



Cellules CAR-T : une relation dose-réponse qui reste à explorer

Florence Gattacceca

► To cite this version:

Florence Gattacceca. Cellules CAR-T : une relation dose-réponse qui reste à explorer. La Lettre du Pharmacologue, 2023, 37 (3), pp.100-103. hal-04389571

HAL Id: hal-04389571

<https://amu.hal.science/hal-04389571>

Submitted on 11 Jan 2024

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

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

Titre

Cellules CAR-T : une relation dose-réponse qui reste à explorer.

CAR-T cells: a dose-exposure relationship yet to be explored.

Points forts

- Les cellules CAR-T sont un médicament vivant, capable de proliférer dans l'organisme.
- La relation entre dose et exposition est extrêmement variable.
- L'exposition aux cellules CAR-T est corrélée à la réponse clinique.
- Pour comprendre la relation entre dose et exposition, des défis techniques sont à relever pour quantifier les cellules CAR-T dans le sang et dans les tissus d'intérêt.

Mots-clés

Immunothérapie cellulaire, quantification, exposition, réponse, variabilité

Cell immunotherapy, quantification, exposition, response, variability

Introduction

Les cellules CAR-T présentent la particularité d'être un médicament vivant, capable de proliférer, ce qui leur confère des propriétés pharmacocinétiques (PK) inhabituelles. D'autre part, chaque patient reçoit des cellules CAR-T uniques, différentes de celles que reçoivent les autres patients, puisqu'à ce jour, les six produits à base de cellules CAR-T ayant reçu l'autorisation de mise sur le marché sont obtenus à partir de cellules T autologues. Si les cellules CAR-T constituent une révolution dans le traitement des cancers du sang, le taux de rechute important, de l'ordre de 50%, ainsi que l'apparition d'effets secondaires potentiellement graves comme le syndrome de relargage des cytokines (CRS) ou la neurotoxicité, suggèrent que les propriétés des cellules CAR-T, mais également la dose et les modalités d'administration, pourraient être optimisées et individualisées. Pour atteindre cet objectif, comprendre les

relations entre dose, exposition et effet est indispensable. Néanmoins, l'exploration de la pharmacocinétique des cellules CAR-T est un domaine émergent, avec seulement une centaine de publications sur le sujet référencées en juin 2023, les premières datant de 2016. La relation dose-exposition-effet et les facteurs susceptibles de l'influencer, liés aux propriétés des cellules CAR-T et aux caractéristiques du patient qui les reçoit, sont à ce jour mal compris. Les recherches actuelles visent principalement à développer des méthodes de quantification des cellules CAR-T, à mieux évaluer leur pharmacocinétique sanguine et leur biodistribution, et à mettre au point de nouvelles stratégies pour réduire les contraintes liées à leur préparation et améliorer leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

Pharmacocinétique des cellules CAR-T

La capacité des cellules CAR-T à se multiplier dans l'organisme, l'impact de leurs propriétés intrinsèques, spécifiques à chaque donneur, et de leur interaction avec le système immunitaire du receveur représentent un défi en termes d'analyse et d'interprétation des données pharmacocinétiques, et d'extrapolation de l'animal vers l'homme.

Quantification des cellules CAR-T

L'évaluation des propriétés pharmacocinétiques des cellules CAR-T implique de disposer de méthodes de quantification appropriées, dans le sang et dans les tissus. Les cellules CAR-T constituent un système complexe, ce qui pose la question de l'entité qui doit être quantifiée.

Deux méthodes sont actuellement utilisées pour mesurer les concentrations de cellules CAR-T dans le sang des patients. L'amplification en chaîne par polymérase quantitative (qPCR) permet de quantifier le nombre de copies du transgène codant pour le CAR. Cette méthode est sensible, mais n'informe pas sur l'expression protéique du CAR ni sur sa fonctionnalité, et semble donc peu appropriée dans l'objectif d'établir une relation exposition-effet. La cytométrie en flux permet de quantifier spécifiquement les cellules T qui expriment le CAR, et de distinguer à

quelle sous-population elles appartiennent (CD4+, CD8+, phénotype mémoire). Cependant, cette méthode est peu sensible. De plus, sa mise en œuvre est peu standardisée et se heurte à un manque de réactifs permettant la détection de CAR.

Lorsque les concentrations sont élevées, les résultats obtenus par ces deux méthodes sont bien corrélés, mais ils divergent lorsque les concentrations diminuent, particulièrement au-dessous d'un seuil de 0,5% pour la proportion de cellules CAR-T anti-CD19 parmi les lymphocytes totaux [1].

Ces deux méthodes ne sont applicables qu'à des échantillons liquides et ne rendent donc pas possible l'étude de la biodistribution. Seule l'imagerie permet d'évaluer l'exposition des tissus solides de l'organisme. Les cellules CAR-T doivent être préalablement marquées, généralement avec des isotopes radio-actifs. L'imagerie est peu spécifique et peu sensible, la sensibilité diminuant au cours du temps avec la dilution et la perte du marquage, liées respectivement à la prolifération et à la mort des cellules CAR-T. De nouvelles stratégies ont été évaluées dans des modèles animaux. Ainsi, la biodistribution de cellules CAR-T anti-CD19 exprimant la streptavidine a pu être étudiée par tomographie par émission de positons (TEP) après administration de biotine radiomarkée au gallium 68 dans un modèle de tumeur solide [2]. Le marquage de cellules CAR-T à la luciférase a également permis d'évaluer leur biodistribution par bioluminescence dans un modèle murin [3].

Propriétés pharmacocinétiques des cellules CAR-T

Les cellules CAR-T sont administrées directement dans la circulation sanguine générale. Quatre phases pharmacocinétiques vont ensuite théoriquement se succéder, même si certaines ne sont pas observées chez tous les patients. Les grandes étapes de la PK des cellules CAR-T sont présentées de manière schématique dans la **figure 1**.

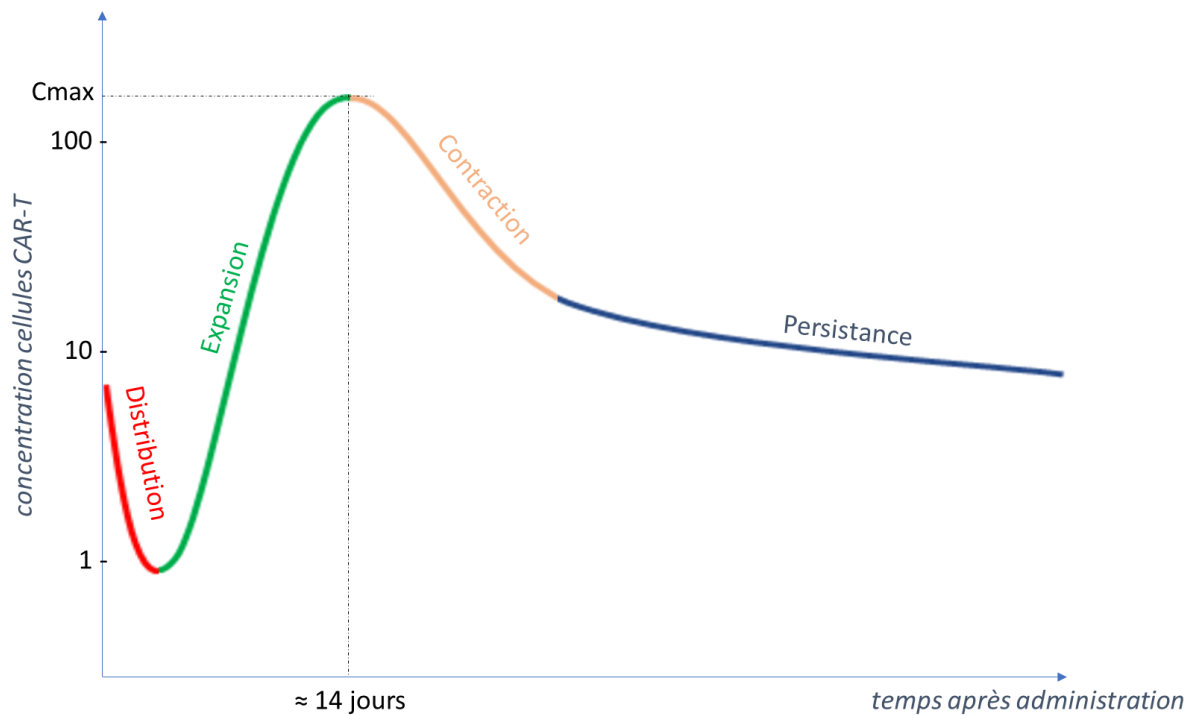


Figure 1 : Profil pharmacocinétique typique des cellules CAR-T dans le sang.

Comme pour les médicaments conventionnels, la première phase consiste en une distribution rapide des cellules CAR-T dans les tissus de l'organisme, qui se traduit par une diminution rapide et brève de leur concentration sanguine.

Les phases suivantes sont en revanche spécifiques aux cellules CAR-T. La distribution des cellules CAR-T s'accompagne d'une liaison du CAR à son ligand présent à la surface de certaines cellules de l'organisme, principalement tumorales, qui conduit à l'activation des cellules CAR-T. Les cellules activées vont proliférer, donnant lieu à une phase d'expansion, jusqu'à atteindre en deux semaines environ une concentration maximale (Cmax), qui peut être supérieure de plusieurs ordres de grandeurs à la concentration initiale. L'activation des cellules CAR-T finit par entraîner leur mort, conduisant à une phase de contraction de la population cellulaire. Enfin, une partie des cellules CAR-T, ayant acquis un phénotype mémoire, peut persister à très long terme (parfois des années) dans la circulation sanguine : c'est la phase de persistance.

Pour les cellules CAR-T allogéniques, un mécanisme supplémentaire d'élimination par les cellules T de l'hôte peut accélérer la décroissance des concentrations des cellules CAR-T et limiter leur persistance [4].

Les métriques communément utilisées pour décrire la PK des cellules CAR-T sont le C_{max} et l'aire sous la courbe entre 0 et 28 jours. Des modèles semi-mécanistiques permettent d'obtenir des paramètres spécifiques aux différentes phases [4,5].

Biodistribution

En raison de la difficulté liée à la quantification des cellules CAR-T dans les tissus chez l'homme, les études de biodistribution sont menées principalement chez l'animal, par des techniques d'imagerie. L'essentiel de ces études visait à explorer l'infiltration tumorale des cellules CAR-T dans des tumeurs solides, afin de guider le développement futur de la technologie des cellules CAR-T dans ce type d'indication.

Il a ainsi été observé que les cellules CAR-T restaient principalement à la périphérie de la tumeur solide et autour des vaisseaux [2]. Une étude à différentes doses a permis de montrer que l'exposition des organes principaux (sang, os, cerveau, foie, poumons, rate) et de la tumeur solide était proportionnelle à la dose de cellules CAR-T administrée [6]. Il est apparu que les cellules CAR-T étaient dans un premier temps retenues dans le poumon pendant 3 à 5h, avant de migrer vers le foie et la rate avant de transiter par le foie et la rate pendant 2 à 3 jours.

Variabilité pharmacocinétique

Plusieurs études ont mis en évidence des sources de variabilité pharmacocinétique. Les patients présentant plus de trois lignes de traitement antérieures à l'administration des cellules CAR-T et une implication des organes extraganglionnaires avaient une C_{max} plus faible [7]. Le pré-conditionnement lymphodépresseur permettait d'améliorer l'exposition, par le biais d'une augmentation de l'expansion, également conditionnée par l'utilisation d'alemtuzumab, et

accrue en présence de niveaux élevés d'interleukine 7 [4]. Cette étude a également mis en évidence le rôle du phénotype mémoire sur l'expansion et la persistance.

Une perte d'expression de l'antigène peut également limiter la persistance des cellules CAR-T. Dans les tumeurs solides, l'expression de l'antigène conditionne la profondeur de l'infiltration des cellules CAR-T. La capacité initiale intrinsèque de prolifération des cellules CAR-T joue certainement un rôle dans la phase d'expansion.

Relation dose-effet des cellules CAR-T

La dose de cellules CAR-T est définie en nombre de cellules. Ainsi, une même dose peut représenter des activités et des capacités prolifératives très différentes, entraînant une grande variabilité des phases d'expansion, de contraction et de persistance. De plus, ces phases sont grandement dépendantes du statut du patient receveur en termes de masse antigénique et de système immunitaire. Ces différents facteurs masquent la relation dose-exposition et les doses recommandées reposent sur le rapport bénéfice-risque évalué au cours des essais cliniques.

En revanche, la relation exposition-effet a été clairement établie. En effet, une expansion précoce des cellules CAR-T a été associée à une réponse prolongée à 60 mois [8]. Une prolifération et une survie limitées des cellules CAR-T *in vivo* ont été identifiées comme des causes essentielles d'échec thérapeutique [9]. Avec des cellules CAR-T anti-CD19 et anti-CD22 [7], la persistance à long terme des cellules CAR-T était corrélée à l'efficacité et les patients répondeurs avaient un Cmax et une aire sous la courbe plus élevés que les non-répondeurs. De plus, la pharmacodynamie des cellules CAR-T évolue au cours du temps, avec une perte d'activité qui peut s'ajouter à la diminution du nombre de cellules [5].

La relation entre exposition et toxicité a également été observée avec les cellules CAR-T anti-CD19 et anti-CD22 [5]. La charge tumorale et le Cmax étaient associés à la sévérité du CRS.

Stratégies pour optimiser la pharmacocinétique

Le niveau d'exposition étant corrélé à l'efficacité, de nombreuses stratégies visant à augmenter l'expansion des cellules CAR-T, leur persistance, leur capacité de ciblage des cellules tumorales ou leur infiltration dans les tumeurs solides sont en cours de développement.

L'association d'interleukine 15 augmentait la capacité de prolifération de cellules CAR-T anti-CD19 *in vitro*, particulièrement en présence de faibles niveaux d'antigène, et les niveaux de cellules CAR-T dans le sang et la moëlle chez la souris immunodéprimée [9]. Cette association est actuellement évaluée dans le cadre d'un essai clinique. L'association au traitement par cellules CAR-T d'une thérapie de maintenance précoce avec du lénalidomide ou du pomalidomide a permis chez certains patients une ré-expansion des cellules CAR-T [10].

Pour contourner la faiblesse et l'hétérogénéité de l'expression de l'antigène cible au sein des tumeurs solides, une approche basée sur l'administration d'un antigène exogène universel par le biais de nanoparticules fusogéniques puis de cellules CAR-T ciblant cet antigène (TRUE CAR-T) a permis de réduire la prolifération tumorale dans différents modèles *in vivo* [11].

La co-expression de CCR2b, récepteur du CCL2 (chemokine ligand 2), dans des cellules CAR-T anti B7-H3 a favorisé le franchissement de la barrière hématoencéphalique et accru l'efficacité sur les lésions cérébrales tumorales chez la souris [12]. Selon le même principe basé sur le pouvoir attracteur des chimiokines, la co-expression de CCR7 (CC-chemokine receptor 7) dans des cellules CAR-NK (natural killer) anti-CD19 a favorisé la migration vers les cellules humaines de lymphome exprimant CCL19 chez la souris [13].

Conclusion

Comprendre la relation dose-exposition des cellules CAR-T présente de nombreux défis, qu'il faudra relever afin de proposer des stratégies thérapeutiques optimales, à l'échelle de la population mais également à l'échelle de l'individu, en termes d'ingénierie des cellules CAR-

T, de dose, d'associations médicamenteuses. Les avancées des méthodes de quantification, le développement des modèles semi-mécanistiques et basés sur la physiologie, permettront de mieux caractériser les mécanismes impliqués dans les différentes phases pharmacocinétiques et la biodistribution des cellules CAR-T, les sources de variabilité qui leur sont associées, et ainsi de prédire leur comportement dans l'organisme et d'optimiser leur fabrication et leur protocole d'administration. Cette étape incontournable permettra d'améliorer les performances des cellules CAR-T, leur rapport bénéfice-risque, et d'appliquer cette nouvelle technologie à d'autres pathologies, comme les tumeurs solides.

Abréviations

CAR Récepteur antigénique chimérique

CCL Chemokine ligand

Cmax Concentration maximale

CRS Syndrome de relargage des cytokines

PK Pharmacocinétique

qPCR Amplification en chaîne par polymérase quantitative

TEP Tomographie par émission de positons

Références

1. Cheng J *et al.* Monitoring anti-CD19 chimeric antigen receptor T cell population by flow cytometry and its consistency with digital droplet polymerase chain reaction. *Cytometry A*. 2023;103(1):16-26.
2. Pan D *et al.* Feasibility of in vivo CAR T cells tracking using streptavidin-biotin-paired positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2022;49(13):4419-26.

3. Pfeifer R *et al.* A multimodal imaging workflow for monitoring CAR T cell therapy against solid tumor from whole-body to single-cell level. *Theranostics*. 2022;12(11):4834-50.
4. Derippe T *et al.* Mechanistic Modeling of the Interplay Between Host Immune System, IL-7 and UCART19 Allogeneic CAR-T Cells in Adult B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Res Commun*. 2022;2(11):1532-44.
5. Qi T *et al.* Cellular kinetics: A clinical and computational review of CAR-T cell pharmacology. *Adv Drug Deliv Rev*. 2022;188:114421.
6. Sta Maria NS *et al.* Spatio-temporal biodistribution of ⁸⁹Zr-oxine labeled huLym-1-A-BB3z-CAR T-cells by PET imaging in a preclinical tumor model. *Sci Rep*. 2021;11(1):15077.
7. Zhang Y *et al.* A Prospective Investigation of Bispecific CD19/22 CAR T Cell Therapy in Patients With Relapsed or Refractory B Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Front Oncol*. 2021;11:664421.
8. Neelapu SS *et al.* Five-year follow-up of ZUMA-1 supports the curative potential of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma. *Blood*. 2023;141(19):2307-15.
9. Hirayama AV *et al.* A novel polymer-conjugated human IL-15 improves efficacy of CD19-targeted CAR T-cell immunotherapy. *Blood Adv*. 2023;7(11):2479-93.
10. Garfall AL *et al.* Anti-BCMA/CD19 CAR T Cells with Early Immunomodulatory Maintenance for Multiple Myeloma Responding to Initial or Later-Line Therapy. *Blood Cancer Discov*. 2023;4(2):118-33.
11. Sun Z *et al.* In situ antigen modification-based target-redirected universal chimeric antigen receptor T (TRUE CAR-T) cell therapy in solid tumors. *J Hematol Oncol*. 2022;15(1):29.

12. Li H *et al.* Targeting brain lesions of non-small cell lung cancer by enhancing CCL2-mediated CAR-T cell migration. *Nat Commun.* 2022;13(1):2154.
13. Schomer NT *et al.* CCR7 expression in CD19 chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells improves migration toward CCL19-expressing lymphoma cells and increases tumor control in mice with human lymphoma. *Cytotherapy.* 2022;24(8):827-34.

Liens d'intérêt

L'autrice déclare être co-directrice d'une thèse avec l'entreprise Sanofi dans le cadre d'un dispositif CIFRE.