

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Les nouvelles perspectives de traitement contre le glioblastome basées sur la thérapie par cellules T à récepteur antigénique chimérique

Bricmont, Lisa

Award date:
2022

Awarding institution:
Universite de Namur
Université Catholique de Louvain

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

**Les nouvelles perspectives de
traitement contre le glioblastome
basées sur la thérapie par cellules T à
récepteur antigénique chimérique**

Auteur : Lisa Bricmont

Promoteur : Charles Nicaise

Année académique 2021-2022

Master en sciences pharmaceutiques à finalité spécialisée

« Je déclare sur l'honneur que ce mémoire a été écrit de ma plume, sans avoir sollicité d'aide extérieure illicite, qu'il n'est pas la reprise d'un travail présenté dans une autre institution pour évaluation, et qu'il n'a jamais été publié, en tout ou en partie. Toute les informations (idées, phrases, graphes, cartes, tableaux...) empruntées ou faisant référence à des sources primaires ou secondaires sont référencées adéquatement selon la méthode universitaire en vigueur. Je déclare avoir pris connaissance et adhérer au Code de déontologie pour les étudiants en matière d'emprunts, de citations et d'exploitation de sources diverses et savoir que le plagiat constitue une faute grave. »

Remerciements

Je tiens à remercier les personnes qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

Tout d'abord je remercie mon promoteur Charles Nicaise pour sa disponibilité, sa supervision et ses nombreuses relectures qui m'ont grandement aidée tout au long de la rédaction du mémoire. Ses conseils m'ont permis de progresser et d'obtenir un travail plus abouti.

Je souhaiterais également remercier le doctorant en sciences biomédicales Loïc Joannes pour ses commentaires sur certaines parties du mémoire qui m'ont permis d'apporter des explications plus claires et plus rigoureuses.

Je remercie également Anne Thiry, pharmacienne d'officine, pour ses encouragements et pour avoir relu et corrigé mon mémoire.

Finalement, je voudrais remercier mes parents pour leur soutien et pour le temps qu'ils ont consacré à la relecture de mon mémoire.

Table des matières

Remerciements	2
Liste des abréviations	5
1. Introduction	7
2. Glioblastome	7
2.1. Épidémiologie.....	7
2.2. Classification générale.....	8
2.3. Étiologie.....	10
2.3.1. Étiologies génétiques.....	10
2.3.2. Étiologies infectieuses.....	10
2.4. Le diagnostic.....	10
2.5. Traitements actuels	12
2.5.0. Contexte	12
2.5.1. Résection chirurgicale	12
2.5.2. Radiothérapie	12
2.5.3. Chimiothérapie	12
2.6. Hétérogénéité moléculaire des GBM	13
3. Chimeric antigen receptor-T cell therapy.....	15
3.1. Généralités	15
3.2. Conception des cellules CAR-T	16
3.3. Complications potentielles	18
3.4. Pharmacie de centre de thérapie par cellules CAR-T.....	20
3.5. Application dans le GBM.....	21
3.5.1. Mécanismes physiopathologiques du GBM.....	22
3.5.2. Axe PD-L1/PD-1	23
3.5.3. EGFRvIII.....	23
4. Résultats	24
4.1. Case report de Christine E. Brown (2016)	24
4.1.1. Méthode.....	24
4.1.2. Résultats	26
4.1.3. Discussion	27
4.1.4. Conclusion.....	28
4.2. Étude clinique d'Ahmed et al. (2017)	28
4.2.1. Contexte	28
4.2.2. Méthode.....	29
4.2.3. Résultats	30
4.2.4. Discussion	32

4.2.5. Conclusion.....	34
4.3. Étude clinique de Donald O'Rourke et al. (2017) (NCT02209376)	34
4.3.1. Méthode.....	34
4.3.2. Résultats	36
4.3.3. Discussion	39
4.3.4. Conclusion.....	41
5. Discussion	42
6. Conclusion.....	46
Approche méthodologique	48
Bibliographie.....	49
Annexes	54

Liste des abréviations

APC	Antigen Presenting Cell (<i>Cellule présentatrice d'antigène</i>)
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
CAR	Chimeric Antigen Receptor (<i>récepteurs d'antigènes chimériques</i>)
CART-HER2 VST	VST autologues modifiés par CART-HER2
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMV	Cytomégalovirus
CRES	CAR T-cell-Related Encephalopathy Syndrome (<i>Syndrome d'encéphalopathie liée aux cellules CAR-T</i>)
CRS	Cytokine Release Syndrome (<i>syndrome de relargage de cytokines</i>)
EGFR	Epidemial Growth Factor Receptor (<i>récepteur du facteur de croissance épidermique</i>)
EGFRvIII	Epidermal growth factor Receptor Variant III (<i>variant III du récepteur du facteur de croissance épidermique</i>)
G4	Grade 4
GBM	Glioblastome Multiforme
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale
GMP	Good Manufacturing Practices (<i>Bonnes pratiques de fabrication</i>)
HER2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
HIT	Hétérogénéité IntraTumorale
IDH	Isocitrate déshydrogénase
IL13R α 2	Sous-unité alpha 2 du récepteur de l'interleukine 13
IL-6	InterLeukine 6
PD-1	Programmed cell Death-1 (<i>Mort cellulaire programmée-1</i>)
PD-L1	Programmed cell Death-Ligand 1 (<i>Ligand de PD-1</i>)
PDGFRA	Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha (<i>récepteur alpha du facteur de croissance dérivé des plaquettes</i>)
PI3K	PhosphoInositide-3-Kinase
POI	Protein Of Interest (<i>protéine d'intérêt</i>)
RTK	Récepteur Tyrosine Kinase
SG	Survie Globale
SNC	Système Nerveux Central

TAA	Tumor Associated Antigen (<i>antigène associé à la tumeur</i>)
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TLR	Toll-Like Récepteur
TMZ	Témozolomide
VST	Cellules T Spécifiques du Virus

Tableau 1 : Liste des abréviations

1. Introduction

Le glioblastome multiforme (GBM) est une tumeur cérébrale et une maladie rare, caractérisé par une prolifération anormale des astrocytes et des oligodendrocytes avec une étiologie méconnue. Les traitements conventionnels comportent la résection chirurgicale, la radiothérapie et la chimiothérapie et ils ne permettent pas de guérir du GBM. Moins de 5% des patients survivent durant les 5 années après l'initiation du traitement. Cet échec thérapeutique est dû à des résistances aux traitements et à l'hétérogénéité intratumorale. Il est donc nécessaire de développer une nouvelle approche thérapeutique.

La thérapie par cellules T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T) emploie une stratégie thérapeutique récente qui aspire à remédier au manque de spécificité et d'efficacité des traitements conventionnels. Cette thérapie utilise des lymphocytes T génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur antigénique chimérique (CAR) à leur surface afin de cibler spécifiquement les cellules tumorales. Ce type de thérapie est déjà utilisé dans le cadre du traitement de lymphomes de par son action ciblée et montre de bonnes réponses thérapeutiques. Cette thérapie très coûteuse présente de nombreux avantages ainsi que plusieurs inconvénients qu'il convient de caractériser afin de déterminer i) la balance bénéfice-risque pour le patient et ii) le rapport coût/efficacité.

Au cours de ce mémoire, la maladie et la thérapie seront définies. Ensuite, deux études cliniques de phase 1 ainsi qu'un rapport de cas mettront en relief différents résultats dans le but d'envisager quelles sont les nouvelles perspectives de traitement du GBM par la thérapie par cellules CAR-T. Pour ce faire, les résultats seront divisés en quatre sous-groupes : l'adressage cellulaire des cellules vers le cerveau, la persistance des cellules, l'efficacité et les effets indésirables.

Pour conclure, des points clés seront discutés pour comprendre les enjeux et les avantages de cette thérapie permettant de souligner les perspectives de traitement réalistes contre le GBM.

2. Glioblastome

2.1. Épidémiologie

Le GBM représente la plus fréquente et la plus agressive des tumeurs cérébrales malignes primaires, constituant 16% de tous les néoplasmes primaires du système nerveux central. Ce cancer est une maladie rare avec une incidence annuelle de 3,1 personnes sur 100 000 (Wirsching et al., 2016). Les premières manifestations chez les patients sont liées à l'élévation progressive de la pression intracrânienne et se présentent sous la forme de céphalées et de

déficits neurologiques focaux ou progressifs. Les symptômes associés sont des maux de tête, des nausées, une somnolence, des troubles de la vision, des changements de la personnalité ou des convulsions.

Une fois diagnostiqué (voir 2.4. Le diagnostic), la survie médiane des patients est de 12 à 15 mois avec un traitement de la tumeur par résection chirurgicale et chimioradiothérapie. Les GBM peuvent survenir à tout âge, y compris pendant l'enfance, l'âge médian étant de 64 ans. L'incidence est légèrement supérieure chez les hommes et chez les caucasiens par rapport aux autres ethnies.

Les femmes ménopausées présentent un risque plus élevé que les femmes non-ménopausées de survenue du GBM : ce qui soulève l'hypothèse d'un rôle des hormones sexuelles dans le développement de la tumeur.

La taille et l'indice de masse corporelle sont également impliqués dans l'incidence de la tumeur. En effet, ces deux variables font augmenter proportionnellement le taux d'incidence.

En dépit d'une résection accompagnée d'un traitement multimodal, approximativement 70% des patients atteints de GBM auront une récurrence de la maladie dans l'année suivant le diagnostic et le premier traitement. Malheureusement, moins de 5% des patients survivent dans un délai de 5 ans après le diagnostic (Davis, 2016; Tamimi & Juweid, 2017; Urbańska et al., 2014; Wirsching et al., 2016).

2.2. Classification générale

L'OMS liste plusieurs grades pour servir d'indicateur quant à l'évolution, ainsi que la diffusion d'une tumeur. Le grade de la tumeur décrit celle-ci au microscope en fonction de l'aspect anormal des cellules tumorales et du tissu tumoral. Il y a 4 grades, le premier (G1) est bien différencié et le quatrième (G4) est indifférencié. Le grade entre en ligne de compte lors de l'élaboration du plan de traitement et estime partiellement le pronostic du patient. Globalement, les gliomes d'un grade plus faible donnent lieu à un meilleur pronostic. À l'inverse, un gliome de grade plus élevé induit un mauvais pronostic, il peut nécessiter un traitement plus agressif et une prise en charge immédiate. En effet, les tumeurs de grade 1 (G1) ont tendance à croître et à se propager lentement avec des cellules et une organisation du tissu tumoral proches d'un tissu nerveux normal. A contrario, les tumeurs de grade 3 et 4 auront tendance à se développer et à se propager plus rapidement avec des cellules d'apparence anormale et sans structure tissulaire classique. Selon l'OMS, tous les GBM sont classés grade 4. Le stade de la tumeur, quant à lui, fait référence à la taille, à l'étendue de la tumeur initiale, ainsi qu'à la propagation des cellules cancéreuses dans l'organisme. Les stades sont définis par

le système TNM pour Tumeur, Nodes (nœuds) et Métastase, créé et mis à jour par l’American Joint Committee on Cancer (AJCC) et l’Union Internationale Contre le Cancer (UICC) (tableau 2) (*Definition of TNM Staging System - NCI Dictionary of Cancer Terms - National Cancer Institute*, 2011; Edge & Compton, 2010, 2013).

Grade	1	Cellules cancéreuses bien différenciées ; cellules et l'organisation du tissu tumoral similaires à la normale. (Tumeurs bénignes)
	2	Cellules cancéreuses modérément différenciées ; cellules et l'organisation du tissu tumoral similaires à la normale. (Tumeurs bénignes)
	3	Cellules cancéreuses peu différenciées ; cellules d'apparence anormale et peuvent manquer de structures tissulaires normales. (Tumeurs malignes)
	4	Cellules cancéreuses indifférenciées ; cellules d'apparence anormale et peuvent manquer de structures tissulaires normales. (Tumeurs malignes) GBM
Stade	1	Tumeur unique et de petite taille. (ex: T1N0M0)
	2	Volume local plus important. (ex : T2N0M0)
	3	Envahissement des ganglions lymphatiques et/ou des tissus avoisinants. (ex: T1N1M0 ou T3N0M0)
	4	Extension plus large et/ou une dissémination dans l'organisme sous forme de métastases. (ex: T2N1M1 ou T4N0M0)

Tableau 2 : Classification des stades et des grades des tumeurs (cancer s. d.; Lee s. d.; « Tumor Grade Fact Sheet - National Cancer Institute » 2013).

Sur base de la clinique, le GBM est classifié en deux sous-types : le GBM primaire et le GBM secondaire. Plus de 90% des GBM sont des gliomes primaires provenant de cellules normales et suivant un processus d’oncogénèse en plusieurs étapes. Les autres 10% sont des gliomes secondaires issus de tumeurs de grade inférieur, ceux-ci se développant nettement plus lentement. Morphologiquement, ces 2 groupes ne présentent pas de différence significative (Urbańska et al., 2014).

Les GBM sont accompagnés d’une hétérogénéité génétique, autant entre les patients qu’au sein d’une même tumeur. Il existe des sous-types de tumeurs présentant des altérations génétiques en lien avec une signification pronostic variable. La détermination du sous-type de

tumeur est réalisée à l'aide d'une biopsie invasive ou lors de la résection chirurgicale. Pour ce faire, une analyse génomique est effectuée pour catégoriser les sous-groupes et pour visualiser les associations entre les profils moléculaires et les caractéristiques radiologiques. Cette méthode sert de technique non invasive dans la détermination génomique (pour la corrélation, la prédiction et l'identification de la tumeur), et permet ainsi d'éviter l'emploi de chirurgie. Grâce à l'identification des sous-types moléculaires, des thérapies spécifiques axées sur ces profils d'anomalies moléculaires sont mises en place (Davis, 2016; Thakkar et al., 2014).

2.3. Étiologie

2.3.1. Étiologies génétiques

À ce jour, l'étiologie du GBM n'est pas entièrement élucidée. Cette tumeur est considérée comme spontanée. Il existe une forme familiale représentant 1% des cas, mais la base génétique n'est pas la même que pour les gliomes spontanés (Urbańska et al., 2014).

Une dérégulation au point de contrôle G1/S dans le cycle cellulaire et de multiples perturbations génétiques dans les cellules du gliome, participent au développement du GBM. À titre d'exemple, peuvent être citées: une perte de matériel génétique au sein du chromosome 10q, des mutations dans les gènes PTEN, TP16, TP53, PARK2, PTPRD et NF1 et des amplifications des gènes EGFR, FGR2, IRS2 et AKT3 induisant le GBM.

Par ailleurs le GBM peut apparaître en parallèle à des maladies génétiques telles que la sclérose tubéreuse, la néoplasie endocrinienne multiple de type IIA, le syndrome de Turcot et la neurofibromatose de type I (NF1) (Urbańska et al., 2014).

2.3.2. Étiologies infectieuses

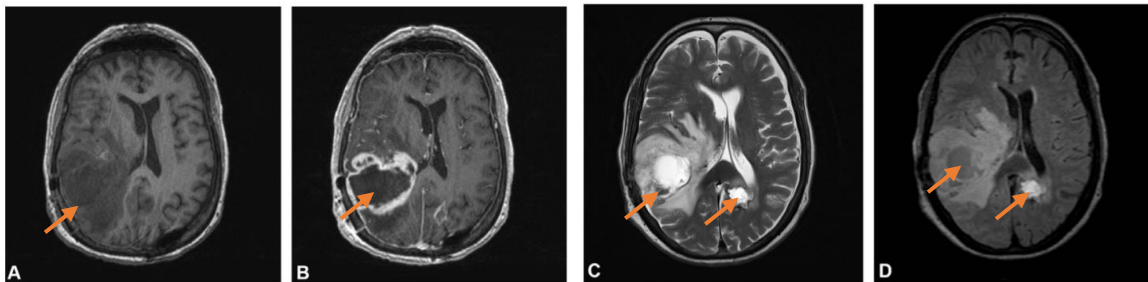
Des virus comme le cytomégalovirus humain (CMV) qui engendrent une encéphalite congénitale et, chez les adultes immunodéprimés, une infection des organes, tels que les yeux, le cerveau, le tube digestif, peuvent être à l'origine du développement du GBM. De plus, ce virus encourage l'angiogenèse favorisant le développement de tumeur. Ce virus montre d'ailleurs un tropisme pour les cellules gliales (Hashida et al., 2015; Interlandi, 2009; Ohgaki & Kleihues, 2005; Urbańska et al., 2014).

2.4. Le diagnostic

La première étape du diagnostic du GBM comporte des examens neurologiques et cliniques. Par exemple, une série d'exercices musculaires, de tests auditifs et de tests de mémoires sont effectués. Suite à ces examens, une suspicion de GBM peut être établie. L'outil de diagnostic principal du GBM est l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Le contraste appliqué est le T1 avec lequel la substance blanche apparaît hyperintense (claire) et l'eau

hypointense (noir). La tumeur imprime un motif en forme de papillon sur l'imagerie tel que montré sur la Figure 1. En IRM, la majorité des GBM se démarquent du tissu nerveux environnant par la prise de contraste au gadolinium. L'imagerie met en évidence une masse de forme irrégulière avec un anneau de rehaussement dense et un centre de nécrose hypointense. Cette partie nécrosée est une caractéristique distincte du GBM et aide à classer les tumeurs cérébrales comme G4. À l'imagerie, on peut également identifier de l'hémorragie, de l'œdème vasogénique et une distorsion voire un déplacement des ventricules cérébraux.

Figure 1 : IRM du cerveau montrant la présence de tumeur. (A) IRM pondérée en T1 ; (B) IRM renforcée au Gadolinium ; (C) IRM pondérée en T2 ; (D) IRM en récupération par inversion atténuée par le liquide (FLAIR) (Wirsching et al., 2016).



Le diagnostic définitif repose sur un examen histopathologique de la tumeur après résection chirurgicale totale ou partielle. Dans les cas d'impossibilité de résection tumorale neurochirurgicale, une biopsie par aspiration à aiguille fine est effectuée. L'immunohistochimie permet de vérifier le diagnostic primaire en raison de l'expression par les cellules tumorales de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP). Cette dernière correspond au marqueur de filaments intermédiaires des astrocytes avec la meilleure spécificité. Pour les tumeurs d'origine astrocytaire, la perte de l'expression de GFAP est généralement associée à une élévation de la malignité. C'est le cas pour les GBM où les cellules tumorales négatives pour le GFAP tendent à proliférer plus vite que les cellules positives. La perte d'expression de la GFAP est un signe d'apparition de cellules de gliome indifférenciées.

La protéine acide S100 est aussi répertoriée comme autre marqueur spécifique des tumeurs du SNC. Lors d'une lésion aigue du tissu cérébral, sa concentration augmente dans le sang et le liquide céphalorachidien.. Une analyse sanguine permet d'en évaluer le dosage, ce qui apporte une aide au diagnostic des tumeurs cérébrales. Elle permet également d'en surveiller l'évolution. Néanmoins, elle ne fait pas partie des critères de base pour le diagnostic différentiel des GBM (Beaudeau, 2009; *Glioblastome - Définition, symptômes, diagnostic & traitement*, 2020; *imagerie par résonance magnétique (IRM)*, s. d.; Nisolle, 2020; Shukla et al., 2017; Urbańska et al., 2014; H. Wang et al., 2013).

2.5. Traitements actuels

2.5.0. Contexte

Les options thérapeutiques sont multimodales et comprennent la résection chirurgicale, la radiothérapie et la chimiothérapie. L'approche standard du traitement du gliome consiste en une résection chirurgicale la plus étendue possible et en une radiothérapie adjuvante renforcée par l'administration de témozolomide. Cependant, même avec une résection large et un traitement adjuvant, la majorité des GBM réapparaissent et les patients présentent un temps de survie limitée (M. P. Brown et al., 2019; Davis, 2016).

2.5.1. Résection chirurgicale

La résection chirurgicale vise plusieurs objectifs. Elle permet de soulager les symptômes neurologiques, de confirmer le diagnostic par une analyse histologique, de mettre à disposition des tissus qui seront utilisés pour surveiller d'une part, la progression du GBM et d'autre part, d'augmenter la survie globale (SG) du patient.

Il existe deux approches différentes d'exérèse du GBM. La première est la technique « inside-out » dans laquelle le chirurgien effectue un retrait progressif de la tumeur. Il procède de la sorte dans l'intention de réduire les dommages aux tissus sains du cerveau. La seconde technique est appelée résection « en bloc », dans ce cas, les contours de la tumeur sont définis avant de réaliser quelque incision (Hentschel & Lang, 2003; Young et al., 2015).

2.5.2. Radiothérapie

La radiothérapie délivre localement des rayons dans le but de détruire les cellules tumorales pour soit éradiquer la tumeur, soit en réduire son volume. Des faisceaux de rayons à haute énergie, comme des rayons X ou des protons sont appliqués spécifiquement sur la cible. Pour ce faire, un scanner est réalisé préalablement afin de délimiter la zone contenant la tumeur (Castelnau-Marchand, 2021; « Radiothérapie », 2020).

2.5.3. Chimiothérapie

Le témozolomide (TMZ) est la chimiothérapie la plus utilisée par les patients atteints de GBM. Malheureusement, la moitié des patients y deviennent résistants.

Le TMZ agit sur l'ADN pour empêcher la prolifération tumorale. Il épuise l'enzyme de réparation O6-méthylguanine-ADN méthyltransférase (MGMT), ce qui le rend particulièrement efficace chez les patients dont les tumeurs abritent un promoteur MGMT méthylé (Chua et al., 2019; Karachi et al., 2018).

2.6. Hétérogénéité moléculaire des GBM

La nature hautement hétérogène du GBM complique l'élaboration d'un traitement efficace. La diversité est présente au sein de la tumeur originale, on parle d'hétérogénéité intratumorale (HIT) mais également entre les GBM de différents patients. L'HIT est, pense-t-on, à l'origine de la résistance thérapeutique et de la récurrence de la maladie.

Le GBM regroupe des HIT génétiques, cellulaires et fonctionnelles. Le mauvais pronostic du GBM est en grande partie dû à cette HIT.

Une classification moléculaire du GBM par The Cancer Genome Atlas (TCGA) offre une meilleure compréhension de la régulation génétique du GBM et ce par l'identification de sous-groupes moléculaires ayant chacun un pronostic présumé. Leur identification a été réalisée à partir de données de profilage transcriptionnel de plusieurs échantillons de tumeurs, en soulignant les gènes dominants exprimés dans chaque groupe. Les sous-groupes sont au nombre de 4 et sont répertoriés en classique, neuronal, pro-neuronal et mésenchymateux (Tableau 3).

Sous-groupes	Caractéristiques
Classique	Amplifications ou mutations du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR).
Neuronal	Expression de gènes neuronaux.
Pro-neuronal	Expression de gènes de cellules souches (Sox2 et Olig2). Entrainé par la signalisation du récepteur alpha du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFRA).
Mésenchymateux	Mutations dans le gène de la neurofibromatose 1.

Tableau 3 : Caractéristiques des sous-groupes de GBM

Chaque sous-groupe possède un profil transcriptionnel qui lui est propre.

Concernant les GBM secondaires, ils évoluent d'un gliome de bas grade préexistant vers un GBM. Ces tumeurs se retrouvent en majorité dans le sous-groupe pro-neural. Les GBM secondaires se définissent par des mutations dans l'isocitrate déshydrogénase (IDH) 1 et 2, de même que par une surrégulation de la signalisation PDGFRA. Nonobstant, la classification génomique et transcriptionnelle du TCGA et les différents sous-groupes de tumeurs réunissent des altérations des voies oncogènes communes. Notamment, des mutations ou/et amplifications

de récepteurs tels que EGFR et PDGFRA modifiant la signalisation des récepteurs tyrosine kinase (RTK), ainsi que des mutations de gènes en aval de la voie Akt tels que PI3K et PTEN. De plus, de nouvelles études montrent qu'au sein de chaque sous-groupe, le profil transcriptomique est dynamique. Il varie spatialement et temporellement au sein des cellules constituant la tumeur. Une même tumeur serait constituée d'un mélange hétérogène de cellules des différents sous-groupes.

Dans le cas du sous-groupe pro-neural, associé à la meilleure survie, certains patients atteints de cette tumeur portent en plus des signatures génétiques d'autres sous-groupes, ce qui leur vaut, *in fine*, une survie plus faible et ce d'autant plus que la représentation de sous-groupes alternatifs est accrue.

Il a été montré que les sous-clones de GBM issus de cellules uniques présentent des caractéristiques génétiques singulières et maintiennent diverses résistances aux médicaments. Les HIT du GBM ont révélé la coactivation de RTK tels que EGFR, MET et PDGFR ayant pour conséquence la nécessité d'opter pour une méthode de criblage multiple des RTK afin d'abolir la signalisation en aval et optimiser la survie cellulaire. D'autre part, une étude (Szerlip et al., 2012) montre l'expansion hétérogène d'EGFR et PDGFRA dans un sous ensemble de cellules GBM qui nécessitent l'inhibition de deux RTK afin d'atténuer l'activité tumorale et donc d'inhiber la croissance tumorale. Par ailleurs, une variété d'anomalies de l'EGFR identifiées par séquençage du génome coexiste dans le GBM. Certaines mutations de l'EGFR (ex : délétions carboxy-terminales de l'EGFRvIII et de l'EGFR) sont souvent présentes dans des populations sous-clonales mutuellement exclusives. Plusieurs arguments sont en faveur de l'utilisation de thérapies combinatoires en commençant par l'étude de l'HIT dans les GBM, également par des méthodes plus classiques telles que la sélection de cible, la pénétration des agents thérapeutiques dans le système nerveux central (SNC), l'analyse de la présence de biomarqueurs responsables de l'échec thérapeutique.

Le développement hétérogène de sous-populations de cellules cancéreuses est fortement à l'origine de l'échec thérapeutique. De plus, la thérapie agirait comme pression de sélection laissant se développer des populations tumorales qui étaient dans un premier temps minoritaires.

En définitive, l'HIT est de plus en plus considérée comme l'un des déterminants principal de l'échec thérapeutique du GBM. En effet, l'impact du traitement est limité par l'évolution continue de la génétique des tumeurs dans l'espace et le temps, générant un degré de complexité cellulaire et d'hétérogénéité au sein de la même tumeur. Cette HIT est à l'origine de l'apparition de la résistance aux traitements. Elle engendre des populations sous-clonales de

cellules ayant sélectionné ou ayant développé des mécanismes d'échappement au traitement (Qazi et al., 2017; Tirosh & Suvà, 2020).

3. Chimeric antigen receptor-T cell therapy

3.1. Généralités

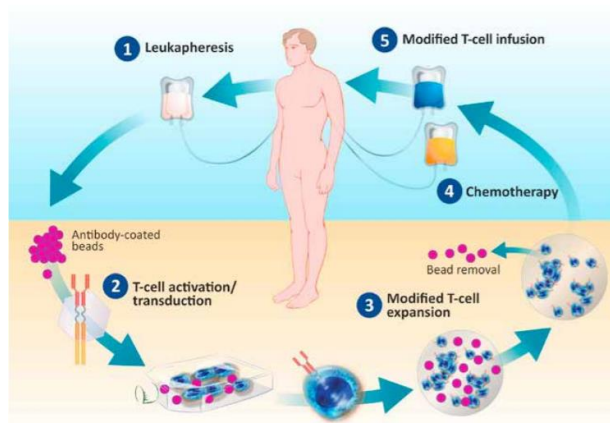
Les cellules T jouent un rôle crucial dans la surveillance immunitaire, la détection et l'élimination des cellules tumorales de l'hôte. L'activation des lymphocytes T dépend de deux signaux. Premièrement, les récepteurs des cellules T (TCR) reconnaissent et se lient aux peptides antigéniques présentés sur le complexe majeur d'histocompatibilité exposé à la surface des APC ou des cellules tumorales. Deuxièmement, des modules de signalisation co-stimulateurs des cellules T (ex : CD28, OX40 et 4-1BB) se lient aux ligands exprimés sur les APC (Land et al., 2020).

Le choix du domaine de costimulation a un impact sur un large éventail de propriétés, y compris les voies métaboliques, le développement de la mémoire des cellules T et la signalisation tonique indépendante de l'antigène.

La thérapie par les cellules T exprimant un récepteur d'antigène chimérique (CAR-T) est une nouvelle classe d'immunothérapie cellulaire adoptive pour le traitement des cancers. Elle est réalisée par manipulation génétique ex vivo des cellules T, et ce en utilisant des vecteurs lentiviraux et rétroviraux pour permettre l'expression des récepteurs d'antigènes chimériques (CAR) (Buechner et al., 2018). L'utilisation de ces vecteurs en thérapie génique permet d'insérer, de modifier ou de supprimer des gènes dans des organismes à l'aide de lentivirus ou de rétrovirus. Le lentivirus est unique par sa capacité à infecter des cellules post-mitotiques, et possède donc un plus large éventail d'applications potentielles (« Lentiviral Vector in Gene Therapy », 2021). En comparaison, les rétrovirus standards ne peuvent infecter que des types de cellules mitotiquement actives (Wiznerowicz, 2012).

Les cellules CAR-T reprogrammées seront perfusées au patient et vont dès lors déclencher des réponses immunitaires ciblées contre les cellules qui exprimeront l'antigène correspondant (Figure 2). Cette technique est actuellement utilisée aux États-Unis pour le traitement des patients âgés de 25 ans maximum atteints de leucémie lymphoblastique aiguë à précurseur de cellules B (B-ALL) réfractaires ou en deuxième rechute ou plus. Elle est de ce fait la première thérapie cellulaire à être autorisée aux USA. On utilise par exemple, le tisagenlecleucel qui est dirigé contre l'antigène CD19 des lymphocytes B (Buechner et al., 2018).

Figure 2: : Processus de la thérapie CAR-T cell (Chomiene et al., 2019)



Les nombreux agents thérapeutiques actuels manquent de pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), et par conséquent diminue l'efficacité de la chimiothérapie. À l'inverse, la thérapie par cellules CAR-T possède la capacité de traverser la BHE. Ces cellules pourraient reconnaître un antigène associé à une tumeur (TAA) avec une haute spécificité sans limitation par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), et est indépendant du traitement des antigènes par le système immunitaire du receveur, tout en utilisant leur propriété de traverser la BHE (Land et al., 2020).

Le TMZ pourrait montrer un intérêt en combinaison avec la thérapie par cellules CAR-T de par la lymphodéplétion qu'il induit. Pour offrir une efficacité supplémentaire à l'immunothérapie, le TMZ est administré dans un premier temps afin de réduire le nombre de lymphocytes T non modifiés de l'organisme de l'hôte offrant ainsi plus d'espace aux cellules modifiées et limitant le risque de rejet. De plus, la chimiothérapie permet de déjà réduire la taille de la tumeur. Dans un deuxième temps, les cellules CAR-T sont perfusées et elles vont proliférer et s'attaquer à leur cible (Suryadevara et al. 2018; Bouguet et al. 2021).

Sur le plan économique, le prix de cette thérapie s'élève à 300 000 € par patient pour l'administration d'une seule dose (Catros 2019).

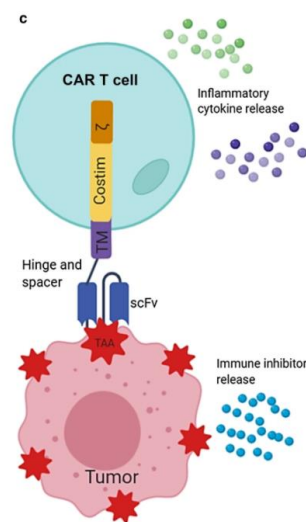
3.2. Conception des cellules CAR-T

Les récepteurs antigéniques chimériques (CAR) sont des récepteurs synthétiques qui permettent aux cellules T de reconnaître les antigènes associés aux tumeurs (TAA) d'une manière indépendante du CMH. La thérapie par cellules CAR-T montre un avantage à ce niveau, en effet un mécanisme tumoral dans l'échappement immunitaire est la perte du CMH de classe I au sein des cellules tumorales.

Dans les cas où les cellules CAR-T manquent d'efficacité clinique, il est indiqué que des modifications génétiques (pour viser plusieurs cibles par exemple) et des combinaisons thérapeutiques sont nécessaires pour obtenir une meilleure réponse au traitement.

Un CAR est une molécule synthétique conçue pour exprimer un domaine de reconnaissance de l'antigène, qui est généralement un fragment variable à chaîne unique (scFv) ou un ligand spécifique d'un TAA. Ce domaine est relié au domaine transmembranaire et à un domaine de signalisation intracellulaire via un « hinge » et un « spacer » (Figure 3). La liaison au TAA active la signalisation de la cellule CAR-T à l'aide du module CD3 ζ , présent dans l'endodomaine, afin de déclencher les fonctions cytotoxiques de la cellule T, conduisant à la sécrétion de perforines, des granzymes et des cytokines (Land et al., 2020).

Figure 3 : Mécanisme d'action simplifié d'une cellule CAR T (Land et al., 2020)



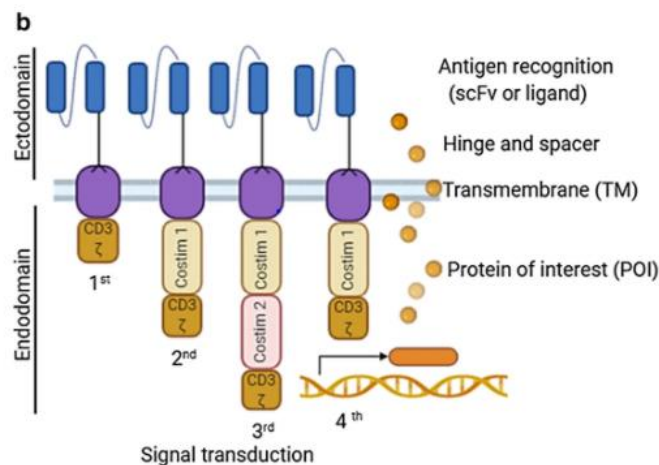
Il existe plusieurs générations de cellules CARs (Figure 4). Les domaines de signalisation comportent toujours CD3 ζ , et si aucun autre domaine de signalisation n'est présent, alors il s'agit d'un CAR de première génération. L'ajout d'un domaine de signalisation de co-stimulation, généralement CD28 ou 4-1BB, crée un CAR de deuxième génération, et plusieurs domaines de co-stimulation créent un CAR de troisième génération. Enfin, la quatrième génération possède des modifications génétiques additionnelles permettant la libération de protéines transgéniques d'intérêt (POI) telles que des cytokines stimulatrices, afin d'augmenter l'expansion et la survie des cellules CAR-T (ex: IL-12, IL-15, IL-18). Ces cellules de quatrième génération sont également appelées cellules T « TRUCK ». L'un des domaines de co-stimulation le plus fréquemment utilisé est la combinaison de CD28 avec CD137. D'un côté, la signalisation de CD28 induit une différenciation dans la mémoire effectrice et d'un autre côté la signalisation de CD137 permet de maintenir un phénotype de mémoire centrale. Néanmoins,

d'un point de vue des preuves cliniques directes, cette combinaison ne s'est pas démontrée supérieure aux autres associations (Land et al. 2020; M.P. Brown et al. 2019; J. Wang et al. 2020).

De par leurs modifications génétiques, ces cellules TRUCK de quatrième génération permettent d'améliorer la persistance et l'innocuité des cellules CAR-T. Par exemple, des études ont montré que la surexpression d'IL-15 ou d'IL-7R améliore l'activité antitumorale et la persistance des cellules CAR-T dans les GBM (Wang et al., 2020).

Néanmoins, certaines modifications peuvent entraîner des toxicités, par exemple lorsque la manipulation induit la surexpression de l'IL-12 ou IL-18 entraînant un risque de prolifération incontrôlable des cellules T. Le choix des modifications doit donc être préalablement étudié. De plus, le choix du domaine de co-stimulation peut affecter de manière significative la fonction et la toxicité des cellules CAR-T. Par exemple, une neurotoxicité sévère et mortelle a été rapportée après un traitement avec des cellules CD19-CAR-T incorporant des domaines co-stimulateurs 4-1BB ou CD28.

Figure 4 : Différentes générations de cellules CAR-T (Land et al., 2020)



En outre, la création de ces cellules prendrait 2 à 3 semaines à partir du prélèvement sanguin du donneur (*Thérapies CAR-T cells autologues*, 2021).

3.3. Complications potentielles

La thérapie par cellules CAR-T peut être associée à de nombreuses complications potentiellement graves ou mortelles. Les principales toxicités par système d'organes sont reprises dans la Figure 5. Pour limiter les effets indésirables, une expertise et une approche multidisciplinaire sont requises. Ces complications ont une sévérité et une fréquence variable en fonction de l'indication de la thérapie, cependant, elles restent relativement prédictibles. Le syndrome de relargage de cytokines (CRS) est le plus important des événements rapportés. Il

est dans sa forme sévère, rapporté chez 27 à 38% des patients. Le CRS est corrélé à une morbidité élevée ainsi qu'à une plus grande expansion des cellules CAR-T. La toxicité majeure signalée fait suite à la libération rapide et soutenue de cytokines dont l'IL-2, IL-6, IL-10 et IFN γ à la suite de l'activation et de l'expansion des lymphocytes T (Land et al., 2020).

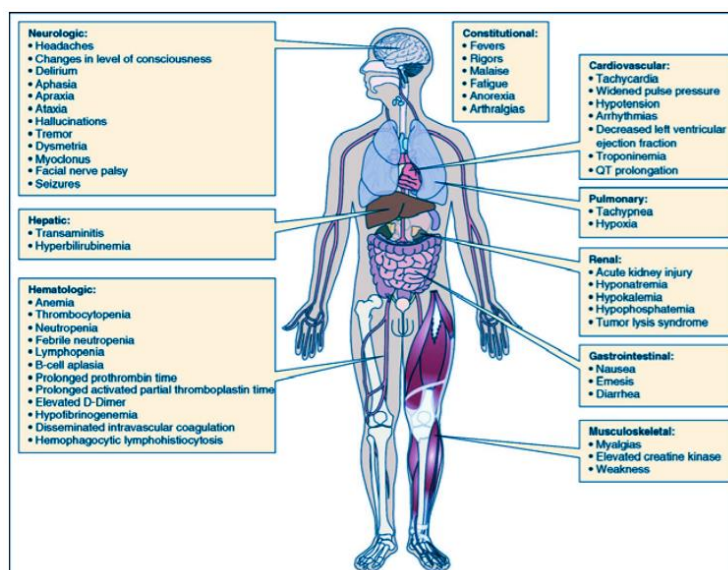
En 2018, l'American Society of Blood and Marrow Transplantation a créé un système de gradation pour le CRS et la neurotoxicité (Chomienne et al., 2019).

Il existe des cas où les patients développent un CRS accompagné d'une coagulopathie, ce trouble nécessite une surveillance fréquente du taux de fibrinogène. Si cette situation se présente, une supplémentation en fibrinogène, en complément du traitement anti-cytokine, doit être administrée pour éviter les complications hémorragiques (Chomienne et al., 2019) (Franchini & Lippi, 2012).

Néanmoins, une prise en charge de cet effet indésirable est possible, de par le tocilizumab. Il inverse rapidement les syndromes sévères du CRS permettant d'avoir une meilleure gestion du CRS et ce grâce à son action immunosuppressive en bloquant l'action de l'interleukine 6 (IL-6) (Chomienne et al., 2019; Masereel, 2020).

Le syndrome d'encéphalopathie liée aux cellules CAR-T (CRES) représente également une complication importante. Celui-ci a un spectre de gravité variable, c'est-à-dire qu'il peut être léger et limité pouvant dès lors se résorber en quelques jours mais il peut également être plus marqué en se manifestant par une confusion, un delirium, des hallucinations, une aphasia, des convulsions, une faiblesse motrice, une incontinence, une baisse de la vigilance et un œdème cérébral.

Figure 5 : Toxicités du CRS par système d'organes suite à la thérapie par CAR-T cell anti-CD19 (Brudno & Kochenderfer, 2016)



Une des méthodes pour réduire les effets indésirables consiste à modifier la survie des cellules CAR-T en ajoutant un gène « suicide ». Par exemple, l'utilisation de la rapamycine afin d'activer l'expression de la caspase 9 enclenchant l'apoptose des cellules CAR-T. À l'heure actuelle, il n'a pas été signalé de toxicité grave dans les essais cliniques sur le GBM, mais des solutions à ces risques de toxicité sont déjà étudiées. Par exemple, le rituximab permet d'éliminer efficacement en 24h les cellules CAR-T activées (Land et al., 2020).

L'activation d'un gène suicide entraîne l'arrêt **irréversible** de la thérapie. Une autre stratégie **réversible** utilise le dasatinib, un inhibiteur de tyrosine kinase interférant avec la protéine kinase spécifique des lymphocytes (LCK), inhibant ainsi la phosphorylation de CD3ζ et l'activation des cellules CAR-T. Il a été démontré que le dasatinib fonctionne comme un interrupteur ON/OFF réversible de l'activité des cellules CAR-T, où l'arrêt de l'administration du dasatinib a rapidement inversé ses effets inhibiteurs, mettant en évidence son potentiel en tant que médicament d'urgence pour des toxicités potentiellement mortelles telles que le CRS et le CRES (Hong et al., 2020).

3.4. Pharmacie de centre de thérapie par cellules CAR-T

Une fois les indications thérapeutiques déterminées, la pharmacie du centre de thérapie cellulaire CAR-T jouera un rôle important dans la coordination de nombreux aspects du processus de prise en charge du patient. Les cellules CAR-T sont considérées comme des médicaments, conséquemment les pharmaciens se doivent de superviser la traçabilité des cellules de l'aphérèse jusqu'à la perfusion. Les pharmaciens doivent également garantir la disponibilité de tous les médicaments nécessaires aux patients receveurs de la thérapie par cellules CAR-T et à la gestion de ses complications. De plus, les pharmaciens participants doivent être habitués à travailler dans une équipe multidisciplinaire de manière à assurer les meilleurs soins aux patients atteints de troubles hématologiques graves (Chomienne et al., 2019).

Les bonnes pratiques de fabrication (GMP) sont de rigueur dans la fabrication industrielle de la thérapie par cellules CAR-T. Concernant les deux premières autorisées par la Commission européenne, une cryoconservation dans de la vapeur d'azote est nécessaire avant l'administration, et le médicament doit être injecté au patient dans les 30 minutes suivant la décongélation pour le tisagenlecleucel (Kymriah®, leucémie lymphoblastique aiguë) et 3 heures pour le ciloleucel axicabtagène (Yescarta®, lymphome) afin de maintenir la stabilité du produit (Chomienne et al., 2019; Gee, 2018).

3.5. Application dans le GBM

Dans le cadre du GBM, plusieurs cibles thérapeutiques se présentent pour lesquelles les résultats précliniques sont prometteurs et sont en cours d'étude dans plusieurs essais cliniques (une liste des essais cliniques récents est reprise en annexe). Parmi ces cibles se retrouvent :

- La sous-unité alpha 2 du récepteur de l'interleukine 13 (IL13R α 2) qui est surexprimée dans les tumeurs cérébrales mais pas dans les tissus normaux ;
- L'EGFRvIII, le variant III du récepteur du facteur de croissance épidermique ;
- Le facteur de croissance épidermique humain 2 (HER2) qui est surexprimé dans le GBM ;
- La tyrosine kinase A2 du récepteur d'éphrine (EphA2) ;
- Le ganglioside 2 (GD2), B7-H3 et la chorotoxine (Land et al., 2020).

Plusieurs essais cliniques ont étudié différentes cibles dans l'application de la thérapie à cellules CAR-T, néanmoins ces dernières n'éradiquaient pas complètement les gliomes. Cet échec est une fois de plus lié à l'hétérogénéité et à la plasticité inhérente des cellules tumorales, en échappant à la destruction complète par les cellules CAR-T. En effet, les cellules du GBM perdent progressivement l'antigène de choix des cellules CAR-T, ayant pour conséquence des rechutes.

Par la suite, les chercheurs se sont dirigés vers la conception de CAR multi-cibles, tels que des CAR bispécifiques, trivalentes et dites « en tandem ».

La génération de cellules CAR-T bispécifiques peut être effectuée de deux manières distinctes. La première méthode est la **co-expression** qui est réalisée par une double transduction de deux CAR dirigées contre des TAA différents. Dans la deuxième technique, il y a une mise en commun de deux populations de CAR-T différentes, il s'agit de cellules CAR-T regroupées ou **pooled CAR T cells** (Land et al., 2020).

Dans un essai de Hedge, des cellules CAR-T ont été générées soit en exprimant individuellement des CAR spécifiques de HER2 et de IL13Ra2, ou soit en co-exprimant les deux CAR, chacun ciblant chaque antigène. Cette thérapie a donné une réponse anti-tumorale adéquate et empêchant la fuite d'antigène sur des modèles de GBM in vitro et in vivo. De plus, les cellules CAR-T en co-expression ont montré une meilleure réponse antitumorale par rapport aux cellules T individuelles.

Un autre essai a été réalisé en concevant une structure CAR trivalente codant pour 3 molécules CAR complètes assemblées dans une, et ce à l'aide d'une seule transduction. Les cibles de ces cellules trivalentes étaient l'HER2, IL13Ra2 et EphA2 et elles ont montré une

survie in vivo globalement meilleure en comparaison aux cellules CAR-T mono- et bivalentes dans des modèles de xéno greffe dérivés de patients (Hegde et al., 2013).

3.5.1. Mécanismes physiopathologiques du GBM

Le GBM est caractérisé par une multiplication anormale et anarchique des cellules gliales adultes. De nouvelles évidences suggèrent que le GBM peut avoir pour origine plusieurs types de cellules avec des caractéristiques semblables à celles de cellules souches neurales.

La majorité des cellules de GBM possèdent 3 voies de signalisation constitutivement activées : la voie de la protéine p53, la voie de signalisation du récepteur tyrosine kinase/ Ras/ phosphoinositide-3-kinase et la voie du rétinoblastome (Rb). L'altération de ces 3 voies provoque une prolifération cellulaire incontrôlable ainsi qu'une meilleure survie cellulaire, et ce en permettant aussi à la cellule tumorale d'échapper aux points de contrôle du cycle cellulaire, de la sénescence et des voies apoptotiques (Davis, 2016).

De surcroît, des altérations moléculaires ou d'expression génique jouent un rôle dans le GBM, tels que la surexpression du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), la perte du chromosome 10 et des mutations des homologues du phosphate et de la tensine. De plus, dans le GBM secondaire se retrouvent des mutations de p53 et une perte du chromosome 19Q (Davis, 2016).

À côté de cela, les cellules du GBM influencent avec l'environnement avoisinant, ce qui a comme conséquence la création d'interactions puissantes entre des groupes cellulaires hétérogènes. Notamment, plusieurs chimiokines induisent des changements au niveau de la génétique et certaines protéines extracellulaires stimulent la tumorigénèse, l'expansion multifocale incontrôlée et l'évasion immunologique. Notamment, des axes immunorégulateurs favorisent l'invasion des cellules du GBM dans le tissu cérébral, tels que les protéines de la mort cellulaire programmée-1 (PD-1) et du ligand de mort cellulaire programmée (PD-L1) et la cytokine CCL5 avec son récepteur CCR5.

L'induction de la réponse immunitaire est effectuée par la liaison des récepteurs toll-like (TLR) et des agonistes de ces récepteurs. Les TLR sont exprimés de façon endogène dans les cellules du GBM. Qui plus est, les cellules du gliome excrètent des cytokines immunosuppressives afin d'annuler les réponses immunitaires régionales induites par des traitements (la prostaglandine E2 (PGE-2) et l'interleukine-10 et le TGF- β).

Par ailleurs, un dysfonctionnement de la barrière hémato-encéphalique (BHE) est fréquemment observé dans les cas de GBM et une inflammation coexistante favorise l'interaction du SNC et du système lymphatique (Heiland et al., 2017; Litak et al., 2019).

3.5.2. Axe PD-L1/PD-1

L'axe PD-L1/PD-1 maintient l'homéostasie immunologique et protège contre l'auto-immunité. En effet, la fonction primaire de PD-1 est de limiter l'activité anti-tumorale des lymphocytes T et d'accroître l'activation des Tregs, qui restreignent la réaction des lymphocytes T et protègent contre l'hyperimmunité.

Dans le contexte du GBM, l'axe PD-1/PD-L1 contrôle les cellules présentatrices d'antigènes (APC), macrophages et cellules dendritiques, qui activent les cellules T qui vont atteindre le SNC par l'espace périvasculaire pour reconnaître les cellules malignes. Les cellules T activées expriment le récepteur PD-1, tandis que la microglie exprime son ligand PD-L1. Dans le cas du GBM, il y a surexpression de PD-L1 ce qui exerce un frein sur la réponse immunitaire anti-tumorale médiée par les lymphocytes T. De plus, le GBM transforme la réponse immunitaire en une inflammation chronique médiée par cellules Th17, favorisant l'expansion tumorale.

Les cellules du gliome ont révélé être les principaux exprimeurs des PD-L1 et, de manière corrélée avec le classement de grade de l'OMS. En effet, les tumeurs de G4 expriment significativement plus de PD-L1 en comparaison aux gliomes de grade inférieur. De plus, dans le groupe des gliomes proneuraux, l'expression en PD-L1 est plus faible.

Le blocage de la liaison entre PD-1 et PD-L1 pourrait établir une réponse immunitaire efficace et adaptée contre le GBM (Heiland et al., 2017; Litak et al., 2019).

3.5.3. EGFRvIII

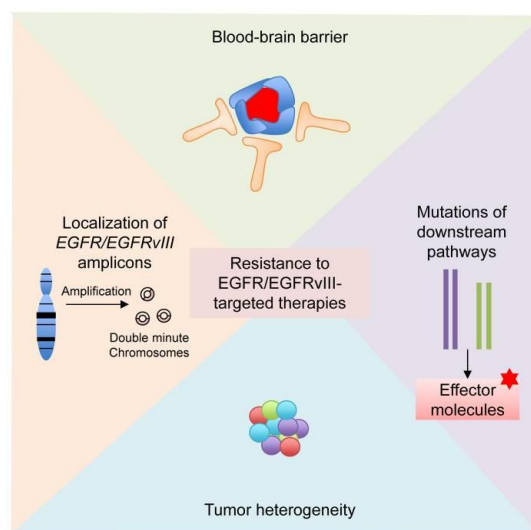
Le gène EGFR est situé sur le chromosome 7p12 et il code pour un récepteur transmembranaire de la tyrosine kinase. La protéine EGFR possède trois domaines fonctionnels : le domaine de liaison extracellulaire, le domaine transmembranaire et le domaine tyrosine kinase intracellulaire. Une fois que le ligand s'est lié à l'EGFR, le récepteur subit une phosphorylation et active les cibles en aval des voies de signalisation, induisant la prolifération et la migration des cellules.

Une amplification du gène EGFR est présente dans tous les GBM à raison de 40% à 50%. Dans la majorité des cas (63 à 75 %), les tumeurs vont exprimer l'EGFR de type sauvage (wt) mais également de type muté suite à des réarrangements du gène EGFR. Dans les astrocytomes anaplasiques, qui sont des tumeurs de grade 3 évoluant souvent vers un GBM, l'incidence de l'amplification de l'EGFR est de 17 %. L'amplification de l'EGFR la plus fréquente se trouve dans les sous-types classiques de TCGA et dans les sous-types prolifératifs/mésenchymateux. Les cellules avec amplification EGFR ont généralement d'autres formes de mutations EGFR ; la plus courante étant le réarrangement **EGFRvIII**, qui résulte de la suppression des exons 2-7 dans l'acide ribonucléique messenger EGFR (ARNm). De

plus, parmi les mutants EGFR trouvés dans le GBM, EGFRvIII est le plus souvent présent et est considéré comme représentant un évènement tardif, survenant après l'amplification de l'EGFR wt. Le réarrangement d'EGFRvIII réduit la dégradation de la kinase et suractive les cibles en aval des voies de signalisation. L'activité kinase de l'EGFRvIII est beaucoup plus faible que celle de l'EGFR activé par un ligand, et cette faible activité kinase constitutive a été rapportée comme suffisante pour conférer un avantage de croissance aux tumeurs. Dans la population atteinte de GBM, la mutation EGFRvIII est facteur d'un mauvais pronostic. En effet, l'expression d'EGFRvIII favorise la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et l'invasion tumorale dans différents systèmes modèles. L'expression de l'EGFRvIII n'a été trouvée que dans les tumeurs et non dans les tissus normaux, ce qui en fait un bon candidat pour une thérapie ciblée (An et al., 2018; Soomro et al., 2017).

Malheureusement, des thérapies ciblant d'EGFRvIII (vaccin anti-EGFRvIII) ont déjà montré des échecs thérapeutiques sur les patients diagnostiqués positifs pour l'EGFRvIII. La Figure 6 illustre plusieurs facteurs de résistance au traitement.

Figure 6 : Les facteurs participants à la résistance aux thérapies ciblées EGFR/EGFRvIII regroupent la pénétrance de la BHE, des mutations des molécules de signalisation en aval de l'EGFR/EGFRvIII (ex : mutation PTEN et NF1), l'HIT et la localisation extrachromosomique des amplicons EGFR et EGFRvIII (facilitant les cellules à échapper aux inhibiteurs de l'EGFR) (An et al., 2018).



4. Résultats

4.1. Case report de Christine E. Brown (2016)

4.1.1. Méthode

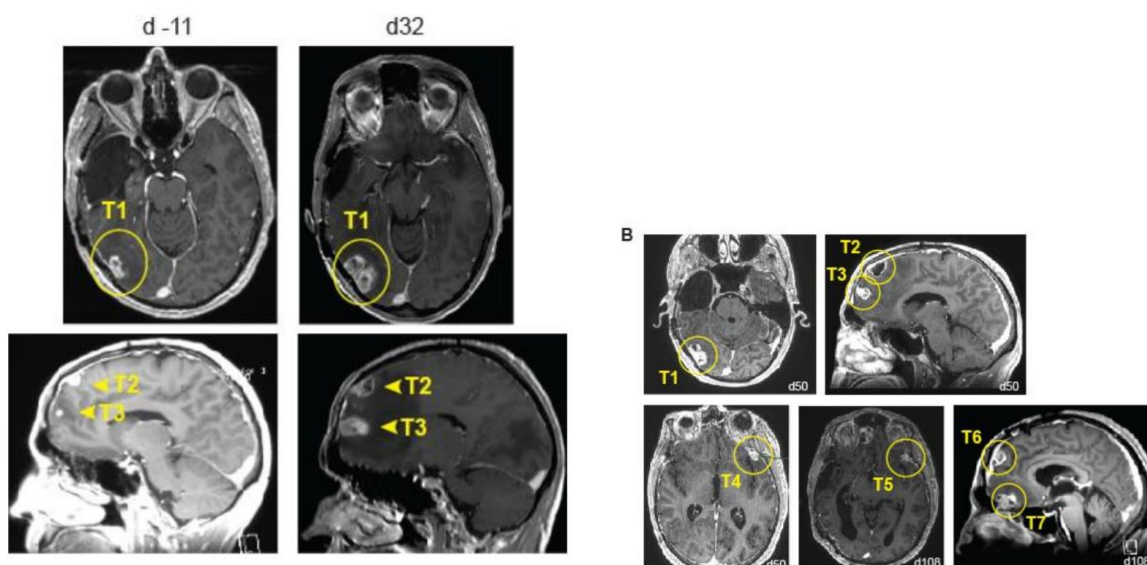
Une étude clinique de phase 1 a été réalisée sur un patient de 50 ans atteint d'un GBM et pour lequel on a administré de manière intracrânienne des cellules T CD8 exprimant un CAR de première génération ciblant l'IL13R α 2, un antigène associé au gliome et associé à un taux

de survie faible. Ces cellules CAR-T ont été améliorées au niveau de leur activité antitumorale et de leur persistance en ajoutant la costimulation 4-1BB (CD137) et un lieu IgG4-Fc muté pour réduire les interactions hors-cible entre les récepteurs Fc11 dans le CAR (IL13BBζ).

Le patient avait d'abord reçu un traitement standard : une résection tumorale, une radiothérapie et du TMZ. Six mois après le diagnostic, des signes de récives ont été observés par IRM et par tomographie par émission de positrons (PET-CT) du cerveau. Le patient a été ensuite inclus dans l'étude clinique pour recevoir la thérapie à cellules CAR-T ciblant l'IL13α2. Pendant que les cellules étaient fabriquées, ce même patient a rejoint un autre essai clinique (NCT01975701) qui s'est conclu par un échec et la maladie a évolué en GBM leptoméningé multifocal impliquant les deux hémisphères cérébraux (Figure 7).

Le patient a reçu in fine la thérapie CAR-T et a subi une résection de trois des cinq tumeurs intracrâniennes en progression, y compris la plus grande tumeur de la région temporo-occipitale droite (T1) et deux tumeurs du lobe frontal droit (T2 et T3). Deux petites tumeurs du lobe temporal gauche (T4 et T5) n'ont pas été réséquées (Figure 7B). Durant sa prise en charge le patient a pris des traitements concomitants tels que le paracétamol.

Figure 7: IRM cérébrale du patient indiquant les sites des tumeurs (T) aux jours indiqués. A : Sites des tumeurs avant intervention. B : Sites des tumeurs après intervention (résection et/ou thérapie).



Des injections multiples de cellules CAR-T ont été administrées durant 220 jours à l'aide de deux voies d'administration intracrânienne, des infusions directement dans la cavité tumorale réséquée suivies d'infusions en intra-ventriculaires. La thérapie a été administrée par une perfusion initiale de 2×10^6 cellules CAR-T suivie de cinq perfusions de 10×10^6 cellules CAR-T et il a reçu, à l'aide d'un cathéter, des perfusions (6 cycles) hebdomadaires de cellules IL13BBζ-CAR T dans la cavité de la tumeur 1.

Bien que le site traité localement (T1) soit resté stable pendant cette phase de traitement, deux nouvelles lésions (T6 et T7) sont apparues à proximité des tumeurs du lobe frontal précédemment réséquées (T2 et T3), et les tumeurs non réséquées (T4 et T5) ont continué à progresser. En conséquence, un deuxième cathéter a été placé dans le ventricule latéral droit permettant au patient de recevoir 10 cycles de traitement intraventriculaire supplémentaires (à partir du septième cycle) à des intervalles de 1 à 3 semaines, avec une pause de 6 semaines entre la cinquième et la sixième perfusion. Les résultats cliniques ont été étudiés jusqu'à 298 jours après le recrutement dans l'étude.

4.1.2. Résultats

➤ Efficacité

Lors des six perfusions intracavitaires hebdomadaires, T1 est restée stable plus de 45 jours après la chirurgie sans signe de progression de la maladie. Néanmoins, l'IRM a révélé que les tumeurs non réséquées (T4 et T5) et de nouvelles tumeurs (T6 et T7) à proximité des lésions réséquées 2 et 3 progressaient. De plus, des lésions métastatiques dans la colonne vertébrale ont été détectées et provoquaient un engourdissement des jambes.

Postérieurement, les 10 perfusions intraventriculaires furent administrées et déjà après 3 de ces perfusions, une large réduction de la taille de toutes les tumeurs fut observée et après 5 perfusions, toutes les tumeurs avaient diminué de 77 à 100%. Les perfusions suivantes ont induit une réduction supplémentaire de la taille des tumeurs. Les tumeurs étaient indétectables par IRM et au PET (Figure 17 en annexe). Ces résultats furent maintenus pendant 7,5 mois après le début du traitement. Malheureusement, la maladie a fini par récidiver 228 jours après la première injection de cellules CAR-T avec l'apparition de quatre nouvelles lésions.

➤ Persistance des cellules CAR-T

Après chaque perfusion intraventriculaire, le nombre de toutes les cellules immunitaires a augmenté de $7,0 \pm 3,6$ cellules par mm^3 de LCR par rapport aux niveaux mesurés avant la perfusion et a diminué au cours de traitement de 7 jours. Les populations de cellules immunitaires dans le LCR ont été identifiées au début du neuvième cycle et elles comprennent des cellules T endogènes et des cellules T exprimant le CAR, des populations myéloïdes matures, des cellules B et quelques granulocytes. En raison de la faible récupération cellulaire dans le LCR, la persistance des cellules CAR-T n'a pas pu être évaluée pour les cycles 7 et 8.

Aucune augmentation significative des taux de cytokines ne fut repérée et aucune cellule CAR-T n'était détectable dans le sang périphérique. L'expansion des cellules CAR-T dans le LCR restait assez limitée.

➤ Effets indésirables

Les injections de cellules IL13BB ζ -CAR-T n'ont pas été associées à des effets toxiques de gravité élevée, indépendamment de la voie d'administration ou de la dose (Tableau 6 en annexe).

Des effets indésirables de faible gravité (maux de tête, fatigue, myalgies et auras olfactives) ont été observés endéans les 72 heures après l'administration de CAR-T mais ils ne sont pas imputables uniquement au traitement. En effet, des médicaments concomitamment administrés ont pu les engendrer, tels que le dexaméthasone, l'acide valproïque et le paracétamol.

4.1.3. Discussion

Bien que l'administration intracavitaire de cellules IL13BB ζ -CAR-T ait pu empêcher la récurrence au site d'injection, le traitement n'était pas suffisant pour agir sur des sites plus distants. À l'inverse, les administrations intraventriculaires montrent de résultats spectaculaires faisant de cette voie d'administration un meilleur choix pour éliminer des tumeurs à des sites distants. En résumé, les deux voies ont présenté des efficacités différentes, l'intracavitaire contrôle efficacement les récurrences locales et l'intraventriculaire limite la progression du GBM et même à distance ainsi que sur l'apparition de nouvelles tumeurs. La deuxième voie d'administration est par conséquent une technique prometteuse. Ce choix de voie d'injection est une méthode invasive pouvant être remise en question sachant qu'une des caractéristiques des cellules CAR-T est leur capacité à pénétrer la BHE. Il serait intéressant de mener une étude comparative entre la voie intraveineuse et la voie intratumorale afin de vérifier si l'efficacité du traitement est identique. Le traitement dans cette étude a été directement injecté dans le site tumoral, et l'adressage cellulaire vers le cerveau n'a donc pas pu être évalué. Le trafic vers les sites tumoraux reste incertain. Cette donnée non disponible souligne une seconde fois l'utilité d'effectuer une étude utilisant les cellules IL13BB ζ -CAR-T en injection intraveineuse.

Les perfusions intracrâniennes de cellules CAR-T ciblant l'IL13R α 2 n'ont été associées à aucun effet toxique de grade 3 ou supérieur et ont présenté des réponses antitumorales transitoires. Après traitement par cellules CAR-T, une régression de toutes les tumeurs intracrâniennes et vertébrales a été observée. Cette réponse clinique s'est poursuivie pendant 7,5 mois après le début de la thérapie par cellules CAR-T. La récurrence de la maladie pourrait se justifier par une diminution de l'expression de l'IL13 α 2 rendant les cellules IL13BB ζ -CAR-T inefficaces. En outre, l'innocuité des cellules CAR-T met en avant la valeur ajoutée de cette thérapie par rapport à la chimiothérapie, à la résection chirurgicale ou encore à la radiothérapie.

L'accroissement instantané des cellules immunitaires endogènes et des cytokines inflammatoires après chaque perfusion intraventriculaire évoquent le recrutement et la

stimulation du système immunitaire de l'hôte, ce qui met en évidence l'implication du système immunitaire dans les réponses antitumorales médiées par les cellules CAR-T. Cette implication immunitaire permet d'obtenir une réponse complète même lorsque la tumeur n'exprime pas uniformément IL13R α 2. Par ailleurs, l'augmentation de cytokines inflammatoires dans le LCR n'a pas affecté la fonction neurologique ou le bien-être général du participant. Cette donnée définit donc un niveau de cytokines auquel il n'y a pas d'apparition d'effets toxiques.

Malgré que le patient ait eu une réponse clinique remarquable, l'accumulation et l'expansion des cellules CAR-T dans le LCR étaient limitées lors de cycles ultérieurs et au cours du cycle de perfusion de 7 jours. Cette expansion réduite peut se justifier par une baisse de la production d'antigènes par une diminution de la charge tumorale ou encore par un rejet immunitaire du produit thérapeutique, bien qu'aucun symptôme de rejet n'ait été observé.

4.1.4. Conclusion

Cette étude procure des données de preuve confirmant que l'IL13R α 2 est une cible immunothérapeutique de choix dans le GBM et soulignant que les cellules CAR-T peuvent médier une activité antitumorale profonde contre une tumeur solide difficile à traiter. Ce rapport de cas montre l'innocuité des cellules CAR-T ciblées par IL13R α 2. La voie d'administration idéale dans ce cas est la voie intraventriculaire qui diminue la progression du GBM aussi bien localement qu'à distance.

4.2. Étude clinique d'Ahmed et al. (2017)

4.2.1. Contexte

Une étude préliminaire d'Ahmed et al a montré que les cellules CART-HER2 éliminent les cellules de gliome et les cellules initiatrices de gliome. Elles ont une activité antitumorale puissante dans des modèles de xénogreffe dérivés de patients atteints de GBM (Ahmed et al., 2015).

Dans une autre étude (Ahmed et al., 2015), des problèmes d'innocuité ont été décrits avec un CART-HER2 de troisième génération. Cette étude a dès lors utilisé des CART-HER2 de deuxième génération qui ne présentaient pas d'effet toxique évident. Toutefois, la persistance des lymphocytes T était faible. Pour contrer ce problème, la stratégie fut d'exprimer des CAR dans les cellules T spécifiques des virus (VST). Ces VST polyclonaux fournissent une activité antitumorale par leurs CAR, et ont également reçu une co-stimulation suite à l'engagement par des antigènes viraux latents. Une fois que ces cellules recroisent le virus, elles prolifèrent, augmentant dès lors le nombre de cellules anti-tumorales. Le centre de recherche a établi la sécurité des lignées VST polyclonales transférées de manière adoptive, enrichies en CMV, virus

d'Epstein-Barr (EBV) ou adénovirus (Adv), chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques.

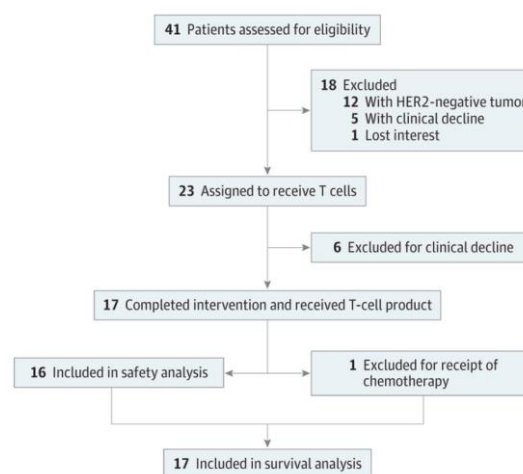
4.2.2. Méthode

Cet essai clinique était une étude ouverte de phase 1 dont les objectifs principaux étaient la détermination de la **sécurité**, de la **persistance** et l'**activité antitumorale** des VST autologues modifiés par CART-HER2 (CART-HER2 VST) et ce par administration de doses progressives. Cette procédure permet de définir la dose maximale tolérée et l'innocuité de ces cellules.

Plusieurs niveaux de doses étaient disponibles et chaque niveau comportait 3 patients. Les sujets ont reçu une ou plusieurs perfusions intraveineuses de CART-HER2 VST à 5 niveaux de doses. Les patients qui présentaient une réponse objective à 6 semaines ou lors d'une évaluation ultérieure étaient éligibles à recevoir jusqu'à 6 doses supplémentaires de CAR à des intervalles de 6 à 12 semaines au même niveau de dose. La période médiane de suivi était de 8 mois (intervalle de 10 semaines à 29 mois).

L'inclusion des candidats à l'étude a été réalisée à l'aide de deux pathologistes distincts pour confirmer le diagnostic de GBM récidivant progressif (Figure 8). Les patients éligibles étaient autorisés à recevoir du TMZ. Les patients ont passé une IRM avant la perfusion des cellules T afin d'évaluer le stade de leur maladie.

Figure 8 : CONSORT flow diagram représentant les patients inclus et exclus de l'étude. À la fin 17 patients furent inclus dans l'analyse. Les critères d'éligibilités regroupaient le GBM à HER2 positif, une séropositivité pour le CMV, une fraction d'éjection ventriculaire gauche normale, un score de performance de Karnofsky/Lansky de 50 ou plus et une espérance de vie de 6 semaines ou plus au moment de la perfusion de lymphocytes T. Les patients devaient avoir terminé (et récupéré) un traitement cytotoxique au moins 4 semaines avant l'administration de la thérapie (sauf pour le mozolomide). Les critères d'exclusion regroupaient la séropositivité du virus de l'immunodéficience humaine, une fonction hépatique inadéquate et une insuffisance rénale (Ahmed et al., 2017).



La fabrication des cellules CART-HER2 VST a été réalisée à partir de maximum 90 mL de sang périphérique en suivant les bonnes pratiques de fabrication.

Pour déterminer la toxicité éventuelle, des échantillons de sang ont été prélevés à des périodes déterminées et analysés par qPCR ou « enzyme-linked immunospot » (Elispot). La persistance des CART-HER2 VST a également été mesurée par qPCR (exprimé en copies/ μ g d'ADN).

La réponse clinique a été évaluée en comparant l'IRM préalablement réalisée avec la deuxième IRM réalisée 6 mois après la perfusion. Si les patients répondaient favorablement, ils devenaient éligibles pour recevoir des doses supplémentaires. La réponse à la maladie a été classée selon une réponse complète ou partielle, une maladie progressive ou une maladie stable.

Un nombre total de 30 perfusions a été administré aux 17 patients dont 6 d'entre eux reçurent de multiples injections.

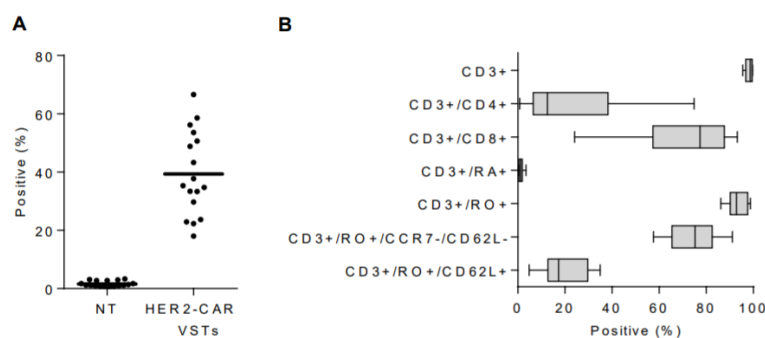
Le trafic cellulaire vers le cerveau n'a pas été évalué car aucune résection chirurgicale n'a été effectuée.

4.2.3. Résultats

➤ Efficacité

L'efficacité de transduction CART-HER2 moyenne des CART-HER2 VST était de 39 % (Figure 9A). La plupart des cellules T avaient un phénotype mémoire composé de sous-ensembles de cellules T effectrices et à mémoire centrale (Figure 9B).

Figure 9 : (A) Expression de CART-HER2 sur les cellules T non transduites (NT) et transduites ($p < 0,0001$). Les données individuelles et la moyenne sont indiquées. (B) Analyse phénotypique des cellules CART-HER2 VST sous forme de diagramme. CM = Central Memory pour CD3+/CD45RO+/CD62L+. EM = Effectrice Memory pour CD3+/CD45RO+/CCR7-/D62L-.



Parmi les candidats, le patient 14 a été exclu de l'analyse car il a reçu une chimiothérapie dans les 6 premières semaines de la thérapie cellulaire.

Sur 16 patients restants, 1 (patient 4) a eu une réponse partielle et 7 ont eu une maladie stable pendant 8 semaines à 29 mois après la première perfusion des cellules.

Le patient 4 a eu une réponse partielle qui a duré 9,2 mois. Il a ensuite eu une maladie stable après une deuxième perfusion à la même dose et a survécu pendant 26,9 mois à compter de la première perfusion.

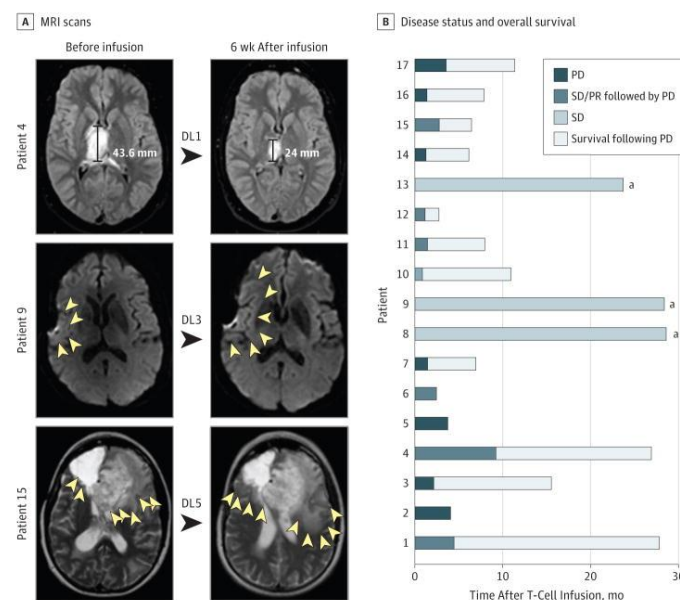
Trois patients (patients 8, 9 et 13) sont vivants avec une maladie stable pendant 29,0, 28,8 et 24,0 mois de suivi.

Huit patients avaient une maladie évolutive basée sur les critères d'évaluation de la réponse dans les tumeurs solides. Malgré une maladie évolutive, 6 patients ont survécu plus de 6 mois.

Pour l'ensemble des participants, le délai médian jusqu'à progression était de 3,5 mois. La survie globale (SG) médiane était de 24,5 mois (IC à 95 %, 17,2 à 34,6 mois) après le diagnostic (et de 11,1 mois après perfusion) (Figure 10).

Une vaste analyse de régression des risques proportionnels univariée de Cox a été réalisée pour évaluer si différents facteurs étaient associés à la SG. Aucune corrélation n'a été trouvée.

Figure 10 : (A) IRM du cerveau avant et 6 semaines après la perfusion de CART-HER2 VST. L'IRM du patient 4 montre une réponse partielle (PR) ; Les IRM des patients 9 et 15 montrent une augmentation de l'œdème après les perfusions de CART-HER2 VST (les flèches délimitent l'œdème). (B) Graphique montrant l'état de la maladie et la SG. PD = maladie progressive, PR = réponse partielle et SD = maladie stable. a=vivant (alive).



➤ **Persistance des cellules CAR-T**

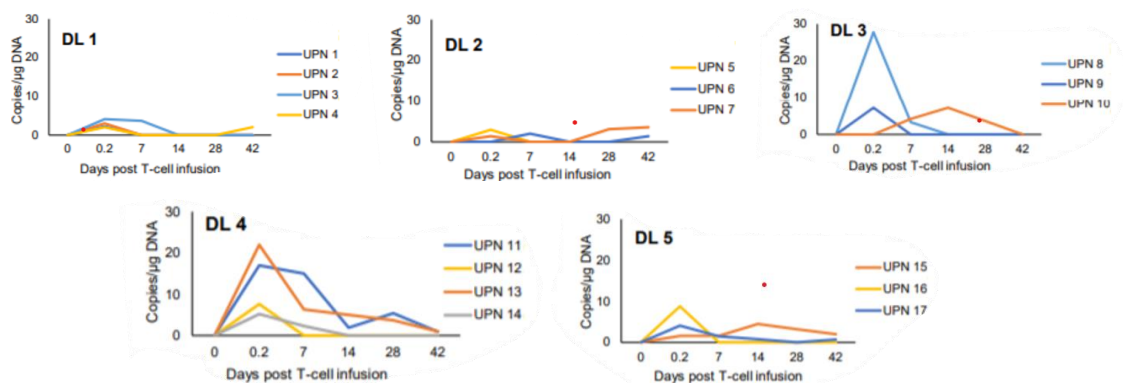
Quinze des 17 patients avaient leur concentration sanguine de cellules CART-HER2 VST la plus élevée 3 heures après la perfusion, 1 patient avait ce niveau le plus élevé à 1 semaine après la perfusion et 1 patient avait cette fréquence la plus élevée 2 semaines après la perfusion.

Six semaines après la perfusion, les CART-HER2 VST étaient présents chez 7 des 15 patients. De plus, les échantillons du sang positifs par qPCR avaient diminué, avec 1 échantillon positif sur les 6 échantillons récoltés à 3 mois, 2 positifs sur les 7 échantillons à 6 mois, 2 positifs sur les 3 échantillons à 9 mois, 2 positifs sur les 6 échantillons à 12 mois, et aucun échantillon positif à 18 ou 24 mois.

Ces résultats montrent que les CART-HER2 VST n'ont pas proliféré après la perfusion mais qu'elles peuvent persister pendant 1 an à faible concentration. En outre, l'administration

de différentes doses de CART-HER2 VST n'a pas eu d'influence sur les concentrations sanguines à long terme (Figure 11).

Figure 11 : Persistance in vivo des CART-HER2 VST dans le sang périphérique (mesurée par qPCR) en fonction du niveau de dose (DL). UPN=Unique Patient Number.



➤ Effets indésirables

Aucune toxicité n'a été observée même aux doses les plus élevées. Néanmoins, les patients 3 et 16 ont souffert de convulsions et/ou des maux de tête de grade 2.

À 6 semaines après la perfusion, les résultats des études de la fonction cardiaque ont montré que les fractions d'éjection ventriculaire gauche étaient inchangées par rapport à leurs valeurs antérieures à la perfusion.

4.2.4. Discussion

4.2.4.1. Progression clinique après injection de cellules CAR-T

La SG médiane est de 24,5 mois après le diagnostic. En d'autres termes, l'espérance de vie du patient est améliorée d'environ 9,5 mois à 12,5 mois par rapport aux traitements conventionnels ; confirmant l'intérêt de ce traitement. Sept patients ont présenté un bénéfice clinique avec une réponse partielle et un patient avec une maladie stable. Afin d'améliorer l'efficacité du traitement et donc d'augmenter le taux de réponses et les résultats, il serait judicieux de cibler plusieurs antigènes en même temps à cause de l'HIT. Par ailleurs, d'autres stratégies thérapeutiques pourraient être employées pour perfectionner l'activité antitumorale des cellules CAR-T. Par exemple, induire une lymphodéplétion par TMZ avant la greffe de CAR-T pour leur offrir une plus grande prolifération au sein de l'organisme de l'hôte. Une autre stratégie serait d'induire une immunisation avec un vaccin CMV pour améliorer l'expansion et la persistance in vivo des cellules T transférées de manière adoptive¹. Des manipulations du système immunitaire pourraient être également induites par administration de molécules

¹ Un transfert adoptif de cellules CAR-T dans un hôte permet de lui faire bénéficier des fonctions immunitaires de ces cellules.

inhibitrices du point de contrôle PD-L1/PD-1. Cette dernière option empêcherait la tumeur d'échapper au traitement.

Aucun effet toxique évident ne fut observé. L'administration de CART-HER2 semble être moins nocive que les autres traitements tels que la résection chirurgicale, la chimiothérapie et/ou la radiothérapie, et démontre ainsi l'importance d'entamer les études de phase 2. Cette thérapie présente donc, à ce stade, une balance bénéfice-risque largement favorable.

4.2.4.2. Design de l'étude

a) Points forts

Une valeur ajoutée de cette étude est l'application de différents niveaux de dose qui a permis de montrer que l'administration répétée de CAR-T ne semble pas augmenter la persistance des cellules CAR dans le sang périphérique. Désormais, l'administration de doses répétitives dans l'objectif d'augmenter la persistance ne serait pas pertinent. Par ailleurs, effectuer des résections chirurgicales aurait permis de mieux évaluer la persistance car les cellules T sont potentiellement en expansion dans la zone péritumorale du GBM et non pas dans le sang périphérique.

Cette étude a permis d'établir l'innocuité des CART-HER2 VST autologues au sein de la cohorte étudiée. À l'inverse de certaines études, les cellules furent administrées par voie intraveineuse, et non directement par injection intratumorale. Cette voie d'administration est intéressante car moins invasive et plus accessible aux patients. Cependant, il conviendrait de réaliser une étude comparant ces deux voies d'administration afin d'attester de leur niveau d'efficacité respectif. Les cellules CAR-T sont créées dans l'intention de pouvoir traverser la BHE modifiée par le GBM, ces études comparatives pourraient donc confirmer ce critère ou au contraire le réfuter.

b) Points faibles

Cette étude ne comptait que 17 individus dont 1 avait été exclu par la suite. Étant donné qu'il s'agit d'une étude de phase 1 le nombre d'individus attendus n'allait pas être élevé. De par la faible taille de la cohorte étudiée, il n'est pas possible de tirer de conclusions applicables à tous les patients souffrant de GBM.

L'adressage des cellules CAR-T vers le cerveau n'a pas été mesuré dans cette étude clinique. En effet, les patients n'ont pas subi de résection chirurgicale, cela ne faisait pas partie du protocole de l'étude. Il aurait été intéressant de réaliser une résection chirurgicale pour avoir d'avantage de résultats récoltés.

4.2.5. Conclusion

Au regard de cette étude clinique, l'administration de CART-HER2 est sûre et peut être associée à un bénéfice clinique pour les patients atteints du GBM. En effet, pour 8 des 17 participants un bénéfice clinique fut observé. Néanmoins, il convient de trouver une méthode pour augmenter l'activité antitumorale grâce à une meilleure expansion, persistance et activité antitumorale. En outre, une étude de phase 2 devra suivre afin de déterminer la posologie optimale pour la meilleure efficacité en fonction de la balance bénéfice risque.

4.3. Étude clinique de Donald O'Rourke et al. (2017) (NCT02209376)

4.3.1. Méthode

Cet essai clinique est une étude ouverte de phase 1 dont les objectifs principaux étaient la **sécurité** et la **faisabilité** de la fabrication et de l'administration intra-veineuse d'une dose unique de cellules CAR-T dirigées contre EGFRvIII aux patients atteints de GBM.

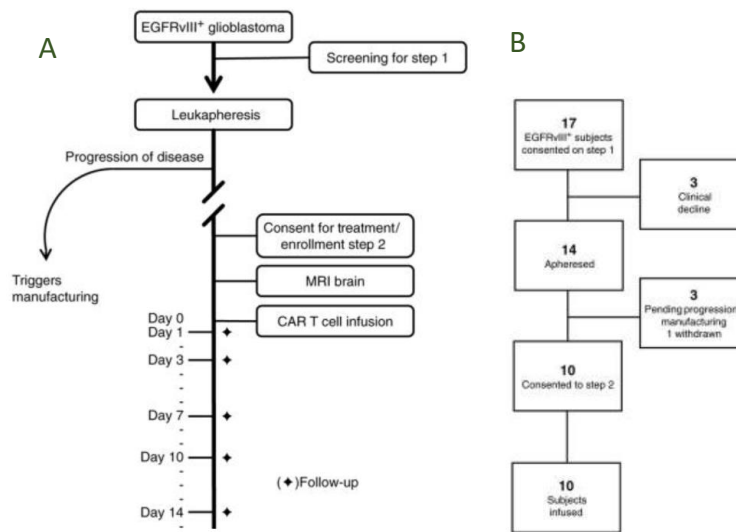
L'innocuité a été déterminée d'après les critères de terminologie commune pour les événements indésirables du National Cancer Institute version 4.0. Les objectifs secondaires de l'essai clinique étaient le taux de réponse et la survie globale. De plus, des études corrélatives comprenaient la mesure de l'expansion et de la persistance des cellules CAR T-EGFRvIII, et la libération de cytokines associées à la perfusion de cellules CAR T-EGFRvIII.

L'étape 1 du protocole (Figure 12A) consistait à identifier des patients avec un GBM réséqué exprimant l'EGFRvIII. Pour ce faire, des échantillons de tumeurs de 369 patients souffrant de GBM confirmés histologiquement, ont été collectés pendant 2 ans et testés pour l'expression de l'EGFRvIII par Next Generation Sequencing (NGS). Septante-neuf patients (21%) ont été identifiés comme porteurs d'un GBM exprimant l'EGFRvIII (EGFRvIII⁺), seuls 17 d'entre eux étaient éligibles pour une leucaphérèse.

Au sein de ces 17 patients, trois ont eu un déclin clinique trop avancé avant de procéder à la leucaphérèse et n'ont donc pas participé à l'étude. Quatorze sujets ont eu leurs lymphocytes T collectés par leucaphérèse, un sujet a ensuite été retiré de l'étude par l'investigateur (en raison d'un déclin clinique rapide juste avant la perfusion). Trois sujets n'avaient pas encore progressé pour s'inscrire sur l'étape de traitement du protocole.

Lors de l'étape 2 du protocole, les patients ont passé une IRM du cerveau pour obtenir une référence pré-infusion. Ensuite, leur CAR-T-EGFRvIII leur a été perfusé dans la semaine (jour 0). Seuls dix sujets ont été perfusés avec leur CAR-T-EGFRvIII (Figure 12B).

Figure 12: (A) Conception du protocole : test d'EGFRvIII, leucaphérèse, fabrication, traitement et suivi. (B) Diagramme du consort schématisant le nombre de participants dépistés et inscrits à l'étude



Les cellules T du sang périphérique ont été stimulées et transduites avec un vecteur lentiviral codant pour le CAR : fragment variable à chaîne unique humanisé anti-EGFRvIII fusionné au domaine charnière et transmembranaire de CD8 et aux domaines de signalisation intracellulaire 4-1BB et CD3 ζ humains. Les cellules CAR-T ont été administrées par une seule perfusion intraveineuse. Cette thérapie a été administrée en parallèle à d'autres traitements tels que la carboplatine, la lomustine, un vaccin à base de cellules dendritiques.

Une intervention neurochirurgicale a été ajoutée à la procédure suite aux résultats de l'IRM. En effet, ceux-ci ont montré l'apparition d'une masse tumorale ou une évolution clinique rapide des patients avec des effets indésirables pouvant être imputés au GBM.

L'étude s'est concentrée sur la compréhension de l'adressage des cellules CART-EGFRvIII vers le cerveau et leurs effets sur la tumeur. Les patients ont été classifiés en 3 groupes en fonction du moment des résections chirurgicales qu'ils ont subies par rapport à l'injection des cellules CAR-T :

- Premier groupe : Trois patients (201, 202, 204) ont eu une récurrence multifocale et/ou profonde après leur perfusion de cellules CAR-T et n'ont pas subi d'intervention chirurgicale.
- Deuxième groupe : Après leur injection de cellules CAR-T, trois patients (205, 207, 209) ont eu une récurrence tardive (sur base de l'IRM) qui a requis une résection chirurgicale « tardive ». Les tumeurs prélevées ont été analysées pour déterminer la persistance des CART-T-EGFRvIII et leur activité dans la tumeur.
- Troisième groupe : Quatre patients (211, 213, 216, 217) qui ont subi une résection « précoce » en raison d'une aggravation claire des symptômes. Les tumeurs réséquées

ont permis d'évaluer la cinétique du trafic des CART-EGFRvIII et l'altération du microenvironnement tumoral dans le GBM.

4.3.2. Résultats

➤ Adressage cellulaire et effets sur la cible EGFR :

Sept sujets ont subi des résections chirurgicales permettant de comparer les tumeurs pré- et post-injection de la thérapie (Figure 18 en annexe). Afin de déterminer l'adressage des cellules CAR-T-EGFRvIII, le taux d'ARN messager correspondant à l'antigène chimérique a été quantifié par qPCR pour la tumeur réséquée et le sang périphérique post-injection.

N° sujet	Trafic cellulaire CART EGFRvIII
205	Deux mois post-injection : Niveaux d'expression des CART-EGFRvIII supérieurs dans le sang périphérique par rapport à la tumeur réséquée. Ce qui traduit un manque d'adressage des cellules au niveaux de la tumeur.
207	CART-EGFRvIII non détectés dans la tumeur. Il avait le plus faible taux de prise de greffe dans le sang et une progression précoce de sa tumeur.
209 (opéré 3 mois après la perfusion de CART)	CART-EGFRvIII non détecté dans la tumeur, et faible détection dans le sang périphérique. Ce qui traduirait un manque de survie des cellules CAR-T.
216 et 217	Concentration de cellules CART-EGFRvIII plus élevée dans le cerveau que dans le sang périphérique. Taux de 3 (217) à 100 (216) fois plus élevés dans les échantillons du cerveau analysés par qPCR.

Tableau 4 : Trafic cellulaire des cellules CART chez différents sujets.

Chez les quatre sujets ayant subi la résection chirurgicale précocement (dans les 14 jours après perfusion), les niveaux de cellules CAR-T étaient plus élevés dans la tumeur par rapport au sang périphérique. Le trafic cellulaire des sujets 216 et 217 peut évoquer un adressage efficace et une expansion probable des cellules in situ dans les régions actives du GBM.

➤ Efficacité

Pour les six premiers sujets, leur suivi par IRM a montré qu'au jour 28, cinq des six patients présentaient une maladie stable. Deux mois post-injection, l'IRM de suivi a mis en évidence des réponses très variables pour les différents patients, suggérant que certains patients présentaient des signes de progression de leur cancer et d'autres, une bonne réponse au

traitement. La SG médiane des 10 sujets traités était d'environ 8 mois après la perfusion des cellules CAR-T (et non après le diagnostic).

Le **sujet 207** présentait des signes de progression de sa maladie et a subi une résection au jour 34. La présence d'une nécrose pseudo-palissadique a été établie et aucun signe d'infiltration de cellules T lors de l'évaluation neurohistopathologique n'a été détecté. De plus, ce sujet possédait l'un des niveaux de CART-EGFRvIII les plus bas dans le sang.

Le **sujet 205** présentait une augmentation du contraste sur l'IRM au jour 28, mais était considéré comme ayant une maladie stable selon les critères RANO²; ce patient a été observé de près et était cliniquement stable (Figure 13A). Un effet positif du traitement fut présenté par une faible survie des cellules tumorales, associée à une infiltration lymphocytaire et macrophagique significative (Figure 14). Au deuxième mois, les résultats d'imagerie, tels que le renforcement du contraste et un léger effet de masse dans le lobe temporal gauche, ont encore progressé. Malgré une efficacité initialement marquée, ce sujet est décédé de sa maladie environ 8 mois après la perfusion de CART-EGFRvIII (soit 6 mois après la chirurgie).

Figure 13: (A) IRM du sujet 205 en T1 avec du gadolinium, avant et après administration de CAR-T. (B) IRM du sujet 209, il a subi une résection chirurgicale d'une partie de la tumeur après l'analyse de 3 mois. Images modifiées à partir de l'étude d'O'Rourke (O'Rourke et al., 2017).

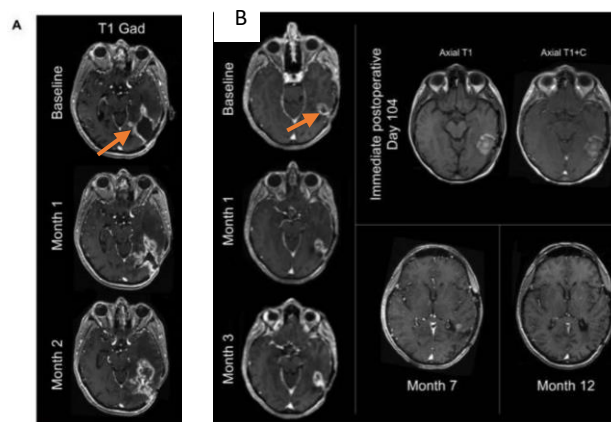
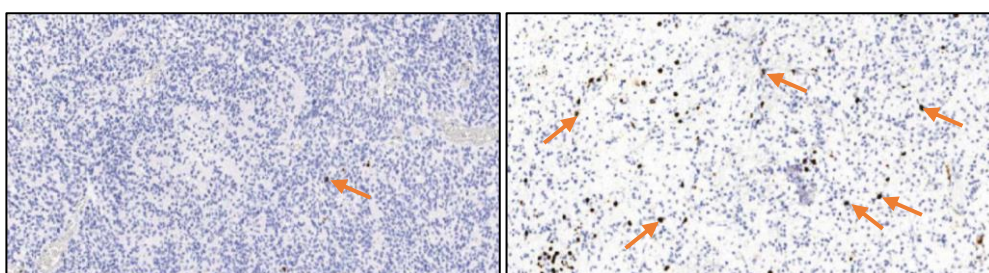


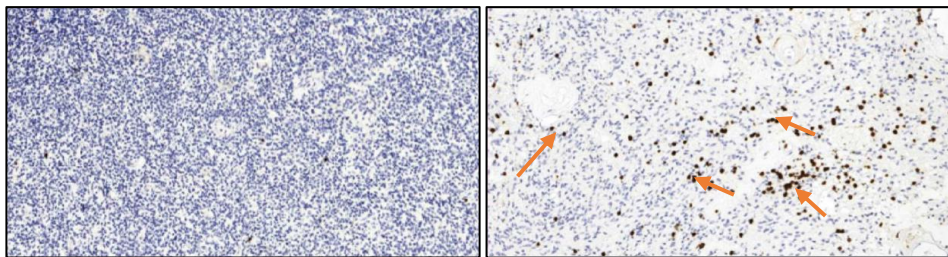
Figure 14 : Analyse histologique d'échantillons du patient 205, avant (J-63) et après (J55) la perfusion des cellules CAR-T. Immunohistochimie pour CD3 afin de montrer la présence de cellules T. Les flèches pointent des lymphocytes T. Images modifiées à partir de l'étude d'O'Rourke (O'Rourke et al., 2017).



² Les critères RANO permettent d'évaluer la réponse thérapeutique pour le suivi des tumeurs gliales.

Le **patient 209** s'est montré cliniquement stable les 3 mois suivant la perfusion, avec un très bon indice de performance à 18 mois après la perfusion, défini comme un grade 1 selon le statut de performance ECOG (échelle qualitative reprise en annexe, Tableau 7). Il a subi une intervention chirurgicale tardive pour une lésion hétérogène dans le lobe temporal gauche au jour 104 (Figure 14B) après l'administration de CART-EGFRvIII. La coupe histologique réalisée, suite à cette résection, montre une diminution des cellules tumorales, l'absence de nécrose pseudo-palissadique mais toujours avec la présence de tumeur solide (Figure 15). L'IRM postopératoire n'a pas montré de lésion rehaussée résiduelle. Par la suite, un petit foyer de rehaussement supérieur à la cavité chirurgicale a été observé mais il est resté stable pendant au moins 18 mois.

Figure 15: Analyse histologique d'échantillons du patient 209, avant (J-227) et après (J104) la perfusion des cellules CAR-T. Immunohistochimie pour CD3 afin de montrer la présence de cellules T (pouvant être des clones des cellules CAR-T). Les flèches pointent des lymphocytes T. Images modifiées à partir de l'étude d'O'Rourke (O'Rourke et al., 2017).



De plus, en comparant l'expression d'EGFR et d'EGFRvIII en pré et post-infusion, une diminution du niveau d'expression d'EGFRvIII dans le site tumoral chez 5 des 7 sujets ayant subi une résection a été mise en évidence. Les 2 autres sujets étaient le 207 et le 217. Chez le sujet 207, qui a une mauvaise prise de greffe et donc pas de CAR-T dans la tumeur, avec une progression précoce de la maladie, il n'y a aucun effet sur l'EGFRvIII. Pour le sujet 217, les niveaux d'expression d'EGFRvIII étaient moyennement stables suite à la perfusion.

En ce qui concerne l'expression d'EGFR, elle n'a pas évolué de façon statistiquement significative ($P > 0,999$).

Globalement, ces résultats suggèrent que chez certains patients les cellules CART-EGFRvIII sont passées du sang à la tumeur cérébrale, ont proliféré in situ et ont exercé une activité sur la cible, comme l'atteste la diminution des niveaux d'expression d'EGFRvIII. D'un autre côté, il semble que cette activation immunitaire était corrélée avec des mécanismes de résistance compensatoire, y compris la régulation augmentée d'IDO1 et de PD-L1 (des checkpoints inhibiteurs), et le recrutement de cellules T régulatrices sécrétant de l'IL-10 et exprimant FoxP3.

- Persistance des cellules CAR T-EGFRvIII

L'expansion maximale se situe entre les jours 3 et 10. Au neuvième jour, le patient 202 a reçu de la dexaméthasone à forte dose entraînant une baisse transitoire des CART-EGFRvIII dans le sang (évalué par cytométrie en flux et qPCR). Plusieurs constatations ont été observées concernant le nombre de cellules CAR-T. La plus importante était que le taux de ces cellules circulantes avait diminué significativement au J14 et elles avaient disparu au J30.

➤ Effets indésirables

Trois grands types d'effets indésirables ont été relevés : ceux qui seraient la preuve d'une toxicité hors cible liée à l'EGFR, du CRS, ou encore de manifestations neurologiques. Le tableau des effets indésirables est repris en annexe. Aucun patient n'a présenté de signe de toxicité induit par l'EGFR (ex : éruption cutanée, diarrhée ou des symptômes pulmonaires) ou de syndrome de libération systémique de cytokines. Trois participants ont manifesté des effets neurologiques cliniquement significatifs sans savoir s'ils étaient dus à la maladie en elle-même ou au traitement.

Chez les patients atteints d'hémopathies malignes, après la collecte du sérum à de nombreux moments après la perfusion de CAR T-EGFRvIII, aucune preuve clinique du CRS, basée sur la mesure de 30 cytokines dans le sang périphérique, n'a été observée. Une moitié des patients possédaient une augmentation 10 fois ou plus de l'IL-6. Deux sujets présentaient une élévation de plus de 10 fois d'IL-5 (204) ou d'IL-10 (207). Cependant, aucune autre cytokine n'a été augmentée plus de 10 fois par rapport à la valeur initiale pendant les 2 premiers mois de traitement.

4.3.3. Discussion

4.3.3.1. Progression clinique après injection de cellules CAR-T

Un patient en particulier a présenté des éléments prometteurs quant à l'efficacité thérapeutique de la thérapie CAR-T chez un sujet EGFRvIII⁺. Ce patient n'a pas nécessité de traitement supplémentaire pendant plus de 18 mois après l'administration de la thérapie CAR-T. L'injection de CART-EGFRvIII semble montrer par conséquent son potentiel thérapeutique dans la diminution des cellules présentant l'antigène cible. Cependant, la réduction des cellules EGFRvIII peut partiellement être attribuée aux traitements concomitamment administrés. Bien que ces traitements ne soient pas assez puissants pour guérir du GBM, ils possèdent tout de même une activité antitumorale.

Le niveau d'EGFR, au sein de la cohorte, était quant à lui stable. Les cellules CAR-T n'ont donc pas ciblé cet antigène et possèdent bien une action spécifique à l'antigène tumoral,

à savoir l'EGFRvIII. Les recherches futures pourraient continuer à tirer parti de cette haute spécificité en ciblant plusieurs antigènes tumoraux simultanément. Pour ce faire, une analyse précise des antigènes présents à la surface de la tumeur devra être réalisée, ce qui permettrait d'éliminer des populations tumorales qui ne seraient pas sensibles à la première génération de CAR-T et limiter ainsi l'apparition de résistance thérapeutique.

4.3.3.2. Adressage des CAR-T vers la tumeur primaire

Chez tous les sujets perfusés, la prise de greffe des cellules CART-EGFRvIII était détectable dans le sang périphérique, malgré l'absence de lymphodéplétion préalable (qui est favorable à l'expansion des cellules CAR-T). Ces données suggèrent que les cellules CART-EGFRvIII avaient un avantage sélectif de croissance par rapport à la population de lymphocytes endogènes. Cette sélectivité pourrait être dû au processus de costimulation réalisé ex vivo ou par l'expression du transgène. La persistance peu élevée des cellules dans le sang périphérique 1 mois post-greffe est une observation qui était prédictible et pourrait être un signe du passage des cellules CART-EGFRvIII dans le cerveau, c'est-à-dire vers le tissu exprimant l'antigène.

Il n'a pas pu être déterminé quel niveau de trafic cellulaire, de prolifération et de persistance devait être atteint pour avoir une activité anti-tumorale efficace ; pour le déterminer, des études de plus grandes envergures devraient être entreprises. De plus, la cinétique de l'adressage cellulaire n'a pas pu être calculé, mais il semblerait qu'il y ait un intervalle temporel déterminé de trafic maximum dans lequel les cellules CART-EGFRvIII peuvent être détectées. Cette fenêtre concorde avec le pic de prise de greffe dans le sang périphérique qui a lieu 1 à 2 semaines suite à l'administration de la thérapie. Par ailleurs, les connaissances des mécanismes de l'adressage cellulaire des CAR-T restent incomplètes. L'infiltration dans les tumeurs cérébrales, des cellules T est hétérogène au sein de la même tumeur.

4.3.3.3. Design de l'étude

a) Points forts

La création de différents sous-groupes de patients est un élément intéressant pour pouvoir comparer les résultats en fonction du moment de l'intervention neurochirurgicale, et déterminer s'il y a un impact temporel. Par exemple, dans le deuxième groupe (chirurgie tardive) il a été observé une perte ou une diminution de l'expression de l'EGFRvIII sans changement dans le degré d'amplification de l'EGFR ni d'autres mutations tumorales, ce qui suggérerait une meilleure efficacité du traitement lorsque la résection chirurgicale prend place après l'injection de CART-EGFRvIII.

b) Points faibles

L'efficacité du traitement est partielle vu qu'aucune régression tumorale marquée n'a été observée chez aucun patient sur l'IRM. Cela ne permet donc pas de statuer d'une réelle valeur ajoutée de cette thérapie, quand bien même il serait attrayant de se focaliser sur les aspects positifs que semble présenter ce traitement. Il est également important de noter que le nombre de patients admis dans l'étude était assez restreint. En conséquence, des cohortes plus importantes sont nécessaires pour tirer des conclusions plus globales quant au bénéfice clinique du produit CART-EGFRvIII et ce par rapport aux traitements déjà disponibles.

4.3.3.4. Impacts histologiques de la greffe

La difficulté spécifique de ce type de CART est l'hétérogénéité de l'EGFRvIII. Effectivement, dans plusieurs échantillons de tumeur récoltés, d'un côté il apparaît une large variation dans le niveau d'expression d'EGFRvIII, et d'un autre côté il y a une forte hétérogénéité tumorale pour d'autres mutations que l'EGFRvIII. L'HIT peut être à l'origine de l'échec du traitement voire même d'avoir fréquemment un impact clinique minimal sur le ciblage de l'EGFRvIII seul (CAR « monospécifique »).

Au niveau du microenvironnement tumoral, il y a eu une augmentation de l'expression de molécules immunosuppressives telles que IDO1, PD-L1 et IL-10 après l'administration des cellules CART, suggérant que ces cellules induisent une réponse immunosuppressive multifactorielle compensatoire in situ. Il serait dès lors intéressant d'étudier l'association de la thérapie à cellules CAR-T et de molécules inhibant les points de contrôle (axe PD1-PD-L1) afin de palier à cette réponse compensatoire.

4.3.4. Conclusion

En conclusion, cette étude de phase 1 a souligné la faisabilité de la fabrication de cellules CART-EGFRvIII à partir de patients atteints de GBM récurrent. Aucun bénéfice clinique n'a pu être définitivement déterminé. Néanmoins, il a été observé que les cellules CART-EGFRvIII perfusées par voie intraveineuse se dirigeaient bien vers la tumeur cérébrale et exerçaient une activité dirigée contre les cellules tumorales exprimant l'antigène ciblé, basée sur une diminution de l'expression d'EGFRvIII.

5. Discussion

La prise en charge des patients présentant un GBM est un challenge clinique vu la faible SG médiane observée même après l'instauration de traitements actuels. La résistance aux traitements peut s'expliquer par l'HIT imprévisible, par la sélection, suite au traitement, des cellules développant des mécanismes de résistance.

L'utilisation des cellules CAR-T pour le traitement des tumeurs solides implique un ensemble unique de défis, notamment la validation des antigènes, le trafic cellulaire et l'infiltration des tumeurs, l'hétérogénéité tumorale et un microenvironnement immunosuppresseur. La limite des études cliniques actuelles quant à la récolte d'informations est le faible nombre de patients, rendant les résultats difficilement extrapolables à large échelle.

D'autres thérapies ciblant l'EGFRvIII (ex : vaccins) furent soldées par un échec thérapeutique pour les raisons précédemment citées. Dans le cas de la thérapie par cellules CAR-T, la résistance au traitement pourrait être évitée de par la pénétrabilité des cellules CAR-T à travers la BHE, par l'étude préalable de l'HIT et en choisissant des CART-EGFRvIII si le patient présente cette mutation. Il faudra recourir à un autre type de thérapie cellulaire dans le cas où le patient ne présenterait pas cette mutation. De plus, l'utilisation de modulateur des voies de signalisation, tel que l'inhibition du point de contrôle PD-1, pourrait participer au succès de la thérapie à cellules CAR-T. En effet, des études sur modèle de souris ont montré des effets antitumoraux combinés de la thérapie cellulaire CAR-T anti-EGFRvIII et du blocage du point de contrôle PD-1 sur le GBM (Song et al., 2020). Les résultats contre le GBM furent à la fois efficaces et spécifiques avec une SG plus élevée que le traitement uniquement par CAR-T (Choi et al., 2019).

Globalement, les données cliniques sur les cellules CART-EGFRvIII, CART-HER2 et IL13BB ζ -CAR T contre le GBM fournissent des preuves initiales de l'innocuité et de l'activité antitumorale de l'immunothérapie par cellules CAR-T chez les patients atteints de tumeurs cérébrales malignes.

L'avantage premier de cette thérapie est son ciblage spécifique de la tumeur en fonction de l'expression de certains antigènes spécifiques à la présence de GBM et sa pénétrabilité à travers la BHE. Ce dernier critère fut évalué dans l'étude clinique d'O'Rourke, dans laquelle 2 patients ont présenté un fort trafic cellulaire vers le cerveau. En effet, les concentrations cellulaires y étaient plus élevées que dans le sang périphérique. A contrario, un patient ayant été opéré 3 mois après le perfusion de CAR-T ne présentait pas ces cellules au sein de la tumeur, démontrant le faible temps de persistance au site tumoral. De plus, toutes les études ont

également montré une faible persistance dans le sang périphérique des cellules CAR-T. Ce résultat est moins surprenant étant donné que leur site d'action ne se trouve pas à cet endroit.

Le CRS appréhendé lors de l'initiation de cette thérapie fut étudié dans les études de phase 1. Aux doses utilisées, cet effet indésirable majeur ne fut pas observé dans les cohortes, démontrant la sécurité de l'utilisation de ce traitement. Des effets indésirables mineurs furent enregistrés mais ne sont pas significatifs au point de faire pencher la balance bénéfice risque de façon négative. En outre, le CRS peut être pris en charge à l'aide du tocilizumab ou de façon précoce à l'aide de l'expression et de l'activation de gènes suicides chez les cellules CAR-T.

Le GBM est une pathologie prise en charge en combinant différents traitements, les traitements individuels manquant d'efficacité. La thérapie à cellules CAR-T n'y fera pas exception, en effet les résultats se sont montrés d'autant plus prometteurs quand la thérapie était associée à d'autres méthodes. La combinaison avec le blocage de point de contrôle en fait partie mais également l'association avec le TMZ. Le traitement par TMZ avant l'administration de CAR-T systémique favoriserait la prise de greffe ainsi que l'efficacité antitumorale d'après les résultats d'une étude de phase 1. Cette augmentation de la réponse thérapeutique est octroyée grâce à la lymphodéplétion induite par le TMZ (Suryadevara et al., 2018). La thérapie par cellules CAR-T en elle-même n'a pas d'effets indésirables majeurs mais elle sera combinée à des traitements assez lourds. Dans cette prise en charge globale, la qualité de vie du patient durant le traitement ne sera donc pas forcément meilleure. La lymphodéplétion induite par le TMZ n'aurait pas les mêmes répercussions lorsque ce traitement est suivi d'une injection de CAR-T. Dans ce cas, l'immunité du patient sera reconstituée.

En outre, la présence d'échec thérapeutique est toujours observable (étude d'O'Rourke) avec le développement de résistance au traitement. Une façon d'y remédier serait donc de cibler plusieurs antigènes en même temps afin d'augmenter l'efficacité et limiter les résistances. Une autre option serait de modifier les cellules après chaque résistance au traitement, ne permettant pas aux cellules tumorales d'être résistantes aux nouvelles cellules CAR-T.

Différentes générations de CAR-T ont été développées. La quatrième génération présente des arguments favorables comme une plus grande persistance dans l'organisme du patient et un meilleur profil d'innocuité par rapport aux précédentes générations de CAR-T. Malheureusement, il y a un manque d'études cliniques sur ces CAR-T de quatrième génération, ce qui ne permet pas de conclure sur leur réel avantage. Une étude de Brown CE sur modèle de souris, faisant suite aux travaux sur l'IL13Ra2a, a mis en évidence une plus grande efficacité des CAR-T de deuxième génération (IL13BBζ) par rapport à celles de première génération (CAR IL13ζ). Il fut également démontré dans cette étude que la dexaméthasone à faible dose,

fréquemment utilisée dans le GBM, ne diminue pas l'activité anti-tumorale des cellules CAR-T in vivo (Brown et al., 2018).

Toujours dans la conception des cellules CAR-T, une sélection minutieuse des modifications génétiques à induire aux lymphocytes doit s'opérer. En effet, l'utilisation de domaines de co-stimulation peuvent, en contrepartie d'une meilleure efficacité, engendrer une toxicité élevée qui présenterait un risque trop dangereux pour le patient. Il est dès lors important d'évaluer au préalable (étude sur l'animal et/ou in vitro) quelles modulations utiliser pour obtenir une efficacité thérapeutique optimale avec une sécurité pour l'homme.

Concernant la méthode d'infusion des cellules CAR-T, l'administration intracrânienne semble montrer une efficacité antitumorale supérieure à l'administration intraveineuse (Brown et al., 2018). Les deux premières études (Ahmed et al., 2017; O'Rourke et al., 2017) administraient la thérapie par voie systémique car les cellules peuvent pénétrer la BHE, supposant que l'efficacité serait identique à celle d'une voie intratumorale. Cependant, suite aux résultats du rapport de cas et d'une autre étude de CE Brown, il semblerait que l'efficacité soit meilleure après une administration intraventriculaire. Dès lors, il serait judicieux d'explorer dans des études futures sur une cohorte plus grande, cette voie d'administration bien qu'elle soit plus invasive.

Un aspect attrayant de la thérapie par cellules CAR-T est son origine. En effet, le traitement provient du malade lui-même, ce qui d'une part permet d'éviter le phénomène des rejets de greffe et d'autre part, est plus facilement accepté psychologiquement par les patients. Des études ont également montré que les cellules T employées pouvaient provenir d'un donneur différent du receveur et que ces greffes allogéniques auraient également une efficacité clinique telle que montrée dans le traitement des lymphomes (Ghosh et al., 2017).

Un inconvénient de cette thérapie est le temps nécessaire pour concevoir les cellules T génétiquement modifiées, environ deux à trois semaines. Le GBM étant une maladie à évolution rapide, il est préférable d'administrer le traitement le plus rapidement possible. D'un point de vue pratique, un obstacle majeur dans la commercialisation de cette thérapie est son prix (300 000€/patient), aussi bien pour le patient que pour l'industrie pharmaceutique. En effet, son prix est en inadéquation avec le système de financement actuel des produits de santé rendant sa mise sur le marché d'autant plus laborieuse.

Dans le futur, des études de plus grande ampleur devront prendre place dans le but de tirer des conclusions quant à l'efficacité réelle de la thérapie par cellules CAR-T dans le traitement du GBM. Par exemple, la création d'études cliniques randomisées contrôlées en double aveugle permettrait de mettre en évidence la valeur ajoutée de cette immunothérapie.

La double aveugle est plus difficilement réalisable si la thérapie à cellules CAR-T est injectée directement au site tumoral. Dans ce cas, un simple aveugle peut être possible en mettant les patients des deux groupes dans des services différents et n'ayant pas connaissance du traitement que l'autre groupe recevra. En intracavitaire, les médecins ne travailleront donc pas en aveugle au vue du caractère agressif de cette procédure. Pour réaliser cette étude, il faudrait comparer un premier groupe recevant la thérapie à cellules CAR-T et les traitements conventionnels, avec un deuxième groupe recevant uniquement les traitements conventionnels (ex : résection chirurgicale avec de la chimioradiothérapie en fonction de l'avis médical). En effet, le groupe comparateur ne pourra pas recevoir de placebo, ce cas de figure n'étant pas le gold standard et il n'est pas éthique de ne pas administrer de traitement à ces patients. Par ailleurs, il semble clair que la thérapie à cellules CAR-T ne sera pas administrée seule dans la pratique future car une plus grande efficacité est observée en combinant les thérapies. C'est pour reproduire cette situation réelle que l'intervention sera également accompagnée des autres traitements. Un résultat important de ce type d'étude sera la SG médiane et les effets indésirables présentés par les patients. En effet, ils démontreront du réel intérêt de la thérapie à cellules CAR-T dans cette population de patients. De plus, cela situera la place de la thérapie à cellules CAR-T dans l'arsenal thérapeutique déjà disponible sur le marché.

6. Conclusion

Ce mémoire a pour objectif de déterminer quelles sont les nouvelles perspectives de traitement du GBM offertes par la thérapie à cellules CAR-T. Ce cancer a une faible SG après une prise en charge avec des traitements conventionnels comme la chimiothérapie, la radiothérapie et la résection chirurgicale. Des recherches doivent être menées pour trouver de nouvelles thérapies adaptées. Dans un premier temps, la problématique du GBM a été définie ainsi que le fonctionnement des cellules CAR-T.

La thérapie par cellules CAR-T offre des perspectives d'avenir avec un profil d'efficacité supplémentaire aux traitements conventionnels. Elle a une action plus ciblée et permet d'obtenir une espérance de vie plus élevée avec des effets indésirables mineurs. De plus, il est intéressant de continuer à combiner les traitements, en associant des traitements conventionnels à la thérapie CAR-T pour en augmenter son efficacité. L'administration intraventriculaire s'est montrée plus efficace qu'une administration intraveineuse de même qu'une administration intracavitaire, malgré la propriété des cellules CAR-T à traverser la BHE. Plusieurs générations de CAR-T sont développées avec plus d'arguments en faveur de la création de la quatrième génération qui a une plus grande expansion et survie des cellules CAR-T. Cette thérapie offre également la possibilité de cibler plusieurs antigènes en même temps permettant d'agrandir son champ d'action en fonction des antigènes exprimés par le GBM. Néanmoins, les études n'ont pas montré d'efficacité chez tous les patients de la cohorte. Il serait donc nécessaire de trouver la cause de cette non-réponse au traitement et d'en tirer parti pour d'autres études. Par exemple, il faudrait établir au préalable le profil des répondants au traitement pour les sélectionner à recevoir la thérapie à cellules CAR-T.

Ce travail a principalement exploré les perspectives de traitement de GBM en évaluant notamment l'efficacité de la thérapie CAR-T sur la réduction tumorale. Cependant, il serait pertinent de suivre les prochaines études dans ce même domaine pour en apprécier son application à une population plus générale, ainsi que d'évaluer l'utilisation concomitante de plusieurs traitements. La thérapie par cellules CAR-T montre donc plusieurs avantages (ciblage tumoral précis, effets indésirables minimales,...) mais avec un manque de données ne permettant pas de conclure actuellement à sa supériorité au sein de l'arsenal thérapeutique du GBM. Un avantage exceptionnel serait que malgré le développement de résistance à la thérapie CAR-T, il serait possible de moduler les cellules par la suite pour que la tumeur ne puisse plus échapper au traitement. En effet, de nouvelles cellules CAR-T seraient créées, pour combattre le GBM,

à chaque fois que les cellules tumorales présenteraient une résistance, le traitement éliminerait donc à chaque cycle les cellules ayant persisté jusqu'à vaincre le GBM.

Approche méthodologique

Le sujet de ce mémoire est né de l'envie d'en apprendre d'avantage sur cette maladie qu'est le GBM. Effectivement au cours de mes années d'études, ce thème ne fut pas énormément abordé. Ensuite, la recherche de thérapies innovantes s'est effectuée et cette immunothérapie a particulièrement attiré mon attention étant un domaine très prometteur de par son action ciblée.

Le site de PubMed fut consulté et les recherches furent effectuées à l'aide des MeSH (Medical Subject Headings). Les mots clés employés étaient dans un premier temps « Glioblastoma », « Glioma » et « CAR-T cell therapy ». L'article de Davis « Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment » m'a aidé à faire le point sur la problématique.

La suite de mes recherches s'est effectuée à l'aide de moteurs de recherches tels que PubMed, Frontiers, Google Scholar, Clinicaltrials. Mais également sur base d'articles fournis par mon promoteur le professeur Charles Nicaise. L'utilisation de Clinicaltrials m'a permis de trouver des études achevées et d'en exploiter les résultats par la suite pour alimenter les données du mémoire.

L'application de la thérapie à cellules CAR-T dans le domaine du GBM reste assez récente, ce qui a rendu la recherche d'informations difficile par moment. Malheureusement, les résultats d'études cliniques plus poussées ne sont pas encore publiés et de nombreuses études sont encore en cours, ce qui fait de ce mémoire une introduction à l'utilisation de cette thérapie dans le GBM pour en déterminer ses perspectives de traitement.

Bibliographie

- Ahmed, N., Brawley, V., Hegde, M., Bielasowicz, K., Kalra, M., Landi, D., Robertson, C., Gray, T. L., Diouf, O., Wakefield, A., Ghazi, A., Gerken, C., Yi, Z. zhen, Ashoori, A., Wu, M.-F., Liu, H., Rooney, C., Dotti, G., Gee, A., ... Gottschalk, S. (2017). HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor–Modified Virus-Specific T Cells for Progressive Glioblastoma. *JAMA oncology*, 3(8), 1094-1101. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.0184>
- Ahmed, N., Brawley, V. S., Hegde, M., Robertson, C., Ghazi, A., Gerken, C., Liu, E., Dakhova, O., Ashoori, A., Corder, A., Gray, T., Wu, M.-F., Liu, H., Hicks, J., Rainusso, N., Dotti, G., Mei, Z., Grilley, B., Gee, A., ... Gottschalk, S. (2015). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) –Specific Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *Journal of Clinical Oncology*, 33(15), 1688-1696. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.0225>
- An, Z., Aksoy, O., Zheng, T., Fan, Q.-W., & Weiss, W. A. (2018). Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFRvIII in glioblastoma (GBM): Signaling pathways and targeted therapies. *Oncogene*, 37(12), 1561-1575. <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0045-7>
- Beaudeau, J.-L. (2009). La protéine S100B : Premier marqueur biologique pour le diagnostic du traumatisme crânien mineur ou modéré. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 67(3), 187-194. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2009.03.002>
- Bouguet, G., Fontenay, F., & Chatenay, S. (2021). *Comprendre les CAR-T cells*. France Lymphome
Espoir. <https://www.francelymphomespoir.fr/contenu/comprendre/comment-soigner-un-lymphome/les-car-t-cells>
- Brown, C. E., Aguilar, B., Starr, R., Yang, X., Chang, W.-C., Weng, L., Chang, B., Sarkissian, A., Brito, A., Sanchez, J. F., Ostberg, J. R., D'Apuzzo, M., Badie, B., Barish, M. E., & Forman, S. J. (2018). Optimization of IL13R α 2-Targeted Chimeric Antigen Receptor T Cells for Improved Anti-tumor Efficacy against Glioblastoma. *Molecular Therapy*, 26(1), 31-44. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.10.002>
- Brown, C. E., Alizadeh, D., Starr, R., Weng, L., Wagner, J. R., Naranjo, A., Ostberg, J. R., Blanchard, M. S., Kilpatrick, J., Simpson, J., Kurien, A., Priceman, S. J., Wang, X., Harshbarger, T. L., D'Apuzzo, M., Ressler, J. A., Jensen, M. C., Barish, M. E., Chen, M., ... Badie, B. (2016a, décembre 28). *Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy* (world) [Research-article]. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1610497>; Massachusetts Medical Society.
- Brown, C. E., Alizadeh, D., Starr, R., Weng, L., Wagner, J. R., Naranjo, A., Ostberg, J. R., Blanchard, M. S., Kilpatrick, J., Simpson, J., Kurien, A., Priceman, S. J., Wang, X., Harshbarger, T. L., D'Apuzzo, M., Ressler, J. A., Jensen, M. C., Barish, M. E., Chen, M., ... Badie, B. (2016b). Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *The New England journal of medicine*, 375(26), 2561-2569. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1610497>
- Brown, M. P., Ebert, L. M., & Gargett, T. (2019). Clinical chimeric antigen receptor-T cell therapy : A new and promising treatment modality for glioblastoma. *Clinical & Translational Immunology*, 8(5), e1050. <https://doi.org/10.1002/cti2.1050>
- Brudno, J. N., & Kochenderfer, J. N. (2016). Toxicities of chimeric antigen receptor T cells : Recognition and management. *Blood*, 127(26), 3321-3330. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-04-703751>

- Buechner, J., Kersten, M. J., Fuchs, M., Salmon, F., & Jäger, U. (2018). Chimeric Antigen Receptor-T Cell Therapy. *HemaSphere*, 2(1). <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000018>
- Castelnau-Marchand, P. (2021, avril 1). *Traitement des glioblastomes—Rôle de la radiothérapie*. Institut de Radiothérapie et de Radiochirurgie H. Hartmann | SENY. <https://radiotherapie-hartmann.fr/actualites/gliomes/la-radiotherapie-dans-le-traitement-des-glioblastomes/>
- Catros, V. (2019). Les CAR-T cells, des cellules tueuses spécifiques d'antigènes tumoraux—De nouvelles générations pour le traitement des tumeurs solides. *médecine/sciences*, 35(4), 316-326. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019067>
- Choi, B. D., Yu, X., Castano, A. P., Darr, H., Henderson, D. B., Bouffard, A. A., Larson, R. C., Scarfò, I., Bailey, S. R., Gerhard, G. M., Frigault, M. J., Leick, M. B., Schmidts, A., Sager, J. G., Curry, W. T., Carter, B. S., & Maus, M. V. (2019). CRISPR-Cas9 disruption of PD-1 enhances activity of universal EGFRvIII CAR T cells in a preclinical model of human glioblastoma. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 7, 304. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0806-7>
- Chomienne, C., Sierra, J., Einsele, H., & Jäger, U. (2019). EHA Guidance Document The process of CAR-T cell therapy in Europe. *HemaSphere*, 3(4), e280. <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000280>
- Chua, J., Nafziger, E., & Leung, D. (2019). Evidence-Based Practice : Temozolomide Beyond Glioblastoma. *Current Oncology Reports*, 21(4), 30. <https://doi.org/10.1007/s11912-019-0783-5>
- Davis, M. E. (2016). Glioblastoma : Overview of Disease and Treatment. *Clinical journal of oncology nursing*, 20(5), S2-S8. <https://doi.org/10.1188/16.CJON.S1.2-8>
- Definition of TNM staging system—NCI Dictionary of Cancer Terms—National Cancer Institute* (nciglobal,ncienterprise). (2011, février 2). [NciAppModulePage]. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/tnm-staging-system>
- ECOG Performance Status*. (s. d.). ECOG-ACRIN. Consulté 16 janvier 2022, à l'adresse <https://ecog-acrin.org/resources/ecog-performance-status>
- Edge, S. B., & Compton, C. C. (2010). The American Joint Committee on Cancer : The 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the Future of TNM. *Annals of Surgical Oncology*, 17(6), 1471-1474. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-0985-4>
- Edge, S. B., & Compton, C. C. (2013, septembre 5). *Tumor Grade Fact Sheet—National Cancer Institute* (nciglobal,ncienterprise) [CgvArticle]. <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/prognosis/tumor-grade-fact-sheet>
- Floch, O. (2019). *Les CAR-T cells : Une technologie mort-née ?* Décision & Stratégie Santé. <https://www.decision-sante.com/archives/les-car-t-cells-une-technologie-mort-nee>
- Franchini, M., & Lippi, G. (2012). Fibrinogen replacement therapy : A critical review of the literature. *Blood Transfusion*, 10(1), 23-27. <https://doi.org/10.2450/2011.0015-11>
- Gee, A. P. (2018). GMP CAR-T cell production. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 31(2), 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2018.01.002>
- Ghosh, A., Smith, M., James, S. E., Davila, M. L., Velardi, E., Argyropoulos, K. V., Gunset, G., Perna, F., Kreines, F. M., Levy, E. R., Lieberman, S., Jay, H., Tuckett, A. Z., Zakrzewski, J. L., Tan, L., Young, L. F., Takvorian, K., Dudakov, J. A., Jenq, R. R., ... van den Brink, M. R. M. (2017). Donor CD19-CAR T Cells Exert Potent Graft-versus-Lymphoma Activity With Diminished Graft-versus-Host Activity. *Nature medicine*, 23(2), 242-249. <https://doi.org/10.1038/nm.4258>

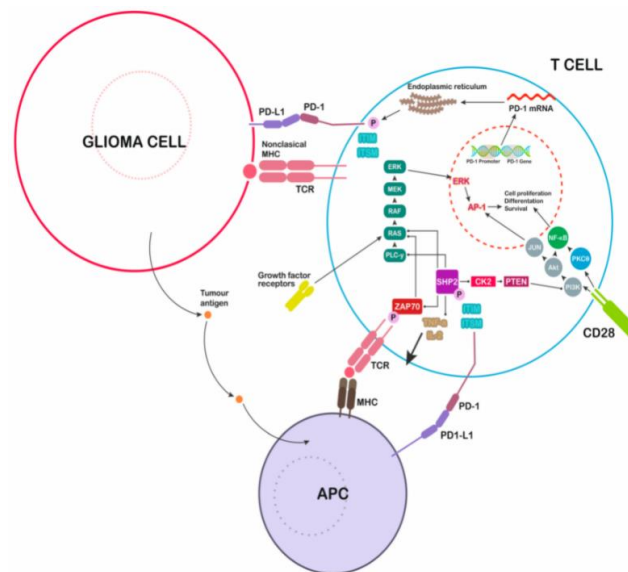
- Glioblastome—Définition, symptômes, diagnostic & traitement.* (2020, septembre). <https://www. Roche.fr/fr/patients/info-patients-cancer/comprendre-cancer/tumeur-cerveau-glioblastome.html>
- Hashida, Y., Taniguchi, A., Yawata, T., Hosokawa, S., Murakami, M., Hiroi, M., Ueba, T., & Daibata, M. (2015). Prevalence of human cytomegalovirus, polyomaviruses, and oncogenic viruses in glioblastoma among Japanese subjects. *Infectious Agents and Cancer*, 10(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-10-3>
- Hegde, M., Corder, A., Chow, K. K., Mukherjee, M., Ashoori, A., Kew, Y., Zhang, Y. J., Baskin, D. S., Merchant, F. A., Brawley, V. S., Byrd, T. T., Krebs, S., Wu, M. F., Liu, H., Heslop, H. E., Gottschalk, S., Yvon, E., & Ahmed, N. (2013). Combinational Targeting Offsets Antigen Escape and Enhances Effector Functions of Adoptively Transferred T Cells in Glioblastoma. *Molecular Therapy*, 21(11), 2087-2101. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.185>
- Heiland, D. H., Haaker, G., Delev, D., Mercas, B., Masalha, W., Heynckes, S., Gabelein, A., Pfeifer, D., Carro, M. S., Weyerbrock, A., Prinz, M., & Schnell, O. (2017). Comprehensive analysis of PD-L1 expression in glioblastoma multiforme. *Oncotarget*, 8(26), 42214-42225. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15031>
- Hentschel, S. J., & Lang, F. F. (2003). Current Surgical Management of Glioblastoma. *The Cancer Journal*, 9(2), 113-125.
- Hong, M., Clubb, J. D., & Chen, Y. Y. (2020). Engineering CAR-T Cells for Next-Generation Cancer Therapy. *Cancer Cell*, 38(4), 473-488. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.07.005>
- Imagerie par résonance magnétique (IRM).* (s. d.). Consulté 27 octobre 2021, à l'adresse https://www.info-radiologie.ch/resonance_magnetique.php
- Interlandi, J. (2009, janvier 8). *Cancer: Is There a Brain Tumor Virus?* Newsweek. <https://www.newsweek.com/cancer-there-brain-tumor-virus-77933>
- Karachi, A., Dastmalchi, F., Mitchell, D. A., & Rahman, M. (2018). Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 20(12), 1566-1572. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy072>
- Land, C. A., Musich, P. R., Haydar, D., Krenciute, G., & Xie, Q. (2020). Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: Charging the T cells to fight. *Journal of Translational Medicine*, 18(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02598-0>
- Lentiviral vector in gene therapy. (2021). In *Wikipedia*. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Lentiviral_vector_in_gene_therapy&oldid=997716140
- Litak, J., Mazurek, M., Grochowski, C., Kamieniak, P., & Roliński, J. (2019). PD-L1/PD-1 Axis in Glioblastoma Multiforme. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), 5347. <https://doi.org/10.3390/ijms20215347>
- Masereel, B. (2020). *Cours : Médicaments biosynthétiques.*
- Nisolle, J.-F. (2020). *Cours d'imagerie médicale.*
- Ohgaki, H., & Kleihues, P. (2005). Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathologica*, 109(1), 93-108. <https://doi.org/10.1007/s00401-005-0991-y>
- O'Rourke, D. M., Nasrallah, M. P., Desai, A., Melenhorst, J. J., Mansfield, K., Morrisette, J. J. D., Martinez-Lage, M., Brem, S., Maloney, E., Shen, A., Isaacs, R., Mohan, S., Plesa, G., Lacey, S. F., Navenot, J.-M., Zheng, Z., Levine, B. L., Okada, H., June, C. H., ... Maus, M. V. (2017). A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma. *Science translational medicine*, 9(399), eaaa0984. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa0984>

- Qazi, M. A., Vora, P., Venugopal, C., Sidhu, S. S., Moffat, J., Swanton, C., & Singh, S. K. (2017). Intratumoral heterogeneity : Pathways to treatment resistance and relapse in human glioblastoma—*Annals of Oncology*. *Annals of Oncology*, 9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx169>
- Radiothérapie : Traitement du cancer, effets secondaires et durée. (2020, septembre 24). *Actualités Françaises*. <https://www.actualitefrance.com/sante/radiotherapie-traitement-cancer/>
- Shukla, G., Alexander, G. S., Bakas, S., Nikam, R., Talekar, K., Palmer, J. D., & Shi, W. (2017). Advanced magnetic resonance imaging in glioblastoma : A review. *Chinese Clinical Oncology*, 6(4), 7-7. <https://doi.org/10.21037/cco.v0i0.15820>
- Song, Y., Liu, Q., Zuo, T., Wei, G., & Jiao, S. (2020). Combined antitumor effects of anti-EGFR variant III CAR-T cell therapy and PD-1 checkpoint blockade on glioblastoma in mouse model. *Cellular Immunology*, 352, 104112. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104112>
- Soomro, S. H., Ting, L. R., Qing, Y. Y., & Ren, M. (2017). Molecular biology of glioblastoma : Classification and mutational locations. *JPMA - Journal of the Pakistan Medical Association*, 67(9), 5.
- Suryadevara, C. M., Desai, R., Abel, M. L., Riccione, K. A., Batich, K. A., Shen, S. H., Chongsathidkiet, P., Gedeon, P. C., Elsamadicy, A. A., Snyder, D. J., Herndon, J. E., Healy, P., Archer, G. E., Choi, B. D., Fecci, P. E., Sampson, J. H., & Sanchez-Perez, L. (2018). Temozolomide lymphodepletion enhances CAR abundance and correlates with antitumor efficacy against established glioblastoma. *OncImmunity*, 7(6), e1434464. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1434464>
- Szerlip, N. J., Pedraza, A., Chakravarty, D., Azim, M., McGuire, J., Fang, Y., Ozawa, T., Holland, E. C., Huse, J. T., Jhanwar, S., Leversha, M. A., Mikkelsen, T., & Brennan, C. W. (2012). Intratumoral heterogeneity of receptor tyrosine kinases EGFR and PDGFRA amplification in glioblastoma defines subpopulations with distinct growth factor response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 3041-3046. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114033109>
- Tamimi, A. F., & Juweid, M. (2017). Epidemiology and Outcome of Glioblastoma. *Exon Publications*, 143-153. <https://doi.org/10.15586/codon.glioblastoma.2017.ch8>
- Thakkar, J. P., Dolecek, T. A., Horbinski, C., Ostrom, Q. T., Lightner, D. D., Barnholtz-Sloan, J. S., & Villano, J. L. (2014). Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 23(10), 1985-1996. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0275>
- Thérapies CAR-T cells autologues : 3 façons de relever les défis de leur fabrication pour les entreprises pharmaceutiques*. (2021, mars 31). Alcimed. <https://www.alcimed.com/fr/les-articles-d-alcim/trois-facons-de-relever-les-defis-de-la-fabrication-des-therapies-car-t-cells-autologues-pour-les-entreprises-pharmaceutiques/>
- Tirosh, I., & Suvà, M. L. (2020). Tackling the Many Facets of Glioblastoma Heterogeneity. *Cell Stem Cell*, 26(3), 303-304. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.02.005>
- Urbańska, K., Sokołowska, J., Szmids, M., & Sysa, P. (2014). Glioblastoma multiforme – an overview. *Contemporary Oncology*, 18(5), 307-312. <https://doi.org/10.5114/wo.2014.40559>
- Wang, H., Zhang, L., Zhang, I. Y., Chen, X., Da Fonseca, A., Wu, S., Ren, H., Badie, S., Sadeghi, S., Ouyang, M., Warden, C. D., & Badie, B. (2013). S100B promotes glioma growth through chemoattraction of myeloid-derived macrophages. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 19(14), 3764-3775. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3725>

- Wang, J., Shen, F., Yao, Y., Wang, L., Zhu, Y., & Hu, J. (2020). Adoptive Cell Therapy : A Novel and Potential Immunotherapy for Glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, *10*, 59. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00059>
- Wirsching, H.-G., Galanis, E., & Weller, M. (2016). Chapter 23—Glioblastoma. In M. S. Berger & M. Weller (Éds.), *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 134, p. 381-397). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2>
- Wiznerowicz, M. (2012). *Addgene News—March 2012*. <http://archive.constantcontact.com/fs064/1103481513180/archive/1109375549757.html>
- Young, R. M., Jamshidi, A., Davis, G., & Sherman, J. H. (2015). Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Annals of Translational Medicine*, *3*(9), 121. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.05.10>

Annexes

Figure 16: Schéma de la modulation immunologique par les cellules du GBM (Litak et al., 2019)



Target	Study title	Phase	Status	Institution and location
CAR T-cell therapy				
B7-H3	Pilot study of B7-H3 CAR-T in treating patients with recurrent and refractory glioblastoma. NCT04385173	1	Recruiting	Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, China
	B7-H3 CAR-T for recurrent or refractory glioblastoma. NCT04077866	1/2	Recruiting	Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, China
Chlorotoxin	Chimeric antigen receptor (CAR) T cells with a chlorotoxin tumor-targeting domain for the treatment of MPP2+ recurrent or progressive glioblastoma. NCT04214392	1	Recruiting	City of Hope Medical Center, CA, United States
EGFRvIII	CAR T cell receptor immunotherapy targeting EGFRvIII for patients with malignant gliomas expressing EGFRvIII. NCT01454596	1/2	Completed	National Institutes of Health Clinical Center, United States
	Intracerebral EGFR-vIII CAR-T cells for recurrent GBM. NCT03283631	1	Suspended	Duke University Medical Center, NC, United States
	Pilot study of autologous anti-EGFRvIII CAR T cells in recurrent glioblastoma multiforme. NCT02844062	1	Unknown status	Sanbo Brain Hospital Capital Medical University, Beijing, China
	Memory-enriched T cells in treating patients with recurrent or refractory grade III-IV glioma. NCT03389230	1	Recruiting	City of Hope Medical Center, CA, United States
EphA2	CAR-T cell immunotherapy for EphA2 positive malignant glioma patients. NCT02575261	1 / 2	Withdrawn	Central Laboratory in Fuda Cancer Hospital, Guangdong, China
GD2	C7R-GD2.CAR T cells for patients with GD2-expressing brain tumors (GAIL-B). NCT04099797	1	Recruiting	Baylor College of Medicine, TX, United States
	Personalized chimeric antigen receptor T cell immunotherapy for patients with recurrent malignant gliomas. NCT03423992	1	Recruiting	Xuanwu Hospital, Beijing, China
HER2	Intracranial injection of NK-92/5.28.z cells in patients with recurrent HER2-positive glioblastoma. NCT03383978	1	Recruiting	Senckenberg Institute of Neurooncology, Frankfurt, Germany
	CMV-specific cytotoxic T lymphocytes expressing CAR targeting HER2 in patients with GBM. NCT01109095	1	Completed	Baylor College of Medicine, TX, United States
IL13Ra2	Genetically modified T cells in treating patients with recurrent or refractory malignant glioma. NCT02208362	1	Recruiting	City of Hope Medical Center, CA, United States
	Phase I study of cellular immunotherapy for recurrent/refractory malignant glioma using intratumoral infusions of GRm13Z40-2, an allogeneic CD8+ cytotoxic T-cell line genetically modified to express the IL 13-Zetakine and HyTK and to be resistant to glucocorticoids, in combination with interleukin-2. NCT01082926	1	Completed	City of Hope Medical Center, CA, United States
CAR T-cell therapy in combination with chemotherapy				
EGFRvIII	Immunogene-modified T (IgT) cells against glioblastoma multiforme. NCT03170141	1	Enrolling by invitation	Shenzhen Geno-immune Medical Institute, Guangdong, China
CAR T-cell therapy in combination with immune check point inhibitors				
EGFRvIII	CART-EGFRvIII + pembrolizumab in GBM. NCT03726515	1	Active, not recruiting	Abramson Cancer Center of the University of Pennsylvania, PA, United States
IL13Ra2	IL13Ralpha2-targeted chimeric antigen receptor (CAR) T cells with or without nivolumab and ipilimumab in treating patients with recurrent or refractory glioblastoma. NCT04003649	1	Recruiting	City of Hope Medical Center, CA, United States

Tableau 5 : Liste des études cliniques récentes sur la thérapie par cellules CAR T dans le GBM.

Delivery Route	T-cell Doses	Maximum T-cell Dose	Cumulative T- cell Dose	Adverse Event	Worst Grade*	Longest Duration^
ICT	6	10 ⁷	5.2 × 10 ⁷	Chills	1	1 day
				Fatigue	1	< 1 day
				Fever	1	1 day
				Lymphopenia	2	1 day
				Myalgia	1	1 day
				Dizziness	1	2 days
				Headache	1	14 days
				Olfactory Aura	1	1 day
ICV	10	10 ⁷	9.2 × 10 ⁷	Sinus Tachycardia	1	< 1 day
				Chills	1	< 1 day
				Fatigue	1	4 days
				Fever	1	2 days
				Flushing	1	1 day
				Myalgia	2	1 day
				Headache	2	< 1 day
				Olfactory Aura	1	< 1 day
				Anxiety	1	< 1 day
				Hypertension	1	2 days

Tableau 6 : Liste des effets indésirables classé en fonction du grade de l'effet, de la durée et de la voie d'administration, présentés dans l'étude clinique de Brown CE. ICT = intracavitaires, ICV = intraventriculaire (C. E. Brown et al., 2016b)

Grade	Statut de performance ECOG
0	Entièrement actif, capable de poursuivre toutes les activités d'avant la maladie sans restriction.
1	Limité dans les activités physiques intenses mais ambulateur et capable d'effectuer des travaux de nature légère ou sédentaire, par exemple, des travaux ménagers légers, des travaux de bureau.
2	Ambulateur et capable de prendre soin de lui-même mais incapable d'effectuer des activités professionnelles ; debout et environ plus de 50 % des heures d'éveil.
3	Capable de prendre soin de lui de manière limitée ; confiné au lit ou au fauteuil plus de 50 % des heures d'éveil.
4	Complètement handicapé ; ne peut pas prendre soin de lui-même ; totalement confiné au lit ou à la chaise.
5	Mort

Tableau 7: Classification du statut de performance ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) permettant de mesurer l'impact de la maladie sur la vie quotidienne du patient. L'échelle ECOG de l'indice de performance décrit le niveau de fonctionnement d'un patient en termes de capacité à prendre soin de lui-même, d'activité quotidienne et de capacité physique (ECOG Performance Status, s. d.).

Figure 17: Régression des tumeurs après administration de cellules CAR-T (C. E. Brown et al., 2016a).

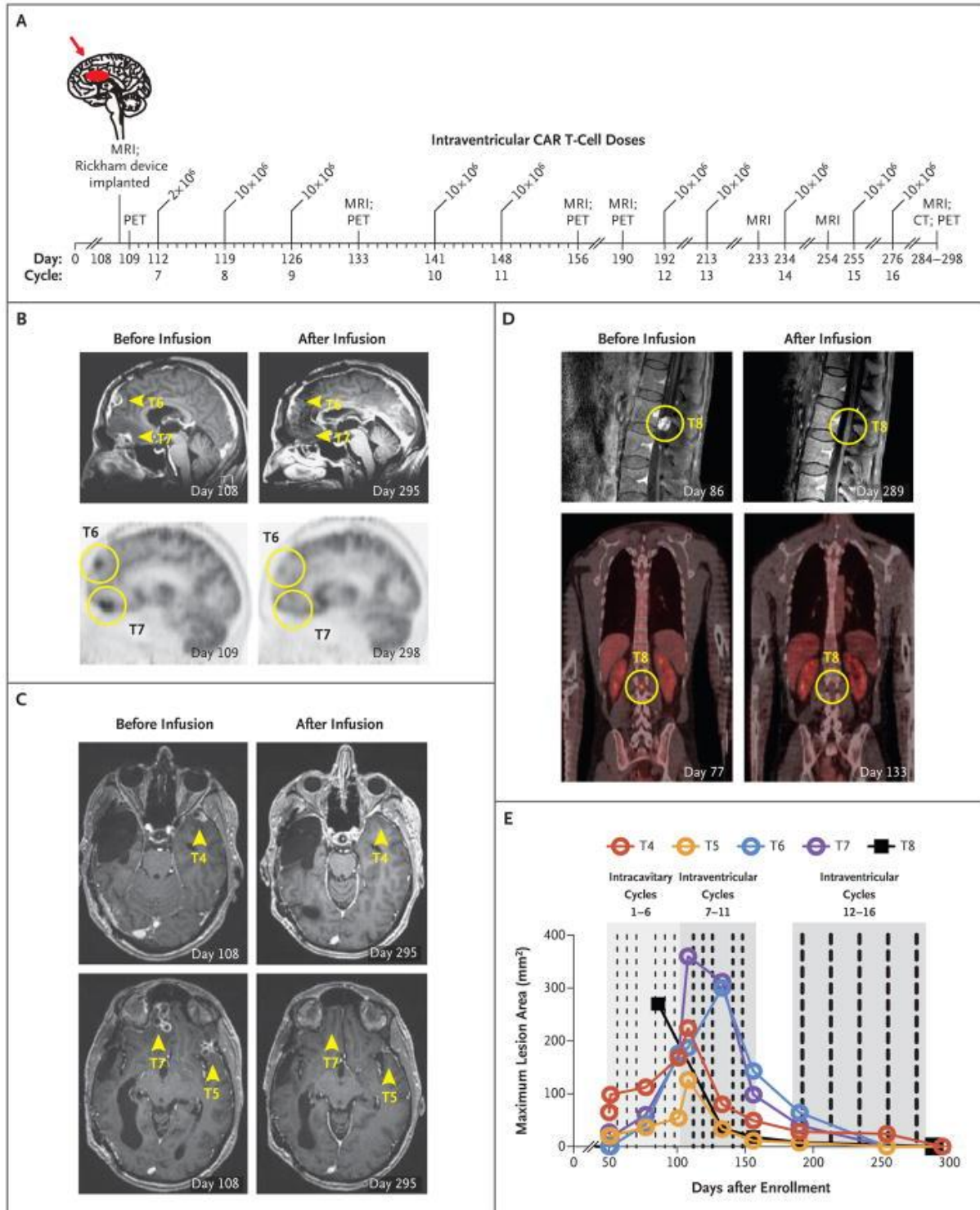
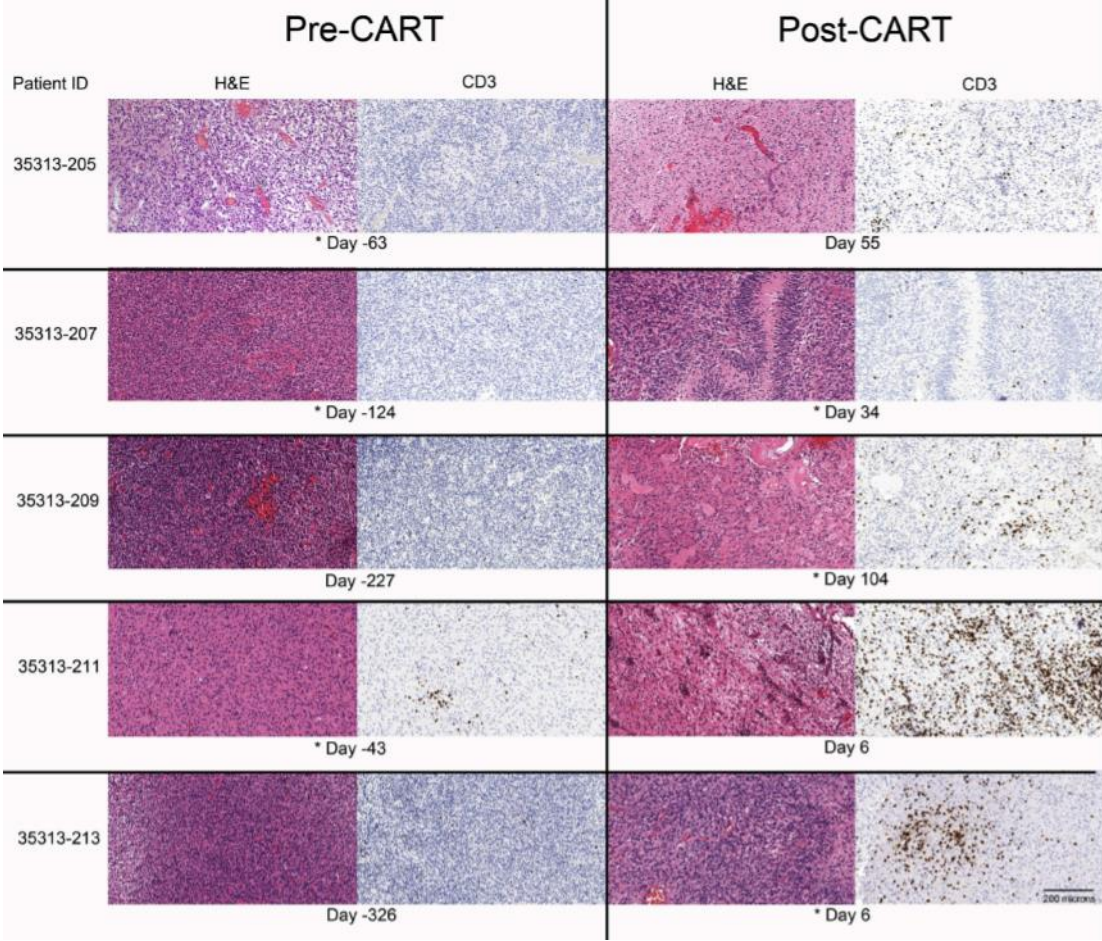


Figure 18: Coupes histologique par coloration à l'hématoxyline et éosine (H&E) et par immunohistochimie CD3, avant et après la perfusion des cellules CAR-T pour cinq des patients de l'étude d'O'Rourke. Ces échantillons permettent d'observer les modifications de l'environnement tumoral (diminution cellulaire, présence de cellules T, ...)(O'Rourke et al., 2017).



Count of Grade		Grade				
Category	Toxicity	1	2	3	4	Grand Total
▼ Cardiac disorders				1		1
	Left ventricular systolic dysfunction			1		1
▼ Eye disorders		1				1
	Optic nerve disorder	1				1
▼ Gastrointestinal disorders		1	1			2
	Nausea	1	1			2
▼ General disorders and administration site conditions		5	1			6
	Fatigue	2				2
	Fever	1	1			2
	Flu like symptoms	2				2
▼ Musculoskeletal and connective tissue disorders		1	5	1		7
	Generalized muscle weakness		1			1
	Muscle weakness left-sided		1	1		2
	Muscle weakness lower limb	1				1
	Muscle weakness right-sided		3			3
▼ Nervous system disorders		9	10	5	2	26
	Dizziness	1				1
	Dysarthria		1			1
	Dysgeusia	8				8
	Dysphasia		1			1
	Edema cerebral				2	2
	Facial muscle weakness			1		1
	Facial nerve disorder		1			1
	Headache		4	1		5
	Hypoglossal nerve disorder		1			1
	Intracranial hemorrhage			1		1
	Lethargy		1			1
	Nervous system disorders - Other, specify		1			1
	Seizure			2		2
▼ Respiratory, thoracic and mediastinal disorders		5	2			7
	Atelectasis		1			1
	Cough	2	1			3
	Sore throat	3				3
▼ Skin and subcutaneous tissue disorders		2	2			4
	Hyperhidrosis	1				1
	Palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome		1			1
	Pruritus		1			1
	Scalp pain	1				1
Grand Total		24	21	7	2	54

Tableau 8 : Liste des effets indésirables présentés dans l'étude clinique d'O'Rourke après l'administration de CAR-T-EGFRvIII (O'Rourke et al., 2017).

Le glioblastome est une tumeur cérébrale maligne très agressive qui présente une survie globale médiane de 12 à 15 mois après le diagnostic de la maladie et même suite à la mise en place d'un traitement. En effet, les traitements conventionnels ne montrent pas d'efficacité suffisante pour soigner le glioblastome ; il s'agit de la radiothérapie, de la résection chirurgicale et de la chimiothérapie. Leur efficacité est limitée même lorsqu'ils sont combinés.

Cependant, de nouvelles perspectives de traitement de ce cancer se présentent grâce à la thérapie par cellules T à récepteur antigénique chimérique. Celle-ci est une immunothérapie permettant d'obtenir une réponse ciblée et favorable dans l'évolution du glioblastome, mais les données restent insuffisantes quant à son utilisation dans le glioblastome. Effectivement, des études cliniques de plus grande envergure doivent encore se dérouler. Son effet est d'autant plus grand lorsqu'elle est combinée avec les autres thérapies conventionnelles telle que l'utilisation du témozolomide pour induire une lymphodéplétion et ainsi augmenter la prise de greffe de même que l'efficacité antitumorale de la thérapie par cellules T à récepteur antigénique chimérique.

Ce mémoire présente d'abord la maladie et puis la thérapie. Ensuite, des résultats d'études cliniques sont développés pour évaluer l'utilisation future du traitement dans le glioblastome. Ces résultats sont présentés en quatre parties : l'adressage cellulaire vers le cerveau lorsque la thérapie est administrée par voie intraveineuse, l'efficacité, la persistance des cellules au sein du patient et les effets indésirables. Finalement, les résultats sont comparés pour souligner les perspectives qu'offre cette thérapie et certains freins à son utilisation sont également évoqués.

Glioblastoma is a very aggressive malignant brain tumor that has a median overall survival of 12 to 15 months after diagnosis of the disease and even after treatment. In fact, conventional treatments do not show sufficient efficacy to cure glioblastoma; these include radiotherapy, surgical resection and chemotherapy. Their effectiveness is limited even when combined.

However, new perspectives for the treatment of this cancer are presented by chimeric antigen receptor T cell therapy. This is an immunotherapy that show a targeted and a favorable response in the evolution of glioblastoma, but there are still insufficient data on its use in glioblastoma. Indeed, larger clinical studies have yet to take place. Its effect is even greater when combined with other conventional therapies such as temozolomide to induce lymphodepletion and thus increase engraftment as well as the antitumor efficacy of chimeric antigen receptor T cell therapy. This brief first presents the disease and then the therapy. Then, results of clinical studies are developed to evaluate the future use of the therapy in glioblastoma. These results are presented in four main parts: cell delivery to the brain when the therapy is administered intravenously, efficacy, persistence of cells in the patient and adverse effects. Finally, the results are compared to underline the perspectives offered by this therapy and some obstacles to its use are also mentioned.