

Mécanismes de résistance et d'échappement aux cellules CAR-T

Thomas Grinda, Jordan Brouard, Dai Tran, Marie-Thérèse Rubio

▶ **To cite this version:**

Thomas Grinda, Jordan Brouard, Dai Tran, Marie-Thérèse Rubio. Mécanismes de résistance et d'échappement aux cellules CAR-T. Bulletin du Cancer, 2021, 108 (10), pp.S128-S140. 10.1016/j.bulcan.2021.09.002 . hal-03628338

HAL Id: hal-03628338

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03628338

Submitted on 1 Apr 2022

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

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



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

Titre en français :

Mécanismes de résistance et d'échappement aux cellules CAR-T

Titre en anglais :

Mechanisms of resistance and escape to CAR-T cells

Auteurs :

Thomas GRINDA[1], Jordan BROUARD[1], Dai TRAN[1] et Marie Thérèse RUBIO[1, 2]

Affiliations :

1) CNRS UMR 7563 IMoPa, Equipe 6 CeCiTa, Biopole de l'Université de Lorraine, 54 500 Vandoeuvre-les-Nancy, France, thomas.grinda@outlook.com; jordan.brouard@univ-lorraine.fr; tandaitr@gmail.com; m.rubio@chru-nancy.fr

2) Service d'hématologie, Hopital Brabois, CHRU Nancy, m.rubio@chru-nancy.fr

*** Auteur correspondant** :

Marie Thérèse Rubio

Service d'hématologie, Hôpital Brabois, CHRU Nancy, Allée du Morvan, 54 500 Vandoeuvre-les-Nancy, France

E-mail : m.rubio@chru-nancy.fr

Téléphone : 0632753509

Résumé :

Les cellules CAR-T représentent une nouvelle approche d'immunothérapie cellulaire anti-tumorale permettant de combiner la reconnaissance d'antigènes tumoraux sur les cellules cibles et la capacité d'activation, de prolifération et de cytotoxicité des lymphocytes T. Des résultats cliniques impressionnants ont été obtenus avec des cellules CAR-T ciblant l'antigène CD19 dans les lymphomes malins et les leucémies aiguës lymphoblastiques B en rechute ou réfractaires avec des taux de réponses complètes de 40 à 90%. Cependant, 30 à 50% des patients répondeurs dans les hémopathies malignes B vont secondairement échapper au traitement et l'efficacité de ces approches dans les tumeurs solides reste limitée. Différents mécanismes de résistance primaire et/ou d'échappement aux cellules CAR-T ont été décrits. Cette revue a pour objectif de décrire ces mécanismes et d'explorer les voies potentielles d'optimisation. Nous verrons que la réponse initiale et sa persistance à long terme est dépendant de plusieurs paramètres : les caractéristiques fonctionnelles des cellules CAR-T i*n vivo*, l'expression de l'antigène cible sur les cellules tumorales, le développement d'un micro-environnement immunosuppresseur ou d'une réponse immunitaire dirigée contre la molécule CAR. Dans les tumeurs solides en particulier, la spécificité antigénique et le « homing » des cellules CAR-T dans le site tumoral sont des éléments supplémentaires à prendre en compte. Une meilleure connaissance des mécanismes de résistance permet d'envisager des modulations dans la construction et la production des futures cellules CAR-T et/ou de les associer à des approches d'immunothérapie complémentaire pour contrôler le microenvironnement tumoral.

Mots clés :
Cellules CAR-T, échappement tumoral, perte d'antigène, épuisement lymphocytaire, microenvironnement immunosuppresseur.

Abstract:

CAR-T cells represent a new approach to anti-tumor cellular immunotherapy allowing to combine the recognition of tumor antigens on target cells and the activation, proliferation and cytotoxic capacity of T lymphocytes. Impressive clinical results have been obtained with CAR-T cells targeting the CD19 antigen in relapsing or refractory B cell malignant lymphomas or acute lymphoblastic leukemias, with complete response rates of 40 to 90%. However, 30 to 50% of responding patients in B malignancies will escape treatment secondarily, and the effectiveness of these approaches in solid tumors remains limited. Different mechanisms of primary resistance and / or escape to CAR-T cells have been described. This review aims to describe these mechanisms and explore potential ways for optimization. We will see that the initial response and its long-term persistence depends on several parameters: the functional characteristics of the CAR-T cells in vivo, the expression of targeted antigens on tumor cells, the development of a immunosuppressive microenvironment. or of an immune response directed against the CAR molecule. In solid tumors in particular, the specificity of the antigen target and the “homing” of CAR-T cells in the tumor site are additional elements to consider. A better knowledge of mechanisms of resistance will help to improve the clinical outcomes by either modulating the construction and the production of CAR-T cells and / or to combine them with other immunotherapeutic approaches to better control the tumor microenvironment.

Key words:

CAR-T cells, tumor escape, loss of antigen, lymphocyte depletion, immunosuppressive microenvironment.

Introduction

Les cellules T portant un récepteur antigénique chimérique (cellules CAR-T) sont des lymphocytes T génétiquement modifiés pour exprimer la fraction variable d'une immunoglobuline reconnaissant un antigène tumoral et des molécules de signalisation intracellulaire permettant l'activation, la prolifération et la cytotoxicité du lymphocyte T après contact avec la cellule cible [1]. La production de cellules CAR-T implique d'abord la collecte des cellules T du patient, l'activation et la transduction des CAR dans les lymphocytes, l'expansion des lymphocytes exprimant le CAR et enfin l'administration d'une chimiothérapie de déplétion lymphocytaire, suivie de la perfusion des cellules CAR-T [2]. Les premières cellules CAR-T ayant fait la preuve de leur efficacité ciblent CD19 et sont autorisées depuis 2018 pour le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques B (LAL-B) réfractaires ou en rechute (R/R) chez les enfants et jeunes adultes et les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) R/R de l'adulte. D'autres indications de cellules CAR-T anti-CD19 sont en cours de développement : le lymphome du manteau, la leucémie lymphoïde chronique B et le lymphome folliculaire. Dans la LAL-B, le taux de rémission complète est très élevé (80 à 93%). Néanmoins, le traitement par cellules CAR-T est associé à des toxicités potentiellement graves telles que le syndrome de libération de cytokines (CRS) et le syndrome de neurotoxicité associé aux cellules immunitaires appelé ICANS [3]. Cependant, environ 30% des patients en rémission précoce vont échapper dans un deuxième temps, conduisant à une survie sans rechute de 50 à 60 % 12 mois après traitement [4]. Dans les DLBCL et le lymphome du manteau, les taux de réponse objective varient de 50 à 80% dont 40 à 60% de rémission complète avec une survie sans évènement (EFS) à 2 ans de l'ordre de 40% [5,6]. Dans la leucémie lymphoïde chronique B (LLC-B), le taux de résistance primaire est élevé, avec un taux de réponse complète (RC) de 15 à 30% [7]. Des cellules CAR-T contre l'antigène de maturation des lymphocytes B (anti-BCMA) ont été développées pour le traitement du myélome multiple R/R avec des taux de réponse de 50 à 80%, mais des taux de RC de l'ordre de 30% et une médiane de survie sans progression (PFS) de 7 mois [8]. Dans les tumeurs solides, l'efficacité clinique des cellules CAR-T est à ce jour relativement limitée. Les essais avec les résultats plus positifs ont été obtenus avec des CAR contre le disialoganglioside de type 2 (anti-GD2) pour cibler le neuroblastome (3 des 11 patients ont eu une rémission complète avec une durée de réponse > à 60 mois) [9], des CAR contre la claudine 18.2 (anti-CLDN-18.2) dans les adénocarcinomes gastriques et pancréatiques (9 des 11 patients ont eu une réponse clinique avec une PFS de 130 jours) [10] et des CAR anti-Mesotheline pour le mésothélium (11 des 14 patients ont eu une réponse clinique) [11]. Les différences en termes de taux de réponse et de risque de rechute après traitement entre les différentes pathologies tumorales s'expliquent par l'existence de mécanismes de résistance primaire et/ou d'échappement multiples et variables selon le type de cellules CAR et tumeur. Cet article a pour objectif de synthétiser les connaissances actuelles sur ces mécanismes et de discuter des voies d'optimisation envisageables.

Facteurs liés aux caractéristiques des cellules CAR-T

- ✓ **Capacité d'expansion et de persistance des cellules CAR-T**

Le taux d'expansion des cellules CAR-T anti-CD19 dans les jours et premières semaines qui suivent l'administration est associé au niveau de réponse dans les LAL, la LLC, les lymphomes et le myélome. Une faible détection dans le sang périphérique des cellules CAR-T est fréquemment observée chez les patients non répondeurs [7,12]. Par ailleurs, la persistance des cellules CAR-T à long terme semble être un facteur prédictif de rémission de longue durée, en particulier dans les LAL-B [6–8,13–15]. Différents facteurs influent sur la capacité d'expansion et la persistance des cellules CAR-T et par conséquent le risque d'échec du traitement.

- ✓ **Degré de différenciation et phénotype des lymphocytes T**

Les lymphocytes T se différencient depuis le T naïf (T_N) en T souche mémoires (T_{sCM}) puis T central mémoire (T_{CM}), T effecteur mémoire (T_{EM}) et T effecteur mémoire terminal (T_{EMRA}). En raison de leur propriété d'autorenouvellement, les T_{sCM} ont une meilleure capacité de prolifération et de persistance que les T mémoires différenciés [16], qui acquièrent au fur et à mesure de leur différenciation en T_{CM}, T_{EM} et T_{EMRA} des propriétés cytotoxiques croissantes au détriment de leur capacité proliférative [17]. Il a été montré que les cellules CAR-T de phénotype T_N jusqu'à T_{CM} sont plus efficaces que les T effecteurs mémoires pour contrôler la tumeur dans les modèles précliniques [18]. En ce qui concerne le phénotype CD4 ou CD8 des cellules CAR-T, des modèles précliniques ont montré qu'un rapport 1:1 entre les cellules CAR-T $CD4^+$ et $CD8^+$ favorisait la survie de ces derniers et leurs capacités cytolytiques [19].
La qualité du produit d'aphérèse et le niveau de différenciation des lymphocytes T avant transduction semblent pouvoir impacter la capacité des lymphocytes T à proliférer *in vitro* et la qualité de la réponse au traitement. Il a été rapporté qu'un prélèvement d'aphérèse pauvre en lymphocytes T CD8 mémoire précoce ($CD45RO^-CD27^+$) ou riche en lymphocytes T CD8 mémoires exprimant les molécules d'épuisement PD1 et/ou TIM3 et/ou LAG3 était associé à une moindre expansion des cellules CAR-T après administration et une moins bonne réponse clinique dans la LLC et la LAL-B [7,20]. Les chimiothérapies répétées altèrent le phénotype et la fonctionnalité des lymphocytes T en déplétant les cellules T naïves ou mémoires précoces ($CCR7^+$ $CD27^+$) [21]. En revanche, dans la LLC, l'ibrutinib semble augmenter les capacités prolifératives des lymphocytes T et des cellules CAR-T [22].

- ✓ **Rôle des cytokines utilisées pour l'expansion des cellules CAR-T**

L'expansion des cellules CAR-T actuellement utilisées en clinique est réalisée en présence d'interleukine 2 (IL-2). Cependant, l'IL-2 favorise la différenciation des lymphocytes T vers un phénotype effecteur mémoire [23]. Si l'utilisation d'IL-2 à plus faible concentration semble permettre l'expansion de lymphocytes T mémoires moins différenciés [24], les cytokines IL-7 et IL-15 paraissent

plus intéressantes pour générer des cellules CAR-T de phénotype T_N, T_{sCM} et T_{CM} [25]. Un autre moyen de favoriser l'expansion de T_{CM} consiste à inhiber la protéine AKT, impliqué dans la signalisation du récepteur des lymphocytes T (TCR), par un inhibiteur pharmacologique (AKTi) pendant la phase d'expansion des cellules CAR-T. L'inhibition de AKT ne diminue pas la prolifération des lymphocytes T et les cellules CAR-T ainsi traitées ont une efficacité *in vivo* supérieure aux cellules CAR-T expandues en IL-2 sans AKTi dans un modèle préclinique de LAL-B [26].

Enfin, dans des expériences in vivo, des taux élevés d'IL-15 ont été associés à une meilleure expansion des cellules CAR-T ainsi qu'une meilleure réponse dans les lymphomes et la LLC. Or le taux d'IL-15 est augmente de manière proportionnelle à la profondeur de la lymphopénie induite par le conditionnement lymphodéplétant [7,27].

- ✓ **Domaine de co-stimulation**

Les CAR de première génération étaient composés uniquement d'un domaine CD3ζ et n'ont montré qu'un bénéfice clinique limité. Les CAR de seconde génération ont incorporé un domaine de co-stimulation à savoir 4-1BB, CD28 ou OX40 [28], ou un domaine de co-stimulation inductible ou ICOS [29]. Les cellules CAR-T de seconde génération ont montré leurs supériorités tant dans l'expansion, la sécrétion de cytokines que leur durée d'action [30]. Seuls les CAR-T de seconde génération ont reçu une approbation clinique. La troisième génération de CAR se définit par la présence de deux domaines de co-stimulation ou plus. Ils n'ont montré jusqu'à présent leur supériorité sur les CAR de seconde génération qu'au stade préclinique et sont en phase de développement en clinique [31].

Le domaine de co-stimulation influence à la fois le phénotype des cellules CAR-T ainsi que leur métabolisme [32]. Par le biais des voies de signalisation intra-cellulaire, ils jouent un rôle important dans la l'expansion, la durée et la cytotoxicité des cellules CAR-T. Chaque domaine de co-stimulation a des caractéristiques propres. Le domaine CD28 conduit à une prolifération rapide et la différenciation des cellules CAR-T vers un phénotype effecteur mémoire, mais facilite leur épuisement, qu'il soit induit par une signalisation indépendante de l'antigène (signal tonique) ou par une exposition persistante à l'antigène. Le domaine 4-1BB au contraire, préserve la capacité réplicative de cellules mémoires précoces et donc leur persistance, et évite l'épuisement des CAR-T [18,33]**.** In vivo, les CAR-T 4-1BB ont une expansion initiale moins forte ou moins rapide, mais persistent plus longtemps, pendant des mois voire années [4]**,** alors que les CAR-T CD28 ont une expansion plus importante et plus précoce, mais persistent moins longtemps, rarement au-delà de quelques mois [12,34].

Sur le plan du métabolisme cellulaire, il a été rapporté que 4-1BB favorise la phosphorylation oxydative et l'oxydation des acides gras, tandis que CD28 favorise la glycolyse [35]. Le métabolisme cellulaire varie selon le niveau de différentiation et la fonctionnalité les lymphocytes T. Ainsi, la voie de la respiration oxydative est en général utilisée par les lymphocytes T_N pour favoriser leur différenciation

en T_{sCM} et T_{CM} puis ils utilisent la voie de la glycolyse pour leur prolifération et production de cytokines. Les lymphocytes T mémoires non activés utilisent la phosphorylation oxydative et l'oxydation des acides gras pour favoriser leur survie et leur persistance, tandis que les T mémoires effecteurs activés utilisent préférentiellement la voie de la glycolyse pour leur fonction cytotoxique [36]. Ces données confortent les caractéristiques de survie et persistance des CAR 4-1BB versus d'effecteurs activés cytotoxiques pour les CAR CD28.

En l'absence d'études cliniques comparant les différents CAR entre eux, il est difficile de savoir si ces différences ont un impact sur la réponse au traitement. Cependant, l'importance reconnue de la persistance des cellules CAR-T dans les LAL-B est en faveur de l'utilisation de CAR 4-1BB. Dans les lymphomes, une étude rétrospective de la société européenne de greffe de moelle (EBMT) en vie réelle suggère un avantage des CAR CD28 [37].

Le domaine ICOS, de structure très proche de CD28, permet d'augmenter significativement la persistance des cellules CAR-T par rapport à CD28. En outre, il a été démontré que la combinaison des domaines intracellulaires ICOS et 4-1BB dans les CAR de troisième génération entraînent des activités antitumorales supérieures et une persistance accrue *in vivo* en pré-clinique [38].

- ✓ **Facteurs génétiques**

Les capacités de prolifération des cellules CAR-T peuvent être également régulées par des modulations génétiques. Par exemple, il avait été observé que l'inactivation biaéllique du gène de la méthylcytosine dioxygénase 2 (TET2), secondaire à l'insertion du CAR au sein de ce gène, était associée à un fort potentiel prolifératif et une persistance prolongée des cellules CAR-T chez un patient traité pour LLC [39]. Une étude récente a confirmé que la zone d'incorporation du CAR au niveau du génome joue un rôle très important dans la régulation des capacités d'expansion et d'activation des cellules CAR-T chez l'homme [40]. La comparaison par séquençage à échelle unique des clones cellules CAR-T avant administration et de ceux capables de s'expandre *in vivo* après traitement a montré que seuls quelques clones ont un avantage de survie et de prolifération chez les patients, caractérisés par l'expression de gènes de prolifération et de cytotoxicité [41]. Dans l'objectif d'augmenter les capacités proliférative des cellules CAR-T, il a été rapporté que la transfection de cellules CAR-T anti-CD19 avec l'ARN messager de la télomérase transcriptase inverse (TERT) permettait de rallonger les télomères des cellules transfectées et favoriser leur expansion, persistance et efficacité *in vivo* dans un modèle de lymphome B [42].

- ✓ **Degré de fonctionnalité, d'activation et d'épuisement des cellules CAR-T**

Outre leur capacités proliférative, les caractéristiques fonctionnelles des cellules CAR-T administrées vont impacter la réponse au traitement. Différentes études ont montré chez les patients non répondeurs : (i) une diminution des cellules CAR-T CD4 et CD8 ayant un profil polyfonctionnel, notamment

capable de produire IFN-γ, IL-8, IL-5, granzyme et MIP1α dans les lymphomes [43]. (ii) Au niveau transcriptomique, une augmentation d'expression de gènes impliqués dans la différenciation en cellules effectrices T mémoires, l'activation, l'épuisement, l'apoptose et la glycolyse des lymphocytes T dans la LLC [7] et les lymphomes [44]. Une augmentation des cellules CAR-T $CD4^+$ et $CD8^+$ exprimant LAG-3 et TIM-3 a été également rapportée dans la LAL-B [20]. (iii) Une diminution des cellules CAR-T $CD8^+$ de signature transcriptomique correspondant au lymphocyte central mémoire dans le lymphome [44]. En résumé, la qualité fonctionnelle des cellules CAR-T avant administration impacte le taux de réponse. Les cellules CAR-T très différenciées, activées et épuisées avec de faibles capacités de production de cytokines ne seront pas efficaces.

Facteurs liés à l'expression des antigènes cibles sur les cellules tumorales

- ✓ **Perte de l'antigène cible du CAR**

Principalement décrite dans les LAL et les lymphomes B, la perte d'antigène cible a été observée lors des rechutes survenant après traitement par cellules CAR-T ciblant l'antigène CD19. Ce type de rechute avait été décrit lors de la phase 1 du CAR anti-CD19 4-1BB dans les LAL-B de l'enfant : 3 des 26 patients en réponse avaient présenté une rechute CD19 négative [45]. Elles représentent aujourd'hui jusqu'à 60% des rechutes après traitement par cellules CAR-T anti-CD19 dans les LAL-B [46] et 30% des lymphomes B [13]. A noter que les rechutes CD19 négatives sont principalement CD22 positives dans les LAL-B [47].

Les rechutes CD19 négatives peuvent aussi être liées à une mutation de CD19, permettant aux cellules leucémiques d'exprimer une forme tronquée de CD19 ayant perdu le site de liaison du CAR et qui devient indétectable pour les cellules CAR-T. Dans leur étude, Orlando et al. ont pu observer des mutations « frameshift » sur les exons 2 à 5 de CD19 chez les 12 patients analysés en rechute CD19 négative [47]. Dans d'autres cas, la déplétion de l'exon 2 ou de l'exon 5 et 6 du CD19 était due à un mécanisme d'épissage alternatif [48].

Le type de génération du CAR pourrait aussi jouer un rôle dans le type de rechute. Les cellules CAR-T CD28 induisent des rechutes plus précoces sans perte de l'expression de CD19 [49], alors que, les cellules CAR-T 4-1BB, provoquent des rechutes plus tardives avec perte/mutation de l'antigène cible. La différence pourrait s'expliquer par une pression de sélection plus importante sur les cellules leucémiques exercées avec les CAR 4-1BB qui persistent plus longtemps, induisant plus fréquemment l'échappement d'un clone CD19 négatif [50].

- ✓ **Sous-expression de l'antigène cible**

La sous-expression de la cible par les cellules tumorales peut aussi être la cause d'une résistance aux cellules CAR-T en empêchant la présentation de l'antigène cible aux récepteurs chimériques. Cette sous-

expression a été observée après la rechute de patients ayant reçu des cellules CAR-T anti-CD22, avec une diminution de l'expression de CD22 à la surface des cellules leucémiques. Cependant, aucune perte d'expression au niveau génomique ou au niveau de l'ARNm de CD22 n'a été relevée, indiquant que la perte de présentation de CD22 était post-transcriptionnelle [51].

- ✓ **Switch de lignée**

Le switch de lignée de cellules leucémiques de la lignée lymphoïde B vers la lignée myéloïde a été décrit après un traitement par cellules CAR-T. Le plus souvent observée chez des patients pédiatriques avec une LAL-B et un réarrangement MLL (Mixed Lineage Leukemia), une rechute sous forme de LAM a été observée après traitement par cellules CAR-T anti-CD19 dans plusieurs essais cliniques [52]. Le switch de lignée a été modélisé sur un modèle murin de LAL avec réarrangement MML-like (E2a -PBX) démontrant la capacité des cellules CAR-T anti-CD19 à provoquer un switch de lignée leucémique par sélection des cellules souches leucémiques [53].

- ✓ **Autres facteurs**

Un cas a été rapporté de masquage de l'épitope de l'antigène cible en conséquence de transduction accidentelle d'une cellule leucémique $CD19^+$ lors de la phase de production des cellules CAR-T à partir de PBMC totaux contenant des blastes leucémiques. Les analyses complémentaires ont montré que le CAR transduit et exprimé à la surface du blaste masquait l'épitope CD19 en se liant avec ce dernier, empêchant sa détection et son élimination par les CAR-T anti-CD19 [54]. Ce patient a pu être traité efficacement par des cellules CAR-T anti-CD22. Ce cas exceptionnel a confirmé l'importance de trier les lymphocytes T $CD3^+$ avant production de cellules CAR-T.

Facteurs liés au microenvironnement tumoral

Dans les LNH, une forte masse tumorale, évaluée par le volume tumoral au PET-scanner et les taux de LDH, représente les principaux facteurs pré-thérapeutiques associés à une résistance au traitement par cellules CAR-T [55]. Par ailleurs, la capacité des cellules CAR-T à pénétrer dans le microenvironnement tumoral est un facteur important d'efficacité thérapeutique, notamment dans les tumeurs solides [56]. Ces données suggèrent que l'échec des cellules CAR-T puisse être lié à un microenvironnement tumoral immunosuppresseur et hostile à l'entrée dans la tumeur des cellules CAR-T.

Le microenvironnement tumoral (TME) représente un ensemble hétérogène de cellules et de composants acellulaires qui entourent la tumeur. Il est maintenant considéré comme un acteur à part entier dans la croissance et la résistance de la tumeur aux traitements. En particulier, les macrophages associés aux tumeurs (TAM), les cellules myéloïdes suppressives (MDSC), les lymphocytes T régulateurs (Treg) ainsi que les cytokines produites par ces derniers pourraient contribuer à l'immunosuppression locale et participer à l'échappement aux cellules CAR-T.

Si la présence de cellules immunosuppressives ou le profil d'expression de gènes reflétant le TME ont été associés au pronostic des lymphomes et des LAL [57,58], les données concernant l'impact du TME dans la réponse aux cellules CAR-T restent limitées. La plupart des études réalisées ont étudié des marqueurs du TME avant administration des cellules CAR-T et ont cherché des corrélations avec la réponse clinique au traitement. Ainsi, des analyses en immunohistochimie sur biopsies tumorales avant traitement ont montré qu'une plus forte expression de marqueurs d'épuisement (PDL-1, PD-1, LAG3 et TIM3) sur les cellules immunitaires et de leurs ligands sur les cellules tumorales était plus fréquemment observée chez les non-répondeurs aux cellules CAR-T [59]. Dans le même contexte, une autre étude a rapporté une corrélation entre une quantité plus importante de TAMs et l'échec du traitement [60].
De manière plus récente, Jain MD et al, a analysé le profil d'expression de gènes du TME avant traitement par cellules CAR-T de manière comparative entre patients répondeurs et non répondeurs dans les lymphomes [61]. Les patients non répondeurs avaient un profil associant une augmentation de la production d'interféron gamma (IFN-γ) par les cellules tumorales dans les biopsies tumorales pré-traitement. Ce profil était associé à un profil d'épuisement des lymphocytes T et une augmentation des TAMs dans la tumeur. Dans le sang périphérique, les patients non répondeurs présentaient une augmentation des MDSC monocytaires et du niveau d'IL-6 (cytokine capable d'induire des MDSC) et d'autres marqueurs d'inflammation (CRP et ferritine) avant traitement. Ils ont également observé un pic d'expansion de MDSC après traitement chez les non-répondeurs associés à un profil cytokinique inflammatoire plus important par rapport aux patients répondeurs. La production IFN-γ par la tumeur et présence de MDSC circulantes était associé à une moindre expansion des cellules CAR-T [61]. Ces données suggèrent que le microenvironnement inflammatoire tumoral peut favoriser un environnement

immunosuppresseur via la présence de TAM et induction de MDSC entravant l'efficacité des cellules CAR-T. Enfin, une étude immunohistochimique sur des prélèvements ganglionnaires tumoraux réalisés entre J7 et J9 après administration de cellules CAR-T anti-CD19 chez des patients atteints de lymphome a révélé que les cellules CAR-T pouvaient interagir avec le microenvironnement tumoral [62]. Chez ces patients, les cellules CAR-T représentaient environ 5% des lymphocytes T intra-tumoraux et exprimaient PD1 (76%), IFN-γ (80%), granzyme (31%) et le marqueur de prolifération Ki67 (89%). Les patients répondeurs avaient tendance à présenter un infiltrat T $CD8^+$ non CAR plus important et en particulier une augmentation des lymphocytes $CD8^+$ non CAR exprimant Ki67, PD1, IFN-γ et granzyme. Ces données suggèrent que les cellules CAR-T peuvent moduler le microenvironnement tumoral et activer des lymphocytes T non CAR-T ayant un potentiel intérêt thérapeutique [62]. Toutefois, cette étude ne permet pas de déterminer le rôle du TME et notamment des cellules et molécules immunosuppressives précédemment décrites dans la qualité de la réponse aux cellules CAR-T. Des études comparant le profil d'expression des gènes du microenvironnement tumoral après administration des cellules CAR-T chez les patients répondeurs versus non répondeurs sont attendues pour répondre à ces questions.

Facteurs liés à la réponse immunitaire dirigée contre le CAR

Les cellules CAR-T utilisent les propriétés du système immunitaire, mais ils peuvent en être également la cible. En effet, les composants non-humain du CAR ou les protéines résiduelles des vecteurs utilisés lors du transfert de gène peuvent entrainer une activation immunitaire humorale et cellulaire. Ces réactions peuvent limiter l'efficacité et être responsables de l'échec du traitement [63,64].

Les scFv de nombreux CAR sont dérivés de souris ou d'autres anticorps monoclonaux non humains. Des anticorps préexistants qui reconnaissent les fragments variables de la chaines unique (scFv) des immunoglobulines de souris, appelés anticorps humains anti-souris (HAMA), ont été détectés chez certains patients [65]. Une immunité humorale préexistante ou secondaire dirigée contre le CAR peut interférer avec l'activité des cellules CAR-T en neutralisant le fragment de liaison à l'antigène et/ou en favorisant l'apoptose précoce des cellules CAR-T [66]. Une immunité humorale préexistante aux cellules CAR-T spécifiques du CD19 a été observée avec le tisagenlecleucel et l'Axicabtagene ciloleucel [67,68]. De même, une augmentation des anticorps anti-CAR après la perfusion, a été observé chez des patients atteints de lymphome et LAL B traités par tisagenlecleucel [67,69]. Jusqu'à présent, la présence d'anticorps préexistants ou leur apparition n'ont pas été associées à de moins bonnes réponses cliniques, que ce soit avec les cellules CAR-T anti-CD19 ou anti-CD20 [70,71]. Contrairement aux anticorps préexistants, la présence de lymphocytes T cytolytiques spécifiques envers le CAR après la perfusion peut entrainer un échec thérapeutique [63,64,72]. Ces réactions immunitaires cellulaires contre le CAR ont été observées avec des scFv murins, mais également avec des CAR entièrement humanisés [73]. La lymphodéplétion par cyclophosphamide et la fludarabine permet de réduire l'immunité cellulaire anti-

CAR [72,74]. L'immunité cellulaire anti-CAR est probablement également responsable du manque d'efficacité de la réinfusion de cellules CAR-T. En effet, il a été démontré que des cellules T cytotoxiques spécifiques du CAR peuvent se développer après une seconde administration de cellules CAR-T malgré la réalisation d'une lymphodéplétion adaptée [74]. Enfin, les cellules CAR-T peuvent entrainer une dégranulation mastocytaire induite par les IgE et donc un choc anaphylactique chez des patients pré-sensibilisés aux anticorps monoclonaux dérivés de la souris [75].

En conclusion, les effets de l'immunogénicité spécifique envers les CAR restent à la fois mal compris et peu étudiés. Des méthodes de surveillance doivent être développées chez les patients recevant des cellules CAR-T. De même, elle doit être prise en compte dans l'élaboration des CAR de nouvelles générations.

Particularités des tumeurs solides

Les patients atteints de tumeurs solides n'ont pas encore d'accès à un traitement par cellules CAR-T en raison de mécanismes propres d'échappement. Ces mécanismes sont au niveau de la cible antigénique, du transport et de la pénétration des cellules CAR-T dans la tumeur ainsi que dans le microenvironnement tumoral spécifiques des tumeurs solides.

- ✓ **Le dilemme antigénique**

Les cellules CAR-T qui ont été approuvées dans les hémopathies malignes ciblent des antigènes "idéaux". Ils sont présents sur toutes les cellules tumorales et les cellules normales qui l'expriment peuvent être éliminées sans toxicité excessive (effet on-target, off-tumour). De plus, ils sont exprimés à la surface cellulaire donc accessibles sans qu'il soit nécessaire de les présenter par le biais du CMH. Au contraire, le développement des cellules CAR-T dans les tumeurs solides est limité par l'absence d'antigène spécifique et homogène exprimé par les cellules tumorales. En effet, cibler un antigène non spécifique entraine un risque de toxicité grave par la lyse de cellules non tumorales exprimant l'antigène (on target, off tumour). Cela a été observé avec des cellules CAR-T ciblant le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) dans un essai de phase I. Les cellules CAR-T ont provoqué un syndrome de détresse respiratoire aiguë mortel dû à la reconnaissance de cellules épithéliales pulmonaires exprimant de faibles niveaux de HER2 [76].

Il n'est pas encore certain que les antigènes surexprimés à la surface des cellules tumorales et à de faibles niveaux dans les tissus normaux puissent être ciblés en toute sécurité par les cellules CAR-T même si certains modèles précliniques suggèrent qu'une fenêtre thérapeutique peut être atteinte en tenant compte de certains épitopes antigéniques, de la densité d'expression de l'antigène et de l'affinité des scFv utilisés. Par exemple, les cellules CAR-T spécifiques de HER2 ciblant différents épitopes ont montré des profils de toxicité distincts dans les tissus sains sans compromettre la reconnaissance des tumeurs,

probablement en raison de l'accessibilité différente de l'épitope par le scFv dans les tissus normaux par rapport aux cellules cancéreuses [77]. Une solution alternative est l'utilisation de molécules CAR mimant le TCR. Ce dernier a la capacité de reconnaitre les molécules intracellulaires présentées par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Certaines molécules intracellulaires comme TP53 sont régulièrement mutées dans un contexte tumoral. La reconnaissance de ces molécules intracellulaires mutées par une cellule avec un récepteur antigénique TCR permettrait de reconnaitre spécifiquement les cellules tumorales. Malheureusement, ces thérapies dépendront de la présentation du CMH, de sa persistance et devront être HLA compatibles.

La seconde limite liée au choix de la cible est la grande hétérogénéité de l'expression des antigènes au niveau intra et inter-tumoral. L'hétérogénéité est responsable d'un échappement tumoral par la perte de l'antigène ou par l'évolution clonale des cellules n'exprimant pas l'antigène [78]. Le développement de cellules CAR-T conçues pour cibler plusieurs antigènes sur le modèle des anticorps bispécifiques permettrait augmenter la spécificité et contourner l'hétérogénéité des tumeurs solides [79]. Les cellules CAR-T peuvent également être associées à des traitements épigénétiques qui peuvent réguler et ainsi et augmenter l'expression des antigènes cibles [80].

- ✓ **« Homing » et pénétration de la tumeur**

Le transport ou « homing » des cellules CAR-T jusqu'à la tumeur reste un challenge. Dans les hémopathies malignes, notamment les LAL-B, l'expansion et la persistance des cellules CAR-T sont en partie liées à la rencontre de leurs cibles dans le sang et donc de leur activation immédiate après administration. Dans les tumeurs solides, l'expansion et la persistance des cellules CAR-T semblent réduites dans le sang (< 15 jours) probablement en rapport avec une rencontre plus difficile et tardive avec la cible [81]. De plus, le transport dans les tissus périphériques des lymphocytes T est régulé par un réseau complexe de signalisation, qui est considérablement altéré par les tumeurs. La néo-angiogenèse tumorale est caractérisée par une modification du flux sanguin, des anomalies des jonctions endothéliales ainsi que de la perte d'expression de molécules d'adhésion et d'extravasation qui limitent le recrutement efficace des lymphocytes T donc également des cellules CAR-T [83]. De plus, le succès du transport dépend de l'expression et de l'appariement des récepteurs d'adhésion et de chémokines. Les cellules tumorales expriment peu de cytokines ou chémokines reconnues ou attirant les lymphocytes T. Une inadéquation chémokine/récepteur diminue la pénétration des cellules CAR-T au niveau de la tumeur [84]. L'association aux cellules CAR-T de virus oncolytiques exprimant des chémokines comme CCL5 a montré une amélioration de la pénétration des cellules CAR-T dans la tumeur *in vivo* [85]. Enfin, certaines tumeurs sont protégées par des barrières anatomiques comme la barrière hématoencéphalique. Bien que des réponses aient été observées dans les hémopathies malignes avec atteinte du système nerveux central, des essais cliniques comparent l'administration systémique, régionale ou intra-tumorale de cellules CAR-T dans les tumeurs solides.

- ✓ **Le microenvironnement tumoral dépourvue d'infiltrat lymphocytaire des tumeurs solides**

Le microenvironnement tumoral (TME) des tumeurs solides est en lui-même une barrière physique et métabolique aux cellules CAR-T. Cette observation a été faite avec des cellules CAR-T ciblant le TAG72 : même si les cellules CAR-T étaient capables de se déplacer vers les tumeurs, elles semblaient être exclues du centre de la tumeur [86]. En effet, le stroma des tumeurs solides crée une pression tissulaire qui empêche la pénétration des cellules CAR-T. Des études en cours évaluent l'intérêt de cellules CAR-T ayant la capacité de sécréter des enzymes qui dégradent la matrice péri-tumorale afin d'améliorer leur pénétration [87]. De plus, le TME crée une barrière métabolique aux cellules CAR-T selon « l'effet Warburg ». L'hypoxie et la production élevée de lactate entrainent une libération d'ions H+. La vascularisation pathologique due à la néoangiogenèse favorise la rétention des ions H+ et l'acidification du TME. Ce contexte est associé à une inhibition de la fonctionnalité des lymphocytes associés aux tumeurs et l'accumulation de cellules immunosuppressives [88]. Un autre exemple est le déficit en tryptophane du TME. Le tryptophane est acide aminé essentiel du métabolisme des lymphocytes T. Dans le TME, le tryptophane est catabolysé par l'indolamine-2,3-dioxygénase (IDO), une enzyme sécrétée par la tumeur et les MDSC, entraînant l'anergie des lymphocytes T [89]. Enfin de nombreux médiateurs immunosuppresseurs sont en concentration élevée dans le TME comme la prostaglandine E2 et TGFβ contribuant à l'inactivation des cellules CAR-T [90].

Voies d'optimisation des cellules CAR-T

La compréhension des facteurs associés à l'absence de réponse aux cellules CAR-T et à l'échappement des cellules tumorales ainsi que l'amélioration des techniques d'ingénierie cellulaire permettent d'envisager des voies d'optimisation avec des approches qui pourront être combinées. Les différentes pistes sont :

- ✓ **De favoriser l'expansion et la persistance des cellules CAR-T.**

Cela peut être obtenu en optimisant la fabrication de cellules CAR menant à un traitement contenant d'importantes proportions de cellules T mémoires peu différenciées (T_{sCM} et T_{CM}) en utilisant des lymphocytes T de patients ayant reçu un minimum de lignes de chimiothérapie [21] et en les cultivant *in vitro* avec IL-7 et IL-15 plutôt que IL-2 [25] ou en présence d'inhibiteur d'ATK [26] ou d'ibrutinib [22]. Les CAR de 3eme génération et en particulier les CAR contenant les domaines de costimulation 4-1BB et ICOS ont également des propriétés prolifératives supérieures en pré-clinique [28,31].

- ✓ **De cibler plusieurs antigènes tumoraux**

Les cellules dual-CAR ou multi-CAR (lymphocyte T exprimant plusieurs CAR) ou CAR en tandem (un seul CAR contenant plusieurs domaines de reconnaissance d'antigènes) ciblent en général deux antigènes tumoraux (1). De nombreuses études cliniques testent actuellement ce type d'approche dans les hémopathies malignes en combinant les cibles CD19 et CD20 ou CD22 [91].

- ✓ **De contrôler les mécanismes d'épuisement et immunosuppresseurs du microenvironnement tumoral**

L'association de cellules CAR-T avec des inhibiteurs de « check-point » tels que les anti-PD1 ou anti-PDL1 sont également en cours d'étude. Une autre approche consiste à invalider l'expression de PD1 dans les cellules CAR [92].

Idéalement, une cellule CAR-T devrait pouvoir contrôler le microenvironnement tumoral hostile et favoriser le recrutement de cellules immunitaires non CAR ayant un potentiel anti-tumoral telles que les cellules T CD8 et NK. Dans les tumeurs solides, il faut également pouvoir favoriser le homing des cellules CAR-T dans le site tumoral. Des CAR de 4eme génération sont conçus pour produire après activation une cytokine telle que IL-12 ou IL-18 qui va permettre de moduler le microenvironnement tumoral ou exprimer une molécule de « homing » favorisant l'entrée des CAR-T ou cibler les fibroblastes associés aux cancers (CAF) ou encore d'inhiber le homing de MDSC au sein de la tumeur (voir revue [1]).

Une autre approche consiste à induire une mort immunogénique des cellules tumorales qui va induire le recrutement de cellules immunocompétentes et inhiber les cellules immunosuppressives. Cela pourrait être obtenu en combinant les cellules CAR-T à la radiothérapie, des anti-PD1, certaines chimiothérapies immunogènes et/ou des approches vaccinales [56].

- ✓ **Autres sources de cellules pour générer les cellules CAR**

Les cellules NK et NKT invariants (iNKT) sont des cellules intéressantes, car à fort potentiel cytotoxique. Une étude utilisant des cellules NK de sang placentaire transduites avec un CAR-de 4eme génération ciblant CD19 et produisant de l'IL-15 a montré des résultats très intéressants dans les lymphomes avec une persistance très prolongés des CAR-NK allogénique [93]. Les CAR-iNKT ont l'intérêt de pouvoir cibler les cellules tumorales via le CAR, mais également leur TCR invariant qui reconnait la molécule CD1d fréquemment exprimée sur les cellules tumorales. Par ailleurs, fort producteur d'IFN-g, ces cellules peuvent moduler le microenvironnement tumoral. Une étude a montré la supériorité des CAR-iNKT versus CAR-T dans un modèle pré-clinique de lymphome B [94].

Conclusions

Les cellules CAR-T ont révolutionné le monde de l'immunothérapie anti-tumorale, notamment dans les hémopathies malignes. La meilleure compréhension des facteurs associés à la réponse et des mécanismes d'échappement des tumeurs devrait permettre d'optimiser à l'avenir les résultats cliniques et de développer ces approches dans les tumeurs solides, en améliorant la qualité des cellules transduites et leur capacité de survie, prolifération et de cytotoxicité, mais également en cherchant à contrôler les mécanismes immunosuppresseurs du microenvironnement tumoral.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs ne déclarent pas de conflit d'intérêts

Remerciements

Les figures ont été conçues avec BioRender.com

Références

[1] Rubio M-T, Galaine J, Borg C, Daguindau É. Biologie, concepts et principes des CAR-T cells. Bulletin du Cancer 2018;105:S135–46. https://doi.org/10.1016/S0007-4551(19)30044-X.

[2] Larson RC, Maus MV. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. Nature Reviews Cancer 2021;21:145–61. https://doi.org/10.1038/s41568-020-00323-z.

[3] Schmidts A, Wehrli M, Maus MV. Toward Better Understanding and Management of CAR-T Cell–Associated Toxicity. Annu Rev Med 2021;72:365–82. https://doi.org/10.1146/annurev-med-061119-015600.

[4] Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. New England Journal of Medicine 2018. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709866.

[5] Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, Waller EK, Borchmann P, McGuirk JP, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. New England Journal of Medicine 2019;380:45–56. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804980.

[6] Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, Miklos DB, Lekakis LJ, Oluwole OO, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial. The Lancet Oncology 2019;20:31–42. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30864-7.

[7] Fraietta JA, Lacey SF, Orlando EJ, Pruteanu-Malinici I, Gohil M, Lundh S, et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. Nature Medicine 2018;24:563–71. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0010-1.

[8] Raje N, Berdeja J, Lin Y, Siegel D, Jagannath S, Madduri D, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. New England Journal of Medicine 2019. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1817226.

[9] Louis CU, Savoldo B, Dotti G, Pule M, Yvon E, Myers GD, et al. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor–positive T cells in patients with neuroblastoma. Blood 2011;118:6050–6. https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-354449.

[10] Zhan X, Wang B, Li Z, Li J, Wang H, Chen L, et al. Phase I trial of Claudin 18.2-specific chimeric antigen receptor T cells for advanced gastric and pancreatic adenocarcinoma. JCO 2019;37:2509–2509. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2509.

[11] Adusumilli PS, Zauderer MG, Rusch VW, O'Cearbhaill R, Zhu A, Ngai D, et al. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cells for pleural cancers: Safety and preliminary efficacy in combination with anti-PD-1 agent. JCO 2019;37:2511–2511. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2511.

[12] Park JH, Rivière I, Gonen M, Wang X, Sénéchal B, Curran KJ, et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. New England Journal of Medicine 2018. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709919.

[13] Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. New England Journal of Medicine 2017;377:2531–44. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707447.

[14] Mueller KT, Maude SL, Porter DL, Frey N, Wood P, Han X, et al. Cellular kinetics of CTL019 in relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. Blood 2017;130:2317–25. https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-786129.

[15] Gardner RA, Finney O, Annesley C, Brakke H, Summers C, Leger K, et al. Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children

and young adults. Blood 2017;129:3322–31. https://doi.org/10.1182/blood-2017-02-769208.
[16] Gattinoni L, Klebanoff CA, Restifo NP. Paths to stemness: building the ultimate antitumour T cell. Nat Rev Cancer 2012;12:671–84. https://doi.org/10.1038/nrc3322.
[17] Klebanoff CA, Gattinoni L, Torabi-Parizi P, Kerstann K, Cardones AR, Finkelstein SE, et al. Central memory self/tumor-reactive CD8+ T cells confer superior antitumor immunity compared with effector memory T cells. PNAS 2005;102:9571–6. https://doi.org/10.1073/pnas.0503726102.
[18] Calderon H, Mamonkin M, Guedan S. Analysis of CAR-Mediated Tonic Signaling. In: Swiech K, Malmegrim KCR, Picanço-Castro V, editors. Chimeric Antigen Receptor T Cells: Development and Production, New York, NY: Springer US; 2020, p. 223–36. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0146-4_17.
[19] Sommermeyer D, Hudecek M, Kosasih PL, Gogishvili T, Maloney DG, Turtle CJ, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8 + and CD4 + subsets confer superior antitumor reactivity in vivo. Leukemia 2016;30:492–500. https://doi.org/10.1038/leu.2015.247.
[20] Finney OC, Brakke HM, Rawlings-Rhea S, Hicks R, Doolittle D, Lopez M, et al. CD19 CAR T cell product and disease attributes predict leukemia remission durability. J Clin Invest 2019;129:2123–32. https://doi.org/10.1172/JCI125423.
[21] Das RK, Vernau L, Grupp SA, Barrett DM. Naïve T-cell Deficits at Diagnosis and after Chemotherapy Impair Cell Therapy Potential in Pediatric Cancers. Cancer Discov 2019;9:492–9. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1314.
[22] Fraietta JA, Beckwith KA, Patel PR, Ruella M, Zheng Z, Barrett DM, et al. Ibrutinib enhances chimeric antigen receptor T-cell engraftment and efficacy in leukemia. Blood 2016;127:1117–27. https://doi.org/10.1182/blood-2015-11-679134.
[23] Jafarzadeh L, Masoumi E, Fallah-Mehrjardi K, Mirzaei HR, Hadjati J. Prolonged Persistence of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell in Adoptive Cancer Immunotherapy: Challenges and Ways Forward. Front Immunol 2020;11. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00702.
[24] Kaartinen T, Luostarinen A, Maliniemi P, Keto J, Arvas M, Belt H, et al. Low interleukin-2 concentration favors generation of early memory T cells over effector phenotypes during chimeric antigen receptor T-cell expansion. Cytotherapy 2017;19:689–702. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.03.067.
[25] Xu Y, Zhang M, Ramos CA, Durett A, Liu E, Dakhova O, et al. Closely related T-memory stem cells correlate with in vivo expansion of CAR.CD19-T cells and are preserved by IL-7 and IL-15. Blood 2014;123:3750–9. https://doi.org/10.1182/blood-2014-01-552174.
[26] Klebanoff CA, Crompton JG, Leonardi AJ, Yamamoto TN, Chandran SS, Eil RL, et al. Inhibition of AKT signaling uncouples T cell differentiation from expansion for receptor-engineered adoptive immunotherapy. JCI Insight 2017;2. https://doi.org/10.1172/jci.insight.95103.
[27] Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T, Shi V, Bot A, Rossi J, et al. Lymphoma Remissions Caused by Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells Are Associated With High Serum Interleukin-15 Levels. JCO 2017;35:1803–13. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.3024.
[28] van der Stegen SJC, Hamieh M, Sadelain M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. Nat Rev Drug Discov 2015;14:499–509. https://doi.org/10.1038/nrd4597.
[29] Guedan S, Chen X, Madar A, Carpenito C, McGettigan SE, Frigault MJ, et al. ICOS-based chimeric antigen receptors program bipolar TH17/TH1 cells. Blood 2014;124:1070–80. https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-535245.
[30] Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, Rivière I, Sadelain M. Human T-lymphocyte

cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRζ /CD28 receptor. Nat Biotechnol 2002;20:70–5. https://doi.org/10.1038/nbt0102-70.
[31] Zhao Z, Condomines M, van der Stegen SJC, Perna F, Kloss CC, Gunset G, et al. Structural Design of Engineered Costimulation Determines Tumor Rejection Kinetics and Persistence of CAR T Cells. Cancer Cell 2015;28:415–28. https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.004.
[32] Zhylko A, Winiarska M, Graczyk-Jarzynka A. The Great War of Today: Modifications of CAR-T Cells to Effectively Combat Malignancies. Cancers 2020;12:2030. https://doi.org/10.3390/cancers12082030.
[33] Long AH, Haso WM, Shern JF, Wanhainen KM, Murgai M, Ingaramo M, et al. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. Nat Med 2015;21:581–90. https://doi.org/10.1038/nm.3838.
[34] Salter AI, Ivey RG, Kennedy JJ, Voillet V, Rajan A, Alderman EJ, et al. Phosphoproteomic analysis of chimeric antigen receptor signaling reveals kinetic and quantitative differences that affect cell function. Sci Signal 2018;11. https://doi.org/10.1126/scisignal.aat6753.
[35] Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, Guo L, McGettigan SE, Posey AD, et al. Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. Immunity 2016;44:380–90. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.021.
[36] Guo C, Chen S, Liu W, Ma Y, Li J, Fisher PB, et al. Chapter Four - Immunometabolism: A new target for improving cancer immunotherapy. In: Wang X-Y, Fisher PB, editors. Advances in Cancer Research, vol. 143, Academic Press; 2019, p. 195–253. https://doi.org/10.1016/bs.acr.2019.03.004.
[37] Oluwole OO, Jansen JP, Lin VW, Chan K, Keeping S, Navale L, et al. Comparing Efficacy, Safety, and Preinfusion Period of Axicabtagene Ciloleucel versus Tisagenlecleucel in Relapsed/Refractory Large B Cell Lymphoma. Biology of Blood and Marrow Transplantation 2020;26:1581–8. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2020.06.008.
[38] Guedan S, Madar A, Casado-Medrano V, Shaw C, Wing A, Liu F, et al. Single residue in CD28-costimulated CAR-T cells limits long-term persistence and antitumor durability. J Clin Invest 2020;130:3087–97. https://doi.org/10.1172/JCI133215.
[39] Fraietta JA, Nobles CL, Sammons MA, Lundh S, Carty SA, Reich TJ, et al. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells. Nature 2018;558:307–12. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0178-z.
[40] Nobles CL, Sherrill-Mix S, Everett JK, Reddy S, Fraietta JA, Porter DL, et al. CD19-targeting CAR T cell immunotherapy outcomes correlate with genomic modification by vector integration. J Clin Invest 2020;130:673–85. https://doi.org/10.1172/JCI130144.
[41] Sheih A, Voillet V, Hanafi L-A, DeBerg HA, Yajima M, Hawkins R, et al. Clonal kinetics and single-cell transcriptional profiling of CAR-T cells in patients undergoing CD19 CAR-T immunotherapy. Nature Communications 2020;11:219. https://doi.org/10.1038/s41467-019-13880-1.
[42] Bai Y, Kan S, Zhou S, Wang Y, Xu J, Cooke JP, et al. Enhancement of the in vivo persistence and antitumor efficacy of CD19 chimeric antigen receptor T cells through the delivery of modified TERT mRNA. Cell Discov 2015;1:1–15. https://doi.org/10.1038/celldisc.2015.40.
[43] Rossi J, Paczkowski P, Shen Y-W, Morse K, Flynn B, Kaiser A, et al. Preinfusion polyfunctional anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells are associated with clinical outcomes in NHL. Blood 2018;132:804–14. https://doi.org/10.1182/blood-2018-01-828343.
[44] Deng Q, Han G, Puebla-Osorio N, Ma MCJ, Strati P, Chasen B, et al. Characteristics of anti-CD19 CAR T cell infusion products associated with efficacy and toxicity in patients

with large B cell lymphomas. Nat Med 2020;26:1878–87. https://doi.org/10.1038/s41591-020-1061-7.
[45] Maude SL, Teachey DT, Rheingold SR, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, et al. Sustained remissions with CD19-specific chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells in children with relapsed/refractory ALL. JCO 2016;34:3011–3011. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.3011.
[46] Dai H, Wu Z, Jia H, Tong C, Guo Y, Ti D, et al. Bispecific CAR-T cells targeting both CD19 and CD22 for therapy of adults with relapsed or refractory B cell acute lymphoblastic leukemia. J Hematol Oncol 2020;13:30. https://doi.org/10.1186/s13045-020-00856-8.
[47] Orlando EJ, Han X, Tribouley C, Wood PA, Leary RJ, Riester M, et al. Genetic mechanisms of target antigen loss in CAR19 therapy of acute lymphoblastic leukemia. Nat Med 2018;24:1504–6. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0146-z.
[48] Sotillo E, Barrett DM, Black KL, Bagashev A, Oldridge D, Wu G, et al. Convergence of Acquired Mutations and Alternative Splicing of CD19 Enables Resistance to CART-19 Immunotherapy. Cancer Discov 2015;5:1282–95. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1020.
[49] Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. N Engl J Med 2018;378:439–48. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709866.
[50] Park JH, Rivière I, Gonen M, Wang X, Sénéchal B, Curran KJ, et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. N Engl J Med 2018;378:449–59. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709919.
[51] Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, Ramakrishna S, et al. CD22-CAR T Cells Induce Remissions in CD19-CAR Naïve and Resistant B-ALL. Nat Med 2018;24:20–8. https://doi.org/10.1038/nm.4441.
[52] Gardner R, Wu D, Cherian S, Fang M, Hanafi L-A, Finney O, et al. Acquisition of a CD19-negative myeloid phenotype allows immune escape of MLL-rearranged B-ALL from CD19 CAR-T-cell therapy. Blood 2016;127:2406–10. https://doi.org/10.1182/blood-2015-08-665547.
[53] Jacoby E, Nguyen SM, Welp KM, Qin H, Yang Y, Chien CD, et al. Lineage Switch As a Relapse Mechanism of Pre-B Acute Lymphoblastic Leukemia Following CD19 CAR. Blood 2015;126:2524–2524. https://doi.org/10.1182/blood.V126.23.2524.2524.
[54] Ruella M, Xu J, Barrett DM, Fraietta JA, Reich TJ, Ambrose DE, et al. Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell. Nat Med 2018;24:1499–503. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0201-9.
[55] Vercellino L, Di Blasi R, Kanoun S, Tessoulin B, Rossi C, D'Aveni-Piney M, et al. Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. Blood Adv 2020;4:5607–15. https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003001.
[56] Cheng J, Zhao L, Zhang Y, Qin Y, Guan Y, Zhang T, et al. Understanding the Mechanisms of Resistance to CAR T-Cell Therapy in Malignancies. Front Oncol 2019;9. https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01237.
[57] Autio M, Leivonen S-K, Brück O, Mustjoki S, Jørgensen JM, Karjalainen-Lindsberg M-L, et al. Immune cell constitution in the tumor microenvironment predicts the outcome in diffuse large B-cell lymphoma. 1 2021;106:718–29. https://doi.org/10.3324/haematol.2019.243626.
[58] Pastorczak A, Domka K, Fidyt K, Poprzeczko M, Firczuk M. Mechanisms of Immune Evasion in Acute Lymphoblastic Leukemia. Cancers 2021;13:1536. https://doi.org/10.3390/cancers13071536.
[59] Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, Nasta SD, Mato AR, Anak Ö, et al. Chimeric

Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. New England Journal of Medicine 2017;377:2545–54. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1708566.
[60] Yan Z-X, Li L, Wang W, OuYang B-S, Cheng S, Wang L, et al. Clinical Efficacy and Tumor Microenvironment Influence in a Dose-Escalation Study of Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. Clin Cancer Res 2019;25:6995–7003. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0101.
[61] Jain MD, Zhao H, Wang X, Atkins R, Menges M, Reid K, et al. Tumor interferon signaling and suppressive myeloid cells are associated with CAR T-cell failure in large B-cell lymphoma. Blood 2021;137:2621–33. https://doi.org/10.1182/blood.2020007445.
[62] Chen P-H, Lipschitz M, Weirather JL, Jacobson C, Armand P, Wright K, et al. Activation of CAR and non-CAR T cells within the tumor microenvironment following CAR T cell therapy. JCI Insight 2020;5. https://doi.org/10.1172/jci.insight.134612.
[63] Jensen MC, Popplewell L, Cooper LJ, DiGiusto D, Kalos M, Ostberg JR, et al. Antitransgene Rejection Responses Contribute to Attenuated Persistence of Adoptively Transferred CD20/CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor Redirected T Cells in Humans. Biology of Blood and Marrow Transplantation 2010;16:1245–56. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.03.014.
[64] Lamers CHJ, Willemsen R, van Elzakker P, van Steenbergen-Langeveld S, Broertjes M, Oosterwijk-Wakka J, et al. Immune responses to transgene and retroviral vector in patients treated with ex vivo–engineered T cells. Blood 2011;117:72–82. https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-294520.
[65] Blanco I, Kawatsu R, Harrison K, Leichner P, Augustine S, Baranowska-Kortylewicz J, et al. Antiidiotypic Response Against Murine Monoclonal Antibodies Reactive with Tumor-Associated Antigen TAG-72. J Clin Immunol 1997;17:96–106. https://doi.org/10.1023/A:1027396714623.
[66] Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, Wang G, Eshhar Z, Mavroukakis SA, et al. A Phase I Study on Adoptive Immunotherapy Using Gene-Modified T Cells for Ovarian Cancer. Clin Cancer Res 2006;12:6106–15. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1183.
[67] Awasthi R, Pacaud L, Waldron E, Tam CS, Jäger U, Borchmann P, et al. Tisagenlecleucel cellular kinetics, dose, and immunogenicity in relation to clinical factors in relapsed/refractory DLBCL. Blood Advances 2020;4:560–72. https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000525.
[68] European Medicines Agency. EMA - Yescarta / axicabtagene ciloleucel - Assessment report. n.d.
[69] Mueller KT, Waldron E, Grupp SA, Levine JE, Laetsch TW, Pulsipher MA, et al. Clinical Pharmacology of Tisagenlecleucel in B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. Clin Cancer Res 2018;24:6175–84. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-0758.
[70] Ghorashian S, Kramer AM, Onuoha S, Wright G, Bartram J, Richardson R, et al. Enhanced CAR T cell expansion and prolonged persistence in pediatric patients with ALL treated with a low-affinity CD19 CAR. Nat Med 2019;25:1408–14. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0549-5.
[71] Till BG, Jensen MC, Wang J, Qian X, Gopal AK, Maloney DG, et al. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. Blood 2012;119:3940–50. https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-387969.
[72] Turtle CJ, Hanafi L-A, Berger C, Hudecek M, Pender B, Robinson E, et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor–modified T cells. Science Translational Medicine 2016;8:355ra116-355ra116. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf8621.
[73] Brudno JN, Lam N, Vanasse D, Shen Y, Rose JJ, Rossi J, et al. Safety and feasibility

of anti-CD19 CAR T cells with fully human binding domains in patients with B-cell lymphoma. Nature Medicine 2020;26:270–80. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0737-3.
[74] Turtle CJ, Hanafi L-A, Berger C, Gooley TA, Cherian S, Hudecek M, et al. CD19 CAR–T cells of defined $CD4^+$:$CD8^+$ composition in adult B cell ALL patients. J Clin Invest 2016;126:2123–38. https://doi.org/10.1172/JCI85309.
[75] Maus MV, Haas AR, Beatty GL, Albelda SM, Levine BL, Liu X, et al. T Cells Expressing Chimeric Antigen Receptors Can Cause Anaphylaxis in Humans. Cancer Immunol Res 2013;1:26–31. https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0006.
[76] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case Report of a Serious Adverse Event Following the Administration of T Cells Transduced With a Chimeric Antigen Receptor Recognizing ERBB2. Molecular Therapy 2010;18:843–51. https://doi.org/10.1038/mt.2010.24.
[77] Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, Robertson C, Ghazi A, Gerken C, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) –Specific Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. JCO 2015;33:1688–96. https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.0225.
[78] O'Rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, Melenhorst JJ, Mansfield K, Morrissette JJD, et al. 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 2017;9. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa0984.
[79] Grada Z, Hegde M, Byrd T, Shaffer DR, Ghazi A, Brawley VS, et al. TanCAR: A Novel Bispecific Chimeric Antigen Receptor for Cancer Immunotherapy. Molecular Therapy - Nucleic Acids 2013;2. https://doi.org/10.1038/mtna.2013.32.
[80] Kailayangiri S, Altvater B, Lesch S, Balbach S, Göttlich C, Kühnemundt J, et al. EZH2 Inhibition in Ewing Sarcoma Upregulates GD2 Expression for Targeting with Gene-Modified T Cells. Molecular Therapy 2019;27:933–46. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.02.014.
[81] Straathof K, Flutter B, Wallace R, Jain N, Loka T, Depani S, et al. Antitumor activity without on-target off-tumor toxicity of GD2–chimeric antigen receptor T cells in patients with neuroblastoma. Science Translational Medicine 2020;12. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abd6169.
[82] Straathof K, Flutter B, Wallace R, Thomas S, Cheung G, Collura A, et al. Abstract CT145: A Cancer Research UK phase I trial of anti-GD2 chimeric antigen receptor (CAR) transduced T-cells (1RG-CART) in patients with relapsed or refractory neuroblastoma. Cancer Res 2018;78:CT145–CT145. https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2018-CT145.
[83] Shrimali RK, Yu Z, Theoret MR, Chinnasamy D, Restifo NP, Rosenberg SA. Antiangiogenic Agents Can Increase Lymphocyte Infiltration into Tumor and Enhance the Effectiveness of Adoptive Immunotherapy of Cancer. Cancer Res 2010;70:6171–80. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0153.
[84] Harlin H, Meng Y, Peterson AC, Zha Y, Tretiakova M, Slingluff C, et al. Chemokine Expression in Melanoma Metastases Associated with CD8+ T-Cell Recruitment. Cancer Res 2009;69:3077–85. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2281.
[85] Nishio N, Diaconu I, Liu H, Cerullo V, Caruana I, Hoyos V, et al. Armed Oncolytic Virus Enhances Immune Functions of Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells in Solid Tumors. Cancer Res 2014;74:5195–205. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0697.
[86] Hege KM, Bergsland EK, Fisher GA, Nemunaitis JJ, Warren RS, McArthur JG, et al. Safety, tumor trafficking and immunogenicity of chimeric antigen receptor (CAR)-T cells specific for TAG-72 in colorectal cancer. J Immunother Cancer 2017;5:22. https://doi.org/10.1186/s40425-017-0222-9.
[87] Caruana I, Savoldo B, Hoyos V, Weber G, Liu H, Kim ES, et al. Heparanase promotes

tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirected T lymphocytes. Nature Medicine 2015;21:524–9. https://doi.org/10.1038/nm.3833.
[88] Heiden MGV, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. Science 2009;324:1029–33. https://doi.org/10.1126/science.1160809.
[89] Gajewski TF, Meng Y, Blank C, Brown I, Kacha A, Kline J, et al. Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment. Immunological Reviews 2006;213:131–45. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00442.x.
[90] Jarnicki AG, Lysaght J, Todryk S, Mills KHG. Suppression of Antitumor Immunity by IL-10 and TGF-β-Producing T Cells Infiltrating the Growing Tumor: Influence of Tumor Environment on the Induction of CD4+ and CD8+ Regulatory T Cells. The Journal of Immunology 2006;177:896–904. https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.2.896.
[91] Shah NN, Maatman T, Hari P, Johnson B. Multi Targeted CAR-T Cell Therapies for B-Cell Malignancies. Front Oncol 2019;9. https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00146.
[92] Wang H, Kaur G, Sankin AI, Chen F, Guan F, Zang X. Immune checkpoint blockade and CAR-T cell therapy in hematologic malignancies. Journal of Hematology & Oncology 2019;12:59. https://doi.org/10.1186/s13045-019-0746-1.
[93] Liu E, Marin D, Banerjee P, Macapinlac HA, Thompson P, Basar R, et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors. New England Journal of Medicine 2020;382:545–53. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910607.
[94] Rotolo A, Caputo VS, Holubova M, Baxan N, Dubois O, Chaudhry MS, et al. Enhanced Anti-lymphoma Activity of CAR19-iNKT Cells Underpinned by Dual CD19 and CD1d Targeting. Cancer Cell 2018;34:596-610.e11. https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.08.017.

Figures

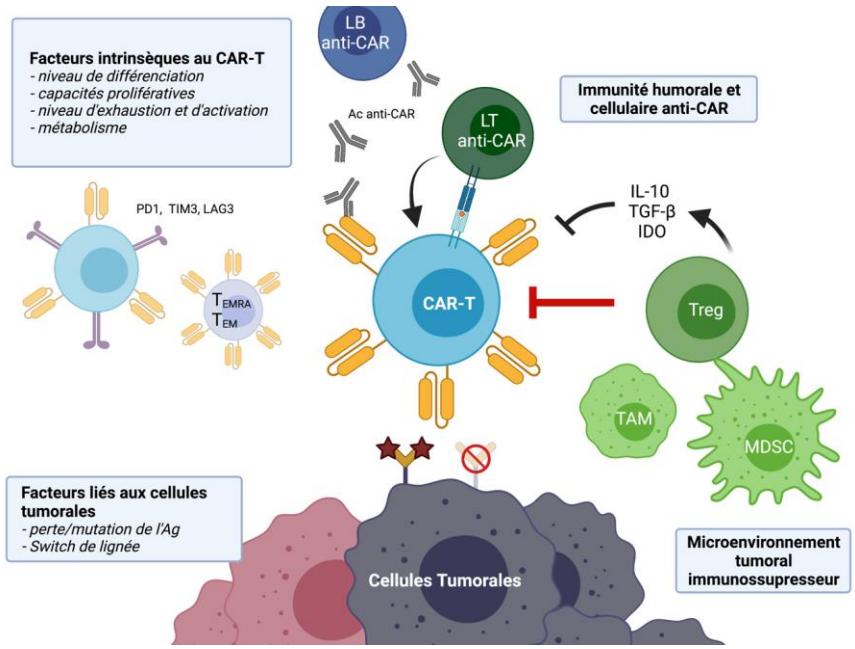


Figure 1 – Mécanismes de résistances et d'échappements aux cellules CAR-T

Mécanismes de résistances et d'échappements aux cellules CAR-T comprenant les facteurs intrinsèques aux cellules CAR-T : Le niveau de différenciation, les capacités prolifératives, le niveau d'épuisement et le métabolisme de la cellule CAR-T ; L'immunité anti CAR-T humorale et cellulaire ; les facteurs liés à la tumeur : Perte/ mutation de l'antigène et switch de lignée ainsi que le microenvironnement tumoral immunosuppresseur. LT : Lymphocyte T, LB lymphocytes B, T reg : Lymphocytes T régulateur, TAM : macrophage associé aux tumeurs, MDSC : cellules myéloïdes suppressives, T_{EMRA} : Lymphocyte T effecteur mémoire terminal, Ac : anticorps

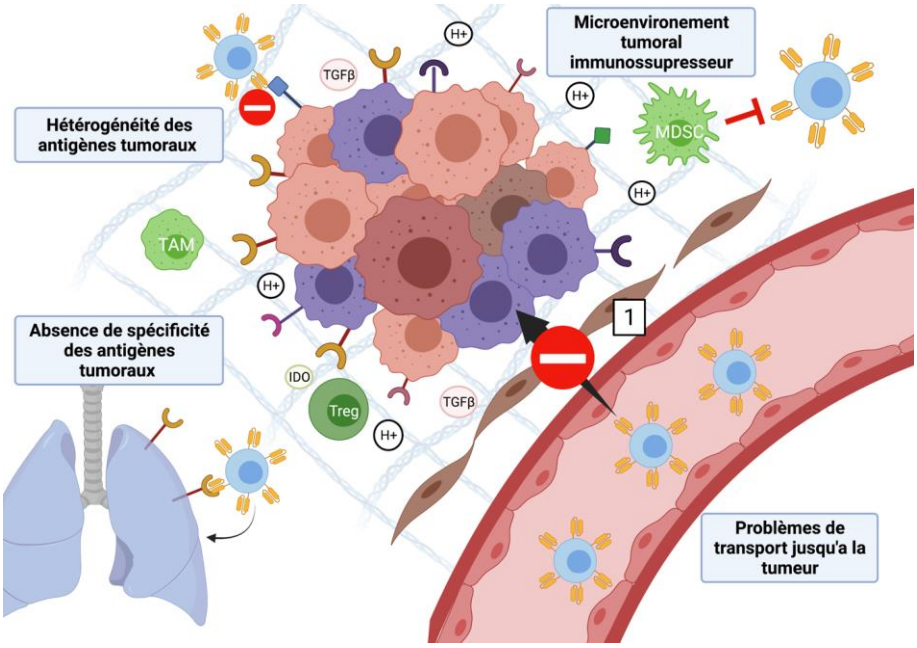


Figure 2 – Particularité des mécanismes de résistances et d'échappements aux cellules CAR-T des tumeurs solides

Particularité des mécanismes de résistances et d'échappements aux cellules CAR-T comprenant le manque de spécificité et l'hétérogénéité des antigènes tumoraux ; les défauts aux transports des cellules CAR-T à la tumeur ainsi que les barrières cellulaires et acellulaires microenvironnement tumoral. T reg : Lymphocytes T régulateurs, TAM : macrophage associé aux tumeurs, MDSC : cellules myéloïdes suppressives, IDO : indolamine-2,3-dioxygénase.