cellules différenciées matures, par exemple des cellules épithéliales intestinales altérées à la suite d'une infection virale, en cellules souches afin de redonner des cellules matures saines.

La **transdifférenciation** est la capacité d'une cellule à donner naissance à une autre lignée comme les hépatocytes du foie se transdifférenciant en cellules épithéliales biliaires. Ces deux processus sont particulièrement impliqués dans la régénération des tissus épithéliaux lésés par des traumatismes divers, comme c'est le cas des épithéliums respiratoires de la trachée, digestifs, hépatiques ou encore rénaux. La compréhension et la maîtrise des processus moléculaires impliqués dans ces différenciations sont susceptibles d'ouvrir de nouvelles voies de médecine régénérative. Une protéine particulière, la glycoprotéine Wnt, est un des acteurs clés de cette plasticité puisqu'elle est exprimée par les cellules matures en cas de lésions et sa fixation sur les cellules souches entraînerait les phénomènes de régénération, par division cellulaire asymétrique (7).

La grande famille des cellules souches se divise en de nombreux sous-types.

2.2.1.1. Les cellules souches adultes

Ces cellules sont présentes dans le corps humain tout au long de sa vie et permettent le renouvellement et la régénération des tissus. Le plus souvent uni ou multipotentes, elles assurent en permanence la restauration et la cicatrisation des tissus en remplaçant les cellules mortes. Chaque tissu possède ses propres cellules souches, on les trouve ainsi dans la moelle osseuse, le cœur, le rein, le cerveau ou encore les muscles.

Si en théorie, elles pourraient être de bons sujets pour la thérapie cellulaire, en pratique elles sont trop rares et difficiles à isoler. Par ailleurs, leurs capacités de régénération et la quantité de cellules souches adultes disponibles diminuent avec l'âge. Pour toutes ces raisons, seules les cellules mésenchymateuses et hématopoïétiques ont un réel intérêt thérapeutique (11).

➤ Les cellules souches mésenchymateuses

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont multipotentes et peuvent donc se différencier en un nombre limité de types cellulaires. Présentes dans tout l'organisme au sein du tissu adipeux (adipocytes), des cartilages (chondrocytes) ou encore des muscles

(myocytes), on les isole principalement à partir de la moelle osseuse et du sang de cordon ombilical. Elles sécrètent, en outre, des facteurs de croissance favorables aux cellules environnantes et des facteurs anti-inflammatoires qui entraînent une immunosuppression locale et favorisent la fonction de cellules régulatrices de l'immunité. Ces propriétés limitent l'inflammation locale et protègent contre le rejet de greffe (7).

Ces CSM ayant la possibilité de se différencier en chondrocytes, on les utilise notamment dans le traitement de l'arthrose du genou. Les cellules souches multipotentes d'origine cutanée sont utilisées depuis les années 1980 pour reconstituer les différentes couches de l'épiderme et greffer les grands brûlés. Les cellules souches de l'œil, provenant du limbe en périphérie de la cornée, réparent les lésions cornéennes (12).

► Les cellules souches hématopoïétiques

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) issues de la moelle osseuse sont à l'origine de toutes les cellules sanguines : érythrocytes, leucocytes, plaquettes ainsi que les progéniteurs lymphoïdes et myéloïdes (Figure 2). Depuis les années 1970, en cas de cancer hématologique ou de déficit immunitaire, elles permettent de reconstituer un stock de cellules sanguines saines chez le patient malade (10). La greffe de CSH peut aussi être utilisée pour la restauration de la moelle osseuse chez un patient ayant reçu une chimiothérapie anticancéreuse myéloablative, entraînant la destruction des progéniteurs hématopoïétiques.

Bien que l'on puisse les récolter à partir de la moelle osseuse ou encore du sang de cordon, la source principale de CSH reste le sang périphérique. La collecte est effectuée 4 à 6 jours après la prise par le donneur de facteurs de croissance recombinants (*Granulocyte Colony-Stimulating Factor*) stimulant la prolifération et la mobilisation des cellules souches (13). Très récemment, la HAS, dans la lignée de la *Food and Drug Administration* (FDA) et de l'agence de santé britannique, a accordé une autorisation d'accès précoce pour la thérapie cellulaire Casgevy® dans le traitement de la β -thalassémie et de la drépanocytose : des cellules souches hématopoïétiques du patient sont prélevées avant d'être modifiées génétiquement pour exprimer le gène de l'hémoglobine fœtale (14).

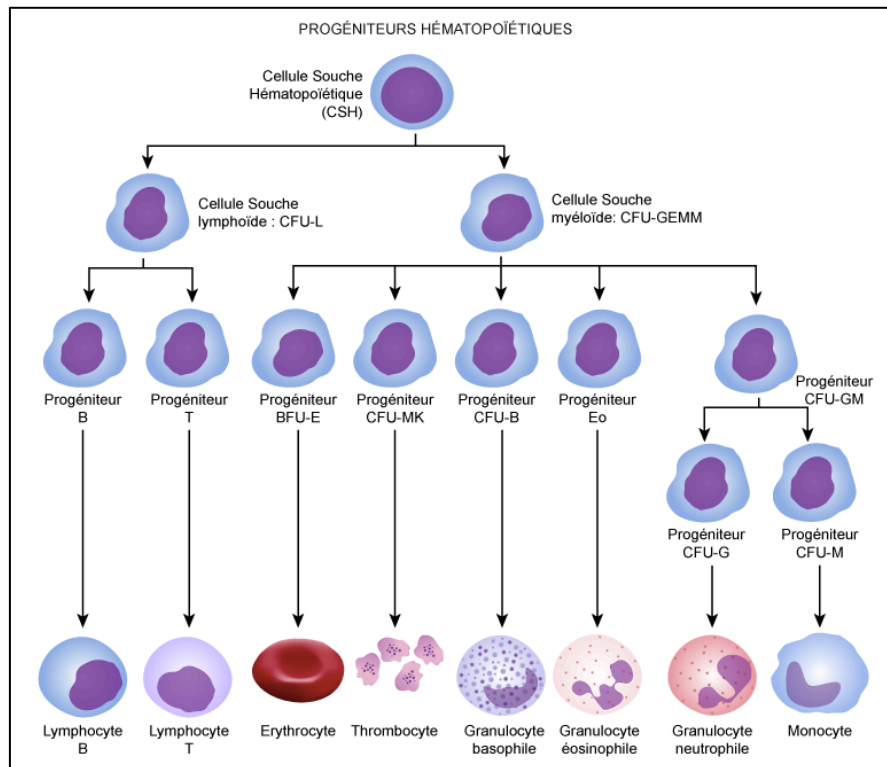


Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse (15)

2.2.1.2. Les cellules souches embryonnaires humaines hESC

En 1981, les scientifiques Evans et Martin montrent que dans la **masse cellulaire interne** (MCI) du blastocyste de souris se trouvent des cellules souches embryonnaires capables de donner naissance à toutes les cellules somatiques (16) et en 1998, James Thomson découvre des cellules souches embryonnaires humaines (17). Ces cellules sont prélevées sur des embryons au stade blastocyste, de 5 à 7 jours, en division, et capables de donner naissance, dans un environnement avec facteurs de différenciation, à tous les tissus somatiques (Figure 3) (10). Elles possèdent donc un véritable potentiel thérapeutique.

Néanmoins certaines limites persistent (7) :

- Il faut s'assurer du caractère différencié de toutes les cellules générées *in vitro* ;
- Les cellules souches embryonnaires (ES) sont tumorigéniques *in vivo* ;
- Elles peuvent induire une réponse immune ;
- Leur utilisation pose des problèmes éthiques puisqu'elles sont issues de la dissociation d'un embryon humain.

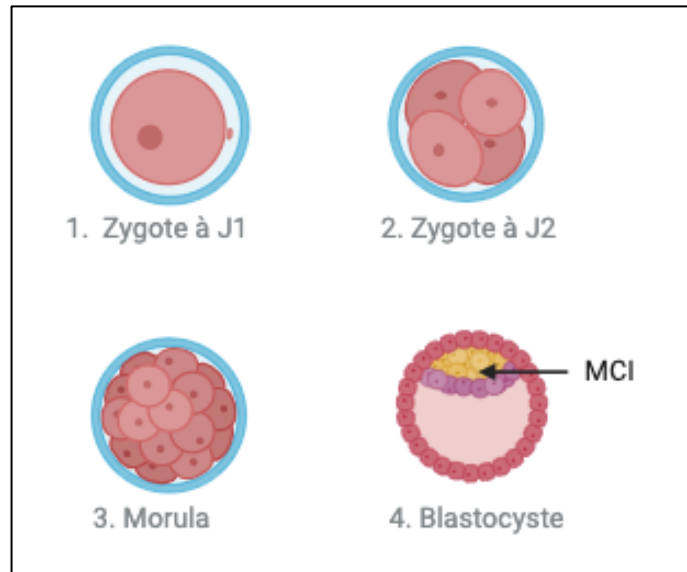


Figure 3 : Les premières étapes de l'embryogenèse

Il existe d'autres manières de produire des cellules souches embryonnaires. Au début des années 2000, la technique par transfert nucléaire a été mise au point : elle correspond au transfert du noyau d'une cellule mature dans le cytoplasme énucléé d'un ovocyte fécondé. Ainsi, cela permet d'éviter le problème de réponse immunitaire mais malheureusement pas le problème d'éthique dû aux dons d'ovocytes. En outre, l'efficacité demeure faible. En 2015, la première greffe de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires a été pratiquée à Paris dans le cadre d'un essai clinique pour le traitement de l'insuffisance cardiaque sévère : les cellules regroupées au sein d'un patch ont été déposées sur la zone de l'infarctus (18).

Bien que ces cellules embryonnaires présentent de nombreux avantages, les problématiques soulevées par les questions d'**éthique** rendent leur utilisation délicate et très réglementée. En France, l'embryon n'a pas de personnalité juridique et son utilisation dans le cadre de la recherche est autorisée, sous conditions, depuis 2013 : la loi française autorise des études sur l'embryon mais celles-ci doivent avoir une finalité médicale et ne peuvent porter atteinte à l'embryon (19). Ces problématiques peuvent être évitées par la formation de cellules ayant les mêmes propriétés que ces cellules souches embryonnaires : les cellules souches pluripotentes induites.

2.2.1.3. Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC)

En 2006, le scientifique et Prix Nobel de Médecine 2012, Shinya Yamanaka est à l'origine de ce que beaucoup appellent la plus grande découverte scientifique de ces dernières années : la génération de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) chez la souris puis chez l'Homme en 2007. Avec son équipe, il est en effet parvenu à déterminer les quatre facteurs de reprogrammation nécessaires et suffisants (Oct3/Oct4, SOX2, KLF4 et c-myc, ou OSKM, aussi connu sous le nom de « cocktail de Yamanaka ») à la génération de cellules souches pluripotentes induites parmi 24 facteurs sélectionnés (20). Elles ont un intérêt particulier puisqu'elles peuvent être générées à partir de toutes les cellules du corps humain. Elles constituent, en outre, des modèles d'étude de la différenciation tissulaire normale et pathologique et sont également utilisées comme modèles d'études pharmacologiques (Figure 4) (7).

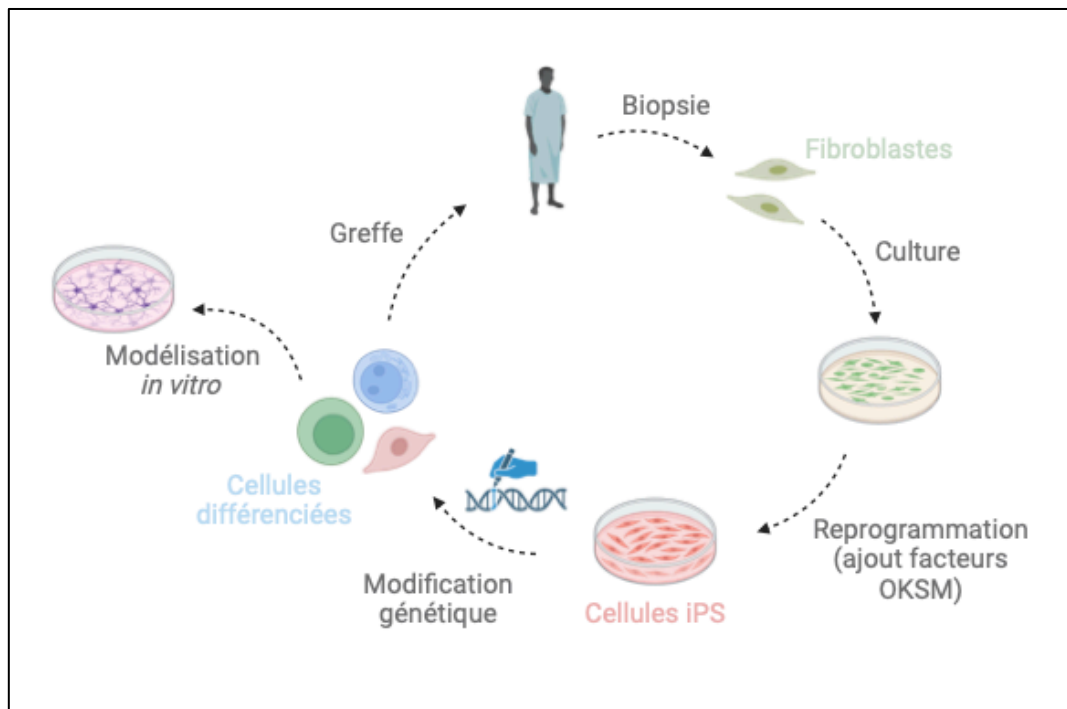


Figure 4 : Production et utilisation des cellules iPS

Leur utilisation en thérapeutique est envisageable puisqu'elles présentent un réel avantage par rapport aux cellules ES : elles peuvent être dérivées du patient lui-même, ce qui évite le risque de rejet de greffe et leur production n'implique pas de recours au don d'ovocytes. En pratique, pour reprogrammer des cellules, on y introduit les gènes OSKM à

l'aide de plasmides ou de vecteurs viraux qui modifieront le phénotype des cellules initiales de telle façon qu'elles retrouveront les propriétés de cellules embryonnaires. Si toutes les cellules sont, en théorie, utilisables pour ces manipulations, les plus utilisées restent les fibroblastes et les kératinocytes qui sont beaucoup plus faciles à isoler par simple biopsie (20).

La cellule souche pluripotente idéale à des fins thérapeutiques doit avoir les propriétés suivantes :

- Être équivalente aux cellules souches physiologiques ;
- Présenter une stabilité du génome et du phénotype ;
- Être entièrement différenciable dans le tissu pour éviter tout risque de cancers ;
- Avoir une longue durée de vie *in vivo*.

Néanmoins, quelques obstacles demeurent dans la fabrication de telles cellules. On ne sait pas si la reprogrammation est tout à fait identique à ce qu'il se passe *in vivo*, des différences persistant entre les cellules « naturelles » et les cellules induites dont on n'estime pas encore les conséquences. Enfin, leur emploi partagé, avec les cellules ES, le risque d'induction de cancer par reprogrammation incomplète induisant la formation de tumeurs après transplantation. Il est donc nécessaire d'assurer la maîtrise totale des procédures de différenciation. Par ailleurs, de nouvelles questions éthiques se posent par extrapolation de cette technique : si les iPSC sont différenciables en toutes les cellules de l'organisme, qu'en est-il des cellules germinales ? Serions-nous capables, dans un futur proche, de créer un être humain tout entier à partir de cellules de la peau ? Ces nouveaux défis restent donc encore à relever pour envisager à court terme une application thérapeutique (4).

2.2.2. L'immunothérapie

L'immunothérapie agit, comme son nom l'indique, sur le système immunitaire du patient. Composé d'un ensemble de cellules (cellules dendritiques, lymphocytes), de tissus (vaisseaux lymphatiques, ganglions) et d'organes (thymus, moelle osseuse), le système immunitaire a pour fonction la protection de l'organisme en identifiant et en détruisant des menaces potentielles. Parmi ces menaces, on distingue le **soi** du **non-soi** : le premier

correspond aux cellules anormales endogènes telles que les cellules cancéreuses et le second regroupe tous les agents infectieux exogènes, bactéries ou virus (21).

L'objectif de l'immunothérapie est d'activer ce système immunitaire en stimulant certaines de ses cellules pour les rendre plus efficaces. L'immunothérapie des cancers repose notamment sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, comme les inhibiteurs de points de contrôle, les anticorps bispécifiques, la vaccination antitumorale ou encore le transfert adoptif de cellules. Ce dernier concerne majoritairement l'injection de lymphocytes T du patient préalablement amplifiés *ex vivo*, on parle de lymphocytes T infiltrant la tumeur (TILS) (22).

2.2.2.1. Lymphocytes T infiltrants

Les lymphocytes T sont un type de globules blancs produits dans la moelle osseuse à l'origine de l'immunité à médiation cellulaire. Leur différenciation dans le thymus leur confère la capacité de reconnaître des antigènes spécifiques à la surface des cellules présentatrices d'antigènes. Cette reconnaissance permet l'activation des lymphocytes T et leur multiplication afin de cibler et détruire des cellules étrangères ou infectées (23). Les TILS peuvent donc pénétrer dans les tissus tumoraux afin de détruire les cellules cancéreuses.

Dans le cadre de cette thérapie cellulaire, les lymphocytes T infiltrants sont prélevés par chirurgie ou par biopsie au sein de la tumeur avant d'être sélectionnés puis amplifiés *in vitro* en laboratoire pour atteindre plusieurs dizaines de milliards de cellules. Le patient reçoit ensuite une chimiothérapie de conditionnement afin d'éviter le rejet de la greffe des TILS. Le traitement est ensuite administré par simple transfusion suivi de l'administration d'un facteur de prolifération, l'interleukine-2 (IL-2), toutes les 12 heures (24). Bien que les TILS aient déjà montré des résultats impressionnants chez les patients atteints de mélanome métastatique, avec des taux de réponse entre 40 et 50 %, ils sont plus modestes dans les cancers du sein, de l'ovaire ou du rein (25). D'autres lymphocytes font également leur preuve, notamment grâce à des modifications génétiques.

2.2.2.2. La technologie CAR

Avant d'aborder ce que l'on peut considérer comme la thérapie cellulaire la plus répandue, il convient de définir quelques notions de biologie cellulaire et de décrire plus précisément les étapes de la synthèse d'une protéine (Figure 5). L'ADN, compacté sous forme de chromosomes, est contenu dans le noyau de toute cellule. Trop gros pour en sortir, il doit

être transformé en molécules plus petites pouvant traverser la membrane nucléaire. La

transcription est la première étape de la synthèse protéique (26) :

- Le double brin d'ADN est séparé par une hélicase qui coupe les liaisons hydrogène entre les bases azotées complémentaires (A-T et G-C) ;
- Une seconde enzyme, l'ARN polymérase, va synthétiser un nouveau brin complémentaire du brin d'ADN transcrit en utilisant les bases azotées libres du noyau : on parle d'ARN messager (ARNm) ;
- Quand la séquence nucléotidique du brin d'ADN a été complètement retranscrite en ARNm, il peut se dissocier et migrer hors du noyau par les pores nucléaires.

La seconde étape de la synthèse protéique est la **traduction**, elle a donc lieu dans le cytoplasme :

- L'ARNm doit maintenant être lu et traduit en protéine finale grâce à un nouveau complexe protéique, le ribosome, situé à la surface du réticulum endoplasmique ;
- Ce ribosome se fixe sur la molécule d'ARNm et va initier sa lecture codon par codon, c'est-à-dire par triplet de nucléotides, le premier codon étant toujours AUG codant pour la méthionine ;
- Chaque codon correspond à un acide aminé qui sera transporté par un ARN de transfert (ARNt) : c'est le code génétique ;
- Les acides aminés se détachent au fur et à mesure de leur ARNt et viennent se lier entre eux par une liaison covalente, la lecture s'arrête lorsque le ribosome atteint un codon-stop ou non-sens : c'est l'élongation ;
- Cette chaîne d'acides aminés est enfin libérée dans le cytoplasme et transportée dans l'appareil de Golgi afin d'être enrichie par d'autres groupements chimiques et modifiée structurellement : on obtient la protéine finale.

À présent que la synthèse protéique est définie, on peut se pencher sur la méthode à l'origine de la technologie CAR (*Chimeric Antigen Receptor*) : la **transfection** ou édition du génome. La transfection correspond au processus d'introduction de matériel génétique dans le noyau d'une cellule eucaryote afin d'assurer l'expression d'une protéine choisie. On parle d'expression hétérologue, en opposition à l'expression homologue, puisqu'on introduit un gène dit étranger dans une cellule au moyen d'un **plasmide** d'expression. Il s'agit ici des prémices de la thérapie génique. Le plasmide d'expression a une forme circulaire et

bicaténaire et plusieurs méthodes permettent de le faire pénétrer dans les cellules : elles peuvent être chimiques (chlorure de calcium, liposomes, phospholipides cationiques...) ou physiques (électroporation). A cet effet, l'ADN plasmidique formera un complexe avec le réactif de transfection et se fixera sur la membrane cellulaire avant d'être absorbé puis libéré dans le cytoplasme par endocytose. Il devra entrer dans le noyau avant de pouvoir être transcrit, *via* le pré-ARNm, en ARNm. En effet, un plasmide d'expression ne s'intègre pas dans l'ADN de la cellule mais s'exprime seul, on parle d'expression épisomale. La transfection peut être soit stable (on parle de clones stables), soit transitoire (on parle alors de plasmide recombinant). Ayant un très faible rendement, on lui préfère maintenant la **transduction** : le vecteur transportant le gène d'intérêt est d'origine virale. Les virus sont des micro-organismes capables d'infecter les cellules, ils peuvent pénétrer à l'intérieur des cellules pour s'y multiplier et parfois même intégrer leur ADN (3). L'utilisation des virus est donc possible dans la mesure où ils sont inactivés, leur génome est ainsi modifié au préalable afin de retirer les séquences nécessaires à leur virulence et d'ajouter le transgène d'intérêt. Différents types de virus peuvent être utilisés (rétrovirus, lentivirus, adénovirus, virus adéno-associés AAV...), le choix dépendra de la taille du gène à insérer, du tropisme, de la vitesse de production ou encore du coût (Tableau I) (27).

Désignation	Adénovirus	AAV	Rétrovirus	Lentivirus	Herpès virus
Taille maximale du transgène (en kb)	35	4,8	8	10	30
Cellules cibles	En division active ou quiescentes	En division active ou quiescentes	En division active	En division active ou quiescentes	En division active ou quiescentes
Expression du transgène	Transitoire	Prolongée	Stable	Stable	Transitoire
Taux d'expression	Élevé	Modéré	Modéré	Modéré	Modéré
Risques	Inflammation immunogène	Intégration mutagène possible	Intégration mutagène	Intégration mutagène Recombinaison avec du VIH sauvage	Neurotoxique Intégration mutagène
Immunité préexistante	Oui	Oui	Non	Non	Oui

Tableau I : Principales caractéristiques des vecteurs viraux utilisés pour la transduction (3)

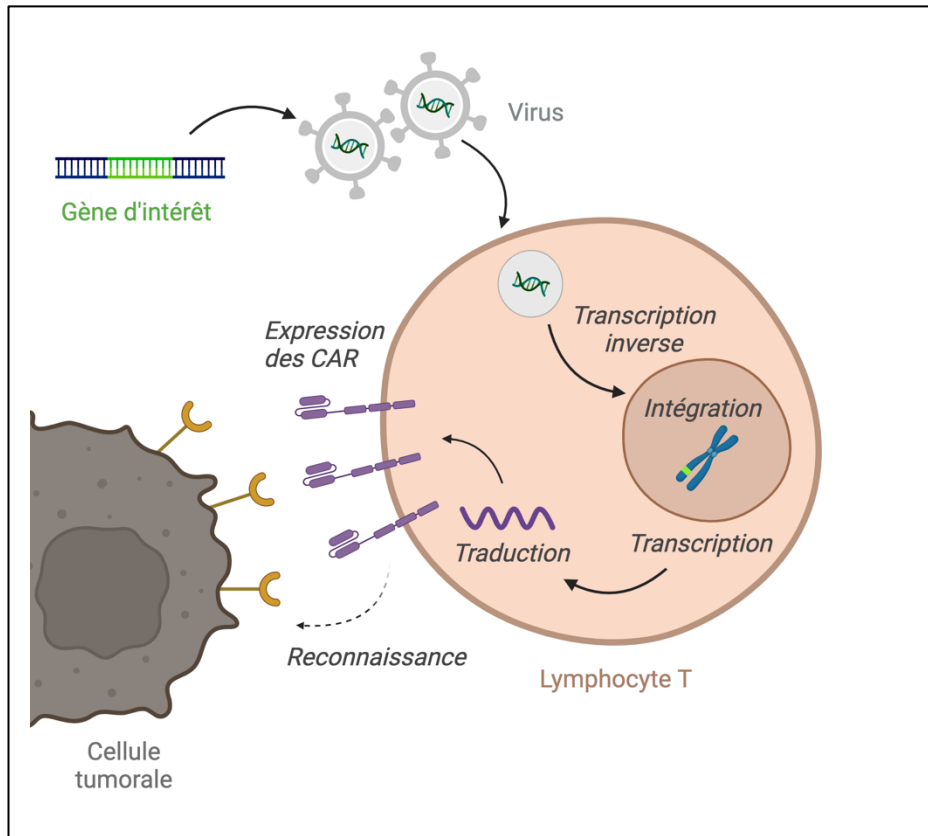


Figure 5 : Principe de la transduction appliquée aux cellules CAR-T. La production de cellules CAR-T débute par la construction du gène codant pour la protéine choisie. La séquence génique est ensuite insérée dans les lymphocytes T, le plus souvent par transduction virale.

➤ Lymphocytes CAR-T

Le traitement par cellules CAR-T (*Chimeric Antigenic Receptor - T*) ou *CAR-T cells* en anglais, est une stratégie d'immunothérapie cellulaire en plein développement, qui vise à combattre les cellules cancéreuses en s'appuyant de nouveau sur les lymphocytes produits par le patient. Une cellule CAR-T est un lymphocyte T modifié en laboratoire qui porte, à sa surface, un récepteur chimérique lui permettant de reconnaître des antigènes spécifiques présents sur les cellules tumorales (Figure 5). Ces lymphocytes T améliorés sont ensuite amplifiés puis réinjectés au patient.

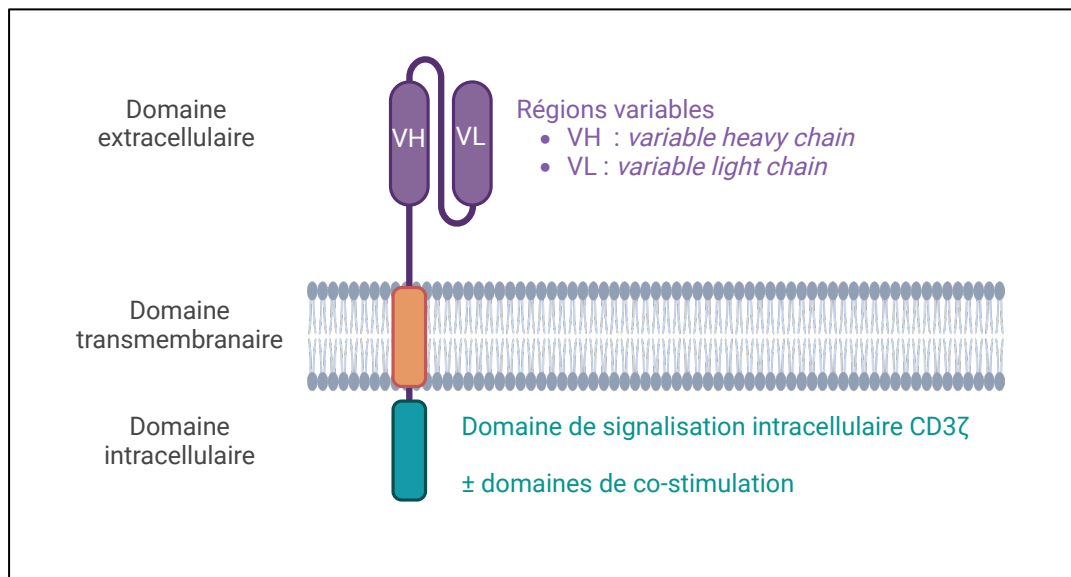


Figure 6 : Représentation schématique d'un Chimeric Antigen Receptor

Généralement, les CAR sont composés de quatre segments (Figure 6) :

- un domaine extracellulaire contenant un fragment variable monocaténaire dérivé de la région variable des anticorps pour la reconnaissance de l'antigène tumoral ;
- un espaceur extracellulaire régulant la distance entre les cellules CAR-T et les cellules tumorales ;
- un domaine transmembranaire qui ancre le CAR à la membrane des lymphocytes T du patient ;
- une région de signalisation intracellulaire CD3ζ et des domaines co-stimulateurs pour l'activation des lymphocytes T permettant d'améliorer leur résistance *in vivo* et leur capacité cytotoxique (par exemple, CD27, CD28, 41BB, ...) ;
 - La 1^{ère} génération de cellules CAR-T ne contenait qu'un unique domaine de signalisation tandis que les 2^{ème} et 3^{ème} générations arboraient en plus un ou deux domaines co-stimulateurs ;
 - La 4^{ème} génération de CAR-T, aussi appelée TRUCKS (*T-Cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing*) libère en plus IL-12, une cytokine pro-inflammatoire inductible conduisant au recrutement des cellules immunitaires innées comme les cellules *Natural Killer* ou les macrophages ;
 - La 5^{ème} génération de CAR-T, en cours d'évaluation, porte un fragment supplémentaire de la chaîne β du récepteur de l'IL-2 entraînant l'activation de

la voie de signalisation JAK-STAT améliorant son efficacité (elle module l'angiogenèse et les métastases) (28).

Le premier récepteur d'antigène chimérique a été mis au point en 1987. Le gène codant pour ce récepteur a été introduit dans des lymphocytes T par un vecteur viral. Une fois que le CAR se lie à la cellule tumorale, les cellules CAR-T se multiplient et la tuent, contribuant ainsi à éliminer la tumeur de l'organisme. Il est important de noter que ces cellules restent dans l'organisme pendant des années, on parle alors de "sentinelles" qui signaleront aux autres cellules la présence de cellules tumorales dispersées (29). Leur production cyclique démarre à l'hôpital par le prélèvement des lymphocytes chez un patient, collectés par lymphaphérèse puis transmis au site de production. Après contrôle de leur qualité, ils subissent une modification génétique *ex vivo* par introduction dans leur noyau du gène codant pour le récepteur antigénique chimérique désiré. Après multiplication et stimulation, ils sont injectés au même patient, à l'hôpital, ce dernier ayant reçu au préalable une chimiothérapie dans le but d'affaiblir son système de défense immunitaire et éviter ainsi le rejet de greffe (Figure 7) (30).

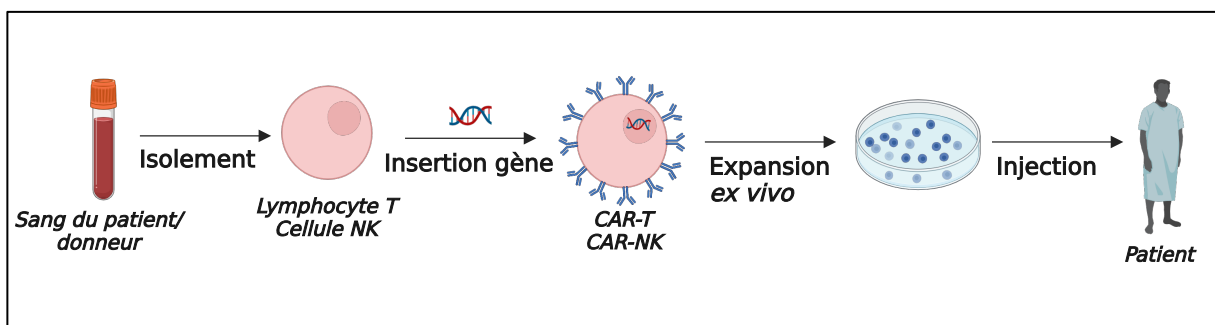


Figure 7 : Schéma de la production des cellules CAR-T et CAR-NK

Plusieurs médicaments ont obtenu leur Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) en Europe dans les cancers du sang. En 2017, deux premières thérapies cellulaires CAR-T ciblant le CD19, le tisagenlecleucel (Kymriah®) et l'axicabtagene ciloleucel (Yescarta®), ont été approuvées par la FDA pour certains cancers du sang. En 2020, le brexucabtagene autoleucel (Tecartus®) a été autorisé pour les patients adultes atteints d'un lymphome à cellules du

manteau en rechute ou réfractaire. L'année suivante, c'est au tour du lisocabtagene maraleucel (Breyanzi®) d'obtenir une AMM pour le traitement du lymphome diffus à grandes cellules B en rechute ou réfractaire. Si l'efficacité des CAR-T dans les cancers hématologiques n'est plus à prouver, leur utilisation dans le traitement des tumeurs solides reste moins évidente. En effet, ces tumeurs présentent plusieurs obstacles pouvant interférer avec les activités des cellules CAR-T, notamment l'hétérogénéité tumorale, un microenvironnement tumoral défavorable, une infiltration insuffisante et certaines toxicités. En identifiant les antigènes uniques présents dans les cellules tumorales solides, on parviendra à modifier les CAR pour cibler au mieux ces tumeurs (31).

Certains problèmes subsistent néanmoins, notamment la question de la qualité des lymphocytes T du patient au moment de la lymphaphérèse et d'autre part la question de l'hétérogénéité des produits obtenus. Il a en effet été observé des anomalies lymphocytaires T des patients candidats à la thérapie CAR-T, soit liées à l'hémopathie elle-même, soit liées à ses différents traitements. Par ailleurs, cela ajoute de nouvelles difficultés au processus de fabrication, déjà long et coûteux : il est nécessaire de respecter un délai de « *wash-out* » des traitements médicamenteux avant de prélever. Aussi, entre la décision d'indication et la réinjection des cellules CAR-T au patient, il s'écoule environ deux mois, un délai parfois trop long pour des patients ayant une hémopathie réfractaire non contrôlée. Enfin, ces cellules présentent certaines toxicités notamment neurologique (encéphalopathies, aphasie), inflammatoire et hématologique (cytopénies) (32).

Cette innovation reste donc à perfectionner et de nombreuses pistes sont à l'étude pour élargir son utilisation telles que (33) :

- Les cellules CAR-T allogéniques : un receveur reçoit les lymphocytes T d'un donneur. Cela nécessite de prendre en considération leur degré de compatibilité et offre l'avantage de disposer d'un stock de médicaments disponible immédiatement.
- Les cellules CAR-T multi-spécifiques : les cellules CAR-T expriment différents récepteurs CAR afin de cibler plusieurs antigènes.

➤ Cellules Natural Killer CAR-NK

Si les thérapies CAR ont d'abord été appliquées aux lymphocytes T, les cellules *Natural Killer* (NK), ou tueuses naturelles, sont une alternative intéressante. Les cellules NK sont des cellules effectrices cytotoxiques très puissantes ayant démontré un effet antitumoral après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et qui ont l'avantage de pouvoir être utilisées en situation allogénique sans provoquer d'effets secondaires toxiques majeurs. Les cellules *Natural Killer* sont des lymphocytes de l'immunité dite « innée » représentant 10 à 15 % des lymphocytes circulants (34). Elles jouent un rôle crucial dans l'immuno-surveillance des cellules malignes et des cellules infectées par un virus et ont pour fonction de tuer celles qui ont perdu l'expression d'une ou plusieurs molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I à leur surface, sans immunisation préalable et de manière antigène indépendante, contrairement aux cellules T ou B. Le mécanisme d'action des cellules NK est principalement la cytotoxicité dite « naturelle » par la libération de granules de perforine et granzyme, l'induction de l'apoptose liée au *Tumor Necrosis Factor* (TNF) mais également la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Les cellules NK produisent également de nombreuses cytokines comme l'interféron gamma (32).

Les sources de cellules NK sont multiples : lignée cellulaire, sang de cordon, sang périphérique ou encore cellules souches pluripotentes induites. Les thérapies CAR-NK sont une extension de ce qui est déjà réalisé pour les lymphocytes T. Leurs particularités résident dans l'utilisation de cellules autres que celles du patient, dans le cadre de transferts allogéniques qui permettraient de constituer de véritables banques de cellules (35). Pour autant, les cellules CAR-NK présentent un certain nombre de limites, raison pour laquelle leur utilisation en clinique est moins avancée que celle des cellules CAR-T. Leur durée de vie est courte, de l'ordre d'une à deux semaines, elles sont plus difficiles à manipuler génétiquement que les lymphocytes T et leur nombre limité dans le sang circulant nécessite des techniques d'expansion afin d'obtenir la dose nécessaire. Enfin, les cellules NK sont sensibles au microenvironnement tumoral.

La thérapie CAR-NK est encore très peu développée par rapport aux cellules CAR-T : en janvier 2021, on comptait 16 essais CAR-NK contre plusieurs centaines d'essais CAR-T sur le site *Clinicaltrials*. Néanmoins, ses nombreux atouts, parmi lesquels une disponibilité

immédiate, l'absence de toxicité et la possibilité de générer plusieurs lots à partir d'une source unique placeront très probablement la thérapie CAR-NK comme une voie d'avenir dans la lutte contre le cancer (32).

Les cellules NK exerçant leur activité de façon indépendante de l'antigène et du HLA, elles peuvent être obtenues à partir de donneurs allogéniques HLA-incompatibles. Au contraire, l'incompatibilité HLA entre les cellules NK du donneur et les cellules tumorales du receveur pourraient justement favoriser l'alloréactivité antitumorale des cellules NK. Une autre de leurs propriétés, et contrairement aux lymphocytes T allogéniques, est que les cellules NK ne provoquent pas de réaction immunitaire contre la greffe (*GVHD Graft Versus Host Disease*) (35).

3. Marché des thérapies cellulaires : taille et croissance

Bien avant l'essor des thérapies innovantes, les biotechnologies ont participé au développement de modèles cellulaires prédictifs. En reproduisant des pathologies et en mimant les mécanismes moléculaires de certaines affections, elles ont permis une meilleure compréhension de nombreuses maladies. L'intérêt de l'industrie pharmaceutique pour la thérapie cellulaire s'est alors accru et notamment pour les produits allogéniques permettant une distribution plus simple à grande échelle.

L'année 2017 marque l'avènement des thérapies cellulaires avec les premières autorisations de mise sur le marché accordées par la FDA des thérapies à cellules CAR-T (Kymriah® et Yescarta®). Cette année-là, le marché mondial des thérapies cellulaires était estimé à 2,7 milliards de dollars (soit 2,4 milliards d'euros) avec un taux de croissance annuelle estimé à 15%. La COVID-19 a eu un impact fort sur le marché des thérapies cellulaires puisque de nombreuses entreprises se sont penchées sur l'utilisation de cellules souches chez les patients atteints de pneumonie à COVID-19. Les investissements des gros groupes industriels dans les thérapies cellulaires sont aussi motivés par la prévalence croissante des maladies chroniques (36).

Les prévisions pour 2025 annoncent d'ores et déjà un marché mondial à 8,2 milliards de dollars (soit 7,2 milliards d'euros) avec une croissance de 46% des thérapies à cellules CAR-T. C'est, sans grande surprise, l'Amérique du Nord qui détient la plus grande part de marché

avec 51% en 2021 mais la croissance la plus rapide est observée au niveau du marché asiatique (37). En 2021, le rapport annuel de l'Alliance pour la Médecine Régénérative comptabilisait respectivement 543 entreprises spécialisées en biotechnologies en Amérique du Nord et 295 en Asie-Pacifique (Figure 8) (38).

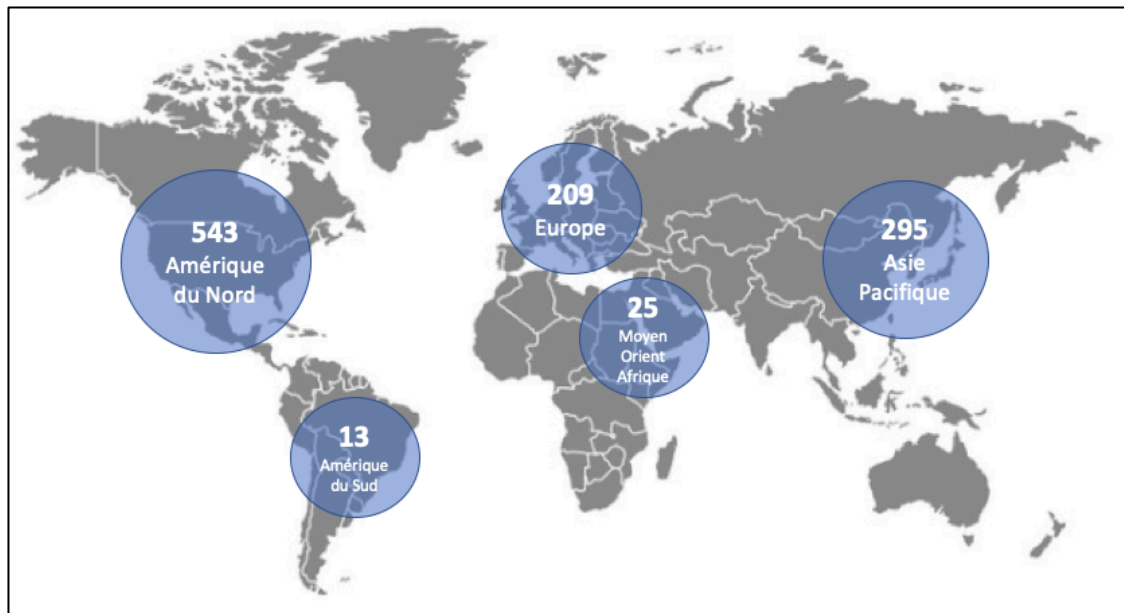


Figure 8 : Implantation des entreprises de biotechnologies dans le monde en 2021 (38)

Ce même rapport met en évidence l'intérêt accru des grands groupes pharmaceutiques pour la thérapie cellulaire par le nombre croissant d'essais cliniques en cours en 2020 : on comptabilise 368 essais cliniques en cours dont plus de 60% en phase II (Figure 9) (38).

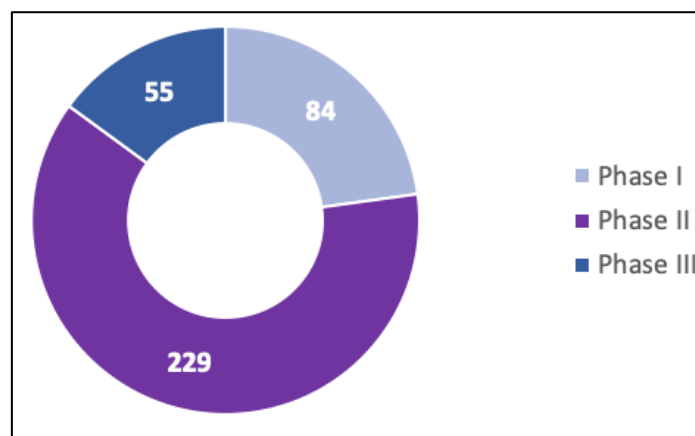


Figure 9 : Graphique représentant le nombre d'essais cliniques de thérapies cellulaires en fonction des phases en 2020

4. Traitements actuels et essais cliniques

Les indications, actuelles et potentielles, sont variées et de nombreux domaines tendent à s'orienter vers la thérapie cellulaire. Pour preuves, des dizaines d'essais cliniques sont actuellement en cours dans divers champs d'application et de nombreux traitements sont d'ores et déjà autorisés par les autorités de santé. Depuis les années 1970, des cellules souches cutanées sont utilisées pour reconstituer des feuillets d'épiderme en laboratoire puis les greffer sur des grands brûlés. En hématologie, les hémopathies malignes telles que le myélome, la leucémie ou encore le lymphome sont depuis les années 1980 traitées par administration de cellules souches hématopoïétiques lors d'une greffe de moelle osseuse. En Corée, elles sont indiquées dans le traitement de l'arthrose depuis 2013. Enfin en Europe, c'est en 2015 que le premier médicament de thérapie cellulaire a obtenu une autorisation de mise sur le marché : Holoclar®, indiqué en cas de brûlure ou de lésions de la cornée, repose sur la différenciation en cellules épithéliales cornéennes de cellules souches limbiqes préalablement prélevées chez le patient (9).

4.1. Cellules mésenchymateuses

Les essais cliniques utilisant des cellules mésenchymateuses sont les plus nombreux, près de 350 sont en cours en 2023 dans divers domaines : rhumatologie, dégénérescences musculaires, cardiologie, diabète ou encore maladies auto-immunes. Actuellement au CHU de Montpellier, l'essai ADIPOA-2 consiste en l'injection de cellules souches mésenchymateuses directement dans l'articulation et a pour objectif de traiter l'arthrose modérée à sévère. Quelques mois après l'injection, sont d'ores et déjà observés un gain de fonctionnalité et une baisse de la douleur (40).

Des travaux ont également lieu dans le domaine cardiovasculaire aux États-Unis et en Corée, visant à favoriser la croissance des tissus lésés après un infarctus du myocarde, un accident vasculaire cérébral ou une artériopathie des membres inférieurs grâce aux propriétés néoangiogéniques des cellules mésenchymateuses. D'autres essais utilisant des cellules souches mésenchymateuses autologues et ciblant la sclérose en plaque et la sclérose latérale amyotrophique ont eu lieu au Canada et aux États-Unis. Au Canada toujours, les cellules

souches mésenchymateuses allogéniques sont utilisées pour lutter contre la maladie du greffon contre l'hôte chez l'enfant (7).

4.2. Cellules souches embryonnaires

Des cellules souches embryonnaires humaines différenciées en cellules de la rétine et en cellules épithéliales pigmentaires de la rétine sont en cours d'études de phases I et II pour lutter respectivement contre la Dégénérescence Maculaire Liée à l'Âge (DMLA) et contre la dystrophie maculaire de Stargardt, chez Ocata Therapeutics. Pfizer pilote également un essai pour développer des cellules rétiniennes à injecter à des patients de plus de 50 ans souffrant de baisse d'acuité visuelle. Une autre société de biotechnologie américaine, ViaCyte, s'est, quant à elle, penchée sur le diabète de type 1 et prépare un essai clinique fondé sur l'utilisation de cellules de pancréas productrices d'insuline obtenues à partir de cellules souches embryonnaires et encapsulées, les protégeant ainsi de toute réaction immune (7).

La collaboration entre le laboratoire I-Stem (unité Inserm 861), l'Institut de la vision (unité Inserm 968) et l'AFM-Téléthon développe l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines différenciées en kératinocytes dans le traitement des ulcères cutanés associés à la drépanocytose. La première greffe de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires humaines a été pratiquée en 2015 à l'hôpital européen Georges Pompidou chez une femme âgée de 68 ans atteinte d'insuffisance cardiaque sévère, dont l'état s'est ensuite nettement amélioré (7).

4.3. Cellules iPS

Les premiers succès ont porté sur le traitement de certaines leucémies, de l'infarctus du myocarde, de l'insuffisance cardiaque et de la DMLA. Les essais en cours portent surtout sur des maladies génétiques et sur les maladies neurologiques dégénératives comme les maladies d'Alzheimer ou de Parkinson (2). Un essai clinique utilisant des cellules iPS autologues comme traitement d'une certaine forme de DMLA est en cours au Japon. Hors cadre thérapeutique, la société française Ingestem a pour objectif d'utiliser les techniques de reprogrammation cellulaire pour générer des modèles de pathologies humaines et de médecine régénérative (7).

De nombreux travaux expérimentaux sont en cours concernant, entre autres, la génération de cellules productrices d'insuline pour le traitement du diabète, de cellules hépatiques pour le traitement de maladies héréditaires du métabolisme et de certaines cirrhoses, de neurones pour le traitement de maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson, de cellules de la rétine ou encore de cellules musculaires, cardiaques et cutanées (39).

Les résultats sont encourageants mais les techniques de différenciation et de transdifférenciation mentionnées plus haut sont éprouvées à l'échelle expérimentale. Deux stratégies sont envisageables : d'un côté la conversion cellulaire *in vitro* avant l'injection, ou la conversion cellulaire *in vivo* par injection *in situ* des facteurs de reprogrammation dans les cellules cibles selon une technique de thérapie génique. Néanmoins, il reste beaucoup à faire pour rendre ces approches sûres, reproductibles et robustes. Les questions posées concernent la source optimale de cellules, l'identification de la meilleure stratégie de reprogrammation, la caractérisation de la cellule reprogrammée, les contraintes imposées par le tissu hôte et la qualité de l'environnement cellulaire.

On peut citer quelques exemples d'applications expérimentales : la génération de cellules hématopoïétiques dans le traitement de la drépanocytose, de kératinocytes dans le traitement de l'épidermolyse bulleuse, la génération d'oligodendrocytes dans le traitement de maladies héréditaires démyélinisantes ou encore de cellules β du pancréas dans le traitement du diabète (4).

4.4. Cellules CAR

En 2011, les premiers résultats prometteurs ont été rapportés chez des enfants et des adultes atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). Près de 90 % des patients atteints de LAL ont présenté une réponse complète et rapide. Comme dit plus tôt, les deux premiers médicaments de thérapie cellulaire à obtenir une approbation par la FDA sont le Kymriah® et le Yescarta®, en 2017, pour le traitement des hémopathies malignes. Les deux molécules ont également obtenu l'AMM en France.

L'utilisation des cellules CAR-T représente toujours un espoir thérapeutique pour les enfants et jeunes adultes atteints de leucémie aiguë lymphoblastique mais également pour les adultes atteints de lymphomes diffus à grandes cellules B. De nombreuses études ont permis d'observer chez 40% des patients atteints d'un lymphome diffus à grandes cellules B, une réponse complète à la thérapie, sans progression de la maladie au bout de deux ans (32). Ces résultats prometteurs laissent donc espérer une alternative intéressante aux patients atteints de lymphomes en rechute ou réfractaires. Des recherches sont toujours en cours afin d'évaluer si ces cellules peuvent présenter un intérêt pour les lymphomes de Hodgkin et les myélomes multiples réfractaires (30).

Spécialités	DCI	Type de cancer	Laboratoire
KYMRIAH®	Tisagenlecleucel	<ul style="list-style-type: none"> - Leucémie Aigüe Lymphoblastique récidivante/réfractaire - Lymphome à grandes cellules B récidivant/réfractaire - Lymphome folliculaire récidivant/réfractaire 	Novartis
YESCARTA®	Axicabtagene ciloleucel	Lymphome à grandes cellules B récidivant/réfractaire	Gilead
TECARTUS®	Brexucabtagene autoleucel	Lymphome à cellules du manteau récidivant/réfractaire	
BREYANZI®	Lisocabtagene maraleucel	Lymphome à grandes cellules B récidivant/réfractaire	Bristol Myers Squibb
ABECMA®	Idecabtagene vicleucel	Myélome multiple récidivant/réfractaire	
CARVYKTI®	Ciltacabtagene autoleucel		

Tableau II : Thérapies à cellules CAR-T ayant reçu une approbation de la FDA associées à leurs types de cancer en 2022

Pour rendre ces thérapies encore plus efficaces, les chercheurs travaillent sur des cibles multiples, ce qui conduit à de nouveaux modèles de CAR où l'on inclut un double, voire un triple, ciblage des protéines à la surface des cellules tumorales. Le second objectif est aussi d'accélérer leur fabrication afin d'élargir leur disponibilité et de faciliter leur accès : l'utilisation de cellules CAR-T allogéniques dites « prêtes à l'emploi » serait un moyen d'y parvenir.

Enfin, des recherches sont menées sur les lymphocytes génétiquement modifiés et les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILS). Ces derniers sont en cours d'utilisation dans des essais cliniques pour le traitement de tumeurs solides et ouvrent ainsi une toute nouvelle voie de traitement pour des tumeurs réfractaires aux traitements classiques (29).

5. Des défis à relever

Ces nouvelles thérapies cellulaires feront sans doute partie intégrante de la médecine du futur, les opportunités et les stratégies sont multiples mais il faut avant toute chose apprendre à maîtriser ces processus complexes tant sur les plans scientifiques que technologiques et économiques.

5.1. Immunogénicité

Actuellement, le défi majeur de la thérapie cellulaire est le problème de la compatibilité donneur-receveur. Si le traitement est autologue, c'est-à-dire si les cellules souches utilisées sont prélevées sur le patient lui-même, alors elles seront parfaitement tolérées sur le plan immunitaire. Dans le cas d'un traitement allogène, les cellules proviennent d'une tierce personne, le système immunitaire du patient peut alors les reconnaître comme des éléments étrangers et tenter de les éliminer. Des rejets de greffe peuvent donc théoriquement avoir lieu. En cas de greffe de moelle, par exemple, le patient receveur doit suivre un traitement immunosuppresseur pour éviter ce rejet, avec tous les effets indésirables qu'on lui connaît (troubles hématologiques, infections, syndrome lymphoprolifératif, néphrotoxicité, hépatotoxicité, neurotoxicité) (41).

Pour contourner ce problème, sont actuellement créées, à partir de cellules iPS allogènes, des banques de cellules marquées selon leur profil immun (HLA), de manière à pouvoir choisir des cellules thérapeutiques compatibles avec le profil des patients receveurs.

5.2. Industrialisation et coût

Un des principaux inconvénients d'une telle innovation réside dans son coût de production. Bien qu'il soit amené à diminuer, le coût actuel d'un médicament de thérapie cellulaire est estimé entre 10 000 et 20 000 euros la dose (7). Le second obstacle des thérapies cellulaires réside dans la complexité d'une potentielle industrialisation à grande échelle. Dans le cadre de la production individualisée des cellules CAR-T, il n'y a aucun droit à l'erreur : les cellules sont prélevées sur le patient et il est impossible, voire dangereux, de les remplacer par d'autres. C'est pourquoi cette technologie représente un défi en termes de qualité et de rapidité. La production des cellules CAR-T doit en effet répondre à des critères spécifiques en termes d'équipements, de personnel, de procédés de fabrication, de contrôles du produit fini et de certification, tout en permettant l'acheminement des cellules CAR-T au patient en un temps restreint.

La formation du personnel, longue et complexe, implique l'habilitation des différents opérateurs aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) en milieu stérile (culture de cellules, cytométrie, méthodes analytiques...). Le délai de production et d'acheminement des CAR-T est limité, bien qu'incompressible, et fait de la rapidité de cette logistique un enjeu majeur. Il dépend notamment de la maîtrise du planning, des timings de production et de la chaîne du froid. L'automatisation de la chaîne de production est une des pistes envisagées pour son optimisation. En outre, plusieurs sites supplémentaires pourraient s'implanter sur l'ensemble du territoire dans les années à venir, permettant ainsi de se rapprocher des lieux de prise en charge des patients et réduisant les délais de transport (33). Le problème se pose également pour la production de cellules souches qui nécessite l'utilisation de systèmes clos appelés bioréacteurs, dont l'automatisation, la reproductibilité et la standardisation sont autant de défis à relever. Sans oublier qu'un des critères majeurs à respecter reste la traçabilité des produits (4).

La production à l'échelle industrielle demeure un défi majeur pour le développement des thérapies cellulaires. Des innovations technologiques et industrielles sont nécessaires afin d'augmenter la capacité de production et de réduire les délais, tout en préservant la qualité, l'efficacité et la sécurité de production de ces médicaments.

5.3. Aspect réglementaire

5.3.1. Législation

Les « préparations de thérapie cellulaire » sont définies par la loi du 22 mars 2011 comme des cellules soumises à des modifications non substantielles et destinées à accomplir leur fonction d'origine. Si les modifications sont substantielles ou si la finalité est différente de la fonction d'origine, on parle alors de **Médicaments de Thérapie Innovante**, ou *Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP)*, définis en 2007 par la réglementation européenne (42). Ce cadre législatif spécial permet d'assurer à la fois la protection des patients et la flexibilité du développement scientifique. La thérapie cellulaire concerne les produits biologiques à effet thérapeutique issus de préparation de cellules vivantes, humaines ou animales (43). L'ensemble des textes encadrant ces thérapies vise à protéger le donneur en termes de consentement, gratuité du don et d'anonymat, et le receveur, notamment du risque de maladie transmissible (12).

L'Agence Européenne du Médicament (EMA) dispose d'un comité dédié aux médicaments de thérapie innovante, le Comité des médicaments de thérapie innovante (*Committee for Advanced Therapies, CAT*), au sein duquel toutes les agences nationales sont représentées. Il est chargé de l'évaluation de la qualité, la sécurité et l'efficacité des MTI et de la rédaction des directives scientifiques émises par les autorités. La Commission européenne, en collaboration avec le CAT et les États membres, permet l'accès à ces thérapies innovantes lorsqu'une AMM leur est délivrée. Comme pour les autres médicaments, les autorités s'assurent que les laboratoires respectent les bonnes pratiques cliniques (BPC) et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) lors du développement du produit. Revues en 2017 par l'EMA, ces BPF sont décrites dans l'Eudralex volume 4 et ont été transposées dans le droit français par l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé (ANSM) et publiées le 6 mai 2019 (44).

Le règlement européen CE n°1394/2007 modifie considérablement le cadre législatif des thérapies dont les mécanismes d'actions font appel aux cellules. Ce règlement permet :

- d'assurer l'accès des MTI au marché de l'UE et leur libre circulation au sein des états membres par l'intermédiaire d'une procédure d'AMM centralisée ;

- d'assurer la qualité et la sécurité des MTI ;
- d'améliorer l'évaluation scientifique des MTI par l'institution du comité des thérapies innovantes de l'EMA (45).

En France, ce règlement européen a été adapté par la loi n°2011-302 du 22 mars 2011, associée au décret n°2012-1236 du 6 novembre 2012, qui introduit dans la réglementation française des dispositions particulières applicables aux MTI. Ces thérapeutiques doivent être fabriquées sous le contrôle d'un pharmacien responsable dans un établissement pharmaceutique autorisé par l'ANSM, appliquant notamment les règles de traçabilité et de pharmacovigilance. Seuls les établissements de santé autorisés à cet effet pratiquent les prélèvements de tissus et cellules du corps humain en vue de don (46).

Créée par la loi de bioéthique du 6 août 2004, l'agence de Biomédecine est compétente dans les domaines de la greffe, la reproduction, l'embryologie et la génétique humaine. Elle doit participer à l'élaboration des règles de bonnes pratiques, suit et contrôle les activités relevant de sa compétence, gère les fichiers de donneurs volontaires de cellules hématopoïétiques, délivre autorisations et avis aux autorités compétentes (47). Tout essai clinique comportant une utilisation cellulaire à visée thérapeutique, doit être soumis au Comité de Protection des Personnes (CPP) et à l'ANSM : une annexe décrira toutes les étapes de préparation cellulaire, du prélèvement à la distribution. L'autorisation, ou le refus, est prononcée dans un délai de 90 jours à compter de la réception de la demande. L'ANSM veille au respect des dispositions relatives aux produits de thérapie cellulaire, en effectuant des inspections des laboratoires afin de vérifier qu'ils assurent la sécurité du personnel et des produits manipulés et la bonne réalisation des essais cliniques préalablement soumis (12).

5.3.2. Bioéthique

Les thérapies cellulaires sont, comme expliqué précédemment, des médicaments préparés à partir d'éléments dérivés du corps humain, qui sont parfois modifiés et sont donc considérés comme des **OGM** (Organismes Génétiquement Modifiés). La réglementation française encadre l'utilisation et la fabrication d'OGM avec l'obtention au préalable d'une autorisation spécifique pour ces activités auprès des établissements de santé, des sites de

production, ... La bioéthique se définit comme l'étude des problèmes moraux soulevés par la recherche biologique, médicale ou génétique et ses applications. A la croisée des chemins entre la recherche, la médecine et la société, elle aborde plusieurs sujets sensibles tels que la greffe d'organes, l'utilisation de parties du corps humain ou encore le statut de l'embryon. La bioéthique s'interroge sur les dérives potentielles de tels progrès et les limites à imposer, son cadre législatif est perpétuellement révisé, tous les 7 ans (12).

PARTIE 2 : LE CANCER DU SEIN

1. Physiopathologie

1.1. Anatomie générale et physiologie du sein

1.1.1. Anatomie

À l'instar de la pilosité ou de la répartition des graisses, la glande mammaire fait partie des caractères sexuels secondaires féminins. Cette glande exocrine a pour principale fonction la lactation, en d'autres termes la synthèse, la sécrétion et l'éjection du lait destiné à nourrir l'enfant de la femme. Le sein repose sur le muscle grand pectoral et s'étale de l'aisselle au sternum et remonte jusqu'à la clavicule. Les ligaments de Cooper, assurant son maintien, traversent le sein pour se fixer au thorax.

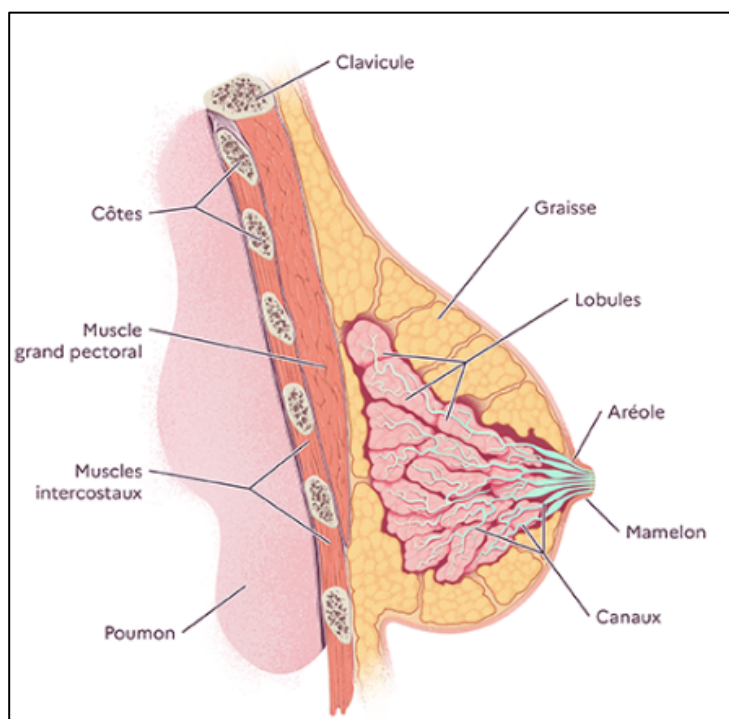


Figure 10 : Schéma anatomique du sein en coupe sagittale (48)

Trois éléments principaux composent le sein : la peau, le tissu sous-cutané et le tissu mammaire. Ce dernier est composé d'éléments stromaux et épithéliaux, qui sont des canaux ramifiés reliant les unités structurales et fonctionnelles du sein au mamelon (les lobules). La glande se compose de 15 à 20 lobes séparés par du tissu graisseux et des bandes de tissu conjonctif dense. Les lobes se subdivisent ensuite en plusieurs lobules et alvéoles permettant la synthèse et la sécrétion de lait. En l'absence de grossesse et donc de lactation, le stroma, composé de tissu conjonctif adipeux et fibreux, occupe la majorité du volume du sein (Figure 10) (49).

1.1.2. Développement hormonal

Après la phase quiescente de l'enfance, durant la puberté, la maturation de l'axe hypothalamo-hypophysaire est à l'origine du développement des caractères sexuels secondaires. Des interactions hormonales et cellulaires médiées par différents facteurs de croissance (*Epidermal Growth Factor* EGF, *Transforming Growth Factor* TGF- β , *Fibroblast Growth Factor* FGF) aboutissent au développement et la différenciation de la glande mammaire. La réponse morphologique de la glande mammaire à ces interactions complexes entraîne des changements développementaux qui modifieront définitivement son architecture et ses caractéristiques biologiques.

Parmi les hormones impliquées, on compte en première position les **estrogènes** (estradiol, estrone, estriol) qui sont impliqués dans le développement des caractéristiques sexuelles secondaires et jouent un rôle primordial dans la promotion de la prolifération de l'épithélium mammaire, la ramification du système de canaux et la maturation des mamelons. L'estradiol agit de manière locale en stimulant la synthèse d'ADN et en favorisant la formation des glandes mammaires. Son activité biologique est principalement médiée par un récepteur nucléaire aux estrogènes (ER), qui active la transcription de gènes spécifiques en réponse aux estrogènes. La **progestérone**, combinée aux estrogènes, entraîne le développement et la prolifération des alvéoles aux extrémités des canaux et régule la croissance du sein par l'intermédiaire de son récepteur nucléaire (PR).

Les tissus adipeux et conjonctif du sein abritent également les systèmes sanguin et lymphatique. Ce dernier en drainant la lymphe de l'espace extracellulaire permet de réguler l'équilibre hydrique des tissus. Par ailleurs, les vaisseaux lymphatiques transportent les cellules immunitaires et disséminent, dans un contexte cancéreux, les cellules cancéreuses jusqu'aux ganglions internes situés à l'intérieur du thorax et les ganglions axillaires, sus- et sous-claviculaires (Figure 10). On parle alors de cancer métastatique (50).

2. Le cancer

2.1. Processus de cancérogénèse

La cancérogénèse correspond au processus de développement du cancer, conduisant à la multiplication de cellules échappant à la régulation de l'homéostasie et capables d'envahissement locorégional ou à distance. Elle correspond au passage d'une cellule d'activité normale à une cellule cancéreuse par trois grandes étapes (Figure 11) : **l'initiation** lorsqu'une lésion initiale irréversible et transmissible de l'ADN est induite par un carcinogène, la **promotion** ou la stabilisation de la lésion par exposition prolongée et la **progression** par l'acquisition des caractéristiques des cellules cancéreuses (51).

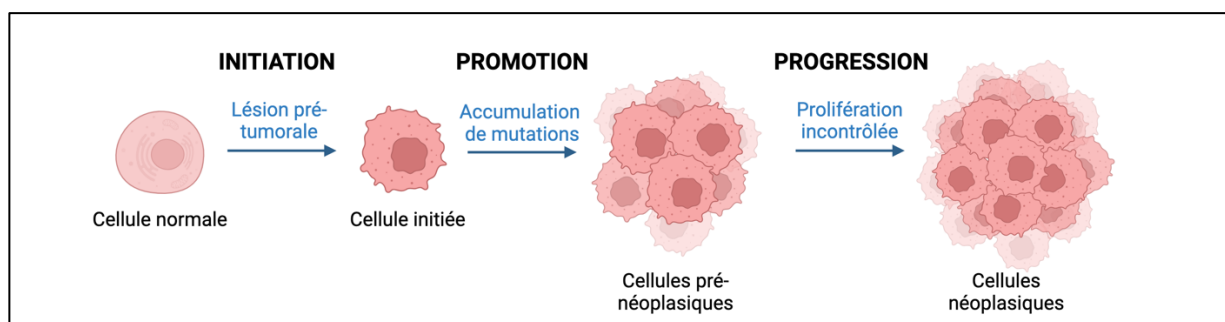


Figure 11 : Les différentes étapes de la cancérogénèse

Les caractéristiques des cellules cancéreuses (Figure 12), établies par Hanahan et Weinberg, sont les suivantes (52) :

- Une autosuffisance en signaux de croissance ;
- Une insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance ;
- Une résistance aux mécanismes d'apoptose ;

- Un potentiel de réplication illimitée ;
- Une angiogénèse soutenue ;
- Une invasion des tissus et métastases ;
- Un métabolisme énergétique propre ;
- Un échappement du système immunitaire ;
- Une instabilité du génome ;
- Une inflammation favorisant les tumeurs.

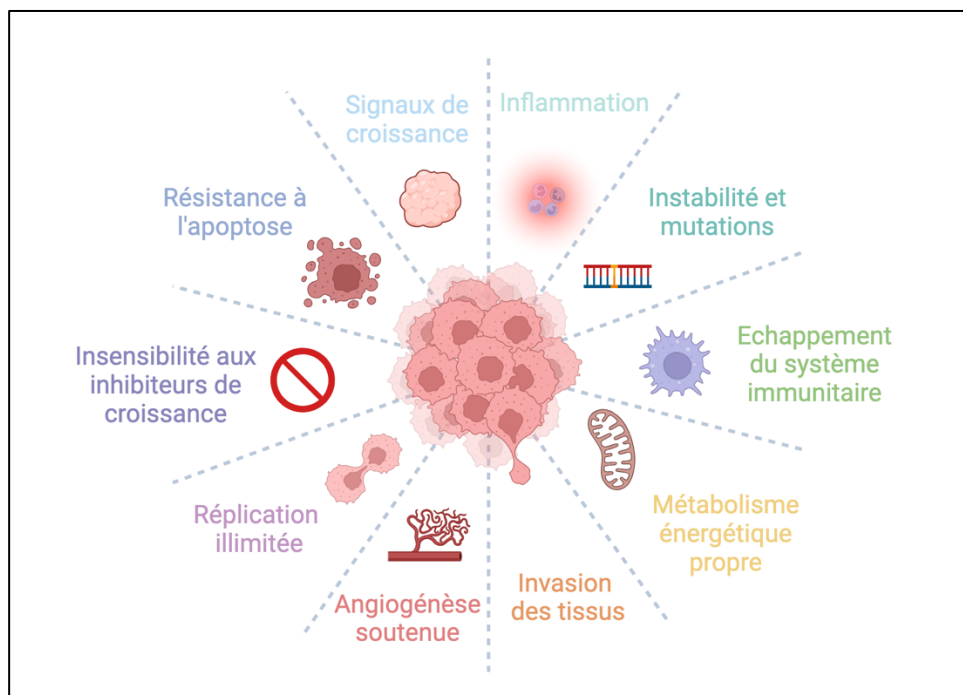


Figure 12 : Hallmarks of cancer selon Hanahan et Weinberg

La première étape de la cancérogénèse (Figure 11), l'initiation, est un processus irréversible et rapide débutant par une mutation dans le programme génétique d'une cellule mère qui sera transmise à ses cellules-filles, on parle de lésion pré-tumorale. S'ensuit la phase de promotion, qui est cette fois un phénomène réversible et long entraînant la multiplication clonale des cellules par l'action de nombreux facteurs hormonaux (estrogènes, progestatifs, androgènes), immunitaires (glucocorticoïdes) ou encore nutritionnels. Enfin, la cancérogénèse s'achève par une phase de progression au cours de laquelle les cellules se multiplient de manière non contrôlée, indépendante et indifférenciée menant à une invasion

locale et métastatique, on parle de tumeur maligne. Des facteurs angiogéniques tels que VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), FGF, PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) et EGF sont nécessaires à son développement par la néovascularisation permettant l'irrigation et l'alimentation de cette tumeur. Le processus métastatique est initié par le détachement d'une cellule tumorale puis son entrée dans la circulation lymphatique et se poursuit par un déversement dans la circulation sanguine générale avant d'aboutir à diverses métastases au niveau hépatique, pulmonaire ou encore osseux.

Le cancer du sein naît des cellules de l'appareil sécrétoire du sein, constitué des lobules et des canaux galactophores. L'évolution est d'abord intra-épithéliale, sans franchissement de la membrane basale : ces lésions sont nommées **cancers**, ou **carcinomes *in situ***. Quand il n'existe pas d'invasion de la membrane basale, l'évolution est exclusivement mammaire et conditionne les modalités du traitement local. Le risque est l'évolution en plusieurs années vers un cancer invasif, après franchissement de la membrane basale (53).

2.2. Anatomopathologie

L'anatomopathologie permet d'affirmer le diagnostic de cancer du sein : devant toute anomalie clinique et/ou radiologique, un prélèvement pour diagnostic histologique s'impose. Les prélèvements se font sous forme de biopsies percutanées mammaires guidées par l'examen clinique, par échographie ou par mammographie. En outre, l'analyse anatomopathologique précise le risque évolutif. Des histologies rares sont possibles comme les lymphomes, les sarcomes, les métastases intra-mammaires d'autres cancers primitifs. Dans la majorité des cas, les cancers du sein sont des **adénocarcinomes** (ou plus couramment carcinomes) canaux ou lobulaires.

L'examen anatomopathologique précisera (53) :

- Sur la biopsie :
 - Le **type** de cancer du sein :
 - carcinome infiltrant de type non-spécifique, également appelé carcinome canalaire infiltrant, dans 75% des cas ;
 - carcinome lobulaire infiltrant dans 15% des cas ;
 - autres formes rares dans 10% des cas.

- Le grade **histopronostique**. Le grade Elston et Ellis, actuellement recommandé en Europe, correspond au grade SBR (*Scarff-Bloom et Richardson*) modifié et permet de subdiviser les tumeurs en 3 grades différents selon 3 critères (architectural, nucléaire et compte mitotique) :

Grade Elston et Ellis	Score	Développement
I	3-5	Lent
II	6-7	Intermédiaire
III	8-9	Rapide

- L'expression **immunohistochimique** des récepteurs hormonaux, ER et PR. Le seuil de positivité retenu en Europe est de 10% d'expression. Leur présence représente un facteur pronostique et prédictif de réponse à l'hormonothérapie.
 - Le statut **HER2** (*Human Epidermal growth factor Receptor 2*). *HER2* est un oncogène qui code pour une protéine transmembranaire de type récepteur tyrosine kinase impliquée dans la survie et la prolifération cellulaire. La recherche d'une surexpression de la protéine HER2 est faite en immunohistochimie (IHC) tandis que l'amplification du gène *HER2* est recherchée par des techniques d'hybridation *in situ* (FISH). Sa surexpression prédit la réponse à certains traitements inhibiteurs de la tyrosine kinase.
 - score 0 ou 1+ : le cancer est HER2-négatif ;
 - score 3+ : le cancer est HER2-positif ;
 - score 2+ : une analyse complémentaire par FISH est nécessaire.
 - Le **Ki67**, une protéine exprimée lors du cycle cellulaire et marqueur de prolifération cellulaire, est également évalué en immunohistochimie.
- Sur la pièce opératoire :
- Le nombre de tumeurs, leur taille ;
 - La présence ou non de métastases ganglionnaires axillaires ;
 - La présence d'embolies vasculaires ;

- La qualité de l'exérèse : l'envahissement des marges d'exérèse augmente le risque de récurrence locale et nécessite une reprise chirurgicale ;
- En cas de chimiothérapie néo-adjuvante (CTNA), cet examen permet d'évaluer l'efficacité du traitement (tumeur résiduelle, atteinte ganglionnaire).

2.3. Épidémiologie

Avec 61 214 nouveaux cas estimés en 2023 en France contre 58 459 en 2018 et 12 146 décès en 2018, le cancer du sein est le **1^{er} cancer** chez la femme, à la fois en incidence et en mortalité, et le 2^{ème} cancer le plus fréquent tous sexes confondus. L'incidence a augmenté entre 1990 et 2018, passant de 30 000 à 58 400 cas par an, une augmentation observée dans toutes les classes d'âge. La mortalité, elle, diminue depuis le début des années 1990 grâce à une meilleure prise en charge et un diagnostic de plus en plus précoce (47). Le taux d'incidence standardisé à la population mondiale a presque doublé, passant de 56,3 pour 100 000 en 1980 à 97,8 pour 100 000 femmes en 2005 avant d'amorcer une baisse pour tendre vers 88 pour 100 000 femmes en 2012. On estime qu'une femme a un peu plus de 12% de probabilité d'être atteinte d'un cancer du sein avant l'âge de 75 ans, l'âge médian au diagnostic étant de 64 ans. 75% des cancers du sein sont diagnostiqués après l'âge de 50 ans et 10% surviennent chez les femmes de moins de 40 ans. Tous stades confondus au moment du diagnostic, le taux de survie des cancers du sein est de 89% à 5 ans.

Dans le monde, on estime le nombre annuel de nouveaux cancers du sein à environ 1,7 million et celui des décès à 500 000 (48). En 2020 le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué au monde, devant le cancer du poumon, avec 2.3 millions de nouveaux cas et 685 000 femmes décédées le plaçant au 5^{ème} rang des cancers les plus mortels (Figure 13). Dans le monde, 1 cas de cancer sur 4 diagnostiqué chez une femme est un cancer du sein (54).

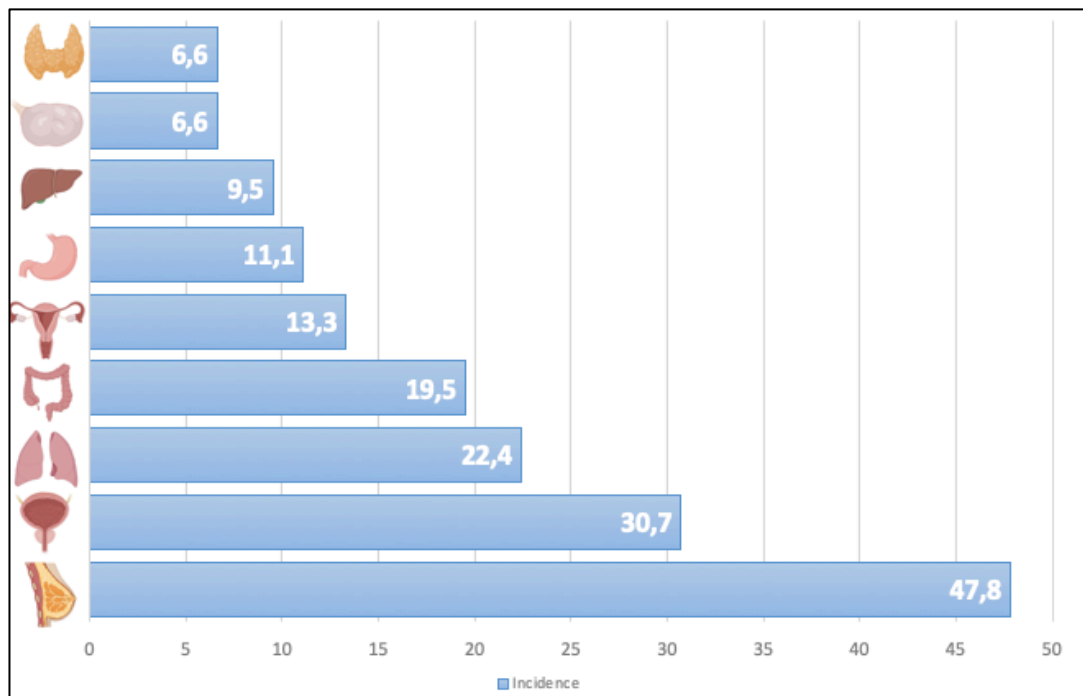


Figure 13 : Taux d'incidence standardisés en fonction de l'âge des cancers dans le monde en 2020, en pourcentage (55)

2.4. Diagnostic

2.4.1. Dépistage organisé

Compte tenu de sa fréquence, le cancer du sein est un problème majeur de santé publique. Le dépistage est donc une étape primordiale de sa prise en charge. On distingue le **dépistage de masse** et le **dépistage individuel** réservé aux femmes ayant des facteurs de risque de cancer du sein. Ils permettent tous les deux le diagnostic du cancer du sein même en l'absence de signe clinique et sont justifiés par son incidence, l'existence d'un test sensible et non invasif et l'impact démontré sur la morbidité et la mortalité des femmes dépistées.

D'après les recommandations nationales du dépistage de masse organisé, il doit être réalisé :

- En l'absence de signe clinique ;
- Par mammographie bilatérale ;
- Avec deux incidences au minimum ;
- Avec double lecture ;
- Tous les deux ans, de 50 à 74 ans.

Un dépistage individuel basé sur une **mammographie**, une **échographie** et une **IRM** (*Imagerie par Résonance Magnétique*) mammaires annuelles est proposé aux femmes à haut risque (celles présentant certaines mutations constitutionnelles à partir de 30 ans par exemple) (Figure 14). La mammographie n'affirme pas le diagnostic et doit être accompagnée d'explorations complémentaires en cas d'image suspecte. Le diagnostic positif sera affirmé par **l'histologie**, il nécessite donc une biopsie avec un examen anatomopathologique. Le diagnostic s'accompagne toujours de l'évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux ER et PR et de HER2 (56).

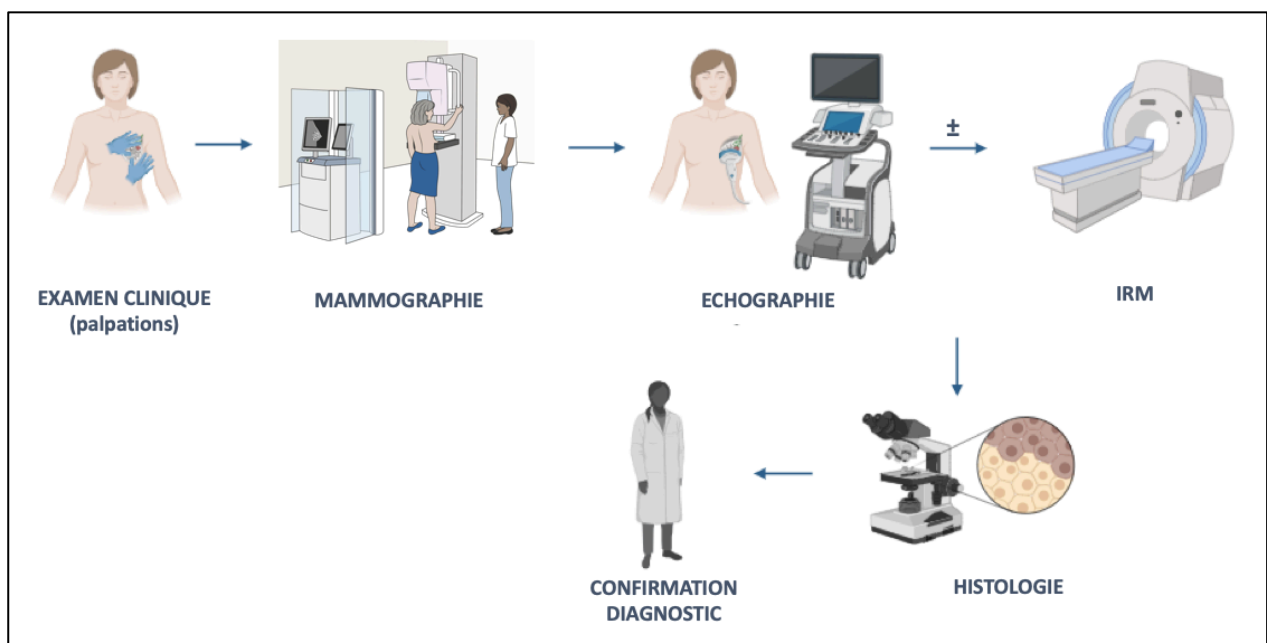


Figure 14 : Parcours diagnostique du cancer du sein

2.4.2. Clinique

L'examen physique du sein comporte une inspection en position assise, les bras ballants puis relevés, puis en décubitus dorsal à la recherche de :

- Déformation cutanée (masse, fossette, méplat cutané) ;
- Anomalies cutanées à caractère inflammatoire (œdème, rougeur, chaleur) ;
- Aspect en peau d'orange ;
- Nodules de perméation, ulcérations ;
- Écoulement du mamelon, uni ou bilatéral, uni ou multipores, spontané ou provoqué, séreux, sanglant, séro-sanglant ou lactescent ;

- Rétractation du mamelon ;
- Modification de l'aspect du mamelon avec notamment l'aspect eczématiforme ;
- Squirrhe mammaire (tumeur dure, épaissement des tissus).

La palpation s'effectue ensuite dans les mêmes positions, en comprimant la glande contre le gril costal par petits mouvements circulaires quadrant par quadrant à la recherche d'une masse. En cas de détection d'une telle lésion, on précisera sa position dans le sein, sa taille, sa dureté, sa mobilité par rapport au plan superficiel et aux plans profonds musculaires. L'examen clinique régional recherche des adénopathies axillaires homolatérales, sous et sus-claviculaires tandis que l'examen clinique général recherche des signes cliniques de métastases très rarement présentes d'emblée. Dans tous les cas, il sera complété par des examens d'imagerie : la mammographie et l'échographie (57).

2.4.3. Imagerie

2.4.3.1. Mammographie

C'est l'examen de référence pour rechercher une lésion du sein, en particulier pour découvrir des lésions infra cliniques, réalisé selon trois incidences. Les seins sont comprimés l'un après l'autre et exposés à une faible dose de rayons X. En cas d'anomalie, pourront être réalisés des clichés agrandis, orthogonaux pour les microcalcifications, ou des clichés localisés après compression pour les opacités. La mammographie bilatérale associée à l'échographie mammaire bilatérale et des aires ganglionnaires sont réalisées systématiquement devant toute suspicion clinique ou radiologique de tumeur mammaire. Deux incidences au minimum sont réalisées, correspondant aux incidences du dépistage de masse : cliché de face (ou crânio-caudal) et cliché oblique (ou oblique externe ou médiolatéral oblique) pour visualiser le prolongement axillaire de la glande mammaire. Des clichés de profil strict, centrés ou agrandis sur l'anomalie détectée peuvent être faits en complément. Les images suspectes à la mammographie peuvent être notamment des opacités spiculées, irrégulières ou des amas de microcalcifications irrégulières, qui évoquent souvent des lésions bénignes. Les images mammographiques sont classées selon la classification BI-RADS (*Breast Imaging-Reporting And Data System*) de l'ACR (*American College of Radiology*) qui comprend 7 niveaux (Tableau III).

ACR	INTERPRÉTATION	RISQUE DE CANCER (%)	CONDUITE À TENIR
ACR 0	Résultats incomplets	/	Investigations complémentaires
ACR 1	Mammographie normale	0	
ACR 2	Anomalies bénignes	0	Pas de surveillance nécessaire
ACR 3	Anomalies probablement bénignes	0-2	Surveillance et biopsie si besoin
ACR 4	Anomalies suspectes de malignité	3-94	Analyse histologique
ACR 5	Anomalies évocatrices d'un cancer	>95	Biopsie chirurgicale
ACR 6	Cancer prouvé histologiquement	100	

Tableau III : Classification selon le système BI-RADS de l'American College of Radiology

La sensibilité de la mammographie est de 90% et elle est supérieure à 95% lorsqu'elle est combinée à l'échographie. Actuellement, la mammographie numérisée permet d'obtenir des clichés de meilleure qualité avec des agrandissements de l'image utiles en particulier en cas de microcalcifications ou de forte densité. On distingue trois grandes entités radiologiques :

- **Opacités** : les critères de malignité à la mammographie ;
- **Microcalcifications** : elles sont analysées selon leur aspect et leur répartition ;
- **Désorganisation architecturale** : convergences fibreuses à l'origine d'une désorganisation de l'architecture (58).

2.4.3.2. Echographie mammaire

L'échographie mammaire est indispensable dans la prise en charge des cancers du sein et elle augmente la sensibilité de la mammographie. Elle est utile au diagnostic de certaines lésions invisibles en mammographie et à l'évaluation de la taille tumorale. En outre, elle permet de guider de nombreux gestes cytologiques ou histologiques et d'évaluer la réponse tumorale en cas de chimiothérapie néo-adjuvante. Néanmoins, sa sensibilité est mauvaise

pour les cancers du sein à un stade précoce, de petite taille et en cas de sein volumineux ou lipomateux. On peut individualiser trois grands espaces échographiques : liquidien, tissulaire bénin et tissulaire malin (53).

2.4.3.3. Imagerie par Résonance Magnétique mammaire

L'IRM mammaire est la technique la plus sensible pour la détection d'un cancer du sein et ce, quelle que soit la densité mammaire. Si l'on ne considère que les cancers infiltrants, la sensibilité de l'IRM est de 91% et la valeur prédictive négative de 94%. Sa sensibilité est en revanche mauvaise pour la détection des lésions intra-canalaires ou fibreuses et sa spécificité est médiocre (40 à 80%) avec de nombreux faux positifs. Il est indispensable de toujours réaliser une échographie ciblée post IRM (ou échographie de seconde intention) sur les anomalies mises en évidence.

L'IRM n'est pas réalisée systématiquement et est réservée à des situations complexes et spécifiques, telles que (53) :

- La recherche d'un « primitif » mammaire devant une adénopathie axillaire maligne lorsque la mammographie et l'échographie ne montrent pas de lésion suspecte ;
- En cas de chimiothérapie néoadjuvante : bilan avant la CTNA et avant la chirurgie ;
- La prévention secondaire des femmes ayant une mutation délétère des gènes BRCA (*BRCA* *Cancer*) ou identifiées à haut risque de cancer du sein en l'absence de mutation identifiée ;
- En cas de discordance clinico-radiologique.
- Chez les patientes jeunes (< 40 ans) ou seins denses non évaluables en mammographie/échographie ;
- La surveillance d'un sein traité en cas de difficulté après un bilan standard complet.

2.4.4. Cas particuliers

Pour les patientes porteuses d'une mutation BRCA1 et BRCA2 ou pour les patientes pour lesquelles aucune mutation n'a été mise en évidence mais dont le risque estimé par l'oncogénéticien de développer un cancer du sein est supérieur à 20%, des mesures de prévention primaires et secondaires doivent être mises en place.

La prévention **primaire** repose sur une proposition de mastectomie bilatérale prophylactique avec une possibilité de reconstruction mammaire immédiate. Le risque de cancer du sein étant linéaire en fonction du temps, il n'est pas possible de définir un âge à partir duquel cette option peut être proposée. La prévention **secondaire**, le dépistage, correspond à la surveillance clinique biannuelle et à la surveillance annuelle par IRM mammaire, échographie mammaire ou mammographie. Il est recommandé de débiter cette surveillance dès l'âge de 30 ans. Toutefois, en cas d'antécédents familiaux de cancer du sein avant 30 ans, on débutera la surveillance 5 ans avant le cas le plus précoce (50).

2.5. Scores pronostiques et classifications moléculaires

Le cancer du sein est un ensemble très hétérogène de pathologies comprenant un grand nombre d'entités biologiques associées à des caractéristiques cliniques, pathologiques et pronostiques très différentes si bien qu'on ne parle pas du cancer du sein mais des cancers du sein. La prise en charge actuelle des cancers du sein, fondée sur une classification histologique et sur des paramètres pronostiques et prédictifs établis, est actuellement remise en question. Dans un futur très proche, les décisions thérapeutiques seront probablement prises en fonction des profils moléculaires tumoraux permettant de prendre en compte les caractéristiques tumorales mais aussi génétiques des individus et ainsi de dispenser des traitements a priori plus efficaces et moins toxiques (53).

La classification histologique du cancer du sein est principalement basée sur le modèle d'expression des HER2 et des récepteurs hormonaux (HR) appelés récepteurs des estrogènes et récepteurs de la progestérone, ainsi que sur le taux de prolifération tumorale, indiqué par le Ki-67, ce qui entraîne la classification des sous-types majeurs suivants (Figure 15) (28) :

- Les tumeurs de type **luminal A** : tumeurs qui expriment fortement les récepteurs aux estrogènes (ER+) et à la progestérone (PR+), HER2-négatif et qui sont peu proliférantes. C'est le sous-type le plus courant et ayant le meilleur pronostic.
- Les tumeurs de type **luminal B** : tumeurs qui expriment plus ou moins intensément les ER et PR, le plus souvent proliférantes. Schématiquement, on considère que ce sont parmi les tumeurs ER+ celles qui ont un pronostic plus défavorable. Elles peuvent être HER2-négatif ou HER2-positif.

- Les tumeurs **non lumineales HER2-positif** : elles sont HER2-positif et récepteurs hormonaux négatifs. Leur pronostic, de même que les lumineales HER2-positif, s'améliore nettement depuis l'avènement des thérapies ciblées anti-HER2.
- Les tumeurs de type **basal** (ou tumeurs triples négatives) : ce sont les tumeurs qui n'expriment aucun des récepteurs (ER- et PR-) et qui sont HER2-négatif. Elles sont de haut grade, expriment des cytokératines de haut poids moléculaires et sont souvent proliférantes et agressives (59).

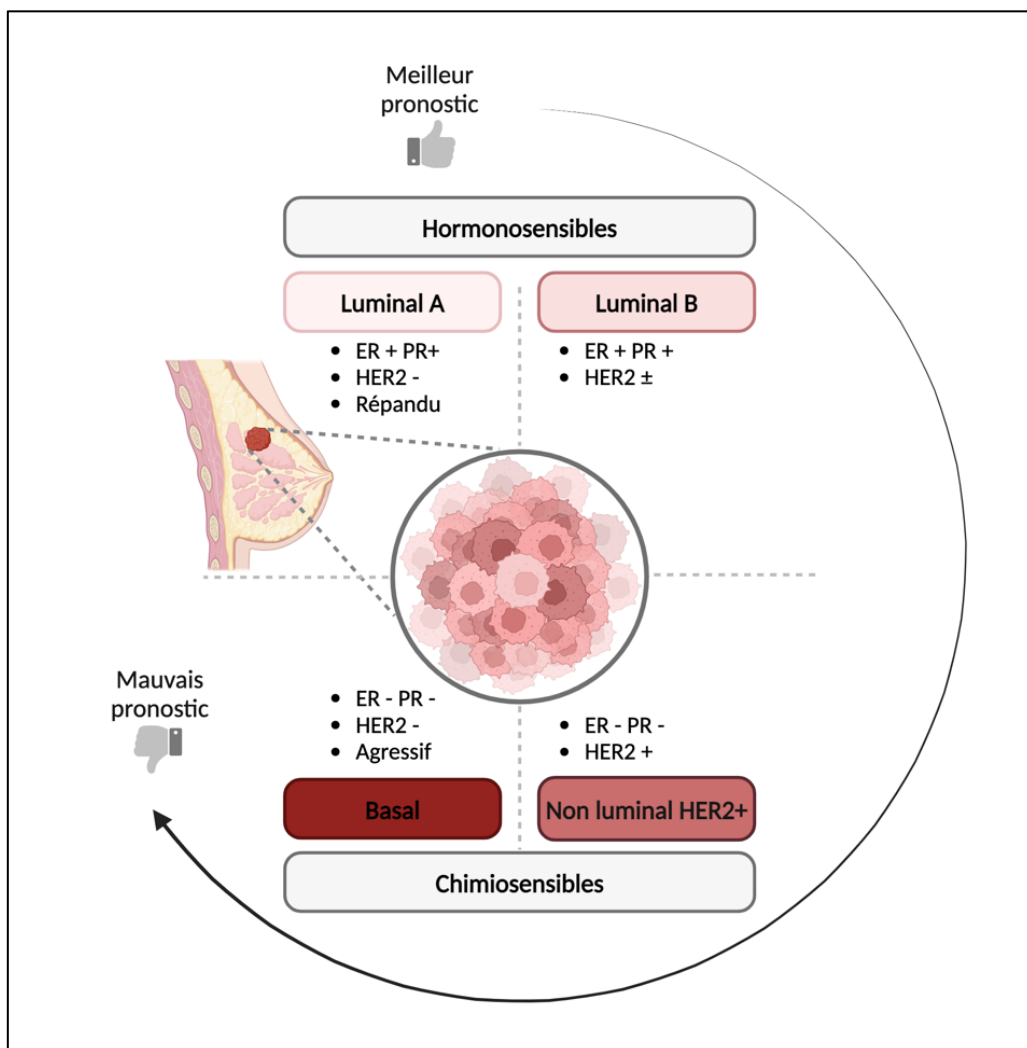


Figure 15 : Les sous-types moléculaires majeurs du cancer du sein

Il existe de grandes différences entre ces différents types de tumeurs concernant les sites de métastases, le profil évolutif ou encore la réponse aux traitements.

Les tumeurs ER+ (luminales A et B) ont un risque de récurrence et de métastases qui se prolonge jusqu'à 10-15 ans. Les tumeurs luminales A donnent rarement des métastases et lorsque c'est le cas, elles sont osseuses dans plus de la moitié des cas. Dans plus de 50% des cas, elles sont de faible grade histologique ce qui explique une réponse très modeste voire nulle à la chimiothérapie mais excellente à l'hormonothérapie.

Les tumeurs ER- (type basal) et les tumeurs non luminales HER2+ ont un risque de récurrence et de métastases qui est maximal dans les 3 premières années. Les premiers sites métastatiques sont le poumon ou le foie dans 80% des cas, on estime à 8% pour l'os. Dans 85% des cas, elles sont de grade histologique élevé ce qui explique une chimiosensibilité élevée.

La survie globale à 5 ans tous stades confondus est de 87%. Dans les stades localisés, le traitement est réalisé dans un but curatif. Malgré un traitement mené selon les recommandations, 15 à 30% des cancers du sein auront une évolution métastatique. Dans les stades métastatiques, le traitement n'est pas réalisé dans un objectif curatif. La survie globale médiane est d'environ 3 ans mais varie de moins de 2 ans (cancers du sein triples négatifs CSTN) à plus de 5 ans (cancers du sein HER2+ et cancers hormono-sensibles) voire à plus de 10 ans dans de rares cas (58).

2.6. Facteurs de risque

De nombreux facteurs de risque ont pu être identifiés. Certains sont liés aux antécédents, à l'âge et au mode de vie (56) :

- L'âge : environ la moitié des cancers du sein survient entre 45 et 65 ans ;
- L'alcool, le tabagisme, le surpoids ;
- Les antécédents familiaux, dont les prédispositions génétiques ;
- Les antécédents personnels de cancer du sein, de carcinome *in situ*, d'hyperplasie atypique ;
- Les antécédents personnels de radiothérapie thoracique.

Le cancer du sein étant le plus souvent hormonodépendant, il est favorisé par toutes les situations d'hyperestrogénie telles que (60) :

- La durée d'exposition aux hormones avec l'âge précoce de la puberté et tardif de la ménopause ;
- La nulliparité ou la primiparité ;
- L'âge tardif de la première grossesse (> 30 ans) ;
- L'absence d'allaitement ;
- L'obésité par le biais d'une aromatisation des androgènes en estrogènes dans les adipocytes *via* l'aromatase ;
- Les traitements hormonaux substitutifs de la ménopause ;
- L'utilisation des contraceptifs estroprogestatifs.

Certains facteurs sont génétiques : les deux principaux gènes identifiés comme facteurs de risque de cancer du sein sont *BRCA1* sur le chromosome 17 et *BRCA2* sur le chromosome 13. Ce sont des gènes suppresseurs de tumeurs impliqués dans la réparation de l'ADN et par conséquent dans le maintien de la stabilité du génome humain. La mutation d'un allèle de l'un de ces deux gènes entraîne une prédisposition à développer des cancers du sein. Les risques pour une femme de développer un cancer du sein sont de 60 à 80% en cas de mutation délétère de *BRCA1* et de 40 à 80% pour une mutation délétère de *BRCA2* (61).

En cas de suspicion de mutation (cancer du sein avant 35 ans, cancer du sein bilatéral ou association cancers du sein et de l'ovaire, antécédents familiaux évocateurs), la patiente sera orientée en consultation d'oncogénétique. Ces mutations sont présentes dans moins de 5% des cas. Une patiente porteuse d'une mutation *BRCA* recevra une surveillance spécifique avec une proposition de mastectomie bilatérale prophylactique. De multiples variants génétiques entraînant un risque avéré ont été décrits à ce jour (56).

3. Démarche thérapeutique actuelle

Dans un premier temps, il est nécessaire de distinguer la prise en charge des cancers *in situ* de celle des cancers **invasifs**. Pour les cancers *in situ*, le risque métastatique est par définition nul mais il existe un risque de récurrence locale et le traitement sera donc essentiellement local. Pour les cancers invasifs, le traitement doit répondre à un double objectif : contrôle local et régional et contrôle de la maladie générale. Si le traitement

locorégional est toujours nécessaire, le traitement général n'est utilisé que lorsqu'il existe un risque significatif de maladie résiduelle et de récurrence. Le traitement local peut être chirurgical ou par radiothérapie et le plus souvent combiné. Le traitement général peut être basé sur une chimiothérapie, sur une hormonothérapie ou encore sur une thérapie ciblée. La stratégie thérapeutique doit être discutée par une équipe multidisciplinaire lors de Réunions de Concertation Pluridisciplinaire (RCP). Pour déterminer les indications thérapeutiques dans les cancers du sein, il faut à l'issue du diagnostic, savoir s'il s'agit d'une forme localisée ou métastatique, s'il s'agit d'un cancer hormono-sensible, HER2 positif ou triple négatif, et avoir défini les facteurs pronostiques.

Dans les stades localisés, le traitement est réalisé dans un but curatif et comprend toujours une chirurgie mammaire potentiellement suivie d'une chirurgie des ganglions axillaires homolatéraux. La chirurgie conservatrice est systématiquement suivie d'une radiothérapie mammaire. En fonction des différents facteurs pronostiques et prédictifs, peuvent être réalisés différents traitements complémentaires tels que des chimiothérapie ou hormonothérapie adjuvantes.

Dans le cas des cancers du sein métastatiques, le traitement ne peut être curatif et est essentiellement basé sur les traitements systémiques. L'objectif des traitements est d'augmenter la survie des patientes et d'améliorer leur qualité de vie. La chirurgie du sein et des ganglions axillaires (procédure du ganglion sentinelle ou curage axillaire) est indiquée dans tous les cas. La radiothérapie est systématique en cas de traitement chirurgical conservateur, en cas de mastectomie, elle sera indiquée selon les facteurs pronostiques de récurrence locorégionale. Les traitements systémiques seront indiqués en fonction des facteurs pronostiques de dissémination métastatique et prédictifs de réponse à un traitement (Figure 16).

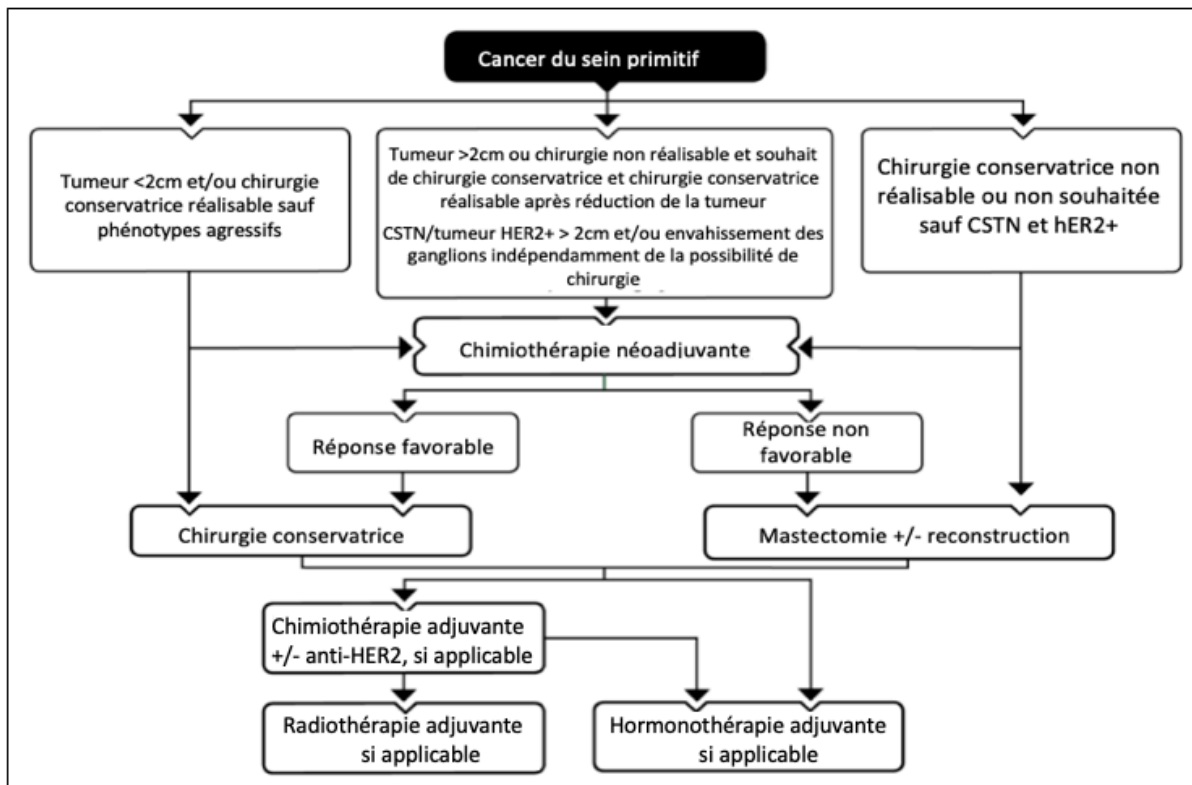


Figure 16 : Arbre décisionnel pour la prise en charge du cancer du sein primitif traduit de l'European Society for Medical Oncology (ESMO) (62)

3.1. Thérapie non médicamenteuse

3.1.1. Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical est le premier temps thérapeutique, permettant le recueil des éléments pronostiques issus de l'examen anatomo-pathologique de la tumeur ainsi que des ganglions axillaires.

3.1.1.1. Traitement chirurgical conservateur

Il consiste en l'exérèse de la tumeur : on parle de tumorectomie ou de mastectomie partielle. En raison du dépistage organisé permettant de diagnostiquer des cancers du sein de petite taille, le traitement conservateur est possible dans 60-65% des cas. En revanche, l'indication de conservation mammaire n'est pas possible en cas d'atteinte multifocale ou de taille supérieure à 3-5 cm en fonction du volume mammaire. Un examen extemporané est systématique pour connaître la nature de la lésion, la taille de la tumeur, le caractère *in sano*

de l'exérèse avec des marges suffisantes pouvant conduire à effectuer des recoupes ou un geste d'exérèse plus large (58).

3.1.1.2. Traitement chirurgical radical ou mastectomie

Il consiste en l'ablation du sein, de son revêtement cutané et du mamelon. L'intervention actuellement pratiquée est la mastectomie radicale de type Patey. Les indications de mastectomie sont les suivantes (50) :

- Tumeur volumineuse (après chimiothérapie néo-adjuvante) dont l'exérèse *in sano* avec des marges de sécurité suffisantes est incompatible avec un résultat esthétique convenable ;
- Lésion multifocale, multicentrique ;
- Cancer intra-canalair étendu, dans ce cas une reconstruction mammaire immédiate peut être envisagée ;
- En cas de récurrence (infiltrante ou *in situ*) : un nouveau traitement conservateur n'est pas indiqué même en cas de lésion de petite taille du fait de l'impossibilité de réaliser une radiothérapie adjuvante sur un sein déjà irradié ;
- Dans les cas où la radiothérapie est impossible rendant le traitement conservateur insuffisant ;
- Cancers du sein inflammatoires, en cas de non réduction ou de réduction insuffisante du volume tumoral après chimiothérapie néo-adjuvante, lorsque le traitement conservateur n'est pas réalisable.

3.1.1.3. Curage ganglionnaire axillaire – technique du ganglion sentinelle

Le curage ganglionnaire homolatéral est un élément essentiel du traitement d'extension, effectué durant la même opération. Tous les ganglions prélevés subiront un examen anatomo-pathologique. Le curage axillaire est la principale cause de morbidité du geste chirurgical, pour éviter toutes complications et en l'absence de signe clinique d'infiltration axillaire, une stratégie de prélèvement des ganglions sentinelles est la règle. Il a pour but de prélever les premiers relais ganglionnaires afin d'épargner un curage extensif et de limiter les effets secondaires. Pour se faire, on injecte la veille de l'intervention un traceur radioactif à proximité de la tumeur, puis le jour de l'intervention un colorant vital et seuls les

ganglions colorés, radioactifs ou cliniquement suspects seront examinés. Toutefois, ce curage présente de nombreuses complications per et post-opératoires précoces (hématome axillaire, lymphocèle, paresthésies,...) (8).

De telles chirurgies entraînent très souvent des complications postopératoires telles que des hématomes, des infections, des lymphorrhées, un symptôme douloureux post-mastectomie, ... Par ailleurs, ces opérations sont effectuées sous anesthésie générale dont les effets indésirables sont nombreux (choc anaphylactique, vomissements, troubles de la mémoire,...) (62).

3.1.2. Radiothérapie

Dans le cancer du sein, la radiothérapie permet de diminuer le risque de récurrence locorégionale, et d'augmenter ainsi la survie globale des patientes. La radiothérapie mammaire est systématique après une chirurgie conservatrice. Elle associe une radiothérapie externe de l'ensemble du sein et un complément d'irradiation du lit tumoral (« *boost* ») par des photons ou des électrons ou une curiethérapie interstitielle. La radiothérapie pariétale (après mastectomie) associée à un complément de dose dans le lit opératoire est indiquée en présence de plusieurs facteurs de mauvais pronostic.

Les schémas thérapeutiques habituels comportent 3 semaines de radiation quotidienne (du lundi au vendredi), totalisant jusqu'à une dose de 40 Gy en 15 fractions. Chez les femmes atteintes d'un cancer à risque élevé (âge <50 ans, grade élevé, marges positives), un complément de radiothérapie au lit tumoral est envisagé, chez celles présentant des ganglions lymphatiques positifs, ce complément cible les ganglions régionaux (64).

La radiothérapie diminue le risque de rechute mais présente malgré tout des effets indésirables tels qu'un érythème cutané, pouvant aller jusqu'à une épidermite exsudative en fin de radiothérapie. Parmi les effets secondaires tardifs (6 mois après la radiothérapie), l'hyperpigmentation, la fibrose mammaire et des douleurs post-thérapeutiques sont les plus fréquentes. Les patientes qui subissent une intervention chirurgicale et une radiation au sein et à l'aisselle sont également à risque de développer un lymphœdème. L'irradiation du creux

sus-claviculaire et de la chaîne mammaire interne entraîne là encore des complications mineures (œdème cutané, sclérose cutanée, douleurs thoraciques modérées,...) et majeures (sclérose du pectoral, fracture de la clavicule, pneumopathie radique,...) (53).

3.2. Thérapie médicamenteuse

3.2.1. Chimiothérapie

La décision d'administrer une chimiothérapie est fondée sur un examen rigoureux de la balance bénéfique/risque d'un tel traitement, de même que sur les comorbidités et les préférences de la patiente. En règle générale, la chimiothérapie est indiquée pour les tumeurs accompagnées de ganglions lymphatiques positifs ou pour celles dont le diamètre est supérieur à 0,5 ou 1 cm, en présence de facteurs pronostiques défavorables. Les cancers infiltrants du sein sont le plus souvent chimio-sensibles. La chimiothérapie standard repose sur l'injection répétée de différents types de molécules (64) :

- Les **anthracyclines**, inhibiteurs de la topoisomérase II et intercalants de l'ADN (doxorubicine, epirubicine) ;
- Les agents **alkylants** (cyclophosphamide) ;
- Les **taxanes**, poisons du fuseau mitotique (paclitaxel, docetaxel) ;
- Les anti-métabolites de type **antipyrimidiques** (5-fluoro-uracile).

Ces molécules ont pour principales toxicités (41) :

- Cardiaques (majoritairement les anthracyclines) ;
- Digestives (mucites, nausées, vomissements, diarrhée) ;
- Hématologiques (anémie, leuconéutropénie, thrombopénie) ;
- Toxicité veineuse justifiant la mise en place d'un site d'accès veineux central ;
- Cutanées (alopécie) ;
- Asthénie, ménopause précoce, altération de la fertilité, aménorrhée chimio-induite ;
- Toxicités unguéales (taxanes) ;
- Neuropathies (taxanes).

On distingue 3 objectifs d'ordre différent (53) :

- En situation **adjuvante** : la chimiothérapie a démontré son efficacité sur la réduction du risque de récurrence locale ou métastatique et l'augmentation de la survie pour les patients soit indemnes d'invasions axillaires mais à haut risque de récurrence, soit ayant un envahissement métastatique des ganglions axillaires ;
- En situation **néoadjuvante** : la chimiothérapie a aussi pour but de réduire la taille de la tumeur et ainsi d'augmenter les possibilités d'un traitement conservateur ;
- En situation **métastatique** : elle améliore la survie sans progression et la survie globale tout en maintenant une bonne qualité de vie mais les guérisons restent exceptionnelles.

3.2.1.1. Chimiothérapie néoadjuvante

La chimiothérapie néoadjuvante (CTNA) est réalisée avant toute intervention chirurgicale en cas de tumeur volumineuse par rapport au volume mammaire ou en cas de cancer du sein localement avancé (cancers du sein inflammatoires) afin de réduire l'étendue de la maladie et permettre une intervention moins lourde. Le traitement de référence est constitué de 4 à 8 cycles sur une durée de 3 à 6 mois : 3 ou 4 cures associant anthracyclines, cyclophosphamide avec ou non du 5-fluoro-uracile puis 3 ou 4 cures de taxanes. Les cures sont classiquement espacées de 3 semaines exception faite du paclitaxel qui est administré de façon hebdomadaire (53).

3.2.1.2. Chimiothérapie adjuvante

Lorsqu'elle est réalisée après la chirurgie, la chimiothérapie est dite adjuvante (CTA). Le traitement adjuvant systémique vise à détruire des micro-métastases qui n'auraient pas été décelées par le bilan d'extension mais dont la probabilité peut être établie en fonction des caractéristiques de la tumeur. Elle est préconisée devant certains critères comme les tumeurs de type luminal B ou triple négatif, un âge inférieur à 35 ans et les tumeurs surexprimant HER2. Elle s'établit selon le même schéma d'administration que la CTNA. Elle commence dans l'intervalle de 8 à 12 semaines après l'intervention chirurgicale. Les schémas chimiothérapeutiques à privilégier comprennent la doxorubicine et le cyclophosphamide, suivis par le paclitaxel pendant 16 à 20 semaines ou encore le docétaxel/cyclophosphamide

pendant 12 semaines (64). En termes de réduction des rechutes et de la mortalité, son efficacité par éradication précoce des micro-métastases est incontestable (53).

3.2.2. Traitements adjuvants anti-hormonaux ou hormonothérapie

Un traitement anti-hormonal (paradoxalement appelé hormonothérapie) est indiqué en cas d'expression des récepteurs hormonaux par la tumeur primitive. La durée est généralement de 5 ans, même si une prolongation peut être discutée chez les femmes dont le cancer est à risque élevé de récurrence. L'objectif est de diminuer l'action des estrogènes et des progestatifs sur les cellules tumorales en agissant soit directement sur les hormones soit indirectement sur leurs récepteurs. Il n'est indiqué qu'en cas d'expression de ces récepteurs par la tumeur primitive ou un site métastatique. Les possibilités reposent sur (58) :

- La suppression de l'activité ovarienne chirurgicale ou par analogue de la GnRH (*Gonadotropin-releasing hormone*) : goséréline ; leuproréline ;
- Les antagonistes des RE : tamoxifène et fulvestrant ;
- Les inhibiteurs de l'aromatase : létrozole, anastrozole, exemestane.

Le tamoxifène réduit la mortalité d'environ 30% et les inhibiteurs de l'aromatase de 15%. Malgré leur efficacité, ils présentent des effets secondaires potentiels : on peut citer des affections thromboemboliques veineuses, des symptômes vasomoteurs jusqu'au cancer de l'endomètre pour le tamoxifène, et myalgie, arthralgie ou encore ostéoporose pour les inhibiteurs d'aromatase (64).

3.2.2.1. Femmes non ménopausées

Le tamoxifène à 20mg/jour pendant 5 à 10 ans est l'hormonothérapie de référence. Il agit par liaison compétitive aux récepteurs aux estrogènes au niveau des cellules mammaires mais possède également des effets estrogéniques sur d'autres tissus (os, endomètre...) d'où son qualificatif SERM (*Selective Estrogen Receptor Modulator*). Le tamoxifène est indiqué chez les patientes non ménopausées ou en périménopause et parfois chez les patientes ménopausées en cas de contre-indication ou de mauvaise tolérance des inhibiteurs de l'aromatase. Un traitement par tamoxifène réduit le risque de récurrence de 50 % au cours des 5 premières années et de 30 % au cours des 5 suivantes mais entraîne certains effets

indésirables tels qu'une majoration des bouffées de chaleur, une prise de poids ou encore des leucorrhées. Les analogues de la GnRH comme la goséréline et la leuproréline sont utilisés chez les femmes de moins de 35 ans. Ils provoquent une hyperstimulation de l'hypophyse inhibant par rétrocontrôle la production de LH (*Luteinizing Hormone*) et de FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) et par conséquent celle d'estrogènes (65).

3.2.2.2. Femmes ménopausées

En plus du tamoxifène, on utilisera chez la femme ménopausée des inhibiteurs de l'aromatase (anastrozole, létrozole, exemestane) qui inhibent ainsi la conversion des stéroïdes surrénaliens (les androgènes dont androstènedione et testostérone) en estrogènes (estrone et estradiol) dans les tissus périphériques. Ils réduisent les taux de mortalité par cancer du sein à 10 ans d'environ 15 % par rapport au tamoxifène, et d'environ 40 % par rapport à l'absence de traitement endocrinien. Les principaux effets secondaires sont à nouveau des bouffées de chaleurs mais aussi une dyslipidémie. Enfin, le fulvestrant, un antagoniste des récepteurs au niveau périphérique, empêche la signalisation des estrogènes dans l'organisme par liaison à leurs récepteurs grâce à sa structure de nature stéroïdienne. Il est bien toléré et entraîne principalement des douleurs au site d'injection et des bouffées de chaleur (65).

Les biphosphonates sont déjà utilisés chez la femme ménopausée pour limiter le risque d'ostéoporose. Dans le traitement du cancer du sein en post-ménopause, leur utilisation peut diminuer la récurrence intra-osseuse et la mortalité. Le schéma thérapeutique comprend des formulations parentérales, comme l'acide zolédronique administré tous les 6 mois ou le clodronate par voie orale pendant 2 à 3 ans (64).

3.2.3. Immunothérapie

Chez les patientes ayant une tumeur HER2+, l'utilisation d'un anticorps monoclonal humanisé anti-HER2, le trastuzumab, a fait preuve de son efficacité en modifiant totalement le pronostic de ce type de tumeur. Il réduit de moitié le risque de récurrence et du tiers le taux de mortalité (64). Il est administré toutes les 3 semaines pendant près d'un an. Sa principale complication est cardiaque notamment quand des anthracyclines ont été utilisées au préalable. Sans anthracycline, l'incidence des complications cardiaques avoisine 1-2% contre 4-6% en cas d'utilisation préalable. Pour cette raison, il est amorcé après la chimiothérapie à

l'anthracycline de manière à ne pas aggraver la cardiotoxicité. Une surveillance cardiaque échographique et/ou isotopique trimestrielle pendant l'administration du trastuzumab est donc indispensable.

D'autres thérapies ciblées anti-HER2 peuvent être proposées comme le pertuzumab, qui peut être pris en même temps que le trastuzumab par les patientes atteintes d'un cancer du sein à risque élevé, le TDM-1 ou encore le lapatinib (un inhibiteur de tyrosine kinase intracellulaire du récepteur HER2) (66).

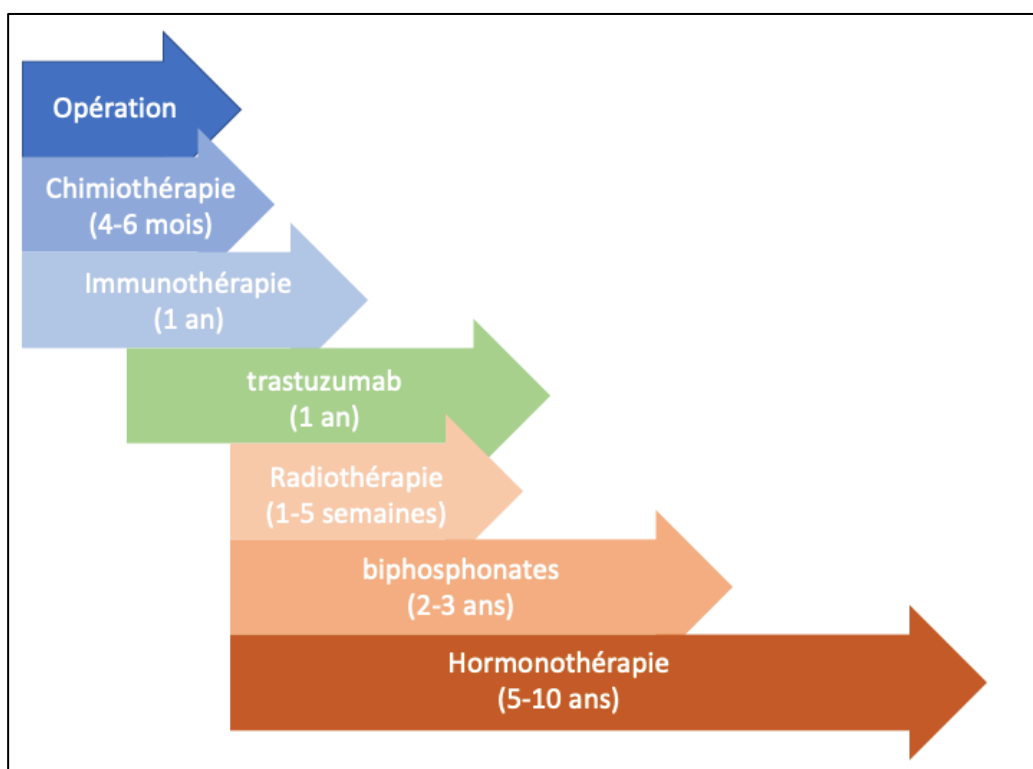


Figure 17 : Cascade des thérapies du cancer du sein

3.2.4. Thérapies ciblées

D'autres thérapies ont vu le jour ces dernières années, beaucoup plus spécifiques que les chimiothérapies vues précédemment puisqu'elles s'attaquent uniquement aux cellules tumorales en ciblant, entre autres, des facteurs de croissance, des facteurs de transcription ou encore des kinases. Certaines de ces thérapies ciblées ont l'AMM dans le cancer du sein métastatique HER2-négatif (41) :

- Inhibiteur de l'angiogénèse (bevacizumab) : un anticorps monoclonal se fixant au VEGFR pour bloquer son activité ;
- Une molécule qui inhibe la voie mTOR impliquée entre autres dans la prolifération cellulaire (évérolimus) ;
- Inhibiteurs du cycle cellulaire (palbociclib, ribociclib) : des molécules qui agissent sur des enzymes impliquées dans le cycle cellulaire, les CDK (*Cyclin-Dependent Kinases*) ;
- Inhibiteurs de PARP (Poly(ADP-ribose)polymérase) (olaparib) : ils bloquent la réparation des cassures simple brin de l'ADN conduisant à la mort cellulaire.

Pour conclure, le cancer du sein est une maladie hétérogène, dont les différents sous-types rendent le traitement complexe. La sensibilité aux traitements est d'autant plus variable que ces sous-types sont nombreux. La mortalité du cancer du sein est notamment due à la résistance aux traitements développée chez de nombreuses patientes qui limite leur efficacité thérapeutique. Dans ce contexte, les thérapies cellulaires constituent des solutions alternatives et innovantes et apportent avec elles de nouveaux espoirs dans la prise en charge du cancer du sein.

PARTIE 3 : L'AVENIR DES THÉRAPIES CELLULAIRES DANS LE CANCER DU SEIN

1. Des applications en pleine croissance

Parmi les thérapies cellulaires décrites plus tôt, certaines se démarquent dans le champ de l'oncologie et laissent à penser que des applications dans le traitement des cancers du sein sont envisageables. C'est le cas, entre autres, de la thérapie par cellules CAR-T.

1.1. Les cellules CAR-T

Pour développer la thérapie cellulaire CAR-T dans le cancer du sein, il a d'abord fallu mettre en évidence les antigènes associés à ces tumeurs. Les cibles potentielles pour les CAR-T dans le cancer du sein sont divisées en trois classifications basées sur leur modèle d'expression :

- les antigènes spécifiques de la tumeur (TSA),
- les antigènes associés aux tumeurs (TAA),
- les antigènes germinaux du cancer (CGA).

Les TSA sont les antigènes tumoraux les plus pertinents, s'exprimant uniquement à la surface des cellules tumorales. Les TAA sont plus enrichis sur les cellules tumorales que sur les tissus normaux où leur expression est limitée mais leur utilisation présente malgré tout un risque d'effets indésirables par erreur de ciblage. L'expression des CGA est limitée aux tissus somatiques adultes (testicules et ovaires). La majorité des cibles des CAR-T utilisées dans le cancer du sein sont des TAA, leur surexpression est par ailleurs souvent associée à de mauvais résultats cliniques. Parmi eux, les plus courants sont les protéines de surface et les récepteurs à activité tyrosine kinase (28).

1.1.1. Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)

Les RTK modulent les activités cellulaires cruciales telles que la prolifération, la différenciation, le métabolisme et la survie après activation par des facteurs de croissance ou des hormones. La stimulation des RTK déclenche l'activation des voies de signalisation jouant un rôle essentiel dans le développement des cellules tumorales. Dans le cancer du sein, on note une hyperactivation de plusieurs RTK, notamment HER2 et EGFR, et certains d'entre eux sont utilisés en tant que cibles de la thérapie cellulaire CAR-T (28).

1.1.1.1. Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER2)

Le HER2 appartient à la famille HER/ERBB de la famille des RTK. Une fois activé, il déclenche diverses voies de signalisation pour favoriser l'expression de gènes à l'origine de métastases tumorales. Plusieurs types de tumeurs sont liés à son dysfonctionnement : dans le cancer du sein, 20 à 30 % des patientes présentent une surexpression du gène HER2 corrélée à de mauvais résultats cliniques, un mauvais pronostic et une progression de la maladie, ce qui en fait une cible intéressante pour les traitements du cancer du sein (28).

Dans certaines études précliniques, les cellules CAR-T anti-HER2 ont démontré une inhibition significative de la croissance tumorale voire même une éradication totale de la tumeur mammaire chez la souris (Figure 18) (67). En 2015, un essai clinique de phase I/II a été initié pour évaluer l'innocuité et l'efficacité à court et long terme des cellules CAR-T anti-HER2 injectées à des patientes présentant un cancer du sein HER2+. Plus récemment en 2020, un essai clinique de phase I/II a permis d'étudier l'activité et la survie des cellules CAR-T multicibles (68).

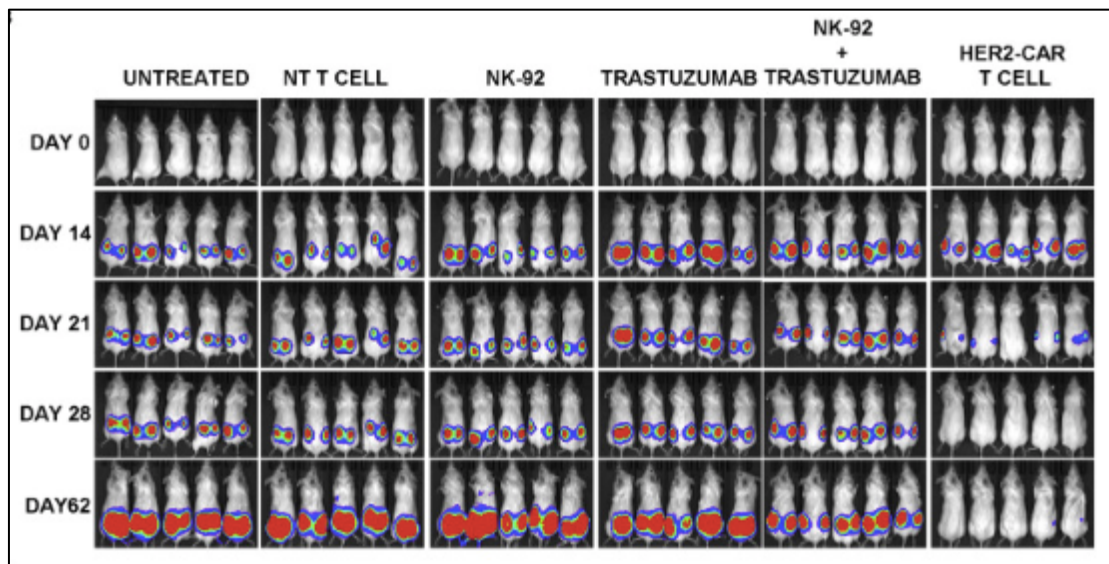


Figure 18 : Croissance tumorale chez la souris traitée par HER2-CAR-T suivie par bioluminescence (67) - Après inoculation de la tumeur (cellules JIMT-1), les souris ont reçu une injection de cellules HER2-CAR-T à J14. Les souris non traitées ont reçu 100 μ l de tampon PBS deux fois par semaine, ou 100 μ g de trastuzumab dans 100 μ l de PBS pour le groupe trastuzumab.

1.1.1.2. Epidermal Growth factor Receptor (EGF-R)

L'EGF-R, ou HER1, appartient également à la famille ERBB. Une fois activé, il déclenche les mêmes voies de signalisation que HER2. Le cancer du sein est associé à une surexpression de l'EGF-R chez environ 15 à 30 % des patientes, principalement dans le cancer du sein triple négatif (28). Des essais précliniques *in vitro* utilisant des cellules CAR-T anti-EGFR ont montré des effets antitumoraux et cytotoxiques dans des cultures de cellules de cancer du sein triple négatif (69).

1.1.1.3. Hepatocyte Growth Factor Receptor (HGFR)

L'activation du HGFR permet de réguler la progression tumorale en contrôlant la différenciation, la prolifération, la migration et l'apoptose des cellules. Sa surexpression est impliquée dans 20 à 30 % des cancers du sein (28). Dans une étude de 2018 effectuée sur 15 patientes, l'injection intra-tumorale de cellules CAR-T dirigées contre ce récepteur entraînait une nécrose tumorale avec une faible toxicité (70).

1.1.1.4. Récepteur orphelin 1 de type tyrosine kinase (ROR1)

Des niveaux d'expression élevés de ROR1 sont observés dans quelques cancers malins comme le cancer du sein. Sa surexpression entraîne une résistance à la chimiothérapie par la suractivation de pompes d'efflux de médicaments ATP-dépendantes (28). Dans une étude de 2019, l'utilisation de CAR-T anti-ROR1 dans des modèles de tumeurs microphysiologiques 3D de cancer du sein a présenté une activité cytolytique et une sécrétion de cytokines favorisant la destruction de la tumeur (Figure 19) (71).

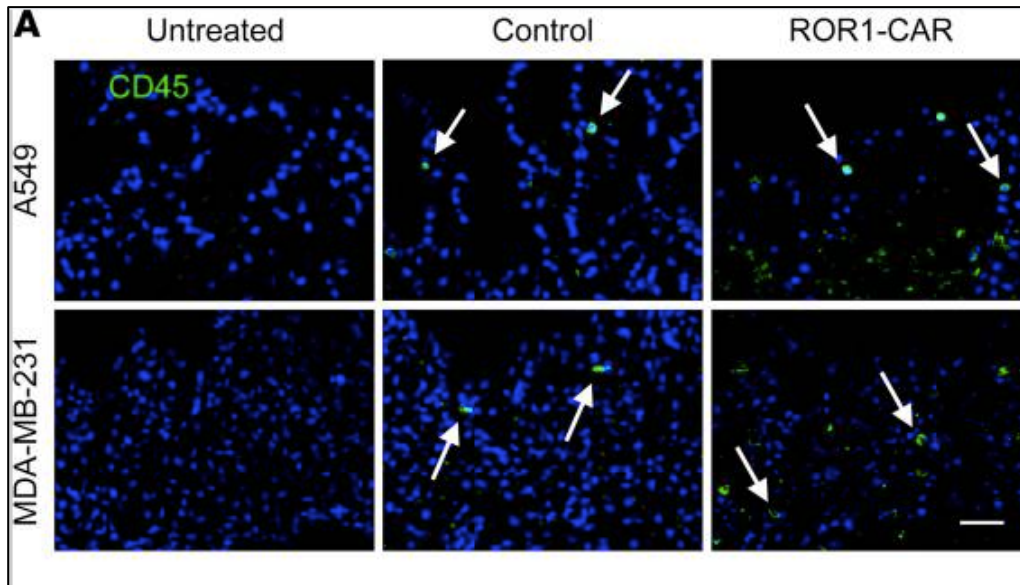


Figure 19 : Coloration par immunofluorescence de cellules tumorales sur modèles 3D (71) Coupes en paraffine de modèles de tumeurs dynamiques (lignée cellulaire de cancer du sein MDA-MB-231) traitées avec des lymphocytes T témoins ou des cellules ROR1-CAR-T. Les noyaux sont contre-colorés au DAPI : nette diminution du nombre de cellules (en bleu) traitées avec des CAR-T.

1.1.2. Protéines de surface cellulaire

A ce jour, plusieurs protéines de surface présentent une expression aberrante dans le cancer du sein et certaines d'entre elles pourraient être utilisées dans le cadre de la thérapie cellulaire par CAR-T.

1.1.2.1. Mucine 1 (MUC1)

Cette glycoprotéine transmembranaire est généralement exprimée sur la face apicale des cellules épithéliales et sécrète du mucus pour créer une barrière chimique visant à protéger les cellules hôtes d'une infection pathogène. Sa surexpression et un profil de glycosylation modifié ont été constatés dans près de 90 % des cancers du sein. Ces anomalies sont à l'origine de la migration et de la progression de la tumeur (28). Dans une étude préclinique récente, la deuxième génération de CAR-T anti-MUC1 a entraîné de manière significative une forte libération de cytokines et de chimiokines *in vitro* et a inhibé la croissance tumorale de 9 lignées cellulaires de cancer du sein triple négatif (72).

1.1.2.2. Mésothéline (MSLN)

Sa surexpression a été observée dans diverses tumeurs solides, dont le cancer du sein, et active certaines voies de signalisation intracellulaires à l'origine du développement de la tumeur. Les cellules CAR-T ciblant la MSLN déclenchent des réponses immunitaires en libérant des cytokines, et présentent une forte cytotoxicité vis à vis des lignées cellulaires cancéreuses et semblent même inhiber la croissance tumorale et les métastases dans les modèles murins (73).

1.1.2.3. CD70 et CD44v6

Le facteur co-stimulateur CD70 présente une surexpression dans plusieurs tumeurs solides. Son activation permet de réguler la prolifération cellulaire, la survie et la différenciation lymphocytaire. Des cellules CAR-T ciblant à la fois CD70 et B7-H3 (ou CD276, protéine transmembranaire présente à la surface des cellules tumorales) ont démontré une inhibition de la tumeur en induisant la libération de cytokines et la cytolysse (74).

La glycoprotéine de surface cellulaire CD44v6 est impliquée dans la prolifération, la motilité et la survie cellulaire en activant des voies de signalisation contrôlant l'apoptose. Un essai clinique concernant les cellules CAR-T anti-CD44v6 est en cours (28).

1.1.2.4. Molécule d'adhésion des cellules épithéliales (EpCAM)

Cette protéine de surface cellulaire glycosylée est surexprimée dans le cancer du sein. Des études ont prouvé que les cellules CAR-T anti-EpCAM induisaient davantage de libération de cytokines pro-inflammatoires et présentaient des effets apoptotiques et cytotoxiques plus forts dans les cellules cancéreuses (75).

1.1.2.5. Chondroïtine sulfate protéoglycane 4 (CSPG4)

La CSPG4 est une protéine transmembranaire surexprimée dans plusieurs tumeurs, dont le cancer du sein. Les CAR-T ciblant CSPG4 ont présenté des effets cytotoxiques et une production accrue de cytokines *in vitro*. Elles ont également inhibé la progression tumorale en bloquant certaines voies de signalisation (76).

1.1.2.6. Molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM1)

L'ICAM1 est une glycoprotéine de surface appartenant à la superfamille des immunoglobines. Elle joue un rôle dans la régulation des activités cellulaires telles que l'adhésion et la migration et sa surexpression a été observée dans plusieurs types de cancer du sein. Des études *in vitro* ont mis en évidence l'apoptose de cellules cancéreuses par les cellules CAR-T anti-ICAM1 et d'autres études *in vivo* sur modèles murins ont révélé une inhibition de la croissance tumorale par ces mêmes cellules (Figure 20) (77).

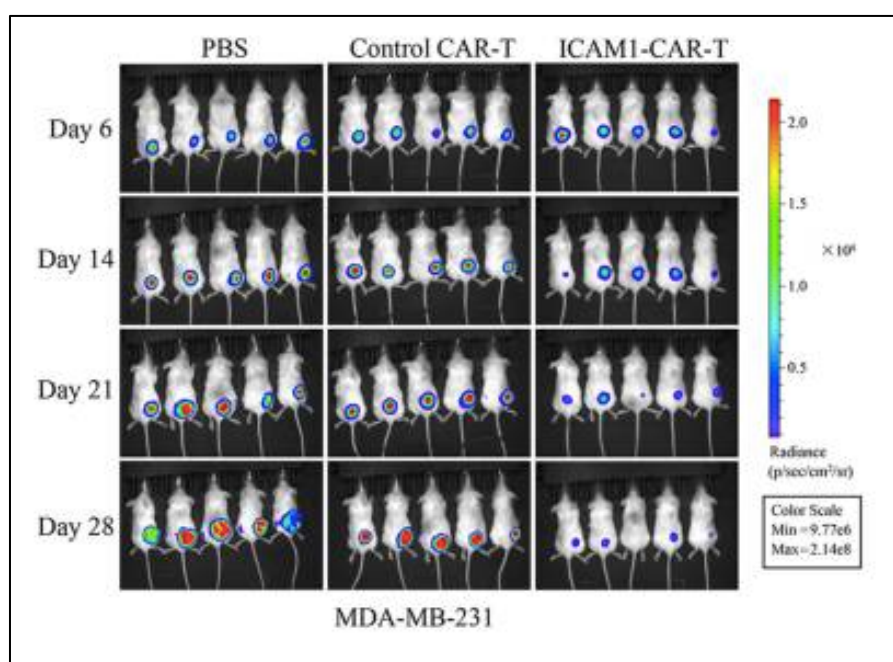


Figure 20 : Croissance tumorale chez la souris traitée par ICAM1-CAR-T suivie par bioluminescence (77). Effet antitumoral des cellules CAR-T spécifiques d'ICAM1 dans des modèles de xénogreffe (lignée cellulaire de cancer du sein MDA-MB-231) de J6 à J28.

1.1.2.7. Disialoganglioside (GD2)

Le GD2 est un glycosphingolipide facilitant l'interaction entre les cellules tumorales et les protéines de la matrice extracellulaire. Sa surexpression est à l'origine de la formation de tumeurs chez la souris. Les cellules CAR-T ciblant GD2 ont démontré des effets antitumoraux significatifs dans le cancer du sein : ces cellules ont reconnu les cellules cancéreuses GD2+ et les ont lysées *in vitro*, si bien que des essais cliniques testant la sécurité et l'efficacité de ces CAR-T sont en cours (78).

Parmi les 19 antigènes étudiés comme cibles potentielles pour les cellules CAR-T dans le cancer du sein, 12 ont atteint le stade des essais cliniques. Parmi les RTK, HER2 est la cible la plus fréquemment utilisée puisque 4 thérapies cellulaires CAR-T anti-HER2 sont à l'étude. Les résultats ont mis en évidence une bonne tolérance de l'injection intra-tumorale et des effets antitumoraux par la libération de cytokines inflammatoires au sein de la tumeur. Des études cliniques sont en cours pour 6 protéines de surface dont 3 en phase I pour la mésothéline. Les résultats n'ont pas tous été rendus publics et de plus amples recherches sont attendues pour justifier de l'utilisation des CAR-T dans le traitement du cancer du sein (68).

Les défis de la thérapie cellulaire mentionnés plus tôt sont également d'actualité pour les cellules CAR-T. On peut mentionner les problématiques suivantes (28) :

- Une infiltration insuffisante : qui pourrait être résolue par une injection intra-tumorale ;
- Un microenvironnement immunosuppresseur : le microenvironnement tumoral est faible en oxygène et en nutriments et donc limite la survie des cellules CAR-T ;
- Une hétérogénéité inter et intra-tumorale : les différents antigènes cités ont des niveaux d'expression variables et entraînent des réponses thérapeutiques inégales ;
- Des effets indésirables sur les tissus sains : la toxicité des cellules CAR-T peut endommager les tissus sains soit par ciblage erroné de cellules saines, soit par libération de grandes quantités de cytokines lors de la lyse cellulaire.

Ces défis sont loin d'être insurmontables puisque des stratégies sont déjà en cours d'élaboration comme le développement de cellules CAR-T multicibles, de cellules iCAR inhibant leur propre effet cytotoxique lorsqu'elles atteignent des cellules saines ou encore l'introduction de gènes suicide dans les CAR-T.

1.2. Les cellules souches mésenchymateuses

Les CSM ont un tropisme élevé pour les sites tumoraux, il paraît donc intéressant d'étudier leur rôle thérapeutique dans certaines tumeurs solides comme le cancer du sein. Néanmoins, alors que certaines études ont montré que les CSM présenteraient des activités anti-tumorales en supprimant le cycle cellulaire, en inhibant la prolifération cellulaire, en induisant l'apoptose et en favorisant l'infiltration des cellules immunitaires, d'autres ont

révélé qu'elles favoriseraient la progression tumorale en induisant la croissance cellulaire, la prolifération, les métastases et la résistance aux médicaments (79).

Ces divergences peuvent être expliquées par des cellules cancéreuses d'origines différentes, la variabilité des donneurs de cellules souches ou encore des conditions expérimentales variables (79). En outre, il a été mis en évidence qu'elles exercent des effets anti-tumoraux lorsque le nombre de cellules tumorales est faible et ont des effets favorisant la tumeur lorsque ce nombre est élevé (80). Leurs propriétés sont donc actuellement à l'étude pour en faire de potentiels acteurs dans la prise en charge du cancer du sein.

1.2.1. Des cellules souches mésenchymateuses génétiquement modifiées

En introduisant des gènes suppresseurs de tumeurs, des gènes suicides ou encore des gènes codant pour des cytokines dans les CSM, on parvient à inhiber la croissance tumorale, à induire l'apoptose et à activer les réponses immunitaires. Ces CSM modifiées ont fait l'objet d'une étude sur modèle murin et ont conduit à l'élimination des tumeurs chez un tiers des sujets, sans récurrence tumorale après 6 mois de traitement (81).

Une autre étude consistait à utiliser des CSM surexprimant des cytokines, ou d'autres composants immunitaires, telles que l'IFN- β . Il a été prouvé que les CSM modifiées étaient capables de sécréter l'IFN- β pendant une longue période et induisaient l'apoptose dans les cellules cancéreuses. Dans ces deux études, l'utilisation de CSM modifiées a conduit à l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses (Figure 21) (82).

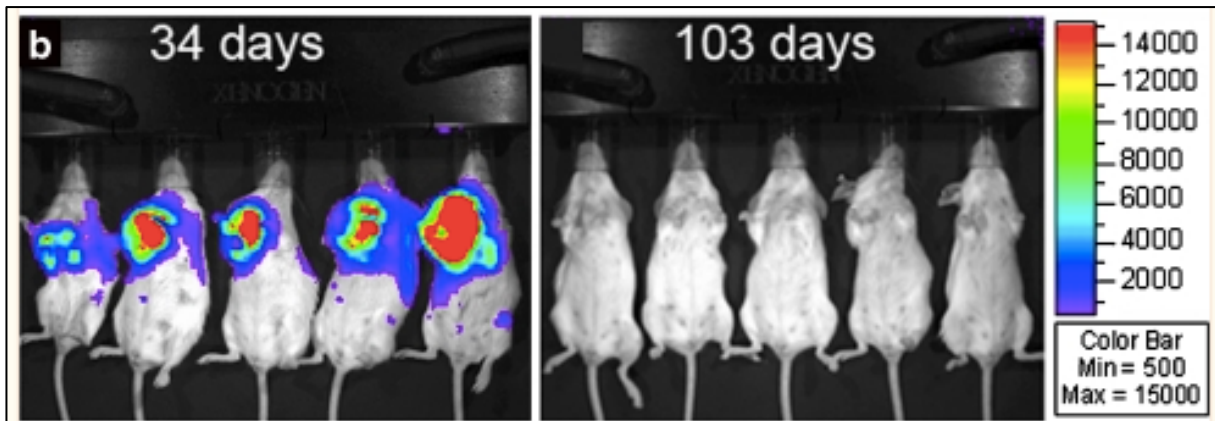


Figure 21 : Croissance tumorale chez la souris traitée par CSM suivie par bioluminescence (82) Après inoculation de cellules de tumeurs de stade T1, les souris ont reçu une injection IV de CSM/IFN- β /Green Fluorescent Protein. Les souris porteuses de tumeur T1 traitées avec CSM/IFN- β /GFP démontrent une augmentation statistiquement significative de la survie et elles n'avaient aucune tumeur du sein détectable jusqu'à 103 jours après l'injection de CSM.

1.2.2. Les effets paracrines des CSM

Une des propriétés des cellules souches mésenchymateuses est la sécrétion physiologique de vésicules extracellulaires, notamment des exosomes. Ces vésicules sphériques d'une taille allant de 40 à 100 nm peuvent transporter diverses substances biologiques (ARN, protéines, lipides, ...) et permettent la communication intercellulaire. Il a été démontré que ces exosomes dérivés de CSM génétiquement modifiées exprimaient également le gène transfecté et inhibaient la prolifération des cellules cancéreuses (83).

1.2.3. Cellules souches mésenchymateuses adipeuses

Les CSM présentent également un avantage dans la prise en charge du cancer du sein post-traitement. En effet, dans le cadre de la reconstruction mammaire, l'utilisation de CSM adipeuses associée à une greffe de graisse autologue a permis de réduire le temps de cicatrisation accompagné d'un résultat esthétique plus naturel (79).

1.3. Les cellules NK

Les cellules NK, en tant que cellules du système immunitaire inné, ont la capacité de détruire les cellules cancéreuses spontanément, autrement dit indépendamment d'un antigène. En outre, ces cellules sécrètent une grande quantité de cytokines inflammatoires

empêchant l'angiogenèse tumorale. Elles peuvent être fabriquées à partir de NK primaires, de cellules souches et de lignées cellulaires clonales.

Les cellules tumorales ont développé des stratégies pour éviter l'attaque du système immunitaire : notamment par l'expression de HLA-E qui est un inhibiteur de point de contrôle. Le récepteur de cette protéine, le NKG2A, est présent sur la surface des cellules NK et la liaison HLA-E/NKG2A entraîne une inhibition de la réponse immunitaire médiée par les cellules NK.

Ainsi, l'édition génomique de NKG2A afin de réduire, voire supprimer, son expression a permis aux cellules NK de résister aux signaux inhibiteurs des tumeurs et ainsi de retarder la croissance tumorale dans un modèle xénogénique de cancer du sein (84).

1.4. La thérapie TIL

Les TIL, ou lymphocytes T infiltrant la tumeur, ont pour fonction de détruire les cellules cancéreuses. Il a été prouvé qu'une concentration plus élevée de TIL au sein de la tumeur était associée à une survie plus longue dans les cas de cancers du sein triple négatif et HER2+. Trois essais cliniques sont actuellement en cours pour évaluer l'utilisation des TIL autologues dans le cancer du sein, le principe étant de prélever les lymphocytes T chez la patiente et de les réinjecter après sélection puis amplification afin d'améliorer leur action sur le site tumoral (68).

1.5. Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont les principales cellules présentatrices d'antigènes. Elles jouent un rôle régulateur majeur dans l'immunité protectrice contre des agents pathogènes. Ces cellules peuvent donc être utilisées pour déclencher l'immunité anti-tumorale en chargeant des antigènes tumoraux qui, une fois présentés et reconnus par les lymphocytes T, activeront leur activité cytotoxique.

Divers essais cliniques sont en cours pour le traitement de plusieurs sous-types de cancer du sein, notamment HER2+ ER+. Comme le gène suppresseur de tumeur p53 est très souvent muté et surexprimé chez les patientes atteintes du cancer du sein, l'injection de cellules dendritiques portant cette protéine permet de déclencher une plus forte réaction

immunitaire contre les cellules tumorales. C'est cette stratégie qui est actuellement à l'étude dans un essai clinique de phase I/II afin de déterminer son efficacité en association avec une chimiothérapie et une radiothérapie. HER2 présente également un intérêt particulier pour cette thérapie, des essais cliniques sont en cours afin d'évaluer l'efficacité de l'association de cellules dendritiques HER2 avec une chimiothérapie (68).

1.6. La piste des vésicules extracellulaires

Les tumeurs sécrètent des vésicules extracellulaires dont on sait qu'elles contribuent aux interactions entre le système immunitaire et les cellules cancéreuses. Dans une étude de l'Institut Curie de 2022, il a été prouvé que les vésicules extracellulaires sécrétées par les cellules de cancer du sein triple négatif présentaient à leur surface le facteur de croissance CSF1 (*Colony Stimulating Factor 1*).

En contact avec les monocytes, ce CSF1 permet non seulement leur survie mais également leur différenciation vers des sous-populations de macrophages présentant un profil d'expression de gènes inhabituel et distinct de celui des autres macrophages avec des caractères pro-inflammatoires voire anti-tumoraux (Figure 22). Il apparaît également que la survie des patientes est meilleure lorsque l'expression de ces gènes induite par le contact avec ces vésicules extracellulaires est plus forte. Ces découvertes sont telles qu'elles ont fait l'objet d'une demande de brevet (85).

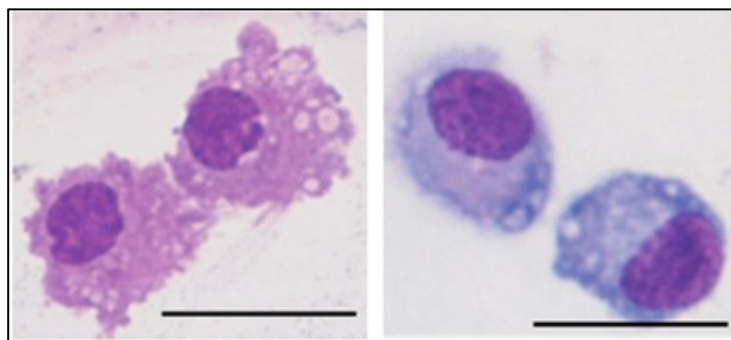


Figure 22 : Analyse des différences morphologiques de macrophages au microscope optique (85) Macrophages après exposition aux vésicules extracellulaires (à gauche) et macrophages après exposition à d'autres composants sécrétés par les cellules tumorales (à droite).

Cette revue présente une liste non exhaustive des travaux en cours dans le domaine des thérapies cellulaires appliquées aux cancers du sein. Si les différents exemples cités plus tôt ouvrent des perspectives vers de nouvelles stratégies thérapeutiques contre ces cancers, de nombreux obstacles restent encore à surmonter pour envisager leur développement à grande échelle, notamment financiers.

2. Des défis à relever pour l'avenir

2.1. Soutien à la recherche et au développement

La France possède un modèle de recherche hospitalo-universitaire performant principalement financé par le Ministère chargé de la santé, par l'Agence Nationale de la Recherche pour les laboratoires publics et par la Banque Publique d'Investissement BPI France pour les entreprises privées. Pour répondre aux défis majeurs de santé, actuels et à venir (le vieillissement de la population, l'explosion des maladies chroniques et neurodégénératives,...), il est essentiel que le Ministère chargé de la santé maintienne son action dans le domaine de la recherche. Pour cela, il assure le pilotage de grands programmes afin de financer des équipes de recherche *via* des appels à projets nationaux. L'objectif est de soutenir des projets qui contribuent au progrès médical, qu'il soit technique ou économique, et d'améliorer l'efficacité du système de soins par le perfectionnement des pratiques et de la prise en charge.

Ces appels à projets concernent 5 programmes couvrant les champs de la recherche clinique, translationnelle, infirmière et paramédicale, médico-économique et sur la performance du système de soins :

- Programme de recherche translationnelle (PRT)
- Programme hospitalier de recherche clinique (PHRC)
- Programme de recherche médico-économique (PRME)
- Programme de recherche sur la performance du système de soins (PREPS)
- Programme hospitalier de recherche infirmière et paramédicale (PHRIP)

C'est par l'intermédiaire de ces programmes que les chercheurs, une fois les résultats précliniques obtenus, financent les premiers essais cliniques. Cependant, les thérapies

cellulaires ne concernent qu'un faible nombre des projets retenus. En effet, les financements restent insuffisants pour mettre en œuvre de telles recherches (86).

Ainsi, depuis plusieurs années, le gouvernement français cherche à positionner la France en leader des biothérapies et de la bioproduction de thérapies innovantes. Dans cette optique, en 2022, Frédérique Vidal, alors Ministre de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, et Agnès Pannier-Runacher, la Ministre déléguée chargée de l'Industrie, ont lancé la Stratégie d'accélération « Biothérapies et bioproduction de thérapies innovantes ».

Inscrit dans le Plan Innovation Santé 2030, ce programme a pour objectif de produire dix biomédicaments contre les cancers et les maladies chroniques, dont celles liées à l'âge. Au total, des investissements à hauteur de 7,5 milliards d'euros sont prévus pour faire de la France la première nation européenne innovante et souveraine en santé, dont 800 millions en particulier pour soutenir le développement de nouvelles biothérapies et accompagner le développement des partenaires industriels afin de ne plus dépendre à 95 % des biothérapies étrangères (87).

En 2013, le Laboratoire Français du fractionnement et des Biotechnologies a inauguré *Cell4Cure*, un projet ayant pour objectif de développer le premier plateau technique français d'industrialisation des thérapies cellulaires dédié à la fabrication de produits de thérapie cellulaire, autologues et allogéniques, en grand nombre, dans un cadre réglementaire de médicaments de thérapie innovante. Cet établissement pharmaceutique, sous-traitant la production de cellules en conditions BPF, propose un ensemble de services, des essais pré-cliniques jusqu'à la mise sur le marché (88).

Par ailleurs, l'Association Française contre les Myopathies (AFM), créée en 1958, a fondé en 2011 l'Institut des Biothérapies pour les maladies rares qui regroupe 600 experts en thérapies innovantes répartis dans plusieurs laboratoires dont le Généthon (implanté à Évry avec l'unité INSERM 951) et I-Stem (Institut des Cellules souches pour le traitement des maladies monogéniques, implanté à l'Université d'Évry, Inserm/AFM). L'AFM Téléthon soutient de nombreuses équipes de recherche impliquées dans la thérapie génique, la thérapie cellulaire et les études pharmacologiques. Il s'agit d'études fondamentales mais aussi

de développements précliniques. L'AFM-Téléthon soutient actuellement près de 30 essais cliniques de thérapie génique ou cellulaire dans le domaine des maladies neuromusculaires mais aussi des déficits immunitaires, des maladies monogéniques et des maladies rétiniennes (3).

En 2016, l'association a développé sa filiale Yposkesi, une plateforme industrielle pour la production de thérapies cellulaire et génique. Elle répond ainsi aux besoins des laboratoires de l'AFM-Téléthon (Généthon et I-Stem) ainsi qu'à ceux des acteurs académiques et industriels pour le développement de bioprocédés, la production de lots cliniques et la diffusion post-AMM (89).

Outre le défi économique majeur auquel sont confrontées ces nouvelles thérapeutiques, un autre obstacle de taille doit être étudié : le manque d'infrastructures adaptées à ces thérapies dans les établissements de santé français. Il s'agit là d'un défi d'avenir pour notre système de soins et notre souveraineté sanitaire.

2.2. Adaptation des établissements de santé

Pour pouvoir administrer de tels traitements, notamment les cellules CAR-T, les établissements de santé doivent répondre à des critères précis tels que décrits dans l'arrêté du 28 mars 2019. Ils doivent disposer d'une unité de soins intensifs permettant l'accueil des patients et d'une Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) assurant l'approvisionnement, la gestion, la préparation, le contrôle et l'administration des traitements. Toutes les étapes du circuit sont encadrées par le pharmacien hospitalier, accompagné d'un personnel préalablement formé (90).

Comme expliqué dans la première partie de ce travail, les cellules de départ doivent être collectées dans une unité de cytophérèse à l'hôpital. En tant que « fournisseurs » de matière premières, les hôpitaux français doivent à ce titre se soumettre à des examens de la part des industriels détenteurs de l'AMM, on parle d'audits. Une accréditation selon le référentiel JACIE (*Joint Accreditation Committee of International Society for Cellular Therapy and European Bone Marrow Transplantation*) du programme de greffe de CSH est souvent exigée par ces industriels. Les cellules collectées sont ensuite contrôlées puis expédiées, *via* une Unité de Thérapie Cellulaire et après obtention d'une autorisation d'exportation, vers le

site de fabrication du médicament final. Sur site, les cellules subissent le processus de fabrication décrit plus tôt avant d'être retournées vers l'hôpital d'origine où le produit fini sera administré au patient (Figure 23).

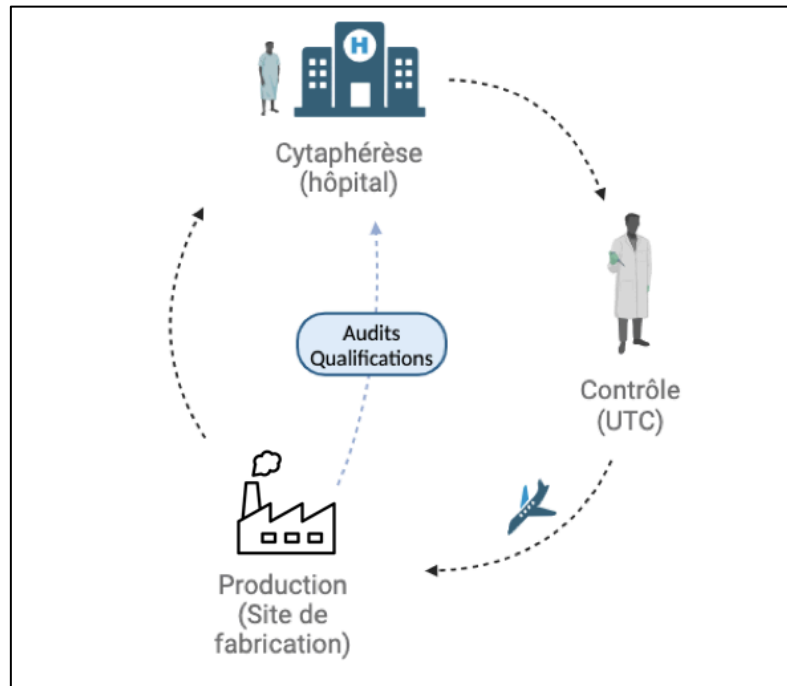


Figure 23 : Schéma du processus de fabrication d'un médicament de thérapie cellulaire

Réglementairement, il s'agit à ce stade d'un médicament dont la réception et le stockage relèvent de la responsabilité d'un pharmacien hospitalier exerçant dans une PUI. Le conditionnement du produit, sous forme cryopréservée, nécessite le recours à une installation de cryobiologie sécurisée, dont les PUI sont encore trop rarement dotées. Par ailleurs, ce stockage en cuve d'azote nécessite une formation spécifique aux risques liés à l'azote. C'est le rôle du pharmacien d'assurer la formation du personnel impliqué dans le circuit du MTI : nature du produit, complexité du circuit, conservation,

Dans le cadre des thérapies à cellules CAR-T, il doit en outre rédiger un manuel d'assurance qualité pour la mise en place du circuit au sein de la pharmacie et dans le service de soins. Toutes les étapes du circuit du MTI doivent être retranscrites sur des procédures validées et dont les équipements devront également obtenir une qualification par le fournisseur. Ce dernier organise plusieurs visites sur le site d'aphérèse, dans le service de soins et à la PUI : elles donnent lieu à l'habilitation ou non des établissements de santé à traiter les

patients par cellules CAR-T. Il est évident que la bonne prise en charge des patients nécessite une étroite coordination entre tous les acteurs impliqués. Une équipe pluridisciplinaire assure la prévention, le suivi et la gestion des effets indésirables liés à l'administration des cellules CAR-T (91).

Pour des raisons évidentes, on peut s'interroger sur la possibilité de produire, à petite échelle, ces cellules CAR-T directement dans l'établissement de santé, par des équipes hospitalières ou associées à des équipes d'autres institutions publiques. La production par des structures académiques de ces MTI constituant des médicaments expérimentaux évalués dans le cadre de protocoles de Recherche Impliquant la Personne Humaine (RIPH) représente une alternative à cette « dépendance » vis-à-vis de l'industrie pharmaceutique. Néanmoins, de nombreuses conditions doivent être réunies, dont les plus importantes (91) :

- disposer d'un procédé ou d'un produit original protégé par la propriété intellectuelle ;
- disposer d'une infrastructure de production autorisée par les autorités sanitaires françaises : établissement pharmaceutique ou établissement autorisé à produire des MTI expérimentaux ou des MTI-PP (Médicaments de Thérapie Innovante Préparés Ponctuellement) respectant les BPF.

Si, en théorie, cette possibilité simplifierait sans doute les circuits de production et de distribution en réduisant les délais entre l'aphérèse et l'administration mais aussi les coûts financiers ; en pratique, des incertitudes persistent sur la viabilité financière à long terme de ces infrastructures financées par les ressources propres des hôpitaux français, dont la gestion financière est très souvent critiquée.

CONCLUSION

De nombreux signaux positifs augurent le fait que les thérapies cellulaires auront leur place dans l'arsenal thérapeutique du XXI^{ème} siècle. La médecine ne cesse d'évoluer et entraîne avec elle de nombreuses innovations thérapeutiques. En Europe comme dans le monde, l'industrie pharmaceutique connaît depuis plusieurs années un renouveau : les biothérapies.

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde (54). Sa variabilité rend son traitement complexe, encore plus avec l'augmentation des résistances aux thérapeutiques actuelles, la recherche de nouvelles solutions est donc un enjeu crucial. Un dépistage rigoureux associé à la découverte d'antigènes de plus en plus spécifiques du cancer du sein pourraient être les facteurs d'une avancée considérable de la prise en charge de cette pathologie et, à terme, en réduire la mortalité.

En utilisant des cellules immunitaires déjà présentes dans le corps humain, les thérapies cellulaires ont déjà prouvé leur efficacité dans les hémopathies malignes. Depuis plusieurs années, les Médicaments de Thérapie Innovante ont pu offrir une nouvelle vie à de nombreux patients souffrant de maladies graves, et souvent sans traitement. Les cellules CAR-T ont également apporté de nouvelles options thérapeutiques en oncologie pour certains patients réfractaires et/ou en rechute. Les biothérapies offrent donc un regain d'espoir pour le traitement de tumeurs solides telles que le cancer du sein. La combinaison de MTI tels que les thérapies cellulaires associés à des traitements plus traditionnels pourraient potentialiser leurs effets.

Bien que les obstacles restent nombreux, notamment leur coût de production très élevé ou encore les craintes concernant l'aspect éthique, il est d'intérêt majeur de poursuivre les études cliniques ayant pour sujet les thérapies cellulaires. Les essais cliniques prometteurs détaillés au cours des précédents développements doivent être poursuivis afin notamment d'appréhender au mieux le fonctionnement de ces thérapies : on pourra ainsi affiner leurs indications et les orienter vers des sous-groupes de patients précis pour, *in fine*, lutter plus efficacement contre les cancers du sein.

A ce stade des connaissances et de l'avancée des essais cliniques des thérapies cellulaires, on peut conclure qu'elles ont déjà bien des indications, et que d'autres suivront afin de les installer durablement dans le paysage thérapeutique moderne.

Le Doyen de l'UFR de Pharmacie,

Christiane FORESTIER

Le président du Jury,

Ghislain GARRAIT

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Centre Paul Strauss. Comprendre le cancer [Internet]. Centre Paul Strauss. Disponible sur: <https://www.centre-paul-strauss.fr/comprendre-le-cancer/histoire-et-definition#:~:text=D'o%C3%B9%20vient%20le%20mot,s'%C3%A9tendent%20%C3%A0%20la%20peau>.
2. thérapie cellulaire. In: Larousse [Internet]. Larousse Médical. Disponible sur: https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/th%C3%A9rapie_cellulaire/187752
3. Louis Buscail. La thérapie génique - De la genèse d'une thérapie innovante à l'ADN médicament. GRANCHER. (Collection ABC).
4. Alain, Fisher. Thérapie cellulaire - Auto-immunité, auto-inflammation, quand le système immunitaire se trompe de cibles ! [Internet]. 2015 juin 16; Amphithéâtre Guillaume Budé, Site Marcelin Berthelot. Disponible sur: [https://www.college-de-france.fr/agenda/cours/auto-immunite-auto-inflammation-quand-le-systeme-immunitaire-se-trompe-de-cibles/therapie-cellulaire-1#:~:text=La%20th%C3%A9rapie%20cellulaire%20moderne%20existe,\(lymphocytes%20T%20et%20NK\)](https://www.college-de-france.fr/agenda/cours/auto-immunite-auto-inflammation-quand-le-systeme-immunitaire-se-trompe-de-cibles/therapie-cellulaire-1#:~:text=La%20th%C3%A9rapie%20cellulaire%20moderne%20existe,(lymphocytes%20T%20et%20NK)).
5. Stéphane Korsia-Meffre. Médecine régénérative : comment passer de l'espoir à la pratique médicale ? [Internet]. VIDAL. 2017. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/22310-medecine-regenerative-comment-passer-de-l-espoir-a-la-pratique-medecine.html>
6. Diabète de type 1 : élaboration de la thérapie cellulaire [Internet]. Fondation Recherche Médicale. [cité 20 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.frm.org/recherches-autres-maladies/diabete/diabete-de-type-1-la-therapie-cellulaire-pour-soigner-le-diabete>
7. Thérapie cellulaire : Greffer des cellules souches pour soigner durablement [Internet]. Inserm. [cité 12 juill 2017]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/therapie-cellulaire/>
8. Institut National du Cancer. Recommandations et outils d'aide à la pratique - Cancer du sein [Internet]. e-cancer.fr. 2022. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Recommandations-et-outils-d-aide-a-la-pratique/Cancers-du-sein>
9. Maud Dumas. Thérapie cellulaire : la médecine de demain, dès aujourd'hui [Internet]. Le Devoir. Disponible sur: <https://www.ledevoir.com/bis/567151/therapie-cellulaire-la-medecine-de-demain-des-aujourd-hui#:~:text=La%20m%C3%A9decine%20du%20si%C3%A8cle&text=Elle%20prend%20avantage%20des%20cellules,b%C3%A9n%C3%A9fiques%20%C3%A0%20des%20fins%20th%C3%A9rapeutiques>.
10. Genethon. Thérapie cellulaire [Internet]. genethon.fr. 2021. Disponible sur: https://www.genethon.fr/app/uploads/2021/04/13-Therapie_cellulaire.pdf
11. Cellules souches adultes [Internet]. CliniSciences. [cité 19 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.clinisciences.com/lire/cellules-souches-adultes-1295.html>
12. Vainchenker W, Reiffers J. Thérapie cellulaire. Paris: John Libbey Eurotext; 2004. 98 p.

(Collection FMC).

13. Le Manuel MSD. Transplantation de cellules-souches hématopoïétiques [Internet]. Le Manuel MSD. [cité 17 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/immunologie-troubles-allergiques/transplantation/transplantation-de-cellules-souches-h%C3%A9matopo%C3%AF%C3%A9tiques>
14. Haute Autorité de Santé. CASGEVY (exagamglogène autotémcel) - β -thalassémie dépendante des transfusions (TDT) [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2024 [cité 24 janv 2024]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3490695/fr/casgev-y-exagamglogene-autotemcel-thalassemie-dependante-des-transfusions-tdt
15. Physiologie de l'hématopoïèse [Internet]. Soins-infirmiers. [cité 15 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.soins-infirmiers.com/ifs/ue-2.2-cycles-de-la-vie-et-grandes-fonctions/physiologie-hematopoiese>
16. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. juill 1981;292(5819):154-6.
17. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science*. 6 nov 1998;282(5391):1145-7.
18. INSERM. Thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque : première implantation de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires humaines [Internet]. Inserm. 2015 [cité 20 janv 2024]. Disponible sur: <https://presse.inserm.fr/therapie-cellulaire-de-linsuffisance-cardiaque-premiere-implantation-de-cellules-cardiaques-derivees-de-cellules-souches-embryonnaires-humaines/17502/>
19. INSERM. Cellules souches embryonnaires humaines Un formidable outil pour la recherche biomédicale [Internet]. Inserm. 2017 [cité 15 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/cellules-souches-embryonnaires-humaines/>
20. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*. nov 2007;131(5):861-72.
21. Abbott M, Ustoyev Y. Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Semin Oncol Nurs*. oct 2019;35(5):150923.
22. INSERM. Immunothérapie des cancers Agir sur le système immunitaire pour lutter contre la maladie [Internet]. Inserm. 2023 [cité 27 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/immunotherapie-cancers/>
23. Boissonnas A, Fetler L, Amigorena S. La stratégie des lymphocytes T cytotoxiques dans l'élimination d'une tumeur solide. *médecine/sciences*. juin 2007;23(6-7):570-2.
24. CHUV Département d'oncologie. Thérapie cellulaire par transfert de lymphocytes T [Internet]. CHUV Département d'oncologie. [cité 27 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/oncologie/onc-home/patients-et-familles/la-maladie-et-ses-traitements/traitements/therapie-cellulaire-par-transfert-de-lymphocytes-t>
25. Gorabi AM, Hajighasemi S, Sathyapalan T, Sahebkar A. Cell transfer-based

immunotherapies in cancer: A review. IUBMB Life. avr 2020;72(4):790-800.

26. Bensaude O. La synthèse protéique commence dans le noyau. médecine/sciences. août 2003;19(8-9):775-8.

27. Rubio MT, Galaine J, Borg C, Daguindau É. Biologie, concepts et principes des CAR-T cells. Bull Cancer (Paris). déc 2018;105:S135-46.

28. Yang YH, Liu JW, Lu C, Wei JF. CAR-T Cell Therapy for Breast Cancer: From Basic Research to Clinical Application. Int J Biol Sci. 2022;18(6):2609-26.

29. Dr Hue-Tran Hornig-Do. L'histoire du cancer - la thérapie cellulaire T CAR. Fish Sci [Internet]. Disponible sur: <https://www.fishersci.fr/fr/scientific-products/publications/lab-reporter/2022/issue-4/car-t-cell-therapy.html>

30. Les cellules CAR-T [Internet]. Gustave Roussy. Disponible sur: <https://www.gustaveroussy.fr/fr/les-cellules-car-#:~:text=Ces%20cellules%20sont%20responsables%20de,et%20d%C3%A9truire%20les%20cellules%20tumorales.>

31. Wang V, Gauthier M, Decot V, Reppel L, Bensoussan D. Systematic Review on CAR-T Cell Clinical Trials Up to 2022: Academic Center Input. Cancers. 4 févr 2023;15(4):1003.

32. Nguyen S, Lacan C, Roos-Weil D. 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). oct 2021;108(10):S81-91.

33. Novartis Pharma SAS. Thérapies géniques et cellulaires [Internet]. [therapies-geniques-cellulaires.fr](https://www.therapies-geniques-cellulaires.fr). 2022. Disponible sur: <https://www.therapies-geniques-cellulaires.fr/comprendre-les-therapies-geniques-et-cellulaires>

34. Habib S, Tariq SM, Tariq M. Chimeric Antigen Receptor-Natural Killer Cells: The Future of Cancer Immunotherapy. Ochsner J. 2019;19(3):186-7.

35. Bernard PL, Laletin V, Pastor S, Nunès JA, Guittard G. Une piste en immunothérapie du cancer: Cibler la signalisation des cellules NK. médecine/sciences. oct 2020;36:50-5.

36. Mordor Intelligence. Analyse de la taille et de la part du marché de la thérapie cellulaire - Tendances et prévisions de croissance (2023 - 2028) Source: <https://www.mordorintelligence.com/fr/industry-reports/cell-therapy-market>. [cité 10 janv 2024]; Disponible sur: <https://www.mordorintelligence.com/fr/industry-reports/cell-therapy-market>

37. BioSpace. Taille du marché de la thérapie cellulaire, TCAC, tendances | Rapport prévisionnel 2022-2030. 7 juill 2022 [cité 10 janv 2024]; Disponible sur: <https://www.biospace.com/article/cell-therapy-market-size-cagr-trends-forecast-report-2022-2030/>

38. Alliance For Regenerative Medicine. Alliance for Regenerative Medicine Annual Report Highlights Record Sector Growth and Resilience in 2020. 13 mars 2021 [cité 10 janv 2024]; Disponible sur: <https://alliancerm.org/sector-report/2020-annual-report>

39. INSERM. (IPS) Un outil formidable pour la recherche... qui va révolutionner les nouvelles thérapies [Internet]. Inserm. 2017 [cité 26 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/cellules-souches-pluripotentes-induites->

- Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* mai 2021;71(3):209-49.
55. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory [Internet]. [cité 11 janv 2024]. Disponible sur: <https://gco.iarc.fr/>
 56. Cancer du sein [Internet]. Santé Publique France. 2022. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers/cancer-du-sein>
 57. Le Manuel MSD. Troubles du sein. In: Le Manuel MSD-Version pour les professionnels de la santé. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/gyn%C3%A9cologie-et-obst%C3%A9trique/troubles-du-sein/%C3%A9valuation-des-troubles-du-sein>
 58. Pr Charles Coutant. Cancérologie - Onco-hématologie : Tumeurs du sein. 2019.
 59. Bertucci F, Finetti P, Rougemont J, Charafe-Jauffret E, Cervera N, Tarpin C, et al. Gene Expression Profiling Identifies Molecular Subtypes of Inflammatory Breast Cancer. *Cancer Res.* 15 mars 2005;65(6):2170-8.
 60. Weiderpass, Stewart. World Cancer Report : Cancer Research for Cancer Prevention. Wild CP; 2020. (World Cancer Reports).
 61. Cowppli-Bony A, Colonna M, Ligier K, Jooste V, Defossez G, Monnereau A, et al. Épidémiologie descriptive des cancers en France métropolitaine : incidence, survie et prévalence. *Bull Cancer (Paris).* juill 2019;106(7-8):617-34.
 62. European Society for Medical Oncology. Breast Cancer Pocket Guidelines 2023. [cité 12 janv 2024]; Disponible sur: <https://interactiveguidelines.esmo.org/esmo-web-app/toc/index.php?subjectAreald=8>
 63. Al-Hilli Z, Wilkerson A. Breast Surgery. *Surg Clin North Am.* oct 2021;101(5):845-63.
 64. Wilkinson AN. Démystifier le cancer du sein. *Can Fam Physician.* juill 2023;69(7):e149-53.
 65. Burguin A, Diorio C, Durocher F. Breast Cancer Treatments: Updates and New Challenges. *J Pers Med.* 19 août 2021;11(8):808.
 66. Haute Autorité de Santé. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique - Cancer du sein. janv 2010;
 67. Sun M, Shi H, Liu C, Liu J, Liu X, Sun Y. Construction and evaluation of a novel humanized HER2-specific chimeric receptor. *Breast Cancer Res.* juin 2014;16(3):R61.
 68. Gautam N, Elleson KM, Ramamoorthi G, Czerniecki BJ. Current State of Cell Therapies for Breast Cancer. *Cancer J Sudbury Mass.* 1 août 2022;28(4):301-9.
 69. Liu Y, Zhou Y, Huang KH, Li Y, Fang X, An L, et al. EGFR-specific CAR-T cells trigger cell lysis in EGFR-positive TNBC. *Aging.* 4 déc 2019;11(23):11054-72.
 70. Tchou J, Zhao Y, Levine BL, Zhang PJ, Davis MM, Melenhorst JJ, et al. Safety and Efficacy of Intratumoral Injections of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in Metastatic Breast Cancer. *Cancer Immunol Res.* 1 déc 2017;5(12):1152-61.
 71. Wallstabe L, Göttlich C, Nelke LC, Kühnemundt J, Schwarz T, Nerreter T, et al. ROR1-CAR T cells are effective against lung and breast cancer in advanced microphysiologic 3D tumor models. *JCI Insight.* 19 sept 2019;4(18):e126345.
 72. Zhou R, Yazdanifar M, Roy LD, Whilding LM, Gavrill A, Maher J, et al. CAR T Cells

Targeting the Tumor MUC1 Glycoprotein Reduce Triple-Negative Breast Cancer Growth. *Front Immunol.* 24 mai 2019;10:1149.

73. Li Y, Xiao F, Zhang A, Zhang D, Nie W, Xu T, et al. Oncolytic adenovirus targeting TGF- β enhances anti-tumor responses of mesothelin-targeted chimeric antigen receptor T cell therapy against breast cancer. *Cell Immunol.* févr 2020;348:104041.

74. Yang M, Tang X, Zhang Z, Gu L, Wei H, Zhao S, et al. Tandem CAR-T cells targeting CD70 and B7-H3 exhibit potent preclinical activity against multiple solid tumors. *Theranostics.* 2020;10(17):7622-34.

75. Zhou Y, Wen P, Li M, Li Y, Li X. Construction of chimeric antigen receptor-modified T cells targeting EpCAM and assessment of their anti-tumor effect on cancer cells. *Mol Med Rep* [Internet]. 3 juill 2019 [cité 14 janv 2024]; Disponible sur: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2019.10460>

76. Harrer DC, Dörrie J, Schaft N. CSPG4 as Target for CAR-T-Cell Therapy of Various Tumor Entities—Merits and Challenges. *Int J Mol Sci.* 26 nov 2019;20(23):5942.

77. Wei H, Wang Z, Kuang Y, Wu Z, Zhao S, Zhang Z, et al. Intercellular Adhesion Molecule-1 as Target for CAR-T-Cell Therapy of Triple-Negative Breast Cancer. *Front Immunol.* 23 sept 2020;11:573823.

78. Seitz CM, Schroeder S, Knopf P, Krahl AC, Hau J, Schleicher S, et al. GD2-targeted chimeric antigen receptor T cells prevent metastasis formation by elimination of breast cancer stem-like cells. *Oncol Immunology.* 1 janv 2020;9(1):1683345.

79. Gentile P. Breast Cancer Therapy: The Potential Role of Mesenchymal Stem Cells in Translational Biomedical Research. *Biomedicines.* 19 mai 2022;10(5):1179.

80. Gauthaman K, Yee FC, Cheyyatraivendran S, Biswas A, Choolani M, Bongso A. Human umbilical cord wharton's jelly stem cell (hWJSC) extracts inhibit cancer cell growth in vitro. *J Cell Biochem.* juin 2012;113(6):2027-39.

81. Amara I, Pramil E, Senamaud-Beaufort C, Devillers A, Macedo R, Lescaille G, et al. Engineered mesenchymal stem cells as vectors in a suicide gene therapy against preclinical murine models for solid tumors. *J Controlled Release.* oct 2016;239:82-91.

82. Ling X, Marini F, Konopleva M, Schober W, Shi Y, Burks J, et al. Mesenchymal Stem Cells Overexpressing IFN- β Inhibit Breast Cancer Growth and Metastases through Stat3 Signaling in a Syngeneic Tumor Model. *Cancer Microenviron.* déc 2010;3(1):83-95.

83. O'Brien KP, Khan S, Gilligan KE, Zafar H, Lalor P, Glynn C, et al. Employing mesenchymal stem cells to support tumor-targeted delivery of extracellular vesicle (EV)-encapsulated microRNA-379. *Oncogene.* avr 2018;37(16):2137-49.

84. André P, Denis C, Soulas C, Bourbon-Caillet C, Lopez J, Arnoux T, et al. Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. *Cell.* déc 2018;175(7):1731-1743.e13.

85. Tkach M, Thalmensi J, Timperi E, Gueguen P, Névo N, Grisard E, et al. Extracellular vesicles from triple negative breast cancer promote pro-inflammatory macrophages associated with better clinical outcome. *Proc Natl Acad Sci.* 26 avr 2022;119(17):e2107394119.

86. Ministère du travail, de la santé et des solidarités. Les programmes financés par le ministère et leurs appels à projets [Internet]. [sante.gouv.fr](https://sante.gouv.fr/systeme-de-sante/innovation-et-recherche/l-innovation-et-la-recherche-clinique/appels-a-projets/programmes-recherche). [cité 20 févr 2024]. Disponible sur: <https://sante.gouv.fr/systeme-de-sante/innovation-et-recherche/l-innovation-et-la-recherche-clinique/appels-a-projets/programmes-recherche>
87. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. Investir dans la France 2030 : devenir un leader de la production de thérapies innovantes [Internet]. [Enseignementsup-recherche.gouv.fr](https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr). [cité 20 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/fr/investir-dans-la-france-2030-devenir-un-leader-de-la-production-de-therapies-innovantes-83050>
88. LFB. INVESTISSEMENT MAJEUR DU GROUPE LFB EN THÉRAPIE CELLULAIRE [Internet]. [groupe-lfb.com](https://www.groupe-lfb.com). [cité 22 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.groupe-lfb.com/actualites/investissement-majeur-groupe-lfb-therapie-cellulaire/>
89. AFMTéléthon. Les essais et traitements développés avec notre soutien [Internet]. [afm-telethon.fr](https://www.afm-telethon.fr). 2023 [cité 22 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.afm-telethon.fr/fr/l-association/nos-actions-pour-guerir/les-essais-et-traitements-developpes-avec-notre-soutien>
90. Décret n° 2019-489 du 21 mai 2019 relatif aux pharmacies à usage intérieur [Internet]. 2019-489 mai 21, 2019. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000038496476>
91. Chabannon C, Larghero J. Réglementations applicables aux CAR-T cells : comment les établissements de santé français peuvent-ils s'organiser pour participer à la production et permettre la délivrance de ces immunothérapies innovantes ? Bull Cancer (Paris). déc 2018;105:S198-204.

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés ;

D'actualiser mes connaissances ;

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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa Dignité ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.*

Résumé :

Depuis plusieurs années, l'industrie pharmaceutique connaît un renouveau : les biothérapies, qui désignent les médicaments issus de substances d'origine biologique. Parmi elles, les thérapies cellulaires bousculent le champ des possibles. Ces Médicaments de Thérapie Innovante reposent sur la greffe de cellules saines, modifiées ou non, en remplacement de cellules déficientes ou en quantité insuffisante. Déjà utilisées pour le traitement des hémopathies ou de certaines pathologies neurodégénératives, les thérapies cellulaires font l'objet de nombreuses études afin d'accroître leurs domaines d'application.

La présente thèse examine le rôle émergent de ces thérapies dans la prise en charge du cancer du sein, maladie qui demeure une cause majeure de décès chez les femmes. En explorant les avancées récentes dans ce domaine, elle met en lumière les possibilités offertes par cette nouvelle technologie pour répondre aux besoins médicaux non satisfaits et améliorer l'efficacité des traitements.

Mots-clés :

- Thérapies cellulaires
- Biothérapies
- Médicaments de Thérapie Innovante
- Cancer du sein
- Cellules CAR-T