



HAL
open science

Développement des CAR-T dans les tumeurs solides

Vincent Alcazer, Christophe Delenda, Laurent Poirot, Stéphane Depil

► To cite this version:

Vincent Alcazer, Christophe Delenda, Laurent Poirot, Stéphane Depil. Développement des CAR-T dans les tumeurs solides. Bulletin du Cancer, 2018, 105, pp.S178 - S187. <10.1016/S0007-4551(19)30048-7>. <hal-03486670>

HAL Id: hal-03486670

<https://hal.science/hal-03486670v1>

Submitted on 20 Jul 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 CC BY-NC 4.0 - Attribution - Non-commercial use - International License

Développement des CAR-T dans les tumeurs solides

Vincent Alcazer^{1,2}, Christophe Delenda³, Laurent Poirot³, Stéphane Depil^{1,3,4,5,*}

1. INSERM U1052, Centre de Recherche en Cancérologie, 69008 Lyon, France
2. Hospices civils de Lyon, Service d'hématologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, 69310 Pierre-Bénite, France
3. Cellectis, 75013 Paris, France
4. Centre Léon Bérard, 69008 Lyon, France
5. Université Claude Bernard Lyon 1, 69100 Villeurbanne, France

*Auteur correspondant.
Stéphane Depil
stephane.depil@lyon.unicancer.fr

Mots clés

CAR
Tumeurs solides
Cible
Immunosuppression
Combinaison
Optimisation

Résumé

Les lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T) ont démontré une efficacité remarquable dans certaines hémopathies malignes, notamment la leucémie aiguë lymphoblastique B et les lymphomes B pour les CAR anti-CD19. Les données dans les tumeurs solides restent quant à elles plutôt décevantes avec tout au plus quelques stabilisations et de rares réponses objectives observées. Ce manque d'efficacité peut être expliqué par différents facteurs : absence de cible spécifique (et donc risque accru de toxicité) et hétérogénéité d'expression, microenvironnement immunosuppresseur, homing insuffisant et faible pénétration intra-tumorale, défaut de persistance des CAR-T. De nombreuses approches sont actuellement envisagées pour contrecarrer ces différents mécanismes de résistance : construction de CAR bispécifiques ou utilisation de *gates* logiques, combinaison avec des inhibiteurs d'*immune checkpoint* ou CAR-T rendus insensibles aux molécules immunosuppressives, ajout de récepteurs de chémokines ou d'enzyme, combinaison avec un virus oncolytique, administration intra-tumorale, sélection de sous-populations mémoires et développement de CAR-T « armés » sécrétant des cytokines type IL-12, -15 ou -18. L'élaboration de CAR-T de dernière génération optimisés devrait à terme permettre de répondre à un besoin thérapeutique majeur notamment dans les tumeurs immunologiquement froides et/ou n'exprimant pas les molécules de CMH de classe I.

Keywords

CAR
Solid tumors
Target
Immunosuppression
Combination
Optimization

Abstract

Development of CAR T-cells in solid tumors: challenges and perspectives

While Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-cells have shown outstanding results in some hematologic malignancies, studies in solid tumors are less encouraging with poor response rates. Several factors can account for this lack of efficiency in solid tumors: heterogeneous expression or absence of specific target antigen (and so higher risk of toxicity), immunosuppressive microenvironment, homing and tumoral trafficking issues or lack of CAR T-cell persistence. Different approaches can be considered to overcome these resistance mechanisms: bispecific CARs, use of logic gates, combination with immune checkpoint inhibitors, engineered CAR T-cells resistant to immunosuppressive

molecules, addition of chemokines or enzymes, combination with oncolytic virus, intra-tumoral administration, selection of memory T cell subpopulations and development of armored CAR T-cells secreting cytokines such as IL-12, -15 or -18. Last generation optimized CAR T-cell design should thus improve therapeutic efficiency. CAR-T cells may represent in a near future a therapeutic breakthrough also in solid tumors, especially in cold tumors and/or tumors lacking MHC class I expression.

Cet article fait partie du numéro supplément *Les cellules CAR-T : une révolution thérapeutique ?* réalisé avec le soutien institutionnel des partenaires Gilead : Kite et Celgene.

Introduction

Les CAR-T représentent sans aucun doute une avancée thérapeutique majeure dans les hémopathies malignes. Les CAR-T de seconde génération (Figure 1) dirigés contre le CD19 ont ainsi démontré une activité remarquable dans la leucémie aiguë lymphoblastique B (LAL) et les lymphomes B. Le tisagenlecleucel (Kymriah, Novartis) a été approuvé par la FDA en août 2017 dans la LAL B en rechute de l'enfant et sujet jeune avec des taux de réponses complètes (RC) de 70-90 % [1]. L'axicabtagene ciloleucel (Yescarta, Kite Pharma) a été approuvé dans les lymphomes

malins non hodgkiniens à grandes cellules de phénotype B en rechute en octobre 2017 avec des taux de RC de l'ordre de 55 % [2]. Les CAR-T anti-BCMA donnent également des résultats très prometteurs dans le myélome multiple [3]. En revanche, les premiers résultats obtenus avec des CAR-T dans les tumeurs solides apparaissent nettement moins spectaculaires. Nous présenterons ici les principaux résultats obtenus dans les tumeurs solides. Nous analyserons les principaux obstacles expliquant les limites d'activité des CAR-T dans ce contexte et les différentes solutions possibles pour les contourner.

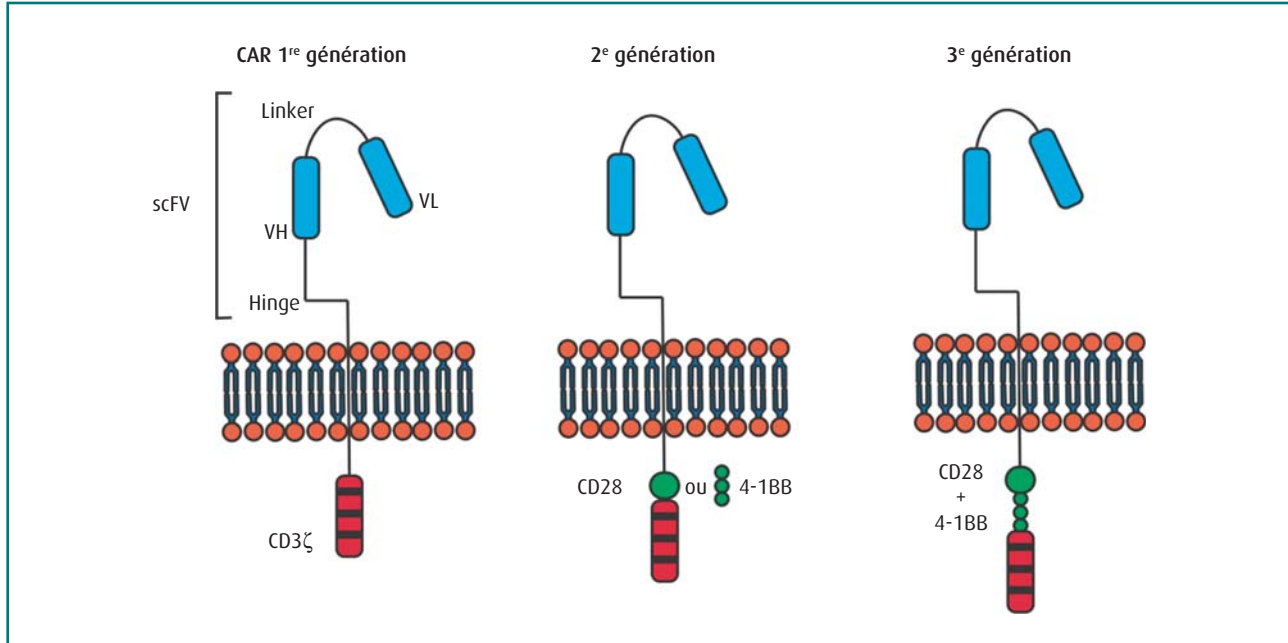


FIGURE 1
Principes de construction des CAR.

Les CAR (« Chimeric Antigen Receptors ») correspondent à des protéines de fusion comprenant un domaine extracellulaire consistant en un fragment d'anticorps (scFV) reconnaissant un antigène membranaire cible présent sur la cellule tumorale, associé à un domaine intracellulaire provenant de protéines de signalisation des lymphocytes T.

La 1^{re} génération de CAR comprenait uniquement CD3ζ. Un domaine de co-stimulation (CD28 ou 4-1BB) a été fusionné au CD3ζ dans les CAR de 2nde génération. La 3^e génération comprend deux domaines de co-stimulation liés à CD3ζ.

Résultats cliniques obtenus avec les CAR-T dans les tumeurs solides (Tableau 1)

TABLEAU 1
Synthèse des résultats des essais cliniques évaluant des CAR-T autologues dans les tumeurs solides.

Cible	Type de cancer	Essai clinique	Domaine de signalisation	Vecteur	Modalités d'administration	Patients (n)	Réponses cliniques	Références
EGFR* & CD133**	Cérébral, Hépatique, ovaire, pancréas et sein, colorectal, LAM, LAL	NCT01869166/NCT02541370	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & 4-1BB	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ and (CD3ζ & 4-1BB) et sein, colorectal, LAM, LAL	IV : 3X (J0 à J2) 2.2x10E6* ou 1.22x10E6** cellules/kg	1	1/1 RP (8.5 mois) après EGFR CAR* 1/1 RP (4.5 mois) après CD133 CAR**	Feng et al. (2017a)
CEA	Hépatique	NCT01373047	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	IA : 3X (sur 6 semaines) 1x10E8 à 1x10E10 cellules totales/dose	6	1/6 SD (25.5 mois)	Katz et al. (2015)
CEA	Hépatique	NCT02416466	Non spécifique	Non spécifique	IA : 3X (toutes les 2 semaines) 1x10E10 cellules totales/dose	6	3/6 SD (moy. 7.5 mois, 3.7 à 12.5 mois)	Katz et al. (2017)
CEA	Colorectal et pancréatique	NCT02850536	Non spécifique	Non spécifique	IA : 3X (1 fois/semaine) 1x10E10 cellules totales/dose	3	1/3 RC (11 mois)	Katz et al. (2018)
CEA	Pancréas, poumon et sein, colorectal et gastrique	NCT02349724	Vecteur lentiviral	Vecteur lentiviral	IV : 1X ou 2X 1x10E5 à 1x10E8 cellules/kg	10	7/10 SD (moy. 5.8 mois, 3.2 à 8.5 mois)	Zhang et al. (2017)
CEA	Ovaire, pancréas, poumon et sein, colorectal et gastrique	NCT01212887	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	IV : 1X (J0) Max 5x10E10 cellules totales	14	7/14 SD (moy. 3.7 mois, 2.7 à 5.2 mois)	Thisletthwaite et al. (2017)
cMET	Sein	NCT01837602	mRNA CD3ζ & 4-1BB	mRNA CD3ζ & 4-1BB	IT : 1X (J0) 3x10E7 or 3x10E8 cellules totales	6	1/6 SD (1+ mois)	Tchou et al. (2017)
EGFR	Tumeurs solides (non spécifiées)	NCT01869166	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	1X à 3X 0.8x10E6 à 4.1x10E6 cellules/kg/dose	17	1/17 RC (22+ mois) 10/17 SD (moy. 6 mois, 2.5 à 15 mois)	Guo et al. (2018)
EGFRVIII	Gliome	NCT02209376	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	IV : 1X (J0) 1x10E7 cellules/kg	10	1/10 SD (18+ mois)	O'Rourke et al. (2015)
GD2	Mélanome	ACTRN12613000198729	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ, CD28 & OX40	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ, CD28 & OX40	IV : 1X (J0) 1x10E7 or 2x10E7 cellules/m2	4	4/4 progressions	Gargett et al. (2016)
GD2	Neuroblastome	NCT00085930	Vecteur gamma-rétroviral	Vecteur gamma-rétroviral	IV : 1X (J0) 1.2x10E7 à 1x10E8 cellules/m2	19	3/19 RC (moy. 28.3 mois, 6 à 58 mois) 1/19 RP (32 mois), 1/19 SD (6 mois)	Louis et al. (2011)
GD2	Neuroblastome	NCT02761915	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	IV 1X (J0) 1x10E7 ou 1x10E8 CAR+ cellules/m2	4	1/4 RP (1.5 mois)	Straathof et al. (2018)
GPC3	Hépatique	NCT02395250	Vecteur lentiviral CD3ζ, CD28 & 4-1BB	Vecteur lentiviral CD3ζ, CD28 & 4-1BB	IV : 1X au moins (J0) 1.3x10E5 to 1.5x10E7 cellules/kg	6	1/6 RP (12.8 mois) 3/6 SD (moy. 11.7 mois, 3.6 à 18.7 mois)	Zhai et al. (2017)

TABLEAU 1
Synthèse des résultats des essais cliniques évaluant des CAR-T autologues dans les tumeurs solides.

Cible	Type de cancer	Essai clinique	Domaine de signalisation	Vecteur	Modalités d'administration	Patients (n)	Réponses cliniques	Références
HER2	Glioblastome	NCT01109095	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	IV : 1X au moins (0) 1x10E6 à 1x10E8 cellules/m2	16	1/16 RP (9 mois) 7/16 SD (1.5 à 30+ mois)	Ahmed <i>et al.</i> (2017)
HER2	Sarcome	NCT00902044	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	IV : 1X à 3X (toutes les 6/12 semaines) 1x10E8 cellules/m2/dose	6	1/6 RC, 2/6 SD (max 14.2 mois)	Hegde <i>et al.</i> (2017)
HER2	Tumeurs solides (non spécifiques)	NCT01935843	Vecteur non spécifié CD3ζ & (CD3ζ & 4-1BB)	Vecteur non spécifié CD3ζ & (CD3ζ & 4-1BB)	IV : 1X ou 2X (0) Moy. 2.1x10E6 cellules/kg/dose	11	1/11 RP (4.5 mois) 5/11 SD (moy. 4.8 mois, 1.5 à 8.3 mois)	Feng <i>et al.</i> (2017b)
IL13RA2	Gliome	NCT02208362	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	IT : 16X (sur 220 jours) 2x10E6 (1X) à 1x10E7 (2X à 16X) cellules totales/dose	1	1/1 RP (7.5 mois)	Brown <i>et al.</i> (2016)
Mésothéline	Poumon	NCT01355965	mRNA CD3ζ & 4-1BB	mRNA CD3ζ & 4-1BB	IV : 3X (1fois/semaine) à 10X (1 à 3 fois/semaine) IT : 9X-10X 1x10E8 à 1x10E9 cellules totales/dose	2	1/1 RP (6 mois) 1/1 SD (2.5 mois)	Beatty <i>et al.</i> (2014)
Mésothéline	Pancréas	NCT01897415	mRNA CD3ζ & 4-1BB	mRNA CD3ζ & 4-1BB	IV : 3X (1 fois/semaine) 1x10E8 à 3x10E8 cellules/m2/dose	6	2/6 SD (max 4 mois)	Beatty <i>et al.</i> (2015)
Mésothéline	Ovaire, pancréas et poumon	NCT02159716	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	Vecteur lentiviral CD3ζ & 4-1BB	IV : 1X (0) 3x10E7 ou 3x10E8 cellules/m2	6	6/6 SD (à 1 mois)	Tanyi <i>et al.</i> (2016)
PSMA	Prostate	NCT01140373	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ & CD28	IV : 1X (0) 1x10E7 à 3x10E7 cellules/kg	4	2/4 SD (6+ et 16+ mois)	Slovin <i>et al.</i> (2013)
PSMA	Prostate	NCT00664196	Vecteur gamma-rétroviral Domains unspecified	Vecteur gamma-rétroviral Domains unspecified	IV : 1X (0) 1x10E9 ou 1x10E10 cellules totales	18	2/5 RP (moy. 5+ mois)	Junghans <i>et al.</i> (2013)
TAG-72	Colorectal	C-9701	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	IV : 3X or 5X (toutes les 2 semaines) 1x10E8 à 1x10E10 cellules totales/dose	9	9/9 progressions	Hege <i>et al.</i> (2017)
TAG-72	Colorectal	C-9702	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	Vecteur gamma-rétroviral CD3ζ	IA : 4X 1x10E9 ou 1x10E10 cellules totales/dose	3	3/3 progressions	Hege <i>et al.</i> (2017)

LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde, LAL : Leucémie aiguë Lymphoïde, IA : Intra-artérielle, IT : Intra-tumorale, IV : Intra-veineuse, RC : réponse complète, RP : réponse partielle, SD : Maladie stable

CAR dirigé contre la mésothéline

La mésothéline est un antigène tumoral présent au niveau du mésothéliome pleural, des cancers du pancréas et ovaire. Compte tenu d'une expression également partagée par le péricarde, la plèvre et le péricarde, le premier CAR-T évalué dans ce contexte a été construit pour avoir une expression transitoire par transfection ARN sans lymphodéplétion préalable [4]. Le profil de tolérance était satisfaisant en dehors d'une réaction anaphylactique à l'encontre du scFv murin utilisé dans la construction, favorisée ici par un schéma d'administration répété. D'autres essais ont ensuite été mis en place dans les cancers du pancréas et de l'ovaire utilisant un CAR classique de seconde génération (toujours avec scFv murin). Seules des stabilisations ont pu être observées, sans aucune réponse objective [5].

CAR dirigé contre CEA

Quatre essais de phase I évaluant un CAR dirigé contre la protéine CEA dans les tumeurs hépatiques et digestives ont été rapportés [6,7]. Le profil de tolérance apparaît satisfaisant mais on note l'absence d'expansion durable des CAR-T injectés (CAR de seconde génération CD3 ζ / CD28 dans l'étude de Zhang). Des stabilisations de la maladie (SD) ont pu être observées, sans réponse objective.

CAR dirigé contre EGFR et variants

Deux essais chinois ont évalué un CAR dirigé contre le récepteur à l'EGF (EGFR) natif dans les cancers des voies biliaires [8] et le cancer du poumon non à petites cellules [9], montrant dans le premier cas une RC et 10 SD sur 17 patients évalués, et dans le second 2 réponses partielles (RP) et 5 SD sur 11 patients évalués. Le profil de tolérance semble acceptable avec une toxicité cutanéomuqueuse n'excédant pas le grade 1/2.

EGFRvIII est une forme mutée d'EGFR communément associée au glioblastome. Une étude a ainsi évalué un CAR de seconde génération (CD3 ζ / 4-1BB) anti-EGFRvIII dans le glioblastome en rechute [10]. Le profil de tolérance était satisfaisant. Une maladie résiduelle stable pendant 18 mois a été rapportée chez un patient sur les 10 traités, avec une expansion transitoire des CAR-T détectable dans le sang. La présence de CAR-T dans la tumeur a été mise en évidence chez sept patients ayant bénéficié d'une chirurgie après l'infusion. Cette infiltration était associée à une perte d'expression de la cible chez cinq patients, soulignant le problème d'hétérogénéité d'expression antigénique dans la tumeur.

CAR dirigé contre HER2

Le premier essai mené par le NCI évaluant un CAR de troisième génération (CD28/4-1BB/CD3 ζ) avec un scFv de forte affinité dérivé de l'Herceptine a dû être stoppé suite au décès d'un patient atteint d'un cancer colique ayant présenté une détresse respiratoire associée à la présence du CAR-T dans le poumon, en lien avec un faible niveau d'expression de HER2 dans le tissu pulmonaire [11]. Un autre essai a évalué des doses plus faibles de CAR-T possédant un scFv de plus faible affinité dans le sarcome, montrant un profil de tolérance satisfaisant mais une activité clinique modeste [12]. Un essai a également évalué des CAR-T

anti-HER2 administrés IV sans lymphodéplétion préalable chez 17 patients présentant un glioblastome HER2-positif en rechute. Sur 16 patients évaluable, un patient a présenté une RP et 7 une SD avec une bonne tolérance globale [13].

CAR dirigé contre PSMA

PSMA est une protéine membranaire surexprimée dans le cancer de la prostate par la plupart des cellules tumorales et par les néo-vaisseaux, suggérant un effet anti-angiogénique ajouté à l'effet anti-tumoral direct d'un CAR-T dirigé contre PSMA. Deux CAR-T de seconde génération anti-PSMA (CD3 ζ / CD28) ont été évalués en phase I. Dans l'essai du MSKCC une SD de 6 mois a pu être obtenue chez 2 patients sur 4 [14]. L'étude du Roger William Medical Center a mis en évidence 2 RP sur 5 patients évalués. La réponse était associée à un taux plasmatique d'IL-2 plus élevé [15]. Ces résultats justifient la poursuite d'essais cliniques évaluant des CAR optimisés ciblant PSMA (essai NCT03089203 par exemple).

CAR dirigé contre IL-13R α

IL-13R α est surexprimé dans la moitié des glioblastomes avec une expression faible dans le tissu cérébral normal. Une première publication montrait la tolérance satisfaisante de l'injection intracrânienne de CAR-T dirigés contre IL-13R α avec 2 patients présentant des signes de réponse à l'IRM [16]. Un patient en rémission après injections intracrâniennes répétées de CAR-T dirigés contre IL-13R α a été rapporté dans le *New England Journal of Medicine*. À noter qu'une augmentation concordante des cellules immunitaires et de différentes cytokines était observée dans le liquide céphalorachidien [17].

CAR dirigé contre GD2

GD2 est un disialoganglioside surexprimé par les tumeurs d'origine neuro-ectodermique notamment le neuroblastome. Un CAR de première génération a été évalué chez 19 patients atteints de neuroblastome et a permis l'obtention de 3 RC et 1 RP [18]. Une étude de phase I d'escalade de doses évaluant un CAR de dernière génération a été rapportée à l'AAO 2018. Les premiers paliers montraient l'absence de réponse, en lien avec l'absence d'expansion des CAR-T injectés. Au dernier palier testé (1×10^8 cellules/m²), une réponse transitoire a pu être observée [19].

CAR dirigé contre glypican 3

Glypican-3 est un protéoglycane de surface surexprimé dans le carcinome hépatocellulaire. Un CAR de troisième génération anti-glypican 3 a été évalué au Renji Hospital. Les patients qui n'ont pas reçu de lymphodéplétion préalable ont progressé alors qu'une réponse objective et 3 SD prolongées ont été observées parmi les 6 patients qui ont reçu une lymphodéplétion [20].

Autres CAR

D'autres essais sont en cours avec des CAR dirigés contre CD70, CD 171 (L-1 CAM) dans le neuroblastome, claudine 18 dans les cancers du pancréas et de l'estomac, EPCAM, EPHA2, FAP, LMP1 dans le carcinome indifférencié du nasopharynx lié à l'EBV,

MUC1, MUC16, PD-L1, PSCA dans le pancréas, ROR1, TAG-72 dans le cancer colorectal, etc. Les résultats cliniques restent attendus.

Facteurs limitant l'efficacité des CAR-T dans les tumeurs solides

Comme le montrent les différentes études mentionnées plus haut, les CAR-T ont pour l'instant donné des résultats beaucoup moins satisfaisants dans les tumeurs solides que dans les hémopathies, avec quelques stabilisations et très peu de réponses objectives. Différents facteurs, détaillés ci-dessous, se combinent dans les tumeurs solides pour expliquer cette relative inefficacité des CAR-T « classiques ».

Absence d'antigènes membranaires spécifiques et hétérogénéité d'expression

L'origine myélo-sanguine permet d'utiliser dans les hémopathies des antigènes d'expression restreinte tels que CD19, CD20, CD22, CD123, CLL1, BCMA, etc. Les cibles membranaires dans les tumeurs solides sont souvent surexprimées par la tumeur mais retrouvées également dans différents tissus sains parfois critiques. Si le différentiel d'expression permet un niveau de sélectivité tumorale suffisant pour des approches anticorps classiques ou même armés, un niveau d'expression même faible par un tissu sain peut être à l'origine d'une toxicité rédhibitoire avec un CAR optimisé. L'expression faible de HER2 par le tissu pulmonaire explique ainsi la toxicité observée avec un CAR de forte affinité dérivé de l'Herceptine [11].

Une autre problématique liée à la cible est l'hétérogénéité d'expression avec la sélection des clones tumoraux n'exprimant pas l'antigène d'intérêt (mécanisme de résistance mis en évidence en hématologie avec CD19 malgré une expression forte et homogène au départ). Il paraît ainsi nécessaire de combiner différentes spécificités. De telles combinaisons sont ainsi envisagées dans le glioblastome compte tenu des limitations observées avec un CAR ciblant uniquement EGFRVIII [10].

Immunosuppression associée au microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral est caractérisé par la présence de cellules immunosuppressives comprenant notamment des cellules T régulatrices, des cellules suppressives d'origine myéloïde (MDSCs) et des macrophages M2. Ces différentes populations cellulaires et les cytokines sécrétées, comme le TGF- β et l'IL-10, contribuent à réduire l'activité des CAR-T qui arriveraient au sein de cet environnement hostile du point de vue immunitaire [21]. À cela s'ajoute l'expression de différents checkpoints négatifs (PD-L1, IDO, TIM3, LAG3, etc.) présents de manière constitutive ou induite [22]. Une éventuelle activation des CAR-T avec production d'IFN- γ favorisera ainsi l'expression de PD-L1 ou IDO au sein de la tumeur, ce qui viendra limiter l'efficacité dans le temps des CAR-T injectés.

D'autres facteurs inhibiteurs sont présents dans les tumeurs solides, associés à l'hypoxie, le manque de nutriments, un pH acide ou la présence d'acide lactique [23].

Problèmes de homing et d'accès au site tumoral des CAR-T

Alors que la pénétration des CAR-T dans la moelle osseuse et les ganglions semble satisfaisante, leur pénétration dans les tumeurs solides semble plus compliquée en raison des barrières physiques et biochimiques mises en place. Le trafic des lymphocytes T jusqu'au site tumoral correspond en fait à un processus dynamique mettant en jeu un réseau complexe d'interactions. Les récepteurs aux chémokines exprimés par les CAR-T doivent correspondre aux chémokines sécrétées par la tumeur. Il a ainsi été montré qu'une inadéquation entre les chémokines et les récepteurs était impliquée dans le faible recrutement des CAR-T au niveau du site tumoral. De nombreuses tumeurs sécrètent en effet soit peu de chémokines soit des chémokines pour lesquelles les lymphocytes T effecteurs n'expriment pas le récepteur correspondant [21]. L'endothélium tumoral représente également une barrière à l'infiltration des cellules T. Une bonne pénétration dans la tumeur nécessite donc que les cellules T et l'endothélium expriment les molécules et les récepteurs d'adhésion adéquats. Durant le processus d'extravasation, les lymphocytes T dégradent des composantes de la membrane basale sous-endothéliale et de la matrice extra-cellulaire, dont les héparanes sulfates. Les CAR-T doivent ainsi libérer l'héparanase pour accéder aux cellules tumorales. Un déficit en héparanase a été associé à une diminution de l'activité anti-tumorale des CAR-T dans des modèles tumoraux possédant un stroma dense [24].

Absence de persistance des CAR-T

Un faible niveau de persistance des CAR-T a été observé dans les tumeurs solides comparativement à ce qui a pu être décrit avec les CAR-T autologues dirigés contre CD19 dans les hémopathies lymphoïdes. La persistance de CAR-T à des niveaux significatifs dépend des capacités d'expansion initiale d'une part et de la présence de cellules de phénotype mémoire central d'autre part. Ainsi, une faible présence de cellules mémoires de type « *central memory* » (T_{CM}) ou « *stem cell-like memory* » (T_{SCM}) au sein des CAR-T injectés, un environnement immunosuppresseur peu propice à la survie des CAR-T, la difficulté d'accès aux cellules tumorales exprimant l'antigène nécessaire à l'activation et l'expansion des CAR-T, ou encore l'immunogénicité de la construction du CAR, sont autant de facteurs pouvant limiter la persistance [25].

Approches destinées à augmenter l'efficacité des CAR-T dans les tumeurs solides (Tableau 2)

Stratégies destinées à pallier à l'absence de cible spécifique exprimée de manière homogène

Compte tenu de l'absence de cible réellement spécifique et de l'hétérogénéité d'expression des antigènes dans les tumeurs solides, une possibilité théorique est de discriminer les cellules tumorales des cellules saines à partir d'une combinatoire d'antigènes. Ceci a amené à développer des constructions de

TABLEAU 2

Facteurs limitant l'efficacité des CAR-T dans les tumeurs solides et solutions proposées.

Facteurs limitants	Stratégies proposées
Absence de cible spécifique / Hétérogénéité d'expression des cibles	<ul style="list-style-type: none"> - CAR bispécifiques - « Gates » logiques (AND, NOT et OR)
Immunosuppression	<ul style="list-style-type: none"> - Combinaisons avec des inhibiteurs d'<i>immune checkpoint</i> - CAR-T avec KO de PD-1, PD-1 dominant négatif/chimérique (PD-1/CD28) - CAR-T TGFβ-R II KO ou dominant négatif
Problème de homing et d'accès au site tumoral	<ul style="list-style-type: none"> - Ajout de récepteurs de chémokines (CXCR2, CCR2b, CCR4) - Expression d'enzymes type héparanase - Combinaison avec virus oncolytique - Administration intra-tumorale
Manque de persistance	<ul style="list-style-type: none"> - Sélection et enrichissement de T_{scm} et T_{cm} - Utilisation de lymphocytes mémoires spécifiques de virus (EBV, CMV) - CAR-T « armés » sécrétant des cytokines (IL-12, -15, -18)

T_{cm} : Lymphocyte T « central memory », T_{scm} : Lymphocyte T « stem cell-like memory »

CAR s'articulant autour de circuits logiques booléens, avec le développement de « gates » AND, NOT et OR (Figure 2). Dans le cas de la « gate AND », l'activation n'a lieu qu'en cas de reconnaissance de 2 cibles A et B de manière simultanée. Une première approche a consisté à séparer le signal CD3ζ et le signal de co-stimulation sur 2 récepteurs chimériques différents exprimés dans la même cellule T [26]. Une autre approche repose sur l'utilisation d'un récepteur Notch synthétique (synNotch). La fixation à un premier antigène A induit le clivage du domaine Notch contenant un activateur transcriptionnel qui est transloqué au noyau. Ce signal active la transcription du CAR se liant à l'antigène B pour induire l'activité cytotoxique du CAR [27]. Dans le cas d'une « gate NOT », il y a combinaison entre un récepteur CAR activateur reconnaissant A et un récepteur CAR inhibiteur (dont la région intracellulaire est dérivée d'un récepteur inhibiteur comme PD-1 ou CTLA-4) reconnaissant B (antigène exprimé par une

cellule normale). Le lymphocyte T s'activera uniquement en cas de fixation à l'antigène A, protégeant ainsi les cellules normales exprimant B. Enfin, dans une « gate OR », le lymphocyte T possède 2 récepteurs CAR reconnaissant A et B, permettant à la cellule T de s'activer en cas de reconnaissance de A et/ou de B, ce qui permet de contrecarrer la résistance liée à l'absence d'expression d'une cible en cas d'hétérogénéité tumorale.

Stratégies pour contrecarrer les mécanismes immunosuppresseurs

Combinaison avec un *immune checkpoint* inhibiteur et construction de CAR-T insensibles à PD-L1

Il existe un rationnel solide pour associer les CAR-T avec un inhibiteur de *checkpoint* type anti-PD1/-L1. Les tumeurs solides vont, en effet, (i) soit exprimer d'emblée PD-L1 au niveau des

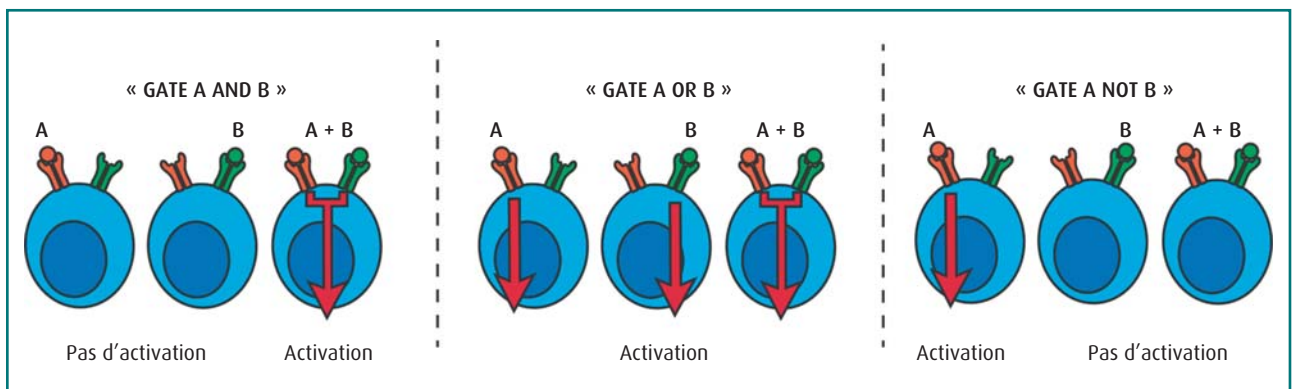


FIGURE 2

Principe de fonctionnement des « gates » logiques.

Le lymphocyte T exprime deux récepteurs différents : l'un spécifique d'un antigène A, l'autre d'un antigène B.

Gate « AND » : Le signal d'activation n'est déclenché qu'en cas de reconnaissance concomitante des deux antigènes A et B ;

Gate « OR » : Le signal d'activation est transmis en cas de reconnaissance de l'antigène A, de B ou des deux.

Gate « NOT » : Le signal d'activation est transmis en cas de reconnaissance de l'antigène A, mais pas en cas de reconnaissance de B (signal inhibiteur).

cellules tumorales ou de leur microenvironnement, (ii) soit l'activité des CAR-T va induire l'expression de PD-L1 dans la tumeur en réponse à la production d'IFN- γ , ce qui va venir moduler son efficacité [22]. Différentes données précliniques confirment ce rationnel de combinaison [28,29]. Une autre possibilité est d'utiliser un CAR-T avec un KO de PD-1, un dominant négatif de PD-1 ou un PD-1 chimérique PD1/CD28 utilisant la partie cytoplasmique de CD28 pour transformer un signal inhibiteur en signal activateur [30,31].

Développement de CAR-T TGF β -RII négatif ou dominant négatif

Le TGF β est produit par de nombreux types tumoraux. Le TGF β inhibe les fonctions des lymphocytes T et semble jouer un rôle majeur dans les phénomènes d'exclusion immunitaire des cellules T [32]. Différentes stratégies peuvent être utilisées pour contrecarrer le TGF β : association avec un anticorps anti-TGF β , utilisation de CAR-T KO pour le TGF β Récepteur II ou CAR-T exprimant un dominant négatif du TGF β Récepteur II [21]. Suite à la preuve de concept réalisée en préclinique dans un modèle de prostate [33], un essai de phase I est actuellement en cours dans le cancer de la prostate avec un CAR-T PSMA- TGF β Récepteur II dominant négatif (NCT03089203).

Stratégies destinées à favoriser l'accès à la tumeur

Ajout de récepteurs de chémokines

Plusieurs récepteurs de chémokines ont été évalués en préclinique pour favoriser l'accès à la tumeur des lymphocytes T. Il a ainsi été montré que la surexpression de CXCR2 augmentait la migration des lymphocytes T via la reconnaissance de CXCL1 produit par la tumeur [34]. L'équipe de Moon a évalué un CAR anti-mésothélium surexprimant CCR2b dans un modèle de mésothéliome et a pu mettre en évidence une augmentation de la migration des CAR-T dans la tumeur associée à une activité anti-tumorale accrue [35]. Une observation similaire a pu être faite avec un CAR-T anti-GD2 exprimant CCR2b dans un modèle de neuroblastome sécrétant CCL2 [36]. Enfin, il a été montré que l'expression de CCR4 par des CAR-T anti-CD30 augmentait leur migration dans un modèle de xénogreffe de lymphome de Hodgkin sécrétant CCL17 [37].

Approches favorisant la pénétration dans le stroma tumoral

La surexpression de l'héparanase (enzyme dégradant l'héparane sulfate) est susceptible de favoriser l'infiltration des CAR-T au sein du stroma tumoral, notamment si celui-ci est dense. Il a ainsi été montré qu'un CAR-T exprimant l'héparanase possédait une activité anti-tumorale accrue, en rapport avec une meilleure pénétration au sein de la tumeur [24].

Combinaison avec des virus oncolytiques

L'inflammation induite par un virus oncolytique est susceptible de favoriser le recrutement de CAR-T et de moduler l'environnement immunosuppresseur. Il a ainsi été montré qu'un virus oncolytique produisant la chémokine RANTES et l'IL-15 possédait

non seulement un effet lytique direct sur les cellules tumorales, mais en plus favorisait le recrutement et la survie de CAR-T GD2 dans un modèle de neuroblastome [38]. Les virus oncolytiques vont, d'une manière générale, induire un microenvironnement pro-inflammatoire favorisant l'infiltration des cellules T, avec production des chémokines CXCL9, CXCL10 et CXCL11, et rompre la barrière physique à la pénétration des cellules T. L'inflammation va aussi entraîner une augmentation des sélectines sur les cellules endothéliales favorisant l'infiltration T. Enfin, certains virus comme le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) peuvent se répliquer au sein des fibroblastes associés aux tumeurs (CAFs) et les détruire. Ces fibroblastes ayant un rôle majeur dans la mise en place d'un stroma desmoplasique et immunosuppresseur, leur déplétion par un virus oncolytique va favoriser la pénétration des cellules T au sein de la tumeur. Il existe donc un rationnel solide pour associer CAR-T et virus oncolytique. De plus, la possibilité d'une utilisation systémique de certains virus oncolytiques permet d'envisager une distribution des CAR-T aux différentes lésions tumorales [39].

Administration intra-tumorale des CAR-T

L'administration de CAR-T ciblant la mésothélium en intra-pleural a été comparée avec la voie IV dans un modèle orthotopique de mésothéliome. Une efficacité supérieure était observée après injection intra-pleurale associée à une persistance prolongée. L'élimination de lésions extra-thoraciques était également observée suggérant une circulation des CAR-T à partir du site d'injection [40]. Des injections locales ont été réalisées en clinique dans le glioblastome, suggérant un effet positif de l'injection de CAR-T IL-13R α dans la cavité tumorale réséquée et dans les ventricules, avec un effet à la fois sur les lésions cérébrales et médullaires [17].

Approches destinées à renforcer la persistance et l'activité des CAR-T

Compte tenu de l'importance des cellules mémoires T_{CM} ou T_{SCM} pour assurer une persistance au long cours des CAR-T injectés, certains auteurs ont proposé de transduire des T_{SCM} et T_{CM} sélectionnés [41]. Des lymphocytes T mémoires spécifiques de virus comme EBV et CMV (caractérisés par une persistance à long terme) et transduits avec le récepteur CAR d'intérêt ont également été utilisés [18].

D'autres équipes ont modifié les CAR-T de manière à leur faire sécréter des cytokines favorisant leur survie ou leur activité. Il a ainsi été montré qu'un CAR-T sécrétant de l'IL-12 (de manière constitutive ou après activation) possédait une activité cytotoxique accrue tout en induisant une repolarisation Th1 attirant les cellules T endogènes et des cellules de l'immunité innée [42]. Une publication récente montre qu'un CAR-T sécrétant de l'IL-18 présente une expansion et une persistance augmentées [43]. De même, l'expression d'IL-15 est susceptible de favoriser la prolifération et la persistance des CAR-T [44].

Conclusion et perspectives

Même si les résultats observés jusqu'à ce jour restent assez décevants dans les tumeurs solides, de nombreuses approches

sont envisagées pour permettre la construction de CAR-T de nouvelle génération optimisés, possédant une meilleure sélectivité tumorale, de meilleures capacités d'accès à la tumeur et une activité accrue dans un contexte immunosuppresseur. Les approches de *gene editing* aujourd'hui disponibles permettent de cumuler de nombreuses modifications, qui devront néanmoins satisfaire à un processus rigoureux de contrôle qualité et de qualification réglementaire. Les approches de combinaison ouvrent également des perspectives tout à fait intéressantes. À terme, les approches CAR-T pourraient représenter une thérapeutique de choix, « supra-physiologique », capable de venir modifier l'histoire naturelle de tumeurs immunologiquement froides, et ce

de manière indépendante de l'expression du CMH de classe I par la tumeur. Le réel potentiel de « rupture thérapeutique » associée justifie donc la poursuite des efforts accomplis dans ce domaine.

Déclaration de liens d'intérêts :

V. Alcazer déclare avoir perçu des financements pour participation à des congrès, actions de formation de la part des laboratoires Amgen et Novartis. C. Delenda et L. Poirot déclarent être employés de Collectis. S. Depil déclare être employé de Collectis et avoir réalisé des activités de consultation ou des prestations pour AstraZeneca, BMS, Servier, Elsaly, Erytech, PDC[®]line Pharma, Epivax, Netris Pharma, et Celyad. Cet article fait partie du numéro supplément *Les cellules CAR-T : une révolution thérapeutique ?* réalisé avec le soutien institutionnel des partenaires Gilead : Kite et Celgene.

Références

- [1] 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;378:439-48.
- [2] 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.
- [3] Brudno JN, Maric I, Hartman SD, Rose JJ, Wang M, Lam N, et al. T Cells Genetically Modified to Express an Anti - B-Cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor Cause Remissions of Poor-Prognosis Relapsed Multiple Myeloma. *JCO* 2018;36:2267-80.
- [4] Beatty GL, Haas AR, Maus MV, Torigian DA, Soulen MC, Plesa G, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies. *Cancer Immunol Res* 2014;2:112-20.
- [5] Tanyi JL, Haas AR, Beatty GL, Stashwick CJ, O'Hara MH, Morgan MA, et al. Antimesothelin chimeric antigen receptor T cells in patients with epithelial ovarian cancer. *JCO* 2016;34:5511-5511.
- [6] Katz SC, Burga RA, McCormack E, Wang LJ, Mooring W, Point GR, et al. Phase I Hepatic Immunotherapy for Metastases Study of Intra-Arterial Chimeric Antigen Receptor - Modified T-cell Therapy for CEA+ Liver Metastases. *Clin Cancer Res* 2015;21:3149-59.
- [7] Zhang C, Wang Z, Yang Z, Wang M, Li S, Li Y, et al. Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA+ Metastatic Colorectal Cancers. *Molecular Therapy* 2017;25:1248-58.
- [8] Guo Y, Feng K, Liu Y, Wu Z, Dai H, Yang Q, et al. Phase I Study of Chimeric Antigen Receptor - Modified T Cells in Patients with EGFR-Positive Advanced Biliary Tract Cancers. *Clin Cancer Res* 2018;24:1277-86.
- [9] Feng K, Guo Y, Dai H, Wang Y, Li X, Jia H, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer. *Sci China Life Sci* 2016;59:468-79.
- [10] 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. *Sci Transl Med* 2017;9.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] Ahmed N, Brawley V, Hegde M, Bielamowicz K, Kalra M, Landi D, et al. HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified Virus-Specific T Cells for Progressive Glioblastoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial. *JAMA Oncol* 2017;3:1094-101.
- [14] Slovin SF, Wang X, Hullings M, Arauz G, Bartido S, Lewis JS, et al. Chimeric antigen receptor (CAR+) modified T cells targeting prostate-specific membrane antigen (PSMA) in patients (pts) with castrate metastatic prostate cancer (CMPC). *JCO* 2013;31:72-72.
- [15] Junghans RP, Ma Q, Rathore R, Gomes EM, Bais AJ, Lo ASY, et al. Phase I Trial of Anti-PSMA Designer CAR-T Cells in Prostate Cancer: Possible Role for Interacting Interleukin 2-T Cell Pharmacodynamics as a Determinant of Clinical Response. *Prostate* 2016;76:1257-70.
- [16] Brown CE, Badie B, Barish ME, Weng L, Ostberg JR, Chang W-C, et al. Bioactivity and Safety of IL13R α 2-Redirected Chimeric Antigen Receptor CD8+ T Cells in Patients with Recurrent Glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2015;21:4062-72..
- [17] Brown CE, Alizadeh D, Starr R, Weng L, Wagner JR, Naranjo A, et al. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *New England Journal of Medicine* 2016;375:2561-9..
- [18] 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. 49.
- [19] Straathof K, Flutter B, Wallace R, Thomas S, Cheung G, Collura A, et al. 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. *Proceedings: AACR Annual Meeting 2018; April 14-18, 2018; Chicago, IL.*
- [20] Zhai B, Shi D, Gao H, Qi X, Jiang H, Zhang Y, et al. A phase I study of anti-GPC3 chimeric antigen receptor modified T cells (GPC3 CAR-T) in Chinese patients with refractory or relapsed GPC3+ hepatocellular carcinoma (r/r GPC3+ HCC). *JCO* 2017;35:3049-3049.
- [21] Mirzaei HR, Rodriguez A, Shepphird J, Brown CE, Badie B. Chimeric Antigen Receptors T Cell Therapy in Solid Tumor: Challenges and Clinical Applications. *Front Immunol* 2017;8.
- [22] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* 2012;12:252-64.
- [23] Zhang E, Gu J, Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for solid tumors. *Molecular Cancer* 2018;17:7.

- [24] Caruana I, Savoldo B, Hoyos V, Weber G, Liu H, Kim ES, et al. Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirectioned T lymphocytes. *Nat Med* 2015;21:524-9.
- [25] Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. Driving CAR T-cells forward. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13:370-83.
- [26] Kloss CC, Condomines M, Cartellieri M, Bachmann M, Sadelain M. Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells. *Nat Biotechnol* 2013;31:71-5.
- [27] Roybal KT, Rupp LJ, Morsut L, Walker WJ, McNally KA, Park JS, et al. Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell* 2016;164:770-9.
- [28] Moon EK, Wang L-C, Dolfi DV, Wilson CB, Ranganathan R, Sun J, et al. Multifactorial T-cell Hypofunction That Is Reversible Can Limit the Efficacy of Chimeric Antigen Receptor – Transduced Human T cells in Solid Tumors. *Clin Cancer Res* 2014;20:4262-73.
- [29] John LB, Devaud C, Duong CPM, Yong CS, Beavis PA, Haynes NM, et al. Anti-PD-1 Antibody Therapy Potently Enhances the Eradication of Established Tumors By Gene-Modified T Cells. *Clin Cancer Res* 2013;19:5636-46.
- [30] Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, Feng Y, Dimitrov DS, Jones DR, et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition. *J Clin Invest* 2016;126:3130-44.
- [31] Liu X, Ranganathan R, Jiang S, Fang C, Sun J, Kim S, et al. A chimeric switch-receptor targeting PD1 augments the efficacy of second generation CAR T-Cells in advanced solid tumors. *Cancer Res* 2016;76:1578-90.
- [32] Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, Castiglioni A, Yuen K, Wang Y, et al. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature* 2018;554:544-8.
- [33] Kloss CC, Lee J, Zhang A, Chen F, Melenhorst JJ, Lacey SF, et al. Dominant-Negative TGF- β Receptor Enhances PSMA-Targeted Human CAR T Cell Proliferation And Augments Prostate Cancer Eradication. *Molecular Therapy* 2018.
- [34] Peng W, Ye Y, Rabinovich BA, Liu C, Lou Y, Zhang M, et al. Transduction of Tumor-Specific T Cells with CXCR2 Chemokine Receptor Improves Migration to Tumor and Antitumor Immune Responses. *Clin Cancer Res* 2010;16:5458-68.
- [35] Moon EK, Carpenito C, Sun J, Wang L-CS, Kapoor V, Predina J, et al. Expression of a Functional CCR2 Receptor Enhances Tumor Localization and Tumor Eradication by Retargeted Human T cells Expressing a Mesothelin-Specific Chimeric Antibody Receptor. *Clin Cancer Res* 2011;17:4719-30. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-0351.
- [36] Craddock JA, Lu A, Bear A, Pule M, Brenner MK, Rooney CM, et al. Enhanced tumor trafficking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b. *J Immunother* 2010;33:780-8.
- [37] Di Stasi A, De Angelis B, Rooney CM, Zhang L, Mahendravada A, Foster AE, et al. T lymphocytes coexpressing CCR4 and a chimeric antigen receptor targeting CD30 have improved homing and antitumor activity in a Hodgkin tumor model. *Blood* 2009;113:6392-402.
- [38] 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.
- [39] Twumasi-Boateng K, Pettigrew JL, Kwok YYE, Bell JC, Nelson BH. Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2018;18:419-32.
- [40] Adusumilli PS, Cherkassky L, Villena-Vargas J, Colovos C, Servais E, Plotkin J, et al. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity. *Sci Transl Med* 2014;6:261ra151.
- [41] Wang X, Popplewell LL, Wagner JR, Naranjo A, Blanchard MS, Mott MR, et al. Phase 1 studies of central memory-derived CD19 CAR T-cell therapy following autologous HSCT in patients with B-cell NHL. *Blood* 2016;127:2980-90.
- [42] Zhang L, Kerkar SP, Yu Z, Zheng Z, Yang S, Restifo NP, et al. Improving Adoptive T Cell Therapy by Targeting and Controlling IL-12 Expression to the Tumor Environment. *Molecular Therapy* 2011;19:751-9.
- [43] Avanzi MP, Yeku O, Li X, Wijewarnasuriya DP, van Leeuwen DG, Cheung K, et al. Engineered Tumor-Targeted T Cells Mediate Enhanced Anti-Tumor Efficacy Both Directly and through Activation of the Endogenous Immune System. *Cell Rep* 2018;23:2130-41.
- [44] Krenciute G, Prinzing BL, Yi Z, Wu M-F, Liu H, Dotti G, et al. Transgenic Expression of IL15 Improves Antiglioma Activity of IL13 α 2-CAR T Cells but Results in Antigen Loss Variants. *Cancer Immunol Res* 2017;5:571-81.