



HAL
open science

Place des CAR cells dans la prise en charge des patients atteints de neuroblastome réfractaire ou en rechute

Alexandre Armand

► **To cite this version:**

Alexandre Armand. Place des CAR cells dans la prise en charge des patients atteints de neuroblastome réfractaire ou en rechute. Médecine humaine et pathologie. 2024. dumas-04806994

HAL Id: dumas-04806994

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04806994v1>

Submitted on 27 Nov 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 MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
par

ARMAND, Alexandre

Présentée et soutenue publiquement le 14 octobre 2024

**PLACE DES CAR CELLS DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS
ATTEINTS DE NEUROBLASTOME RvFRACTAIRE OU EN RECHUTE**

Directeur de thèse : Madame GREZE Victoria, Docteur, CHU Clermont-Ferrand
(Service d'Hémo-Oncologie Pédiatrique)

Président du jury : Madame KANOLD Justyna, Professeur, UFR de Médecine et des
Professions paramédicales de Clermont-Ferrand, CHU Clermont-Ferrand (Service
d'Hémo-Oncologie Pédiatrique)

Membres du jury : Monsieur TCHIRKOV Andreï, Professeur, UFR de Médecine et
des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand, CHU Clermont-Ferrand
(Service de Cytogénétique)

Madame DOUGE Aurore, Docteur, CHU Clermont-Ferrand (Service d'Hématologie
clinique)

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

ARMAND, Alexandre

Présentée et soutenue publiquement le 14 octobre 2024

**PLACE DES CAR CELLS DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS
ATTEINTS DE NEUROBLASTOME RvFRACTAIRE OU EN RECHUTE**

Directeur de thèse : Madame GREZE Victoria, Docteur, CHU Clermont-Ferrand (Service d'Héματο-Oncologie Pédiatrique)

Président du jury : Madame KANOLD Justyna, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand, CHU Clermont-Ferrand (Service d'Héματο-Oncologie Pédiatrique)

Membres du jury : Monsieur TCHIRKOV Andreï, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand, CHU Clermont-Ferrand (Service de Cytogénétique)

Madame DOUGE Aurore, Docteur, CHU Clermont-Ferrand (Service d'Hématologie clinique)



UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE D'AUVERGNE

: **JOYON** Louis
: **DOLY** Michel
: **TURPIN** Dominique
: **VEYRE** Annie
: **DULBECCO** Philippe
: **ESCHALIER** Alain

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE BLAISE PASCAL

: **CABANES** Pierre
: **FONTAINE** Jacques
: **BOUTIN** Christian
: **MONTEIL** Jean-Marc
: **ODOUARD** Albert
: **LAVIGNOTTE** Nadine

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PREMIERE VICE-PRESIDENTE
CHARGEE DU PILOTAGE ET DES MOYENS
VICE PRESIDENTE CHARGEE DE LA FORMATION
VICE-PRESIDENTE CHARGEE DE LA RECHERCHE
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

: **BERNARD** Mathias

: **FOGLI** Anne
: **PEYRARD** Françoise
: **PREVOT** Vanessa
: **PAQUIS** François



UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES

: **DETEIX** Patrice
: **CHAZAL** Jean

DOYEN-DIRECTEUR
DIRECTRICE ADMINISTRATIVE

: **CLAVELOU** Pierre
: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BEYTOUT Jean - BOIRE Jean-Yves - BOITEUX Jean-Paul - BOMMELAER Gilles - BOUCHER Daniel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHAMOIX Alain - CHAZAL Jean – CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - CITRON Bernard - CLEMENT Gilles - DASTUGUE Bernard - DAUPLAT Jacques - DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - DETEIX Patrice - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - M. GENTOU Claude – GILAIN Laurent - Mme GLANDDIER Phyllis - MM. IRTIUM Bernard - JACQUETIN Bernard – KEMENY Jean-Louis – LAURICHESSE Henri - LAVERAN Henri - LESOURD Bruno - LEVAI Jean-Paul – LUSSON Jean-René - MAGE Gérard - MICHEL Jean-Luc - PHILIPPE Pierre - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - RIBAL Jean-Pierre - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel – VAGO Philippe - VIALLET Jean-François – VERRELLE Pierre - Mme VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. AUMAITRE Olivier - AVAN Paul - BAZIN Jean-Etienne – BIGNON Yves Jean - DAPOIGNY Michel - DUBRAY Claude – DURIF Franck - ESCHALIER Alain - LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène - MM. LEMERY Didier - POULY Jean-Luc – VORILHON Philippe

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M. CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M. CLAVELOU Pierre	Neurologie
M. LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M. CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes
M. PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M. SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M. BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme DUCLOS Martine	Physiologie
M. SCHMIDT Jeannot	Médecine d'Urgence
M. BERGER Marc	Hématologie
M. GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M. ABERGEL Armando	Hépatologie
Mme BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale

M. RUIVARD Marc	Médecine Interne
Mme JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
M. MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M. COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
M. D'INCAN Michel	Dermatologie - Vénérologie
M. GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
Mme PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M. SAPIN-DEFOUR Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
Mme HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M. RICHARD Ruddy	Physiologie

1ère CLASSE

M. TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Mme GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M. CHIAMBARETTA Frédéric	Ophthalmologie
M. FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M. GUY Laurent	Urologie
M. TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M. ANDRE Marc	Médecine Interne
M. BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M. CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. COSTES Frédéric	Physiologie
M. FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
M. MOTREFF Pascal	Cardiologie
M. RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique
M. CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M. DESCAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M. POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale
M. THAVEAU Fabien	Chirurgie Vasculaire
M. BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
Mme BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M. TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et BIOLOGIE moléculaire
M. DURANDO Xavier	Cancérologie
M. DUTHEIL Frédéric	Médecine et santé au Travail
M. EVRARD Bertrand	Immunologie
M. LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
M. SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie

2ème CLASSE

M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M. CORNELIS François	Génétique

M. LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M. ESCHALIER Romain	Cardiologie
M. MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme TOURNADRE Anne	Rhumatologie
Mme FANTINI Maria Livia	Neurologie
M. SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M. BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIEZE Romain	Hématologie
M. POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M. POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie
Mme PHAM DANG Nathalie	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie
Mme SARRET Catherine	Pédiatrie
M. BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BUISSON Anthony	Gastroentérologie
Mme CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. GAGNIERE Johan	Chirurgie Viscérale et Digestive
M. JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie-Réanimation et Médecine Péri-Opératoire
M. LEBRETON Aurélien	Hématologie
M. MOISSET Xavier	Neurologie
M. SAMALIN Ludovic	Psychiatrie d'Adultes
M. BIAU Julian	Radiothérapie
M. LACHAL Jonathan	Pédopsychiatrie
M. ERIVAN Roger	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. MATHIEU Sylvain	Rhumatologie
M. MOUSTAFA Farès	Médecine d'Urgence

PROFESSEURS DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

1ère CLASSE

Mme LAPORTE Catherine Médecine Générale

2ème CLASSE

Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène Médecine Générale

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

1ère CLASSE

Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne Physiologie

2ème CLASSE

M. BIDET Yannick	Biologie Cellulaire
Mme GUILLET Christelle	Physiologie

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

M. CAMBON Benoît	Médecine Générale
M. BERNARD Pierre	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

HORS CLASSE

Mme BOUTELOUP Corinne	Nutrition
Mme FOGLI Anne	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme GOUAS Laetitia	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. DELMAS Julien	Bactériologie
M. ROBIN Frédéric	Bactériologie
M. MARCEAU Geoffroy	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme MINET-QUINARD Régine	Biochimie Biologie Moléculaire

1ère CLASSE

M. MORVAN Daniel	Biophysique et Traitement de l'Image
Mme GOUMY Carole	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Mme VERONESE Lauren	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Mme MIRAND Audrey	Bactériologie Virologie
M. OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
Mme COSTE Karen	Pédiatrie
Mme AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
Mme NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie
Mme PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. COLL Guillaume	Neurochirurgie
M. GODET Thomas	Anesthésiologie-Réanimation et Médecine Péri-Opératoire

2ème CLASSE

M. CHENAF Chouki	Pharmacologie Clinique
M. ANIORT Julien	Néphrologie
M. CLERFOND Guillaume	Cardiologie
Mme DUPUY Claire	Médecine Intensive – Réanimation
Mme JULIAN Valérie	Physiologie
M. LAHAY Clément	Gériatrie et Biologie du Vieillessement
Mme ROLLAND-DEBORD Camille	Pneumologie
M. ROUANET Jacques	Dermato-Vénérologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

HORS CLASSE

M. BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
Mme VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire
M. PIZON Franck	Sciences de l'Éducation

CLASSE NORMALE

M. BAILLY Jean-Luc	Biologie Cellulaire
Mme AUBEL Corinne	Biologie Cellulaire
M. DALMASSO Guillaume	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. SOLER Cédric	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences
Mme MARTEIL Gaëlle	Biologie Cellulaire
M. PINEL Alexandre	Physiologie
Mme MONIER Florie	Psychologie
Mme POLICARD Florence	Sciences Infirmières

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme RICHARD Amélie	Médecine Générale
M. TESSIERES Frédéric	Médecine Générale
Mme ROUGE Laure	Médecine Générale
Mme BERTRAND-JARROUSSE Véronique	Médecine Générale
Mme VICARD-OLAGNE Mathilde	Médecine Générale
M. MENINI Thibault	Médecine Générale
Mme BŒUF-GIBOT Sylvaine	Médecine Générale
M. HIDALGO BACHS Louis	Médecine Générale

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes Maîtres, Directrice de thèse, Présidente et Membres du jury pour avoir accepté d'encadrer et d'évaluer ce travail de thèse.

J'adresse un profond remerciement à celle avec qui j'ai la chance de partager ma vie, Juliette, qui m'a soutenu et aidé tout au long de ce parcours et qui m'apporte chaque jour plus encore.

J'ai une pensée particulière pour notre fils, que je remercie pour les nuits qu'il m'aura permis de conserver avant la soutenance de ce travail.

Je remercie mes parents, sans qui rien de ceci n'aurait pu voir le jour. Merci à vous.

Je remercie ma sœur pour sa présence et son soutien.

Je remercie mes grands-parents qui ont toujours été présents et m'ont accompagné tout au long de mon parcours. J'ai une pensée particulière pour ma grand-mère Elena qui était certaine de mon avenir mais qui n'aura pas eu l'occasion de voir concrétiser ses espoirs.

Je remercie mes amis du début comme les nouveaux, pour ces moments partagés.

Je remercie mes co-internes, pour avoir fait corps dans les moments difficiles et les bons.

Je remercie tous les collègues rencontrés : médecins, mais également, ASH, brancardiers, auxiliaires, sage-femmes et infirmières, qui m'ont tant apporté au cours de ces années d'internat.

Je te remercie, toi dont le nom m'aura échappé dans l'effervescence de la rédaction de ce travail.

Table des matières

1. Introduction	15
1.1 Neuroblastome	15
1.1.1 Épidémiologie	15
1.1.2 Physiopathologie et facteurs pronostiques	15
1.1.3 Thérapeutiques	16
1.1.4 Micro-environnement tumoral et évation immunitaire	18
1.2 CAR cells	19
1.2.1 Physiologie de la réaction inflammatoire.....	19
1.2.2 Manufacture des CAR cells	21
1.2.3 Effets indésirables et sécurité.....	24
1.3 Application des CAR cells en pédiatrie.....	25
1.3.1 En hématologie	25
1.3.2 Applications au neuroblastome	25
1.3.3 Facteur influençant l'efficacité des CAR cells.....	26
1.3.4 CAR T et CAR NK cells	27
1.4 Expérience locale.....	28
2. Méthode	32
3. Résultats	34
3.1 Population étudiée.....	34
3.1.1 Caractéristiques.....	34
3.1.2 Conditionnement.....	37
3.1.3 Posologie des CAR cells, expansion et persistance	37
3.2 Efficacité et survie globale.....	39
3.3 Sécurité	39
3.3.1 Syndromes de relargage cytokinique	39
3.3.2 Douleurs	41
3.3.3 Leucopénies	41
3.3.4 Fièvre	41
3.3.5 Syndrome d'immuno-neurotoxicité induite par les cellules effectrices.....	41
4. Discussion.....	42
5. Conclusion.....	47
6. Perspectives.....	48
7. Bibliographie	49

Liste des tableaux et figures

Tableaux :

Tableau I : Caractéristiques des patients à l'inclusion, survie globale et réponse thérapeutique.

Tableau II : Caractéristiques techniques du produit de CAR *cells* et conditionnement.

Tableau III : Recueil des effets indésirables survenus après administration de CAR *cells* chez un ensemble de patients atteints de neuroblastome, et d'autres cancers solides pédiatriques.

Figures :

Figure 1 : Analyse de survenue d'évènements et de survie à 5 ans selon le groupe de risque défini par le *Children's Oncology Group* version 1. Issu de Irwin *et al.*, 2021.

Figure 2 : *Chimeric Antigen Receptor T cells*. Issu de Yeku *et Longo*, 2023.

Figure 3 : Diagramme de flux des travaux retenus au cours de la revue de la littérature.

Figure 4 : Répartition du profil de maladie à l'inclusion.

Figure 5 : Répartition du nombre d'injections de CAR *cells*.

Figure 6 : Survenue de syndromes de relargage cytokinique.

Figure 7 : Survies sans évènement et globale d'après le *Children's Oncology Group* dans le cadre des essais précoces portant sur la prise en charge de patients atteints de neuroblastome réfractaire ou en rechute. Issu de London *et al.*, 2017.

Abréviations

ALK : *Anaplastic Lymphoma Kinase* / kinase des lymphomes anaplasiques

CAR cells / CAR : *Chimeric Antigen Receptor cells* / récepteur chimérique spécifique d'antigène

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

COG : *Children's Oncology Group* / groupe de cancérologie pédiatrique américain

CRS : *Cytokine Release Syndrome* / syndrome de relargage cytokinique

DLI : *Donor Lymphocytes Infusion* / injection de lymphocytes issus du donneur

EFS : *Event-Free Survival* / taux de survie sans évènement

FAP : *Fibroblast Activating Protease*

GD2 : disialoganglioside

GvH : *Graft versus Host* / réaction du greffon contre l'hôte

GvT : *Graft versus Tumour* / réaction du greffon contre la tumeur

HLA : *Human Leukocyte Antigens*

HMGB1 : *High Morbidity Box 1*

HR-NBL2 : protocole européen de traitement des neuroblastomes de haut risque

ICANS : *Immune effector-Cells Associated Neurotoxicity Syndrome* / neurotoxicité induite par les effecteurs de l'immunité

iCasp9 : Caspase 9 inductible

KIR : *Killer Inhibitory Receptor* / récepteur inhibiteur des lymphocytes NK

L1-CAM : *L1-Cell Adhesion Molecule*

LTS : *Life Threatening Symptoms* / symptômes menaçant la vie

MDSCs : *Myeloid Derived Suppressor Cells* / cellules suppressives d'origine myéloïde

MIBG : métaiodobenzylguanidine

MRD : *Minimal Residual Disease* / maladie résiduelle minimale

NK : Lymphocytes *Natural Killer*

NKT : Lymphocytes *Natural Killer T*

OS : *Overall Survival* / survie globale

PD1 / PDL1 : *Programmed cell Death 1 / Programmed cell Death Ligand 1*

Q1 / Q3 : Premier / troisième Quartiles

TAMs : *Tumour micro-environment Associated Macrophages* / macrophages associés à l'environnement tumoral

TCR : *T Cells Receptor*

1. Introduction

1.1 Neuroblastome

1.1.1 Épidémiologie

Les cancers de l'enfant représentent la seconde cause de mortalité après les morts de cause externe avant l'âge de 15 ans (1), malgré une incidence faible en France, de l'ordre de 2 000 nouveaux cas par an avant l'âge de 18 ans (2). Le neuroblastome, parmi les cancers solides, appartient au groupe spécifique à l'enfant, des tumeurs de blastème. Ces dernières représentent jusqu'à 35% des cancers de l'enfant avant 4 ans et moins de 5% des cancers de l'enfant après 10 ans. La tumeur de blastème la plus fréquente est le neuroblastome. Il s'agit de la tumeur extra-crânienne la plus fréquente développée chez l'enfant de moins de 10 ans et responsable de près de 15% des tumeurs pédiatriques avant 4 ans. Ainsi le neuroblastome représente le troisième cancer de l'enfant après les leucémies aiguës et les tumeurs du système nerveux central (3).

1.1.2 Physiopathologie et facteurs pronostiques

Le neuroblastome se développe aux dépens de structures dérivant des crêtes neurales : le tissu neuroendocrine des surrénales et le système nerveux sympathique des chaînes paravertébrales (4).

Les cellules tumorales du neuroblastome expriment fortement à leur surface un antigène glycolipidique, le disialoganglioside (GD2) (4). Cet antigène a donc été ciblé dans le développement d'approches thérapeutiques spécifiques de la tumeur avec notamment l'arrivée dans les traitements de première ligne du Dinutuximab bêta, un anticorps dirigé contre le GD2. Il a aussi trouvé sa place dans la prise en charge des patients réfractaires ou en rechute, en association à une chimiothérapies de seconde ligne (consensus dans les protocoles HR-NBL2 à compter de 2024) (5).

Il s'agit d'une maladie à la présentation très hétérogène dont le spectre s'étend de formes avec un potentiel de régression spontanée nommées syndrome de Pepper à des formes résistant à tout traitement. Ainsi, il existe un ensemble de facteurs pronostiques permettant la stratification de la maladie au diagnostic et l'ajustement de la prise en charge des patients. Parmi ces facteurs associés à un pronostic moins favorable, on retrouve l'âge > 18 mois, l'existence de métastases au diagnostic, ou encore l'amplification du gène MYCN (codant pour un facteur de transcription) (6).

On décrit deux types d'altérations moléculaires dans le neuroblastome participant au pronostic. Ainsi, le profil d'altération moléculaire peut être numérique et correspondre à une aneuploïdie complète, ou bien segmentaire et être relatif à des amplifications de fragments chromosomiques spécifiques, ce dernier profil étant plus défavorable (7,8).

Au diagnostic, la maladie peut également présenter des caractéristiques de mise en jeu immédiate du pronostic vital appelés *life threatening symptoms* (LTS). Ces LTS participent à la décision éventuelle de mise en place de chimiothérapies adaptées d'emblée, qu'il s'agisse de formes localisées ou localement avancées (9).

1.1.3 Thérapeutiques

Les formes localisées de neuroblastome du petit enfant avec profil d'amplification numérique peuvent prétendre à une chirurgie seule. Cependant, près de 50% des patients atteints de neuroblastomes sont classés d'emblée dans le groupe de maladie à haut risque de progression ou de rechute, ce qui rend la chirurgie insuffisante et le recours à des traitements spécifiques incontournable (7,8).

Le traitement multimodal des formes de haut risque s'articule en une phase d'induction, suivie d'une phase de consolidation, puis d'une phase d'entretien, pour une durée totale d'environ 1,5 ans (6).

La phase d'induction repose sur une polychimiothérapie séquentielle et un traitement chirurgical local. Celui-ci peut être différé en fonction de la localisation, de la réponse et du retard prévisible sur la suite de la prise en charge du fait de la cicatrisation. Ce traitement local a pour but la réduction de la charge tumorale et cette première phase d'induction permet l'obtention d'une réponse au moins partielle chez 80% des patients. Seuls 20% des patients présenteront une réponse complète, mais 20% conserveront une maladie évolutive ou réfractaire en fin d'induction. (6).

La phase de consolidation consiste en l'administration d'une à deux cures de chimiothérapie haute dose (selon la réponse de la maladie en fin d'induction) avec réinjection de cellules souches autologues (recueillies par cytophérèse après ou au cours de l'induction), suivies d'un traitement par radiothérapie locale ou locorégionale.

Enfin, le traitement d'entretien alterne l'administration d'anticorps monoclonaux anti-GD2 et d'acide rétinoïque.

Les données du groupe de cancérologie pédiatrique américain (COG) rapportées en 2021 par Irwin *et al.* mettent en évidence une différence de survie persistant entre les groupes de haut risque et ceux de moindre risque, cela malgré une intensification des traitements pour ces patients de haut risque. La survie sans évènement à cinq ans n'est que de 50,8% dans le groupe de haut risque alors que la survie sans progression dans les groupes de bas risque et de risque intermédiaire est évaluée respectivement à 89,4% et 86,1%. Ainsi, la survie globale à cinq ans des patients de haut risque est grandement grevée par la progression ou la rechute et

se situe à 62,5% alors qu'elle est supérieure à 95% dans les deux autres groupes (8). (Figure 1).

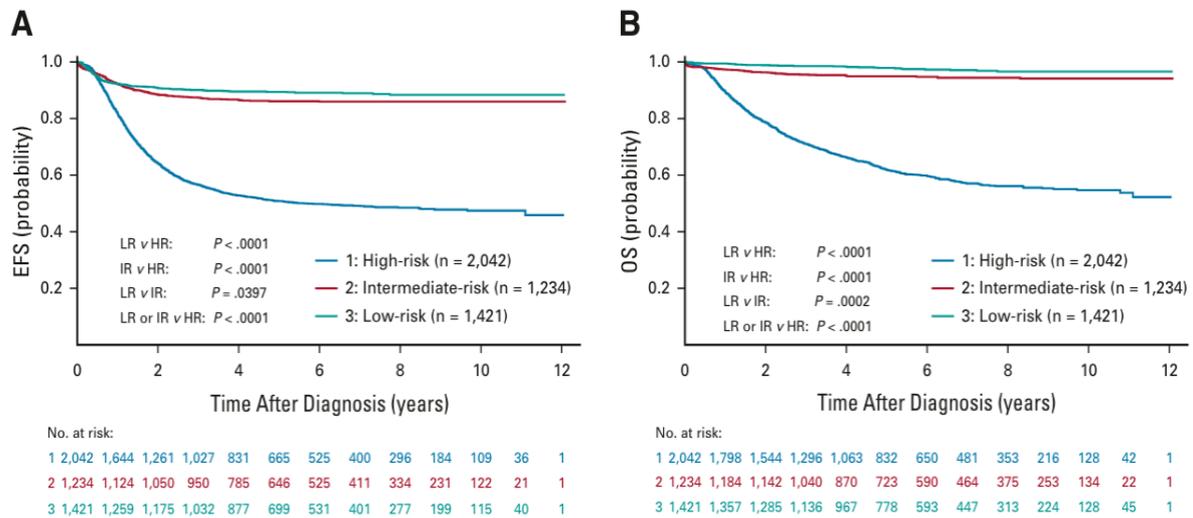


Figure 1 : Analyse de survenue d'évènements selon le groupe de risque (haut risque, risque intermédiaire et bas risque) défini par le COG v1 : EFS et OS à 5 ans, respectivement figures 1A et 1B. EFS : event-free survival, OS : overall survival. Issu de Irwin *et al.*, 2021 (8).

1.1.4 Micro-environnement tumoral et évation immunitaire

L'environnement péri-tumoral des cancers solides est très complexe et repose sur l'établissement d'un contexte permissif voire pro-prolifératif induit par les cellules cancéreuses (10,11). Cet environnement tumoral, en plus de permettre la prolifération cellulaire, régule de manière négative le système immunitaire, au travers de plusieurs mécanismes. Les neuroblastes, les lymphocytes T CD4+ régulateurs notamment de type 2 et les macrophages associés à l'environnement tumoral (TAMs) dont ils s'entourent sont à l'origine de la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires et anti-prolifératives, induisant un défaut d'infiltration tumorale par les différentes populations lymphocytaires B et *natural killer* (NK) (11).

Les mécanismes d'échappement immunitaire des cancers ainsi que le micro-environnement tumoral paraissent être des leviers de poids pour l'amélioration du pronostic de ces cancers.

Par ailleurs, Schaafsma *et al.* rapportait en 2021 une amélioration du pronostic chez les patients dont la tumeur était infiltrée par des lymphocytes B naïfs, B mémoires ou NK par rapport aux patients dont la tumeur présentait une moindre infiltration lymphocytaire B/NK et une sur-représentation de TAMs ou encore de cellules suppressives d'origine myéloïde (MDSCs) (12). De même, la présence d'auto-anticorps semblait associée à un profil lymphocytaire inflammatoire et moins tolérogène. Ainsi, un pronostic plus favorable était retrouvé chez les patients ayant un profil d'expression génique orienté vers la formation d'auto-anticorps thyroïdiens (12).

Cependant la surreprésentation relative des populations lymphocytaires T régulatrices CD4⁺ par rapport aux populations lymphocytaires B CD20⁺ est associée à un pronostic plus réservé. En effet, on retrouve ce défaut d'infiltration lymphocytaire B naïf et NK chez les patients porteurs d'un neuroblastome avec amplification de MYCN, identifié comme étant un facteur pronostique défavorable (12).

Ces interactions entre le micro-environnement tumoral et le système immunitaire semblent favoriser le développement du cancer et indiquer les thérapeutiques du type CAR *cells* (*chimeric antigen receptor cells*) dans la prise en charge des neuroblastomes, *via* un court-circuit de l'activation lymphocytaire, comme c'est déjà le cas dans la prise en charge des hémopathies.

1.2 CAR cells

1.2.1 Physiologie de la réaction inflammatoire

Lors de la réaction immunitaire fonctionnelle, les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) permettent la présentation d'une fraction d'antigène cible aux

lymphocytes T afin d'initier la réaction immunitaire adaptative. Il existe deux grandes classes de CMH : le CMH de classe I d'expression ubiquitaire et le CMH de classe II porté par le groupe très spécifique des cellules présentatrices d'antigène. Ainsi, sans la présentation de la cible par le CMH au lymphocyte T via son *T cells receptor* (TCR), la réaction immunitaire consécutive ne peut être déclenchée. Ce mécanisme n'est pas fonctionnel au sein de la tumeur neuroblastique par défaut d'expression du CMH de classe I par les cellules tumorales. Ce phénomène participe donc également à l'induction de la tolérance immunitaire.

L'atout des CAR *cells* réside dans leur indépendance d'activation par rapport à la présentation d'un fragment antigénique au sein de la molécule de CMH de classe I, permettant ainsi l'activation lymphocytaire T de manière indépendante du TCR, y compris dans l'environnement tumoral. Ainsi le développement de CAR permet d'outrepasser ce défaut d'expression du CMH par la cellule cancéreuse.

Parallèlement à cette diminution de l'activité pro-inflammatoire, le chimiotactisme tumoral semble polarisé vers le rapprochement de cellules immunitaires tolérogènes et favoriser la différenciation vers des phénotypes suppresseurs de la réaction inflammatoire ou bien la suppression des cellules pro-inflammatoires. Cela par surexpression du ligand inhibiteur *programmed cell death 1* (PDL1) ou des molécules de stimulation inhibitrice des lymphocytes T telles que la Galactine 1 et 3, le *tumour growth factor*-Bêta, l'interleukine-10. L'expression de HMGB1 (*high-mobility group box 1*) provoque la différenciation des lymphocytes T vers un phénotype régulateur type 2 (4).

Les CAR *cells*, malgré leur autonomie dans l'activation de la réponse immunitaire, doivent parvenir au contact des cellules tumorales. Cette étape est complexe dans les tissus solides du fait de l'intrication au sein du tissu tumoral de cellules cancéreuses ou non, d'une

matrice extracellulaire à la perméabilité variable (conditionnée par l'expression de la protéine FAP (*fibroblast activating protease*) et du développement d'une vascularisation immunosuppressive sous la régulation de l'expression du *vascular endothelial growth factor* (4).

1.2.2 Manufacture des CAR *cells*

Les CAR *cells* constituent un médicament de thérapie cellulaire manufacturé à partir de lymphocytes du patient ou d'un donneur, recueillis lors de séances de cytophérèse sans stimulation préalable. Un tri cellulaire permet le recueil des cellules mononucléées, majoritairement CD3⁺ ou CD56⁺ en fonction du type lymphocytaire choisi (lymphocytes T ou bien lymphocytes NK/NKT). Ces lymphocytes sont ensuite modifiés selon un procédé de transfection génique *via* un vecteur viral ou par électroporation afin de permettre l'expression dans leur protéome d'un récepteur chimérique spécifique d'antigène. Ce récepteur porte une à trois fractions intracellulaires nommées « domaines de co-stimulation ». Ce nombre définit la génération de CAR, par exemple les CAR de troisième génération portent trois domaines intracellulaires de co-stimulation (CD3-Zêta, CD28, 4-1BB ou OX40) (4). (Figure 2).

Sur le plan génique, les séquences codant l'expression des CAR sont constituées d'un système de sécurité biologique, de ces signaux de co-stimulation, ainsi que d'un fragment de reconnaissance antigénique principal. Ce domaine de reconnaissance antigénique est issu du fragment variable de la chaîne courte d'une immunoglobuline humaine et cible un épitope porté par les cellules cancéreuses. Le choix de cet épitope est primordial afin de limiter les réactions de type *on-target off-tumour*, c'est-à-dire les réactions croisées vers d'autres tissus porteurs de la même expression antigénique (13).

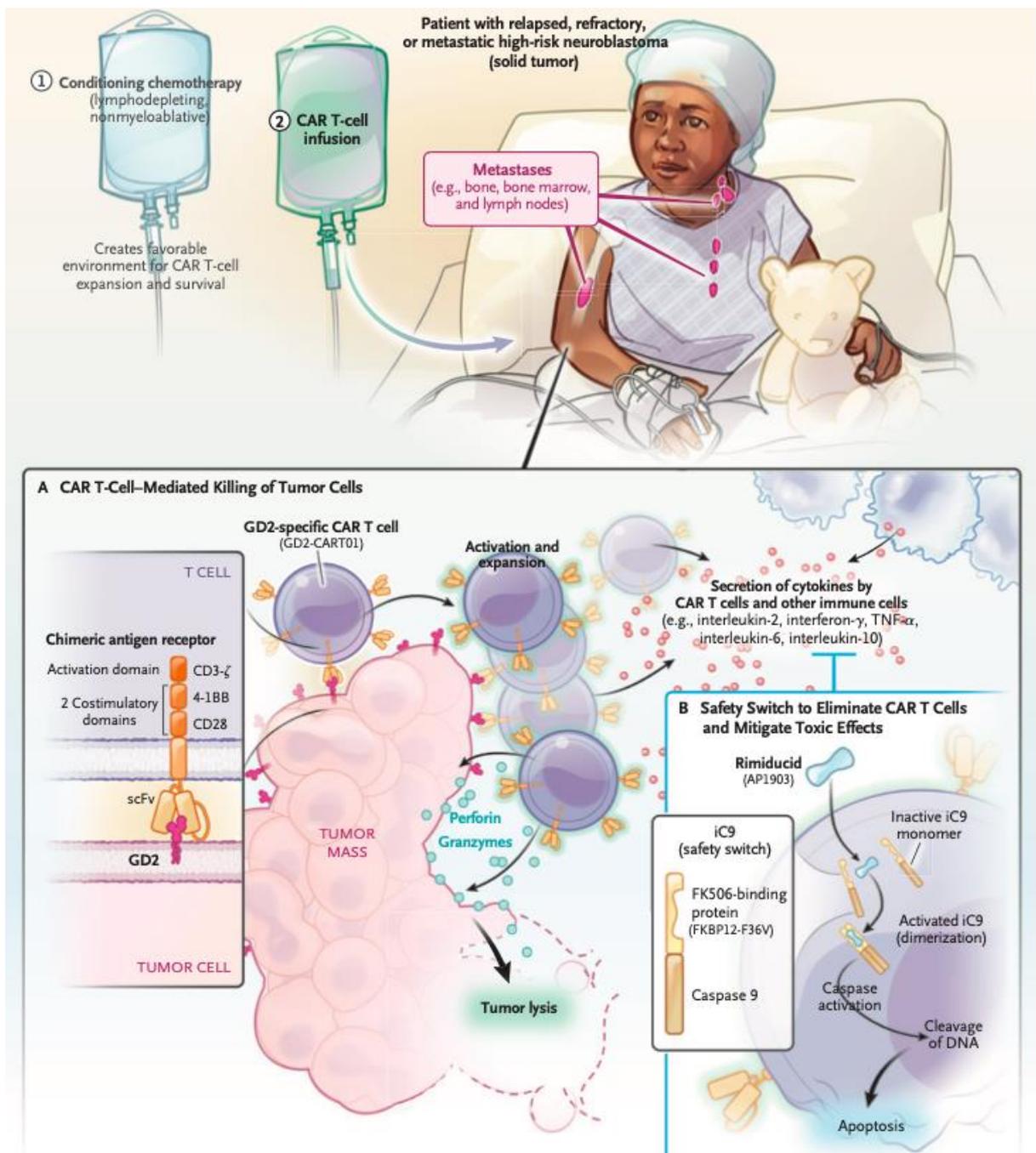


Figure 2 : Chimeric Antigen Receptor T cells. Issu de Yeku et Longo, 2023 (14).

Le fragment transfecté est associé à un système de sécurité biologique consistant en un suicide cellulaire inducible appelé *iCasp9* et dont le déclenchement est fait par administration de Rimiducid. La liaison du Rimiducid, petite molécule bio-inerte, à la portion extracellulaire dérivée de la protéine FK-506 *binding protein* d'un récepteur de fusion permet son activation

par dimérisation. Ainsi la liaison du Rimiducid sur la portion extracellulaire du récepteur permet la dimérisation de la portion caspase 9 intracellulaire, qui est à l'origine de l'activation de la cascade du signal pro-apoptotique, par activation de la caspase 3, à l'origine de l'induction de l'apoptose spécifique et ciblée des lymphocytes chimériques porteurs de ce récepteur de fusion co-transfecté avec le CAR (15). L'administration de Rimiducid est indiquée en cas de mise en jeu immédiate du pronostic vital du patient.

La construction des CAR avec une portion de récepteur extracellulaire spécifique d'une cible avec une haute affinité (dérivé de fragment variable d'anticorps) leur confère leur spécificité et conditionne les atteintes d'organes de type *off-tumour*. Dans les CAR *cells* anti-neuroblastome, les molécules de GD2, L1-CAM, ALK sont des cibles de choix du fait de leur faible expression dans les tissus sains ou d'un fort différentiel d'expression tumeur *versus* tissus sains.

La procédure de recueil cellulaire nécessaire à la manufacture des CAR *cells* repose sur l'accès à des équipes entraînées, permettant ainsi de réduire la morbi-mortalité de patients de jeune âge déjà lourdement traités (16).

La présentation clinique des effets indésirables potentiellement induits par l'administration de CAR *cells* repose sur l'attaque lymphocytaire d'un tissu cible de manière épitope spécifique et donc sur l'altération de fonction induite, et dépend de la nature du conditionnement préalable.

1.2.3 Effets indésirables et sécurité

L'injection de CAR *cells*, par l'activation immunologique qu'ils provoquent lors de la rencontre de leur cible, est à l'origine d'un syndrome de relargage cytokinique (CRS). Le CRS est un orage inflammatoire dont la sévérité est variable pouvant aller du simple épisode fébrile jusqu'à l'état de choc hémodynamique nécessitant l'introduction d'amines vasopressives après remplissage vasculaire. Le CRS touche aussi l'hématose et peut être à l'origine d'une défaillance respiratoire nécessitant l'introduction d'un support ventilatoire.

Les grade III et IV du CRS se caractérisent par une fièvre $> 38,5^{\circ}\text{C}$ associée à une hypotension réfractaire nécessitant l'administration de vasopresseurs et/ou une défaillance respiratoire nécessitant l'introduction d'un support ventilatoire pouvant aller de la ventilation non-invasive à la ventilation mécanique après intubation. Dans ces formes sévères, l'introduction du signal de suicide cellulaire est le traitement spécifique pouvant être requis.

Le CRS peut survenir dans les heures suivant l'injection de CAR *cells*, préférentiellement de manière retardée mais rarement au-delà de J+14. Il intéresse 30 à 100% des patients recevant des CAR *cells* pour la prise en charge en hématologie, parmi lesquels un tiers présente au moins un CRS de grade III (17,18).

Une atteinte neurologique spécifique des CAR *cells* nommée *Immune effector-Cells Associated Neurotoxicity Syndrome* (ICANS) peut survenir de manière indépendante de la survenue de tout CRS ou bien s'y associer.

La sévérité de ces ICANS s'échelonne de simples tremblements, en passant par un état d'agitation et de confusion, à la survenue de convulsions. Le recours à la corticothérapie est indiqué dès la survenue d'ICANS de grade \geq II correspondant à un trouble de la conscience avec un score de confusion, le *Cornell Assessment of Paediatric Delirium* compris entre 1 et 8 (18).

Ces ICANS surviennent classiquement dans les 3 à 5 jours suivant l'injection des CAR *cells* mais peuvent être très précoces ou de survenue retardée au-delà de 3 semaines après l'injection. Ils concernent 20 à 60% des patients et les grades \geq III touchent environ 20% des patients traités pour une leucémie aiguë lymphoblastique B avec des CAR T *cells* anti-CD19 (18). Un certain nombre de facteurs de risque parmi lesquels la survenue d'un CRS précoce et sévère ou l'importance de la masse tumorale à l'injection ont été retrouvés (19).

L'injection de CAR *cells* requiert au préalable la réalisation d'un conditionnement lymphodéplétif. Ce conditionnement nécessite l'administration de chimiothérapies aux effets cytotoxiques communs (nausées/vomissements précoces, cytopénies retardées) ou spécifiques et nécessitant l'introduction de traitements préventifs.

1.3 Application des CAR *cells* en pédiatrie

1.3.1 En hématologie

L'emploi de lymphocytes T autologues modifiés par adjonction d'un récepteur chimérique a déjà montré son intérêt en pédiatrie dans la prise en charge des rechutes médullaires mixtes ou isolées de leucémies aiguës lymphoblastiques B après contrôle de la masse tumorale par une chimiothérapie conventionnelle de réinduction. Ils sont administrés après conditionnement lymphodéplétif (20).

1.3.2 Applications au neuroblastome

Concernant le neuroblastome, la cible de choix semble être à l'heure actuelle la molécule glycolipidique de diasialoganglioside (GD2), portée par toutes les cellules de neuroblastome et dont l'expression en dehors de la tumeur est limitée aux neurones, aux mélanocytes et aux fibres périphériques du tact douloureux (21). Cette cible bénéficie pour

l'heure de traitements par immunothérapie, le Dinutuximab bêta, ayant pour effet indésirable fréquent la survenue de douleurs neuropathiques lors des injections (15).

La survenue de réactions *off-tumour* est influencée par la spécificité de la cible antigénique, par la dose de CAR *cells* injectée par rapport au poids ou à la surface corporelle du patient, et par la densité d'expression antigénique à la surface des cellules tumorales et dans les autres tissus (13).

L'étude d'autres cibles moléculaires telles que le L1-CAM a été entreprise dans la construction des CAR T *cells*. De même, les cibles telles que la kinase des lymphomes anaplasiques (ALK) sont visées par des anticorps monoclonaux anti-ALK dans la prise en charge de cancers solides porteurs d'une surexpression de ALK chez l'adulte (22,23).

1.3.3 Facteur influençant l'efficacité des CAR *cells*

La réponse à l'injection de CAR *cells* est grandement influencée par la charge tumorale : une charge tumorale négative ne permet pas une amplification suffisante, de même une masse tumorale excessive fait courir un risque majeur de CRS et en parallèle de mauvaise expansion des CAR *cells* par insuffisance d'accès à la cible tumorale ou bien par exhaustion lymphocytaire (18).

L'exhaustion lymphocytaire à l'origine de la faible persistance des CAR *cells* est améliorée en présence d'une charge tumorale modérée. Cette persistance lymphocytaire peut aussi être améliorée par l'adjonction dans leur construction de domaines de co-stimulation (4).

Dans les modèles de CAR T *cells*, l'enrichissement du pool cellulaire à transfecter en cellules mémoires ou cellules *stem cell-like cells*, permet la moindre expression du récepteur

inhibiteur PD-1 favorisant ainsi une meilleure expansion, et une amélioration de la réponse tumorale et de la survie (24).

1.3.4 CAR T et CAR NK *cells*

Un modèle alternatif aux CAR T *cells* existe, il s'agit de CAR NK ou NKT *cells*. Leur avantage principal réside dans l'absence de réaction du greffon contre l'hôte (GvH), contrairement aux CAR T *cells*, du fait de leur répertoire de reconnaissance inné et de leur indépendance d'activation du système CMH-TCR.

Les cellules NK sont capables de reconnaissance cellulaire et d'induction de mort sans nécessité de reconnaissance d'antigène spécifique et de manière indépendante à la présentation de peptide par le CMH I. Cette reconnaissance indépendante d'antigène permet de prévenir les phénomènes d'évasion immunitaire par les tumeurs (4).

Les cellules NKT représentent un phénotype de jonction entre les phénotypes lymphocytaires T et NK dont le récepteur TCR est composé d'une chaîne alpha invariante capable de discriminer le soi des glycolipides dérivés des micro-organismes (signaux de danger conservés à travers l'évolution) et d'une chaîne bêta sous condition de présentation par une molécule proche du CMH I, le CD1d. Ainsi, leur expansion *in vivo* peut être stimulée par l'administration de cellules présentatrices après exposition à l'alpha-galactosylcéramide ou directement par l'administration de ce glycolipide (25). L'addition *in vitro* de la séquence codant pour l'IL-15 lors de la transfection semble améliorer l'efficacité de transfection des NKT *cells*, en les protégeant des cellules inhibitrices associées au micro-environnement tumoral (25).

Malgré ces avantages de moindre réaction de GvH et de contournement de l'évasion immunitaire par les tumeurs, l'emploi des NK peut nécessiter des ajustements afin de permettre leur expansion. L'expansion de ce modèle de CAR NK/NKT *cells* est de meilleure qualité si le prélèvement est déplété *in vitro* en cellules CD3+ et CD19+ par adjonction d'interleukines IL-15 et IL-12 dans le milieu de culture (26).

Les limites de l'emploi des cellules NK pour la modification avec des CAR reposent sur leur faible expansion *in vivo* et leur faible persistance, mais ils présentent l'intérêt de ne pas être pourvoyeur de GvH (15,27).

1.4 Expérience locale

Une revue de la littérature portant sur l'application de l'allogreffe de moelle osseuse dans la prise en charge du neuroblastome menée par l'équipe d'onco-hématologie pédiatrique du CHU de Clermont-Ferrand semble montrer que l'intérêt de l'allogreffe dans ce contexte comparativement à l'autogreffe ne soit pas la réduction tumorale ou bien la reconstitution hématologique après administration d'une chimiothérapie myélo-ablative, mais bien le développement d'une réaction immunitaire des lymphocytes du donneur contre la tumeur nommée GvT. Ces thérapeutiques permettent l'amélioration de la survie sans progression à 5 ans, au prix de séquelles à long terme lourdes chez de jeunes patients âgés de moins de 10 ans (28).

Nos équipes ont par la suite rapporté la mise en rémission complète d'un patient de 6 ans atteint d'un neuroblastome stade IV réfractaire par administration d'une allogreffe de moelle osseuse intra-familiale haplo-identique après conditionnement myélo-ablatif par Fludarabine 150 mg/m², Cyclophosphamide 8,8 mg/kg et irradiation corporelle totale à

hauteur de 2 Gy. Cette rémission s'est prolongée pendant 31 mois après la greffe et a été soutenue par l'administration de lymphocytes NK du donneur purifiés sous forme de *pulses*, avant survenue d'une rechute (29).

Le travail de Marabelle *et al.* a mis en évidence l'intérêt des *donor lymphocytes infusion* (DLI) dans la prise en charge d'une patiente âgée de 10 ans atteinte d'un neuroblastome en rechute et souffrant d'une leucémie aiguë myéloïde concomitante ayant fait poser une indication d'allogreffe de moelle osseuse, avec conditionnement d'intensité réduite par irradiation corporelle totale (2 Gy), suivi d'une immunosuppression post-greffe par cyclosporine seule. A J+30 le chimérisme donneur était complet et la maladie résiduelle minimale (MRD) était négative au niveau médullaire tant sur le plan de la leucémie que du neuroblastome. Seul persistait à J+30 un point de fixation en scintigraphie au MIBG et une GvH cutanéodigestive de grade II était apparue nécessitant l'introduction de traitements immunosuppresseurs à l'origine d'une MRD neuroblastome de nouveau détectable.

La réalisation de DLI (5×10^4 CD3+/kg et $1,4 \times 10^4$ CD56+/kg) a résulté en la réapparition de la GvH de grade II et la négativation de la MRD. A J+900 la patiente était en rémission de son neuroblastome et de sa leucémie (30). Cette jeune patiente traitée en 2007 est actuellement guérie de ses maladies et mène une vie active sans restriction.

Un travail non publié mené par Kanold *et al.* entre juin et novembre 2011 a permis l'inclusion de 5 patients atteints de neuroblastome réfractaire (n = 1) ou en rechute (n = 4) d'un âge médian de 4 ans, après une ligne de traitement initial incluant une consolidation par chimiothérapie haute dose. Ces patients ont bénéficié, après conditionnement par Fludarabine 180 mg/m², Cyclophosphamide 8 mg/kg et irradiation corporelle totale de 2 Gy, d'une allogreffe de cellules souches haplo-identique avec *mismatch killer Ig-like receptor* (KIR) –

KIR ligand à hauteur de 10^7 CD34+/kg et $3,75 \times 10^7$ CD56+/kg après déplétion lymphocytaire des cellules mononucléées recueillies CD3+ ($2,9 \times 10^5$ /kg). La maladie a progressé chez l'ensemble des patients inclus et 3 patients sont décédés du fait de cette progression ou du fait de complications induites par les traitements de rattrapage. Un patient seulement a présenté une GvH de grade I ayant nécessité l'introduction d'un traitement immunosuppresseur en lien probable avec un greffon plus riche en lymphocytes T CD3+ ($7,6 \times 10^5$ /kg). Cela signifie que l'immunosuppression post-greffe a pu être évitée chez 4 patients parmi les 5 patients traités. Le *mismatch* KIR-KIR ligand dans le sens greffon *versus* hôte avait pour but de permettre l'apparition d'une réaction lymphocytaire de type GvT. Au terme de ce travail, notre équipe a pu mettre en évidence le caractère primordial de la lymphodéplétion T et de la sélection des populations cellulaires injectées avec un recours à l'immunosuppression post-greffe en contexte haplo-identique chez un unique patient devant la survenue d'une GvH de bas grade. Ainsi, l'administration de cellules hématopoïétiques riches en NK semble ne pas nécessiter de recours intensif aux traitements immunosuppresseurs y compris en contexte d'haplo-identité. Cette particularité des lymphocytes NK pourrait leur conférer un intérêt dans le positionnement thérapeutique des CAR *cells* en permettant le développement de traitements *off-the-shelf*, ne nécessitant donc ni le recueil de cellules mononucléées chez un patient très lourdement traité par une combinaison thérapeutique de polychimiothérapie, ni un délai de fabrication de plusieurs semaines nécessaire à la mise en culture, à la transfection et à la sélection des cellules lymphocytaires à réinjecter.

La survenue d'une réaction du greffon contre la tumeur a pu être mise en évidence dans un certain nombre de tumeurs de l'adulte dont le carcinome rénal, le cancer du sein et le cancer colorectal. Cette GvT semble être favorisée par la présence d'un mésappariement du système d'histocompatibilité. Ce mésappariement peut exister même en cas de greffe histo-compatible

sur les CMH et porter sur les classes mineures du système *human leucocyte antigens* (HLA) (31,32). La réaction de GvT est indépendante de la réaction de GvH : en effet, les lymphocytes T donneurs peuvent cibler de manière spécifique les antigènes portés en surface des cellules tumorales et présentés au sein d'une molécule de CMH de classe I (33).

Malgré ce mode de reconnaissance possible des cellules cancéreuses par les lymphocytes T, ces dernières possèdent un mécanisme d'échappement au système immunitaire. Cet échappement passe par la perte ou la diminution d'expression des molécules de CMH de classe en I à leur surface. Mais cette sous-expression les rend repérables par le système NK *via* la perte d'inhibition de la cellule NK par interaction entre le CMH de classe I et le récepteur KIR. Cette perte d'expression HLA est équivalente à un mésappariement HLA-A, B ou C (32).

Lors de sa mobilité en Allemagne dans l'équipe du Pr Evelyn Ullrich en 2021, le Dr Victoria Grèze a également participé à un travail toujours en cours sur les cellules NK. Les objectifs étaient d'optimiser la culture *in vitro* des cellules NK et de comprendre les mécanismes impliqués dans leur cytotoxicité sur des modèles 3D de tumeurs pédiatriques, dont le neuroblastome. Cela dans le but de pouvoir accroître cette cytotoxicité, en luttant notamment contre les capacités de résistance tumorale. Les cellules tumorales étant, par exemple, capables de moduler l'expression de certains ligands pour échapper aux cellules NK.

Devant la particulière gravité du pronostic dont souffrent les patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute, nous souhaitons déterminer la position à conférer

au traitement par CAR *cells* dans la prise en charge de cette maladie au travers de l'étude de la survie globale de cette population spécifique après administration de CAR *cells*.

2. Méthode

Ce travail repose sur une revue exhaustive de la littérature portant sur l'ensemble des essais cliniques ou cas rapportés traitant de l'administration de CAR *cells* dans la prise en charge de neuroblastomes réfractaires ou en rechute publiés sur une période de 20 ans allant de janvier 2004 à juillet 2024. Nous avons interrogé les bases de données Pubmed et Google scholar avec les mots clefs « *neuroblastoma* », « *CAR cells* », « *clinical trial* », « *phase I* », « *phase II* ».

Au terme de cette recherche, 12 articles portaient sur des études cliniques de phase I ou II traitant de l'administration de *CAR cells* à un ensemble de patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute. Deux articles correspondant à des évaluations intermédiaires d'études ultérieures déjà citées ont été exclus afin de prévenir la redondance de patients. Ces articles traitaient d'essais cliniques de phase I ou II et avaient pour objectif principal soit l'évaluation de la tolérance de cette thérapeutique, soit l'évaluation de son efficacité. (Figure 3).

Un tableau bibliographique regroupant ces différents travaux pour les comparer sur leurs données d'efficacité et de sécurité a été constitué.

Cette revue de la littérature nous a permis de colliger les données concernant notre objectif principal : la survie globale dans cette population de patients atteints de neuroblastome réfractaire ou en rechute après administration de CAR *cells*.

Les objectifs secondaires de ce travail s'intéressaient au recueil de la réponse objective (critère d'efficacité), mais aussi à l'étude de la tolérance et de la sécurité de cette technique. L'étude de sécurité a consisté en un recueil systématique dans ces 10 travaux des cas rapportés d'effets indésirables suivant l'administration de *CAR cells* sans limite de délai autre que l'arrêt du suivi.

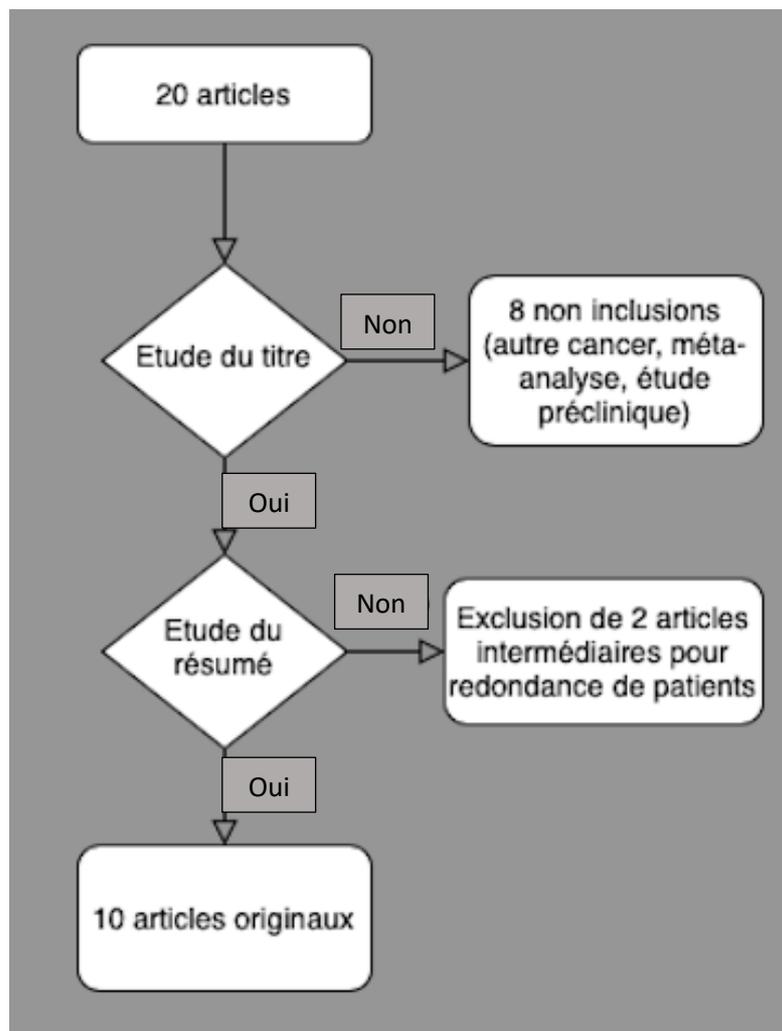


Figure 3 : Diagramme de flux des différents travaux retrouvés et retenus pour notre revue de la littérature.

3. Résultats

Au travers de cette revue de la littérature, nous avons recensé un total de 12 articles portant sur l'administration de CAR *cells* dans la prise en charge des neuroblastomes de haut risque réfractaires ou en rechute, après exclusion de 2 articles correspondant à des évaluations intermédiaires plus précoces de travaux déjà pris en compte, afin de prévenir les redondances de patients. Au terme des exclusions notre étude a porté sur un ensemble de 10 articles publiés entre 2007 et juillet 2024.

3.1 Population étudiée

3.1.1 Caractéristiques

Les publications sur le sujet s'étendent de 2007 à 2024 et ces études de phase I ou II ont permis l'inclusion en vue d'administration de CAR *cells* d'un ensemble de 142 patients au total, parmi lesquels 122 patients atteints de neuroblastomes, dont 80 réfractaires ou en rechute et 9 en rémission complète (Tableau I et Figure 4). Les statuts de maladie initiale ou en rechute ne sont pas rapportés dans les travaux publiés en 2024 de Kaczanovska *et al.* et Yankelevich *et al.* (34,35).

Table 1: Neuroblastoma patients' characteristics at inclusion in CAR cells program, response evaluation and follow-up.

Team	Date	No of pts	Age (yrs) Median (range)	Metastatic at inclusion	NMYC	Status at CAR cells' infusion			Response evaluation (day post CAR cells)	Follow-up (mo)	Objective Response	Post CAR cells Response		OS (%)	Authors conclusion	Ref
						CR or PR	SD or PD	CR				PR	CR			
Jensen, Seattle	2007	8	9 (1-16)	8	-	0	8	35	55	1/8	1/8	0/8	50	17	Only 1/8 pts displayed prolonged (4.5 yrs) survival with SD. Those low survival rates may be related to the low persistence of CAR-T cells. (36)	
Brenner, Houston	2011	19	7 (3-20)	7	-	8	-	42	57	3/19	0/19	3/19	63	53	Native anti-EBV receptors together with CAR coexpression favors both expansion and persistence of CAR cells. Thus, 3/19 pts among displayed CR, prolonged over 3 yrs in two. (40)	
Brenner, Houston	2017	11	7 (4-24)	11	-	0	11	42	24	2/11	0/11	2/11	64	-	5 pts who did not benefit of any conditioning died of disease within 2 yrs. 1 Conditioning prior to CAR cells infusion is related to improvement in long-term OS and associated with better expansion and persistence of CAR cells. (38)	
Ma, Beijing	2020	1	5.5	1	1	0	1	CR	37	1	0	1	-	-	CAR cells' administration as a consolidation of maintenance therapy permitted prolonged survival up to 4 yrs following infusion. (42)	
Anderson, London	2020	12	10 (4-15)	11	-	0	12	28	1	0/12	0/12	0/12	-	-	3/12 pts started regression in bone marrow or soft tissues disease, but didn't reach PR at evaluation timepoint. (41)	
Yang, Guangzhou	2022	10	5 (2-6)	10	2	0	10	183	48	0/10	0/10	0/10	60	50	CAR cells' administration in pts with refractory/relapsing NBL delayed disease progression in 6/10 pts and permitted prolonged survival of 4/6 pts with SD. (43)	
Brenner, Houston	2023	12	7 (2-12)	12	3	0	12	28	18	4/12	3/12	1/12	33	-	3/12 pts experienced PR and 1/3 transient CR for 1 yr. All 8/12 registered decrease occurred within the first yr. CAR NKT cells' administration is safe. (39)	
Locatelli, Rome	2023	27	7 (3-19)	26	7	1	26	42	34	17/27	8/27	9/27	52	52	17/27 pts achieved at least transient PR (8/17) or CR (9/17). CAR cells display sustained anti-tumor effect, with 3-yrs EFS = 36%. (37)	
Kaplan, Bethesda	2024	3	-	3	-	0	-	28	3	0/3	0/3	0/3	-	-	2/3 pts benefitted of SD related with good CAR cells expansion, in 1/3 pts CAR product couldn't be infused and died before D+50. (34)	
Lum, Detroit	2024	19	13 (5-30)	19	-	0	-	84	54	1/19	1/19	0/19	88	44	BATs are preapoptotic cells activable in a HLA independent manner and require repeated administration due to no expansion and low persistence. BATs permitted PR in 1/19 pt and prolonged survival with SD in 3/19 pts. (35)	

Abbreviations: NBL, neuroblastoma; PR: partial response, CR: complete response, SD : stable disease, PD : progressive disease, CR: complete response, SD : stable disease, PD : progressive disease, OS: overall survival, EFS: event-free survival, BATs: bi-antibody specific activated T cells, Ref: referencr.

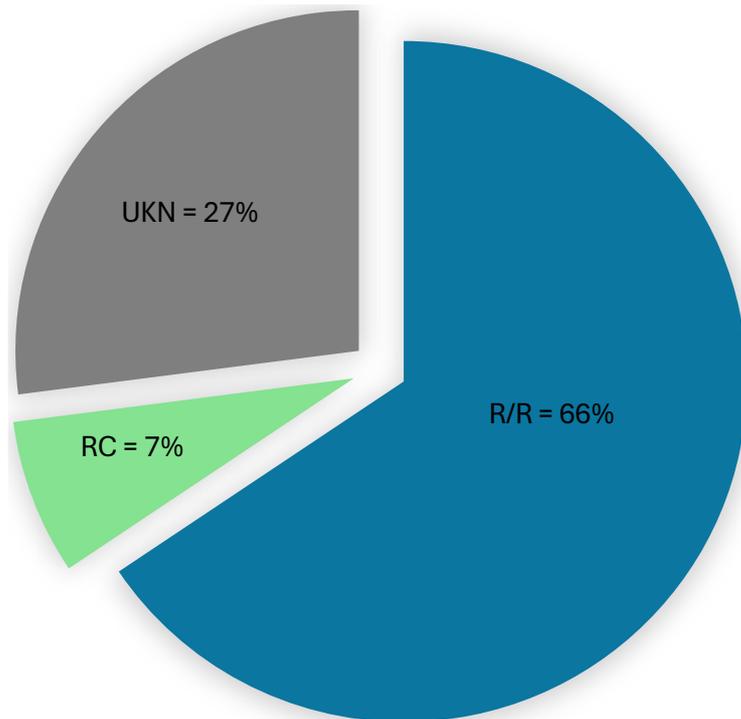


Figure 4 : Répartition du profil de neuroblastome à l'inclusion dans chacun des travaux de phase I et II portant sur l'injection de CAR *cells* dans la prise en charge de neuroblastomes pour 66% réfractaires ou en rechute. UKN : *unknown*, RC : rémission complète, R/R : réfractaire ou en rechute.

Parmi les 15 patients inclus dans l'étude menée par Kaczanowska *et al.* en 2024, seuls 3 patients étaient atteints de neuroblastomes et 12 d'ostéosarcomes (34). De même, l'étude de Yankelevich *et al.* portait sur un total de 24 patients dont 19 étaient atteints de neuroblastomes, 3 d'ostéosarcomes et 2 de cancers à petites cellules rondes (35).

Les patients inclus atteints de neuroblastomes avec une maladie active, présentait en grande majorité une atteinte métastatique (n = 108). Au total, 137 patients ont bénéficié d'au moins une injection de CAR *cells* dont 120 patients atteints de neuroblastome. La manufacture de CAR *cells* a échoué pour 2 patients atteints de neuroblastomes (36).

3.1.2 Conditionnement

La plupart des patients inclus ont bénéficié d'un conditionnement de lymphodéplétion reposant sur l'administration conjointe de Fludarabine 25 ou 30 mg/m²/dose sur 2 à 5 jours et Cyclophosphamide 300 ou 500 mg/m²/dose sur 3 jours (37–43) ou Cyclophosphamide seul 1800 mg/m²/jour pendant 2 jours (34). Seuls Park *et al.* et Yankelevich *et al.* ne rapportaient pas la nature du conditionnement choisi et cela concernait respectivement 6 et 19 patients atteints de neuroblastomes (35,36). Enfin, 5 patients n'ont reçu aucun conditionnement dans l'étude de phase I de Heczey *et al.* en 2017 (38).

3.1.3 Posologie des CAR *cells*, expansion et persistance

Les modalités d'administration des CAR *cells* reposaient sur des doses s'échelonnant de 1 x10⁵ CAR *cells*/kg/injection (34,43) à 1 x10⁹ CAR *cells*/m²/injection (36,41) pour 1 unique injection (pour 65% des patients) et jusqu'à 8 injections pour un même patient dans le travail de Yankelevich *et al.* portant sur l'injection de *bispecific-antibody armed T cells* (35). (Figure 5).

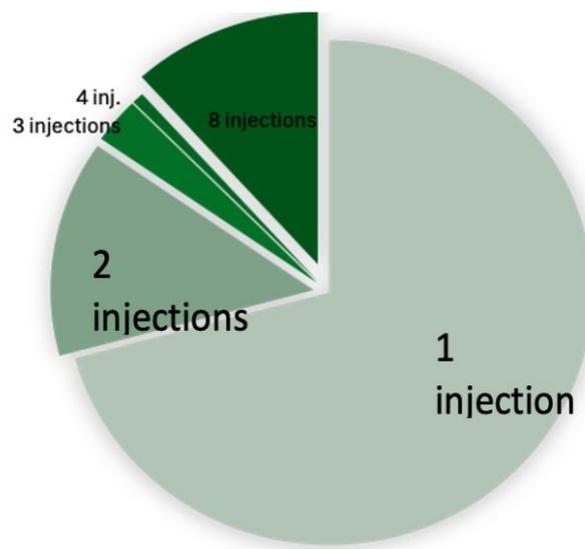


Figure 5 : Répartition du nombre d'injection de CAR *cells* chez les patients atteints de neuroblastome inclus dans les 10 travaux étudiés. Les patients injectés à 8 reprises l'ont été avec des lymphocytes chimériques activés porteurs d'anticorps bispécifiques anti-GD2 et anti-CD3 nommés BATs.

L'expansion des CAR *cells in vivo* semble avoir lieu dans une fourchette de J+7 à J+14 dans les différentes études, la valeur au pic d'expansion est exprimée de manière différente dans les divers travaux et représente environ 6% des cellules mononucléées et environ 10³ copies/mL de plasma. Leur persistance est en moyenne de 255 jours avec des durées de persistance s'échelonnant de J+20 à J+900 en fonction des travaux et des durées de suivi (36,37).

L'essentiel des produits administrés consistaient en des CAR T *cells* de générations III ou IV dirigés contre le GD2, deux études différaient en terme de modèle de CAR avec l'injection de CAR T *cells* dirigés contre le L1-CAM chez Park *et al.* (n = 6) ou l'injection de CAR NKT *cells* anti-GD2 chez Heczey *et al.* (n = 12). Chez Yankelevich *et al.*, le traitement portait sur une administration répétée de lymphocytes chimériques porteurs d'anticorps bispécifiques anti-GD2 et anti-CD3 nommés BATs (n = 19), (35,36,39). (Tableau II).

Table II: Biological characteristics and administration number of CAR *cells*

Team	Date	No of pts	Conditioning	Manufactured cells	CAR cells'			Ref
					Generation	Target	Dose	
Jensen, Seattle	2007	8	-	T	I (CE7+CD3Zeta)	L1-CAM	1 x10 ⁸ -10 ⁹ /m ²	(36)
Brenner, Houston	2011	19	Flu 50 mg/m ² CPM 600 mg/m ²	T	I (scFv + CD3Zeta)	GD2	0.2 - 1,0 x10 ⁸ /m ²	(40)
Brenner, Houston	2017	11	Flu 60 mg/m ² CPM 1500 mg/m ²	T	III (scFv + OX40 + CD28 + CD3Zeta)	GD2	1 - 15 x10 ⁷ /m ²	(38)
Ma, Beijing	2020	1	Flu 75 mg/m ² CPM 750 mg/m ²	T	IV (scFv + CD28 + CD137 + CD3Zeta)	GD2	3.5 x10 ⁶ /kg	(42)
Anderson, London	2020	12	Flu 125 mg/m ² CPM 1200 mg/m ²	T	II (scFv + CD28 + CD3Zeta)	GD2	1 x10 ⁷ - x10 ⁹ /m ²	(41)
Yang, Guangzhou	2022	10	Flu 75 mg/m ² CPM 900 mg/m ²	T	IV (scFv + CD28 + 4-1BB + CD3Zeta)	GD2	0.13 - 6.34 x10 ⁶ /kg	(43)
Brenner, Houston	2023	12	Flu 60 mg/m ² CPM 1500 mg/m ²	NKT	IV (scFv + CD28 + 4-1BB + CD3zeta)	GD2	3 x10 ⁵ - 1 x10 ⁸ /m ²	(39)
Locatelli, Rome	2023	27	Flu 75 mg/m ² CPM 1,500 mg/m ²	T	IV (scFv + CD28 + 4-1BB + CD3zeta)	GD2	3 - 10 x10 ⁶ /kg	(37)
Kaplan, Bethesda	2024	3	CPM 3,600 mg/m ²	T	III (scFv + CD28 + OX40)	GD2	1 x10 ⁵ - 10 ⁷ /kg	(34)
Lum, Detroit	2024	19	-	T	BATs	GD2	0.32 - 1.28 x10 ⁹ /kg	(35)

Abbreviations: Flu: fludarabine, CPM: cyclophosphamide, BATs: bi-antibody specific activated T cells, L1-CAM: L1-Cell Adhesion Molecule, GD2: disialoganglioside, Ref: reference.

3.2 Efficacité et survie globale

Concernant l'efficacité, le taux de réponse objective (n = 29, 24%) est évalué par la survenue de rémissions complète (n = 16, 13%) ou partielle (n = 13, 11%) à la visite d'évaluation de chacune des études réalisées, soit à J+49 en moyenne mais s'échelonnant de J+28 (37,41,42) à J+183 (43). Lors de la dernière visite, 49,2% des patients atteints de neuroblastome (n = 60) ayant bénéficié d'au moins une injection de CAR *cells* étaient en vie. La date de dernière visite s'échelonnait de J+28 (41) à un maximum de +4,7 ans après la première injection de CAR *cells* (40).

À 3 ans, la survie globale rapportée dans 4 études sur 10 était d'environ 50%, alors qu'elle n'était que de 17% dans l'étude de Park *et al.* de 2007 concernant l'injection de CAR *cells* de première génération (36). (Tableau I).

3.3 Sécurité

3.3.1 Syndromes de relargage cytokinique

Ces injections ont été suivies d'un ensemble de 55 CRS dont la majeure partie (n = 53, soient 41% des patients traités) étaient des CRS de grade I ou II. On dénombrait 2 CRS de grade III (< 1,5%) dans deux études portant sur l'injection de CAR T *cells* de seconde et troisième générations (37,41). (Figure 6 et Tableau III).

On note l'administration de 5 doses de Tocilizumab chez 4 patients traités avec des CAR T ou NKT *cells* de seconde et troisième générations tous dirigés contre le GD2, devant l'apparition d'un CRS de grade III (37), de grade II (39) et 2 CRS de grade II et III (41).

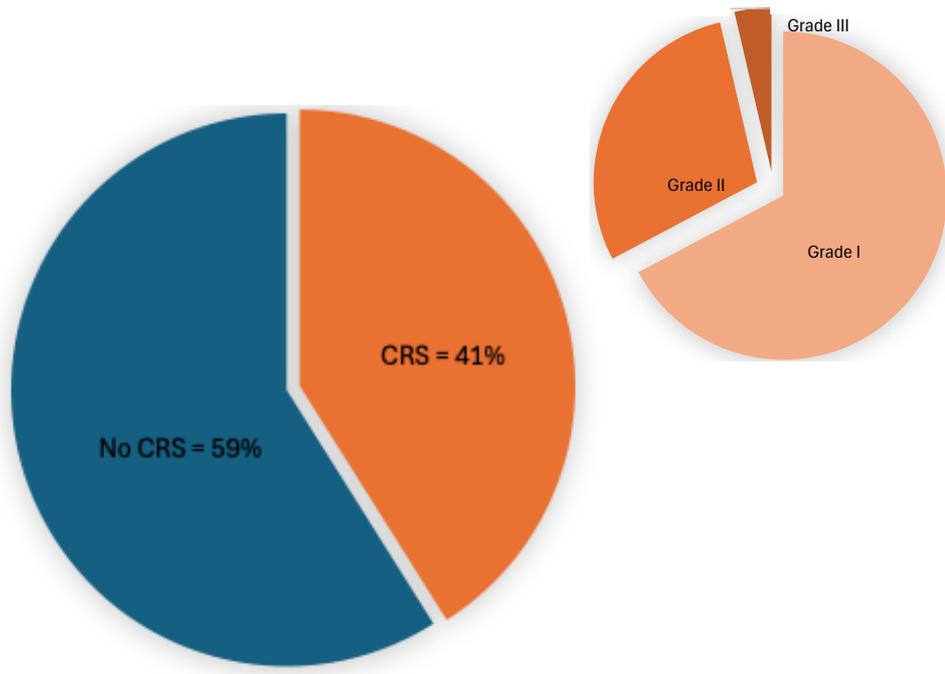


Figure 6 : Survenue de syndromes de relargage cytokinique après administration de CAR *cells* dans la prise en charge de neuroblastomes (ostéosarcomes et cancers diffus à petites cellules rondes de l’enfant).

Table III: Toxicity and side effects post CAR cells’ infusion.

Team	Date	No of pts	Fever	Leucopaenia	Febrile neutropaenia	Mild pain	CRS grade			Ref
							I or II	III	IV or ICANS	
Jensen, Seattle	2007	8	3/8	3/8	-	-	-	-	-	(36)
Brenner, Houston	2011	19	2/19	-	0/19	3/19	0/19	0/19	0/19	(40)
Brenner, Houston	2017	11	5/11	7/11	2/11	2/11	1/11	0/11	0/11	(38)
Ma, Beijing	2020	1	1/1	-	-	0/1	1/1	0/1	0/1	(42)
Anderson, London	2020	12	-	3/12	0/12	1/12	5/12	1/12	0/12	(41)
Yang, Guangzhou	2022	10	9/10	9/10	0/10	3/10	9/10	0/10	0/10	(43)
Brenner, Houston	2023	12	3/12	11/12	1/12	2/12	1/12	0/12	0/12	(39)
Locatelli, Rome	2023	27	-	27/27	-	6/27	19/27	1/27	0/27	(37)
Kaplan, Bethesda	2024	18	-	-	-	-	2/18	0/18	0/18	(34)
Lum, Detroit	2024	24	10/24	-	-	3/24	15/24	0/24	-	(35)

Abbreviations: CRS: cytokine release syndrome, ICANS: Immune effector-Cells Associated Neurotoxicity Syndrome, Ref: reference.

3.3.2 Douleurs

On dénombrait, par ailleurs, 20 évènements douloureux d'intensité modérée (atteignant le site tumoral primitif, les localisations secondaires ou bien encore les extrémités des membres). (Tableau III).

3.3.3 Leucopénies

De nombreuses leucopénies simples ont été recensées et concernaient environ 40% des inclusions (n = 60). (Tableau III).

3.3.4 Fièvre

Les épisodes fébriles simples étaient au nombre de 33, mais trois des études ne rapportaient pas ces évènements (34,36,44). Parmi ces divers travaux, seuls trois épisodes de neutropénie fébrile ont été rapportés (38,39). (Tableau III).

3.3.5 Syndrome d'immuno-neurotoxicité induite par les cellules effectrices

Aucun syndrome d'immuno-neurotoxicité induite par les cellules effectrices n'a été recensé et aucune dose de corticoïdes n'a été administrée dans chacun des 10 travaux étudiés. (Tableau III).

Le recours au signal de mort cellulaire par administration de Rimiducid a été nécessaire chez un unique patient à deux reprises et concernait la survenue d'une hémorragie méningée sans lien authentifié *a posteriori* avec l'administration de CAR T *cells* de troisième génération dirigés contre le GD2 (37).

4. Discussion

Les neuroblastomes de haut risque représentent un enjeu thérapeutique majeur. A l'heure actuelle, les taux d'EFS dans cette population s'élèvent à environ 45% à 5 ans en première ligne, du fait de maladies réfractaires ou en rechute. Ainsi, le taux d'OS des patients atteints de neuroblastomes en première ligne s'élève à un peu plus de 50% à 5 ans (7,8). En cas de rechute, avec la prise en charge thérapeutique par chimiothérapies de seconde ligne proposée actuellement, l'EFS à 4 ans passe à 6% et l'OS à 4 ans à 20% environ avec un temps de progression médian de 58 jours. (Figure 6) (45).

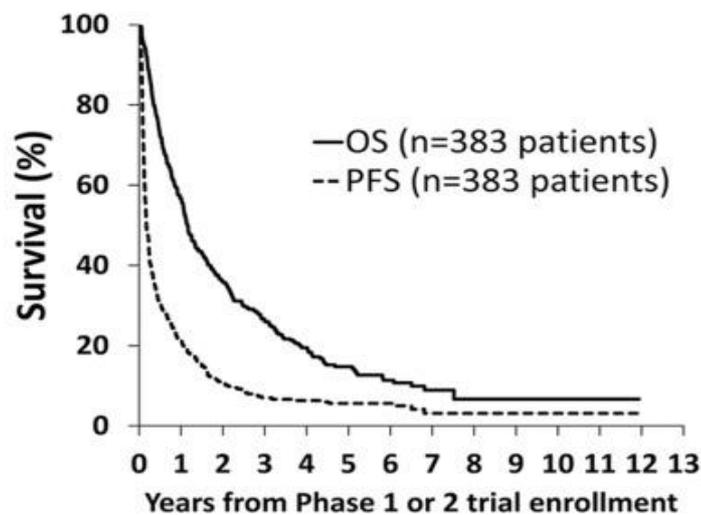


Figure 6 : Survie sans évènement (EFS) et survie globale (OS) d'après le Children's Oncology Group (COG) dans le cadre des essais précoces portant sur la prise en charge de patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute (383 patients). Issu de London *et al.*, 2017 (45).

Pour un suivi médian de 36 mois (Q1 = 19 et Q3 = 52 mois), l'OS à 3 ans chez les patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute traités par CAR *cells* et référencés dans cette étude s'élève à plus de 50% dans les travaux traitant de l'administration de CAR *cells* de générations avancées (III ou IV) avec un taux de réponse objective estimé à 24% à la dernière visite dont la date s'échelonnait de J+28 à 4,5 ans (35,37,40,43). Mais il

n'était que de 17% dans l'étude précoce de Park *et al.*, 2007 portant sur l'administration de CAR *cells* de première génération dirigés non pas contre le GD2, mais le L1-CAM (36).

Un total de 13 patients initialement inclus n'a pas pu bénéficier de l'administration des CAR *cells* soit du fait d'un échec de recueil, de leur progression et de leur orientation vers d'autres lignes thérapeutiques, soit du fait de leur décès avant la fin du processus de fabrication, dont la durée moyenne de 36 jours n'était rapportée que dans trois études (34,39,44).

Les CAR *cells* offrent donc une alternative thérapeutique intéressante en permettant une amélioration majeure de la survie chez ces patients porteurs de neuroblastomes réfractaires ou en rechute parmi lesquels on dénombrait avec les traitements actuels 4 décès pour 5 patients traités avant la fin de la 4^{ème} année de suivi.

La majorité des patients atteints de neuroblastome a moins de 5 ans au diagnostic avec un âge médian de 19 mois (46). Le seuil de 18 mois est retenu pour définir dans les formes non localisées les patients à haut risque de progression ou de rechute (7). Les patients inclus dans les diverses études recensées avaient un âge médian de 7 ans (1-30) lors de l'inclusion dans ces travaux portant sur la réponse et la tolérance aux CAR *cells* dans les cas de maladies réfractaires ou bien en rechute après plusieurs lignes de traitement (médiane de 3 lignes), expliquant l'âge plus avancé des patients inclus, comparativement à la littérature.

Au travers de cette revue de la littérature, nous avons pu constater que la survenue d'un CRS concernait moins de la moitié des patients porteurs de neuroblastomes réfractaires ou en rechute (n = 122), d'ostéosarcome (n = 15) ou de cancer diffus à petites cellules rondes

(n = 2). Ces patients présentaient dans plus de 75% des cas une maladie active. Ces évènements étaient dans la très grande majorité des CRS de grade I ou II et n'ont nécessité, outre la mise en place de soins de support efficaces, que très rarement un traitement spécifique par Tocilizumab ou Rimiducid (n = 5, soit 3,6% des patients traités). Ainsi, le taux de survenue de cet effet secondaire majeur des CAR *cells* rend la balance bénéfice-risque favorable à l'administration.

La définition de la réaction systémique à type de CRS rapidement après injection de CAR *cells* a été rapportée depuis la première injection de CAR *cells* dans la prise en charge de leucémies aiguës lymphoblastiques par Grupp *et al.* en 2013 (47), raison pour laquelle la survenue de ces évènements et leur gradation n'étaient pas formellement rapportées antérieurement par Park *et al.* en 2007 (36).

Les travaux portant sur les hémopathies malignes semblent indiquer que la masse tumorale et son contrôle sont un enjeu crucial pour permettre l'administration de CAR *cells*, avec un objectif d'administration à masse tumorale positive mais minimale afin de permettre une bonne expansion des CAR *cells* tout en limitant le risque de CRS (18). Dans l'ensemble des études que nous avons colligé, les patients étaient porteurs de maladies actives et métastatiques lors de l'administration de ces produits de thérapie cellulaire.

Aucune de ces études sur l'administration de cellules lymphocytaires T ou NKT porteuses d'un récepteur chimérique ayant pour cible le GD2 n'a rapporté de neurotoxicité induite par les CAR. En effet, du fait de la présence préférentielle de cet antigène au niveau neuronal et tumoral (dans le neuroblastome), nous aurions pu redouter de nombreux évènements neurologiques à l'instar des évènements douloureux émaillant les premières

administrations d'anticorps monoclonaux dirigés contre le GD2, utilisés dans la prise en charge des neuroblastomes de haut risque en traitement d'entretien de première ligne (48).

Les critères de sécurité semblent donc satisfaits par cette proposition thérapeutique faisant des CAR *cells* un traitement indispensable dans la prise en charge des patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute.

L'efficacité de transduction moyenne était conforme aux données de la littérature parmi les sept articles rapportant cette donnée et s'élevait à 41,4% des cellules mononucléées prélevées par cytophérèse (49).

Dans deux articles, les inclusions portaient d'une part sur 18 patients parmi lesquels 15 étaient porteurs d'ostéosarcomes élevant donc la moyenne d'âge à l'inclusion à 17 ans, cette maladie concernant préférentiellement les populations d'adolescents et jeunes adultes par opposition au neuroblastome qui concerne en très grande majorité de jeunes enfants avant 5 ans, d'autre part sur 24 patients parmi lesquels 5 patients étaient porteurs d'ostéosarcomes ou de cancers à petites cellules rondes (34,35). Pour une meilleure reproductibilité, nous avons fait le choix d'exclure les diagnostics d'ostéosarcome et de cancers à petites cellules rondes de notre étude d'efficacité, cependant les données relatives à la tolérance prennent effectivement en compte ces 20 patients.

Devant les orientations prometteuses entrevues par la collection de ces études de phase I ou II, le positionnement exact des CAR *cells* dans l'arsenal thérapeutique nécessite la réalisation d'une étude de phase III dans cette population très particulière de patients atteints

de neuroblastomes réfractaires ou en rechute. L'administration de CAR *cells* dans leur prise en charge semble permettre une amélioration de survie globale.

5. Conclusion

L'administration de CAR *cells*, quand elle est permise par un délai de fabrication acceptable, semble permettre l'amélioration de la survie globale des patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute et le contrôle dans près d'un quart des cas d'une maladie ayant échappé à plusieurs lignes thérapeutiques conventionnelles. Cette amélioration est observée chez des patients porteurs d'une maladie active de haut risque dans 75% des cas. Les CAR *cells* représentent donc une alternative thérapeutique intéressante en cas de neuroblastome réfractaire ou en rechute même non contrôlé.

Clermont-Ferrand, le 01/10/2024

Pierre CLAVELOU
Doyen - Directeur



Vu le Président du Jury de Thèse
(Date et signature)

P^r Justyna KANOLD
Hématologie oncologie pédiatrique
Thérapie cellulaire
CHU ESTAING
N° RPPS : 10003170189
31/08/24

6. Perspectives

Forte d'une expérience de plus de 20 ans dans la pratique de la cytophérèse chez les patients pédiatriques de petits poids, et de l'intérêt porté à la prise en charge de ces maladies à la particulière gravité, l'équipe de cancérologie pédiatrique du CHU Estaing de Clermont-Ferrand envisage le développement de CAR *cells* académiques dont nous avons pu mettre en évidence, dans ce travail, l'intérêt en termes d'efficacité et de tolérance dans la prise en charge des patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute.

Ainsi, les équipes pluridisciplinaires d'hémo-oncologie pédiatrique, de thérapie cellulaire, de cytophérèse et de biologie médicale du CHU de Clermont-Ferrand ont pour projet le développement de CAR *cells* académiques afin de proposer aux patients atteints de neuroblastomes un traitement adapté à la prise en charge de leur maladie réfractaire ou en rechute.

7. Bibliographie

1. Sommelet D, Lacour B, Clavel J. Épidémiologie des cancers de l'enfant. Bull Académie Nationale Médecine. 2003;187(4):711-41.
2. INSERM, RNCE. Registre national des cancers de l'enfant. 2024 [cité 21 août 2024]. Incidence des cancers 0-17 ans (France métropolitaine, 2014-2020). Disponible sur: <https://rnce.inserm.fr/rnce/les-chiffres/>
3. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, et al. International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. Lancet Oncol. juin 2017;18(6):719-31.
4. Sawaisorn P, Atjanasuppat K, Anurathapan U, Chutipongtanate S, Hongeng S. Strategies to Improve Chimeric Antigen Receptor Therapies for Neuroblastoma. Vaccines. 11 déc 2020;8(4):753.
5. [escp-high-risk-neuroblastoma-standard-clinical-practice-recommendations.pdf](#) [Internet]. [cité 25 août 2024]. Disponible sur: <https://www.siope.eu/media/documents/escp-high-risk-neuroblastoma-standard-clinical-practice-recommendations.pdf>
6. DuBois SG, Macy ME, Henderson TO. High-Risk and Relapsed Neuroblastoma: Toward More Cures and Better Outcomes. Am Soc Clin Oncol Educ Book Am Soc Clin Oncol Annu Meet. avr 2022;42:1-13.
7. Cohn SL, Pearson ADJ, London WB, Monclair T, Ambros PF, Brodeur GM, et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Classification System: An INRG Task Force Report. J Clin Oncol. 10 janv 2009;27(2):289-97.
8. Irwin MS, Naranjo A, Zhang FF, Cohn SL, London WB, Gastier-Foster JM, et al. Revised Neuroblastoma Risk Classification System: A Report From the Children's Oncology Group. J Clin Oncol. 10 oct 2021;39(29):3229-41.
9. [low-risk-neuroblastoma-standard-clinical-practice-recommendations.pdf](#) [Internet]. [cité 25 août 2024]. Disponible sur: <https://siope.eu/media/documents/low-risk-neuroblastoma-standard-clinical-practice-recommendations.pdf>
10. Di Matteo S, Avanzini MA, Pelizzo G, Calcaterra V, Croce S, Spaggiari GM, et al. Neuroblastoma Tumor-Associated Mesenchymal Stromal Cells Regulate the Cytolytic Functions of NK Cells. Cancers. 20 déc 2022;15(1):19.
11. Pelosi A, Fiore PF, Di Matteo S, Veneziani I, Caruana I, Ebert S, et al. Pediatric Tumors-Mediated Inhibitory Effect on NK Cells: The Case of Neuroblastoma and Wilms' Tumors. Cancers. 14 mai 2021;13(10):2374.
12. Schaafsma E, Jiang C, Cheng C. B cell infiltration is highly associated with prognosis and an immune-infiltrated tumor microenvironment in neuroblastoma. J Cancer Metastasis Treat [Internet]. 2021 [cité 14 janv 2024]; Disponible sur: <https://jcmtjournal.com/article/view/4090>
13. Flugel CL, Majzner RG, Krenciute G, Dotti G, Riddell SR, Wagner DL, et al. Overcoming on-target, off-tumour toxicity of CAR T cell therapy for solid tumours. Nat Rev Clin Oncol. janv 2023;20(1):49-62.
14. Yeku OO, Longo DL. CAR T Cells for Neuroblastoma. N Engl J Med. 6 avr 2023;388(14):1328-31.
15. Morandi F, Sabatini F, Podestà M, Airoidi I. Immunotherapeutic Strategies for Neuroblastoma: Present, Past and Future. Vaccines. 13 janv 2021;9(1):43.
16. Grèze V, Rouel N, Rochette E, Merlin E, Halle P, Plantaz D, et al. Peripheral blood stem cell collection in children with extremely low body weight (≤ 8 kg). What have we learned over the past 25 years and where are the limits? J Clin Apheresis. juin 2021;36(3):322-31.
17. Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, Ghobadi A, Turtle CJ, Brudno JN, et al. ASTCT

Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* avr 2019;25(4):625-38.

18. Hayden PJ, Roddie C, Bader P, Basak GW, Bonig H, Bonini C, et al. Management of adults and children receiving CAR T-cell therapy: 2021 best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) and the European Haematology Association (EHA). *Ann Oncol.* 1 mars 2022;33(3):259-75.

19. Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, Jakubowiak A, Agha M, Cohen AD, et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *The Lancet.* juill 2021;398(10297):314-24.

20. Ghorashian S, Jacoby E, De Moerloose B, Rives S, Bonney D, Shenton G, et al. Tisagenlecleucel therapy for relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukaemia in infants and children younger than 3 years of age at screening: an international, multicentre, retrospective cohort study. *Lancet Haematol.* oct 2022;9(10):e766-75.

21. Matthay KK, George RE, Yu AL. Promising therapeutic targets in neuroblastoma. *Clin Cancer Res.* 15 mai 2012;18(10):2740-53.

22. Butrynski JE, D'Adamo DR, Hornick JL, Cin PD, Antonescu CR, Jhanwar SC, et al. Crizotinib in ALK-Rearranged Inflammatory Myofibroblastic Tumor. *N Engl J Med.* 28 oct 2010;363(18):1727-33.

23. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 28 oct 2010;363(18):1693-703.

24. Chen Y, Sun C, Landoni E, Metelitsa L, Dotti G, Savoldo B. Eradication of Neuroblastoma by T Cells Redirected with an Optimized GD2-Specific Chimeric Antigen Receptor and Interleukin-15. *Clin Cancer Res.* 1 mai 2019;25(9):2915-24.

25. Liu D, Song L, Wei J, Courtney AN, Gao X, Marinova E, et al. IL-15 protects NKT cells from inhibition by tumor-associated macrophages and enhances antimetastatic activity. *J Clin Invest.* 1 juin 2012;122(6):2221-33.

26. Heinze A, Grebe B, Bremm M, Huenecke S, Munir TA, Graafen L, et al. The Synergistic Use of IL-15 and IL-21 for the Generation of NK Cells From CD3/CD19-Depleted Grafts Improves Their ex vivo Expansion and Cytotoxic Potential Against Neuroblastoma: Perspective for Optimized Immunotherapy Post Haploidentical Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 3 déc 2019;10:2816.

27. Talleur AC, Triplett BM, Federico S, Mamcarz E, Janssen W, Wu J, et al. Consolidation Therapy for Newly Diagnosed Pediatric Patients with High-Risk Neuroblastoma Using Busulfan/Melphalan, Autologous Hematopoietic Cell Transplantation, Anti-GD2 Antibody, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor, Interleukin-2, and Haploidentical Natural Killer Cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* nov 2017;23(11):1910-7.

28. Kanold J, Paillard C, Tchirkov A, Merlin E, Marabelle A, Lutz P, et al. Allogeneic or haploidentical HSCT for refractory or relapsed solid tumors in children: toward a neuroblastoma model. *Bone Marrow Transplant.* 1 oct 2008;42(S2):S25-30.

29. Kanold J, Paillard C, Tchirkov A, Lang P, Kelly A, Halle P, et al. NK Cell immunotherapy for high-risk neuroblastoma relapse after haploidentical HSCT. *Pediatr Blood Cancer.* oct 2012;59(4):739-42.

30. Marabelle A, Paillard C, Tchirkov A, Halle P, Chassagne J, Deméocq F, et al. Graft-versus-tumour effect in refractory metastatic neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant.* juin 2007;39(12):809-10.

31. Ng PC, Levy S, Huang J, Stockwell TB, Walenz BP, Li K, et al. Genetic Variation in an Individual Human Exome. *Schork NJ, éditeur. PLoS Genet.* 15 août 2008;4(8):e1000160.

32. Barisic S, Childs RW. Graft-Versus-Solid-Tumor Effect: From Hematopoietic Stem Cell Transplantation to Adoptive Cell Therapies. *Stem Cells*. 22 juin 2022;40(6):556-63.
33. Takahashi Y, Harashima N, Kajigaya S, Yokoyama H, Cherkasova E, McCoy JP, et al. Regression of human kidney cancer following allogeneic stem cell transplantation is associated with recognition of an HERV-E antigen by T cells. *J Clin Invest*. 1 févr 2008;JCI34409.
34. Kaczanowska S, Murty T, Alimadadi A, Contreras CF, Duault C, Subrahmanyam PB, et al. Immune determinants of CAR-T cell expansion in solid tumor patients receiving GD2 CAR-T cell therapy. *Cancer Cell*. janv 2024;42(1):35-51.e8.
35. Yankelevich M, Thakur A, Modak S, Chu R, Taub J, Martin A, et al. Targeting refractory/recurrent neuroblastoma and osteosarcoma with anti-CD3×anti-GD2 bispecific antibody armed T cells. *J Immunother Cancer*. mars 2024;12(3):e008744.
36. Park JR, DiGiusto DL, Slovak M, Wright C, Naranjo A, Wagner J, et al. Adoptive Transfer of Chimeric Antigen Receptor Re-directed Cytolytic T Lymphocyte Clones in Patients with Neuroblastoma. *Mol Ther*. avr 2007;15(4):825-33.
37. Del Bufalo F, De Angelis B, Caruana I, Del Baldo G, De Ioris MA, Serra A, et al. GD2-CART01 for Relapsed or Refractory High-Risk Neuroblastoma. *N Engl J Med*. 6 avr 2023;388(14):1284-95.
38. Heczey A, Louis CU, Savoldo B, Dakhova O, Durett A, Grilley B, et al. CAR T Cells Administered in Combination with Lymphodepletion and PD-1 Inhibition to Patients with Neuroblastoma. *Mol Ther*. sept 2017;25(9):2214-24.
39. Heczey A, Xu X, Courtney AN, Tian G, Barragan GA, Guo L, et al. Anti-GD2 CAR-NKT cells in relapsed or refractory neuroblastoma: updated phase 1 trial interim results. *Nat Med*. juin 2023;29(6):1379-88.
40. Louis CU, Savoldo B, Dotti G, Pule M, Yvon E, Myers GD, et al. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor–positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood*. 1 déc 2011;118(23):6050-6.
41. Straathof K, Flutter B, Wallace R, Jain N, Loka T, Depani S, et al. Antitumor activity without on-target off-tumor toxicity of GD2–chimeric antigen receptor T cells in patients with neuroblastoma. *Sci Transl Med*. 25 nov 2020;12(571):eabd6169.
42. Xu X, Zhao W, Yue Z, Qin M, Jin M, Chang L, et al. 4SCAR-GD2-modified T-cell therapy in neuroblastoma with *MYCN* amplification: A case report with over 4-year follow-up data. *Pediatr Investig*. mars 2020;4(1):55-8.
43. Yu L, Huang L, Lin D, Lai X, Wu L, Liao X, et al. GD2-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the treatment of refractory and/or recurrent neuroblastoma in pediatric patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. oct 2022;148(10):2643-52.
44. Pule MA, Savoldo B, Myers GD, Rossig C, Russell HV, Dotti G, et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. *Nat Med*. nov 2008;14(11):1264-70.
45. London WB, Bagatell R, Weigel BJ, Fox E, Guo D, Van Ryn C, et al. Historical time to disease progression and progression-free survival in patients with recurrent/refractory neuroblastoma treated in the modern era on Children’s Oncology Group early-phase trials. *Cancer*. 15 déc 2017;123(24):4914-23.
46. Whittle SB, Smith V, Doherty E, Zhao S, McCarty S, Zage PE. Overview and recent advances in the treatment of neuroblastoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 3 avr 2017;17(4):369-86.
47. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *N Engl J Med*. 18 avr 2013;368(16):1509-18.
48. Nysom K, Morad AG, Rafael MS, Zier J, Marachelian A, Watt T, et al. Pain

mitigation and management strategies for anti-GD2 infusions: An expert consensus. *Pediatr Blood Cancer*. mai 2023;70(5):e30217.

49. Ghassemi S, Durgin JS, Nunez-Cruz S, Patel J, Leferovich J, Pinzone M, et al. Rapid manufacturing of non-activated potent CAR T cells. *Nat Biomed Eng*. 2022;6(2):118-28.

(Conseil national de l'ordre des médecins)

SERMENT d'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTE et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les HOMMES m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'OPPROBRE et méprisé de mes confrères si j'y manque.

PLACE DES CAR *CELLS* DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS ATTEINTS DE NEUROBLASTOME REFRACTAIRE OU EN RECHUTE

Résumé :

CONTEXTE Le neuroblastome, premier représentant des tumeurs de blastème chez l'enfant, se développe aux dépens de structures dérivant des crêtes neurales. Au diagnostic, près de 50% des patients atteints présentent une maladie à haut risque, nécessitant des traitements multimodaux spécifiques durant environ 1,5 ans. En fin d'induction, 20% de ces patients conserveront une maladie réfractaire voire évolutive. Ainsi, une différence de survie persiste entre les groupes de haut risque et ceux de moindre risque avec une survie globale à 5 ans de 62,5% *versus* > 95%. Les cellules tumorales du neuroblastome expriment fortement à leur surface le disialoganglioside ciblé dans le développement d'approches thérapeutiques spécifiques.

OBJECTIF Cette revue de la littérature a pour objectif de déterminer la place des *chimeric antigen receptor cells* (CAR *cells*), dirigés principalement contre le disialoganglioside, dans la prise en charge thérapeutique de patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute, avec comme critère principal la survie globale de cette population.

METHODE Revue exhaustive de la littérature sur 20 ans.

RESULTATS L'administration de CAR *cells* a permis l'amélioration de la survie globale à 3 ans de cette population autour de 50%, avec un taux de réponse objective s'élevant à 24%. Ainsi, l'administration de CAR *cells* permet l'amélioration de la survie globale des patients atteints de neuroblastomes réfractaires ou en rechute et le contrôle dans un tiers des cas d'une maladie ayant échappé à plusieurs lignes thérapeutiques. La tolérance des CAR *cells* est acceptable dans cette population.

CONCLUSION Les CAR *cells* semblent donc représenter une alternative thérapeutique convaincante et sécuritaire pour la prise en charge des patients atteints de neuroblastome réfractaire ou en rechute.

Mots-clés :

- Neuroblastome
- Réfractaire
- Rechute
- CAR *cells*
- Thérapie ciblée
- Revue de la littérature