



**HAL**  
open science

# Les CAR-NK allogéniques : une alternative prometteuse aux CAR-T autologues – État de la question, sources de cellules NK, limites et perspectives

Stéphanie Nguyen, Claire Lacan, Damien Roos-Weil

## ► To cite this version:

Stéphanie Nguyen, Claire Lacan, Damien Roos-Weil. Les CAR-NK allogéniques : une alternative prometteuse aux CAR-T autologues – État de la question, sources de cellules NK, limites et perspectives. *Bulletin du Cancer*, 2021, 108 (10), pp.S81-S91. 10.1016/j.bulcan.2021.06.007 . hal-03983107

**HAL Id: hal-03983107**

**<https://hal.science/hal-03983107>**

Submitted on 8 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

# Les CAR-NK allogéniques : une alternative prometteuse aux CAR-T autologues- Etat de la question, sources de cellules NK, limites et perspectives

---

## *Allogeneic CAR-NK cells: a promising alternative to autologous CAR-T cells - State of the art, sources of NK cells, limits and perspectives*

**Stéphanie Nguyen<sup>1,2\*</sup>, Claire Lacan<sup>1,2</sup>, Damien Roos-Weil<sup>1,3</sup>**

### **Affiliations :**

1 . Sorbonne Université. Service d'Hématologie clinique ; Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière APHP.6, Pavillon Georges Heuyer. 47-83 Bd de l'Hôpital, 75651 PARIS CEDEX 13.

2 . Sorbonne Université, INSERM CNRS 1135 « NK and T cell immunity, Virus and Cancer », Centre d'Immunologie et des Pathologies Infectieuses (CIMI), UPMC UMRS CR7 – Inserm U1135 – CNRS ERL 8255 - Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Site Pitié-Salpêtrière - 91 Boulevard de l'Hôpital - 75013 Paris, France.

3. - INSERM UMRS 1138, Cell Death and Drug Resistance in Lymphoproliferative Disorders Team, Centre de Recherche des Cordeliers, 15 Rue de l'École de Médecine, 75006 Paris, France.

\* Auteur correspondant :Stéphanie Nguyen

Sorbonne Université. Service d'Hématologie clinique ; Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière APHP.6, Pavillon Georges Heuyer. 47-83 Bd de l'Hôpital, 75651 PARIS CEDEX 13

e-mail : [stephanie.nguyen-quoc@aphp.fr](mailto:stephanie.nguyen-quoc@aphp.fr)

## Résumé

L'immunothérapie par les cellules CAR-T (*Chimeric antigen receptor*) a révolutionné le paysage du traitement des hémopathies B malignes en rechute ou réfractaires. Cependant, l'utilisation de cellules autologues T expose à certaines limites : qualité variable des cellules T effectrices prélevées, durée du processus parfois incompatible avec l'hémopathie non contrôlée, nombre limité de cellules CAR disponibles, toxicités parfois fatales, coût extrêmement élevé. Les cellules Natural Killer (NK) sont une alternative intéressante aux cellules T. Les cellules NK sont des cellules effectrices cytotoxiques très puissantes ayant démontré un effet antitumoral après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques haploidentiques ou en thérapie cellulaire adoptive contre un certain nombre de tumeurs solides ou hématologiques. Elles ont l'avantage de pouvoir être utilisées en situation allogénique sans provoquer d'effets secondaires toxiques majeurs. Les sources de cellules NK sont multiples : lignée cellulaire, sang de cordon, sang périphérique, cellules souches pluripotentes induites. Les récents progrès des constructions génétiques des CAR-NK permettent de favoriser la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), ainsi que l'activation et la persistance de ces cellules, via notamment la cytokine IL-15. La majorité des résultats rapportés sur les CAR-NK concernent des essais pré-cliniques ou en phase clinique précoce. Cependant, les nombreux atouts des cellules CAR-NK allogéniques prêtes à l'emploi méritent une attention particulière et prédisent à ces cellules un avenir prometteur dans le domaine de la prise en charge des cancers.

**Mots-clés :** cellules Natural Killer NK, CAR-NK, immunothérapie, cancer, CAR allogéniques

## Abstract

Immunotherapy with chimeric antigen receptor engineered-T cells (CAR-T) has revolutionized the landscape of treatment of relapsed or refractory B-cell. However, the use of autologous T cells has limitations: variable quality of collected effector T cells, duration of the process sometimes incompatible with uncontrolled hemopathy, limited number of available CAR cells, sometimes fatal toxicities, extremely high cost. Natural Killer (NK) cells are an interesting alternative to T cells. NK cells are very powerful cytotoxic effectors that have demonstrated an anti-tumor effect after haploidentical hematopoietic stem cells transplantation or in adoptive cell therapy against a number of solid or hematological tumors. They have the advantage that they can be used in allogeneic situations without causing major toxic side effects. The sources of NK cells are multiple: cell line, cord blood, peripheral blood, induced pluripotent stem cells. Recent advances in manufacturing engineered CAR-NK cells make it possible to promote antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), as well as the activation and persistence of these cells, notably via the cytokine Il-15. The majority of the reports on CAR-NK cells concern pre-clinical or early clinical trials. However, the many advantages of "off-the-shelf" allogeneic CAR-NK cells provide great potential in cancer treatments.

**Key words:** Natural Killer cells, CAR-NK, immunotherapy, cancer, allogeneic CAR

## Biologie des cellules NK : Un répertoire de récepteurs très vaste pour maintenir l'auto-tolérance et permettre l'allo-activité

Les cellules *Natural Killer* (NK) sont des lymphocytes de l'immunité dite « innée » représentant 10 à 15 % des lymphocytes circulants. Elles jouent un rôle crucial dans l'immunosurveillance des cellules malignes et des cellules infectées par un virus. (1) En effet, comme leur nom l'indique, les cellules NK « naturellement tueuses » ont été définies à l'origine par leur fonction, qui était de tuer les cellules qui avaient perdu

l'expression d'une ou plusieurs molécules du complexe majeur d'histo-compatibilité (CMH) de classe I à leur surface, sans immunisation préalable et de manière antigène indépendante, contrairement aux cellules T ou B. La perte d'expression des molécules CMH de classe I à la surface des cellules tumorales ou infectées par un virus est un mécanisme d'échappement connu à l'immunosurveillance des lymphocytes T, mais rend les cibles plus sensibles à la lyse NK. Le mécanisme d'action des cellules NK est principalement la cytotoxicité : cytotoxicité « naturelle » par la libération de granules perforine/granzyme et expression de facteurs tels que FasL ou de ligand induisant l'apoptose liée au TNF (TRAIL), mais également cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps « ADCC » médiée par le récepteur Fc CD16, déclenchant la dégranulation des cellules NK contre les cellules-cibles recouvertes d'anticorps. Les cellules NK produisent également de nombreuses cytokines telles que l'interféron gamma. Du fait de cette capacité de lyse très rapide car indépendante de l'antigène et sans nécessité de « *priming* » préalable, un certain nombre de mécanismes de « contention » existent pour limiter les risques d'auto-réactivité. Ces mécanismes sont très efficaces car l'auto-réactivité NK est inexistante ou en tout cas extrêmement faible par rapport à l'auto-réactivité des lymphocytes T. Ainsi, l'activité des cellules NK est régulée par une intégration complexe de signaux activateurs et inhibiteurs issus de nombreux récepteurs à la surface des cellules NK qui interagissent avec des ligands à la surface de la cellule cible (figure 1) (2,3). Si la balance penche vers les signaux inhibiteurs, la cellule saine ne sera pas détruite (Figure 1a). Si la balance penche vers les signaux activateurs, la cellule « stressée », transformée par un virus ou un processus tumoral, sera détruite (Figure 1b). Les interactions principales les mieux connues sont : (i) des ligands tels que les molécules du CMH de classe I classiques (HLA-C et HLA-Bw4 essentiellement) ou non classiques (tels que HLA-E) sont exprimés sur la cellule cible et sont reconnus par les récepteurs NK inhibiteurs spécifiques (de type KIR ou CD94/NKG2A), entraînant un signal négatif prédominant et empêchant la lyse autologue via la reconnaissance du soi, (ii) des ligands induits par le stress (tels que MICA/MICB et ULBP) sont exprimés à la surface de la cellule cible transformée et sont reconnus par des récepteurs activateurs NK spécifiques (tels que NKG2D) provoquant un signal activateur et la destruction du « non soi ». Il existe de nombreux autres ligands de récepteurs activateurs (récepteurs NKp44, NKp30, NKp46, NKG2C, KIR activateurs) mais leur nature et leurs fonctions exactes ne sont pas tous connues à ce jour, notamment lorsqu'un même ligand est reconnu à la fois par un récepteur activateur et inhibiteur (par exemple HLA-E, ligand de CD94/NKG2A et de CD94/NKG2C, ou certains allèles HLA-C reconnus par des KIR inhibiteurs et activateurs). Il existe deux populations de cellules NK définies par l'intensité d'expression du CD56 : les cellules NK CD56dim et les NK CD56bright. Les NK CD56dim ont une expression moins intense du CD56 (visualisée en cytométrie en flux [CMF]), elles représentent 90 % des cellules NK du sang circulant, elles sont fortement cytotoxiques et sont CD16+. Les NK CD56bright (expression plus intense du CD56 en CMF) représentent 10 % des cellules NK circulantes mais la majorité des cellules NK dans les ganglions. Elles sont CD16 faible, ont un pouvoir de cytotoxicité plus faible que les CD56dim mais sont fortement prolifératives. Il est admis que le profil phénotypique et fonctionnel d'une cellule NK mature est : CD56dim, CD16high, KIR+, cytotoxique. Celui des cellules NK plus immatures est : CD56bright, CD16low, KIR low, NKG2A+, faiblement cytotoxique mais avec capacité de prolifération. Ces différences de nature et

de fonctionnalité sont importantes pour appréhender les obstacles à la manipulation ou à l'utilisation des cellules NK en thérapie cellulaire.

### Effet anti-leucémique des cellules NK allogéniques dans l'allogreffe de CSH haploidentique

Un certain nombre d'hémopathies malignes ne sont pas curables par la chimiothérapie seule quelle que soit la dose de chimio-radiothérapie utilisée. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) reste la seule option curative dans un grand nombre de cancers hématologiques. Le principe de l'allogreffe dans cette situation est de remplacer le système hématopoïétique et le système immunitaire du patient par le système hématopoïétique et le système immunitaire d'un donneur allogénique. La réaction du système immunitaire du donneur vis-à-vis du receveur s'appelle la réaction du greffon. Cette réaction appelée GvL pour *Graft versus Leukemia/Lymphoma* permet d'éliminer les cellules résiduelles malignes du patient et de contrôler l'hémopathie au long cours. Elle s'accompagne malheureusement d'un effet secondaire indésirable, la maladie du greffon contre l'hôte (GVHDD, *Graft versus Host Disease*) consistant à une attaque des tissus sains de l'hôte (peau, tube digestif, foie, poumons...) par le système immunitaire du donneur, essentiellement les lymphocytes T alloréactifs. Pour limiter les risques de GVHDD graves, la majorité des allogreffes se fait en situation de HLA-identité entre donneur et receveur. Cependant, l'absence de donneur HLA-identique dans 30 % des indications de greffe a poussé à développer les allogreffes dites alternatives, c'est-à-dire avec une ou plusieurs incompatibilités HLA. Depuis plusieurs années, les greffes haploidentiques familiales, c'est-à-dire à partir d'un donneur partageant un haplotype HLA en commun avec le receveur et différant de l'autre (par exemple un père avec son fils, ou un cousin, oncle etc.), sont en constante augmentation, représentant plus de 20 % des allogreffes en France en 2020. Dans cette situation, les cellules NK du donneur haploidentiques peuvent être activées. En effet, certaines molécules du HLA de classe I présentes sur les cellules du donneur et manquantes sur les cellules leucémiques du receveur ne permettent pas à ces dernières d'inhiber les KIR des cellules NK du donneur, ce qui induit l'activation de la cellule NK (Figure 1c). On parle alors d'un effet GvL NK médié par le mismatch KIR/KIR-ligand. De nombreuses publications ont rapporté un effet anti-leucémique majeur d'un tel *mismatch*, notamment chez les patients allogreffés en haploidentique pour une LAM avancée (4,5). Cependant, l'effet anti leucémique des cellules NK alloréactives après greffe est un sujet de discussion et les résultats des études sont parfois contradictoires. Il est probable que les cellules NK, ayant une grande plasticité, « s'adaptent » à leur environnement ou présentent des retards de maturation post-greffe les rendant peu cytotoxiques (6) (7) . Néanmoins, même si l'effet *in vivo* des cellules NK reste moins bien élucidé que celui des cellules T, le développement des greffes haploidentiques depuis la fin des années 90 a permis de mettre en lumière cette population particulière et d'exploiter son potentiel de cytotoxicité anti-tumoral majeur (8,9).

### Immunothérapie par CAR-T

L'allogreffe de CSH est la plus ancienne et la plus fréquente des immunothérapies cellulaires anti-leucémiques à ce jour. Cependant, c'est une immunothérapie radicale (où le système immunitaire du receveur est détruit et remplacé par celui du donneur) et non ciblée. Il en découle sa toxicité, notamment les risques de GVHD et d'infections liées au dérèglement immunitaire du patient pendant les mois ou années qui suivent la greffe. Le développement des cellules CAR-T a révolutionné le paysage de l'immunothérapie cellulaire anti-tumorale. Une cellule CAR-T est une cellule T qui a été génétiquement modifiée pour exprimer un récepteur spécifique de l'antigène cible. Ce récepteur chimérique est composé du fragment variable d'immunoglobuline à chaîne unique (scFv) qui détermine la spécificité antigénique du CAR, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine intracellulaire de signalisation de la molécule CD3 $\zeta$  (CAR-T de première génération) auquel a été associé un domaine de co-stimulation, de type CD28 ou 4-1BB (CAR-T de deuxième génération) ou plusieurs domaines de co-stimulation (troisième génération), ou associé à un transgène supplémentaire tel que des cytokines pour stimuler leur fonction effectrice (quatrième génération). Deux CAR-T de deuxième génération sont commercialisés en France dans le traitement des LAL-B réfractaires ou en rechute de l'enfant et de l'adulte jeune et des lymphomes B à grandes cellules réfractaires ou en rechute : le tisagenlecleucel (Kymriah) et l'axicabtagene ciloleucel (Yescarta). Les résultats des études cliniques évaluant ces traitements ont montré une efficacité remarquable dans ces situations en impasse thérapeutique. On observe des réponses à long terme chez 40 à 60 % des patients dont la médiane de survie est habituellement de six mois avec les chimiothérapies conventionnelles (10,11). Cependant, la thérapie CAR-T pose encore plusieurs problèmes (12). La plupart des cellules CAR-T sont développées à partir de cellules autologues du patient. Cela pose d'une part la question de la qualité des lymphocytes T du patient au moment du prélèvement (la lymphaphérèse) et d'autre part la question de l'hétérogénéité des produits obtenus. En effet, il a été observé des anomalies lymphocytaires T des patients candidats à la thérapie CAR-T, soit liées à l'hémopathie sous-jacente, soit liées aux différents traitements de l'hémopathie (lymphocytes T « épuisés » et/ou Lymphocytes B incapables de présenter l'antigène comme dans la LLC par exemple) (27). Par ailleurs, cela pose plusieurs difficultés logistiques lors du processus de fabrication, long et coûteux. En premier lieu, les lymphocytes T étant des cellules « vivantes » effectrices, il est nécessaire de respecter un certain délai de « *wash-out* » des traitements médicamenteux avant : (i) de prélever les lymphocytes du patient allant servir de matière aux CAR-T ; (ii) de réinjecter les cellules CAR-T. Il est en effet nécessaire de minimiser l'impact négatif de ces traitements sur la fonctionnalité des cellules prélevées puis injectées. Deuxièmement, une fois prélevés les lymphocytes sont adressés à un laboratoire pharmaceutique extérieur au centre d'hématologie clinique avec un délai variable. Ils sont ensuite manipulés génétiquement au cours d'un processus d'environ quatre semaines. Ainsi, entre la décision d'indication et la réinjection des cellules CAR-T au patient, il s'écoule environ deux mois, délai difficile à tenir chez des patients ayant une hémopathie réfractaire non contrôlée. Troisièmement, les cellules CAR-T anti-CD19 injectées ont des toxicités propres, notamment neurologique, inflammatoire (syndrome de relargage cytokinique, CRS) et hématologique (cytopénies parfois prolongées). Quatrièmement, la perte de la cible antigénique après traitement par les cellules CAR-T est une cause de rechute importante, notamment dans les LAL-B CD19. L'efficacité des cellules CAR-T dépendant de la reconnaissance de l'antigène CD19

par le CAR-T, la perte de cet antigène génère une perte de reconnaissance par les cellules CAR-T de leur cible qui ne peut alors plus être détruite. Afin de dépasser certains obstacles liés à la thérapie CAR-T autologue, des cellules CAR-T allogéniques ont été développées mais exposent à un risque accru de rejet d'une part, et de GVHDD de l'autre. Des modifications génétiques supplémentaires telles que la suppression du TCR ou l'introduction d'un gène suicide sont donc nécessaires. Cependant, le risque de rejet des CAR-T allogéniques reste un problème à résoudre.

## Immunothérapie par les cellules CAR-NK

Les cellules NK exerçant leur activité de façon indépendante de l'antigène et du HLA, elles peuvent être obtenues à partir de donneurs allogéniques HLA-incompatibles. Au contraire, l'incompatibilité HLA entre les cellules NK du donneur et les cellules tumorales du receveur pourraient justement favoriser l'alloréactivité anti-tumorale des cellules NK (cf. section « biologie des cellules NK »). De façon intéressante, et contrairement aux lymphocytes T allogéniques, les cellules NK ne provoquent pas de GVHDD. Les raisons de l'absence de GVHDD sont non encore complètement élucidées, bien que peut-être à chercher du côté des ligands des récepteurs activateurs. En effet, il est possible que les tissus sains de l'hôte non stressés (peau, tube digestif...) ne présentent pas à leur surface des ligands induits par le stress, les épargnant de la cytotoxicité NK. Dans certains modèles murins de greffe de moelle CMH incompatibles, les cellules NK du donneur ont même un effet protecteur de la GVHD en détruisant les cellules présentatrices d'antigène du receveur. Cet effet sur le système immunitaire du receveur pourrait également favoriser la prise de greffe et rendre les cellules NK allogéniques moins sensibles au rejet. La possibilité d'avoir à disposition des cellules CAR-NK allogéniques aurait donc évidemment un intérêt majeur en termes de gain de temps et de coûts (12-14). Pour autant malgré ces atouts importants, les cellules CAR-NK présentent un certain nombre de limites, raison pour laquelle leur utilisation en clinique est moins avancée que celle des cellules CAR-T. Leur durée de vie est courte, de l'ordre d'une à deux semaines. Les essais d'injections de cellules NK prélevées chez des donneurs familiaux haploidentiques (tri CD3-CD56+) et activées par l'IL2 réalisés par Miller et al. chez des patients atteints de LAM réfractaire ont montré que la chimiothérapie lymphodéplétante par Fludarabine et Cyclophosphamide était essentielle à l'expansion des cellules NK et que la présence d'IL-15 était un facteur prédictif d'expansion et de réponse clinique (15). L'incorporation de transgènes de cytokines telles que l'interleukine (IL)-2 ou l'IL-15 dans la construction des cellules CAR-NK peut également accroître leur prolifération et leur persistance (13). De plus les cellules NK sont plus difficiles à manipuler génétiquement que les cellules T et leur nombre limité dans le sang circulant nécessite de mettre en place des techniques d'expansion *ex vivo* afin d'obtenir la dose nécessaire. Enfin, les cellules NK sont sensibles au microenvironnement tumoral (MET). De même que pour l'IL-15, l'incorporation de transgènes codant pour les récepteurs de chimiokines pourrait donc favoriser le trafic des CAR-NK vers les sites tumoraux.

## Sources des cellules CAR-NK

Le profil de tolérance favorable ainsi que le potentiel cytotoxique anti-tumoral des cellules NK en font des candidates privilégiées pour l'immunothérapie cellulaire adoptive allogénique.

L'intérêt majeur des cellules CAR-NK allogéniques est leur disponibilité rapide (sans les limites énoncées plus haut liées aux cellules autologues). Il serait ainsi possible de générer plusieurs lots homogènes à partir d'une source de cellules.

Plusieurs sources de cellules NK ont été utilisées pour générer des CAR-NK allogéniques.

### [Lignée cellulaire NK-92](#)

NK-92 est une lignée dérivée de cellules lymphomateuses NK humaines, EBV positives, dépendantes de l'IL-2. Elles sont fortement cytotoxiques. Leur phénotype comporte les récepteurs activateurs NKp30, NKp46 et NKG2D. De façon intéressante, leurs seuls récepteurs inhibiteurs de surface se limitent à ILT2, NKG2A (reconnaissant HLA-E) et le récepteur KIR inhibiteur KIR2DL4 à un faible niveau. Elles ont donc très peu de récepteurs inhibiteurs KIR habituels reconnaissant les molécules HLA de classe I, HLA-C ou HLA-Bw4. De ce fait, elles sont peu inhibées par les molécules HLA des patients. En revanche, elles n'expriment pas le CD16 et ne peuvent donc pas médier la cytotoxicité liée à l'anticorps (ADCC). L'intérêt de CAR-NK dérivées d'une lignée cellulaire est la possibilité de générer des cellules « à l'infini » avec un gain en termes de nombre de cellules, de temps et de coût considérable. Malheureusement, du fait de leur nature tumorale, ces CAR-NK dérivées de la lignée NK-92 doivent être irradiées avant injection. L'irradiation semble conserver leur capacité cytotoxique mais impacte fortement leurs capacités de prolifération *in vivo*, avec une disparition des cellules *in vivo* après sept jours, nécessitant des injections multiples. Tang *et al* ont été les premiers à rapporter l'injection chez l'homme de cellules NK-CAR générées à partir de la lignée NK-92 (clinicaltrials.gov: NCT02944162) (29). Les cellules de la lignée NK-92-MI, qui expriment l'IL-2 humaine, ont été transduites avec une construction lentivirale CAR anti CD33 de troisième génération contenant les molécules costimulatrices CD28 et 4-1BB avec une efficacité de la transduction supérieure à 90 %. Trois patients atteints de LAM en rechute réfractaire recevaient une chimiothérapie de rattrapage suivie de trois injections rapprochées de cellules CD33-CAR NK-92 irradiées au  $^{60}\text{Cr}$  (10 Gy) avec des doses comprises entre  $3 \times 10^8$  et  $5 \times 10^9$  cellules. Les injections étaient bien supportées cliniquement mais l'effet thérapeutique a été très modeste. Des CAR de quatrième génération ont été conçues à partir de cellules de la lignée NK92 dans une plateforme appelée UniCAR, initialement consacrée aux cellules T. Le système UniCAR se compose de deux éléments : (i) le CAR-NK dirigé contre l'épitope peptidique E5B9, un antigène non exprimé naturellement à la surface des cellules ; et (ii) un composant bispécifique appelé module cible (*Target module*, TM). Ce composant bispécifique TM est composé de l'épitope E5B9 (reconnu par le CAR) d'un côté et l'antigène tumoral de l'autre (par exemple, l'antigène GD2 dans la Figure 2). Il a une demi-vie très courte, de l'ordre de 30 minutes ce qui permet d'obtenir un effet *on/off* car dès que le TM est éliminé, l'UniCAR est inactivé. De plus, il permet de cibler un grand panel d'antigènes tumoraux en variant les TM qui peuvent être administrés simultanément ou de façon séquentielle. Les UniCAR sont issues de la lignée NK92 donc sont irradiées, ce

qui raccourcit leur durée de vie. Il est possible de faire plusieurs injections d'UniCAR en cas de non-persistance de ces cellules. De plus, différentes constructions de la molécule bispécifique TM ont été testées (avec un scaffold scFv ou une IgG4, Figure 2). La construction basée sur l'IgG4 permet d'augmenter la durée de vie de la molécule bispécifique, et donc, également la durée de l'interaction avec les CAR-NK (16).

### [Cellules NK dérivées de sang de cordon](#)

Les cellules de sang de cordon sont une source intéressante de cellules NK car ils existent des centaines de milliers d'unités de sang placentaire disponibles dans les banques mondiales. Les cellules NK représentent 15 à 30 % des lymphocytes du sang de cordon. Leur phénotype est plus immature que les cellules du sang périphériques d'un adulte, avec notamment un profil CD16 faible (donc une faible capacité d'ADCC), CD56bright (conférant un profil plus prolifératif que cytotoxique), NKG2A+ (récepteur inhibiteur reconnaissant HLA-E), KIR faible (les rendant moins fonctionnelles). Même si les cellules NK contenues dans le sang de cordon sont quantitativement faibles, elles ont une capacité de prolifération élevée et une grande sensibilité à la stimulation cytokinique permettant de les expandre *ex vivo*. L'équipe du MD Anderson dirigée par Rezvani et al ont récemment publié un essai clinique de phase 1/2 très encourageant testant l'injection de cellules CAR-NK- CD19 issues de sang de cordon chez onze patients porteurs d'hémopathies lymphomateuses B en rechute et/ou réfractaire (lymphome non-hodgkinien ou leucémie lymphoïde chronique (LLC)) (17) (clinicaltrials.gov: NCT03056339). Les cellules NK ont été transduites avec un vecteur rétroviral exprimant des gènes codant pour l'anti-CD19 CAR, l'interleukine-15 et le gène suicide inductible caspase 9 qui induit l'apoptose par liaison spécifique avec une petite molécule dimérisée CID AP20187 (Figure 3). Les cellules ont été administrées en une seule perfusion à l'une des trois doses étudiées par l'essai (1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>6</sup>, ou 1×10<sup>7</sup> cellules CAR-NK par kilogramme de poids corporel) après une chimiothérapie de lymphodéplétion classique (Fludarabine et Cyclophosphamide). Les incompatibilités HLA entre les cellules NK du cordon et les receveurs étaient multiples. Les auteurs ont essayé initialement de trouver des cordons présentant des typages HLA favorisant l'alloréactivité NK puis n'ont plus tenu compte du typage HLA. De façon remarquable, aucune toxicité post-injection n'a été notée. En particulier, il n'y a pas eu de CRS ou de neurotoxicité et la dose maximale tolérée n'a pas été atteinte. La réponse a été rapide (dans le mois suivant l'injection) et profonde (obtention d'une rémission complète chez sept patients sur onze et retour à la phase chronique LLC pour un lymphome de Richter). Cependant, il faut noter que la moitié des patients ont reçu un traitement d'entretien après l'injection des cellules NK (Lenalidomide, Rituximab, Venetoclax, greffe de cellules souches hématopoïétiques). Les cellules NK ont pu être détectées jusqu'à douze mois post-injection. Il est possible que l'adjonction du gène de l'IL-15 dans la construction du CART ait pu contribuer à la persistance prolongée des CAR-NK, même si les mécanismes de maintien de la persistance *in vivo* des CAR-NK injectées ne sont pas bien compris. Même s'il est difficile de juger de l'efficacité spécifique des CAR-NK à long terme (du fait traitement d'entretien qui a été administré post-injection) ces résultats sont très encourageants.

### [Cellules NK dérivées de sang périphérique](#)

La plupart des essais de thérapie adoptive NK (hors CAR-NK) ont utilisé des cellules provenant de donneurs familiaux haploidentiques ou non familiaux et ont montré une efficacité anti-tumorale dans la LAM de l'adulte et de l'enfant (14,18). Les lymphocytes étaient prélevés par lymphaphérèse puis enrichis en NK après déplétion des lymphocytes T et B (déplétion CD3+ et CD19+ par billes magnétiques), voire même sélectionnées positivement par le CD56+. Ces cellules étaient activées *overnight* par de l'IL-2 puis réinjectées aux patients. (19,20) Les avantages majeurs de ces cellules sont qu'elles sont matures, bien différenciées et en grande majorité CD56dim cytotoxiques. L'inconvénient est qu'il faut prélever des donneurs volontaires adultes sains, ce qui rend la procédure moins aisée qu'avec des unités de sang de cordons congelés. De plus, les cellules NK adultes ayant des capacités de prolifération moindres que les cellules du sang de cordon, il est probable qu'il faille un donneur pour un patient. Enfin, il est recommandé de choisir le meilleur donneur ayant une incompatibilité HLA favorisant l'alloréactivité NK, ce qui oblige à trouver un donneur « à façon » pour chaque receveur et ne permet pas d'avoir des donneurs universels facilement accessibles. Pour surmonter ces problèmes, il faudrait développer des techniques d'expansion des cellules NK et probablement améliorer la persistance et l'activation par des constructions incluant les gènes de l'IL-2 ou de l'IL-15. (21). Très récemment, Kararoudi *et al.* ont utilisé la technique CRISPR/Cas9 pour introduire des CAR dans des cellules NK primaires humaines (28). Ils ont généré des cellules CAR NK ciblant CD33 avec différents domaines transmembranaires et de signalisation (CD4/4-1BB+CD3 $\zeta$  et NKG2D/2B4+CD3 $\zeta$ ) et les ont développées sur des cellules nourricières CSTX002. Les cellules NK expansées ont conservé une forte expression de CAR (68 % CAR+ en moyenne) et ont présenté une forte activité antileucémique contre les lignées cellulaires de leucémie myéloïde aiguë (LAM) CD33+ et les échantillons de blastes primaires. En utilisant le séquençage ciblé, les auteurs ont démontré la précision de l'insertion du gène CAR dans le génome des cellules NK transfectées, ouvrant des perspectives intéressantes pour générer des CAR NK à partir des cellules NK humaines primaires.

### [Cellules NK dérivées des iPSC](#)

Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC pour *Induced pluripotent stem cells*) sont des cellules différenciées qui ont été reprogrammées génétiquement en cellules souches pluripotentes. La reprogrammation d'une cellule différenciée en iPSC consiste à la modifier génétiquement en la faisant exprimer quatre gènes lui conférant les mêmes caractéristiques qu'une cellule souche embryonnaire, sans avoir à utiliser un embryon humain surnuméraire : Klf4, c-Myc, Oct3/4 et Sox2. Ainsi, la cellule différenciée adulte reprogrammée a une capacité de prolifération illimitée et peut se différencier en n'importe quel type cellulaire après adjonction de facteurs de croissance spécifiques, ce qui la rend particulièrement intéressante pour son utilisation dans le domaine de la médecine régénérative, de la thérapie cellulaire ou la modélisation des maladies génétiques. Cette découverte a valu le prix Nobel de médecine 2012 à Shinya Yamanaka chercheur à l'université de Kobé (22). Les sources de cellules différenciées utilisables sont multiples : cellules sanguines, fibroblastes, cellules épithéliales, cellules mésenchymateuses... Du fait de son immortalité, une seule cellule iPSC est nécessaire pour générer un produit cellulaire CAR-NK universel prêt à l'emploi. Les

cellules NK générées à partir d'iPSC ont un phénotype immature : CD16 faible, NKG2A high, KIR low, ce qui leur confère une faible cytotoxicité mais une forte capacité de prolifération. Pour améliorer leur cytotoxicité et leur persistance, il est possible de rajouter les gènes codant pour le CD16 et l'IL-15 ou l'IL-2. (23,24). Le FT596 est le premier produit cellulaire CAR-NK allogénique « prêt à l'emploi », universel, et dérivé des iPSC autorisé pour des essais cliniques aux États-Unis (25). Il est composé d'un récepteur d'antigène chimérique (CAR) anti-CD19 optimisé pour les cellules NK, avec un domaine transmembranaire pour le récepteur activateur NKG2D, un domaine de co-stimulation 2B4 et un domaine de signalisation CD3-zêta. Ont été rajoutés (i) un récepteur Fc de haute affinité, non clivable, du CD16 (hnCD16), qui a été modifié pour augmenter l'ADCC en empêchant la régulation négative du CD16 et en augmentant la liaison du CD16 aux anticorps ciblant les tumeurs ; et (ii) une protéine de fusion du récepteur IL-15 (IL-15RF) (Figure 4). Lorsqu'il est utilisé en combinaison avec des anticorps monoclonaux tel que le Rituximab (anti-CD20), le récepteur hnCD16 Fc du FT596 se lie à la portion Fc des anticorps monoclonaux liés aux cellules tumorales, ce qui entraîne l'activation des cellules NK, la sécrétion de cytokines et une cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) accrue. L'IL-15RF renforce l'effet cytotoxique des cellules NK et des cellules T anti-tumorales activées. Le FT96 agit donc via trois voies : le CAR anti CD19, l'ADCC via l'anti-CD20 et l'IL-15. Le FT96 agit donc via trois voies : le CAR anti CD19, l'ADCC via l'anti-CD20 et l'IL-15. Une communication au dernier congrès de l'ASH 2020 a rapporté le cas d'une patiente de 76 ans en rechute/réfractaire d'un lymphome B à grandes cellules après huit lignes de traitement, incluant une autogreffe de CSH, une thérapie adoptive de cellules T autologues manipulées, et des cellules NK haploidentiques activées (26). La patiente a reçu une dose unique de  $30 \times 10^6$  de cellules FT96 en monothérapie après une chimiothérapie lymphodéplétante. Aucune toxicité liée aux FT96 n'a été notée hormis une neutropénie résolutive. L'évaluation de la réponse tumorale à un mois a montré une réponse partielle selon les critères de Lugano 2014, avec une diminution de plus de 70 % de l'absorption du 18F-fluorodésoxyglucose et une réduction de plus de 50 % de la taille de la tumeur. Une seconde dose de FT596 est envisagée pour cette patiente. Un essai de phase 1 est en cours (clinicaltrials.gov: NCT04245722).

## Conclusions

Les cellules CAR-NK allogéniques ouvrent des perspectives passionnantes qui pourraient répondre à certains problèmes liés à l'utilisation des cellules CAR-T autologues. L'écueil principal présenté jusque-là par les cellules NK allogéniques était leur faible persistance post-infusion et la nécessité de choisir des donneurs familiaux haploidentiques. Cependant, les constructions récentes associant au CAR de l'interleukine 15 ou un CD16 stable renforçant l'ADCC semblent très prometteuses. La thérapie CAR-NK est encore très peu développée par rapport aux cellules CAR-T : on recense en janvier 2021 seize essais CAR-NK (Tableau 1) versus 745 essais CAR-T sur le site *Clinicaltrials*. Pourtant, ses nombreux atouts, en particulier la disponibilité immédiate, l'absence de toxicité rapportée et la possibilité de générer plusieurs lots à partir d'une source unique vont probablement faire de la thérapie CAR-NK une voie d'avenir dans la lutte contre le cancer.

## Messages clés

Les cellules NK représentent 10 à 15 % des lymphocytes circulants.

Leur cytotoxicité est indépendante de l'antigène et ne nécessite pas de *priming*.

La cytotoxicité dépend d'une balance entre des signaux activateurs et inhibiteurs provenant de l'interaction complexe entre des récepteurs NK de surface et des ligands spécifiques sur la cellule cible.

L'intérêt des CAR-NK par rapport aux CAR-T :

- les cellules NK ne provoquent pas de GVHDD et peuvent donc être utilisées en situations allogéniques. L'intérêt des cellules CAR allogéniques est grand par rapport aux cellules CAR autologues : disponibilité immédiate, qualité et homogénéité des cellules effectrices prélevées, possibilité d'expansion permettant de générer plusieurs lots à partir d'une source cellulaire avec réduction des coûts et possibilité de faire des injections multiples.

- les CAR-NK allogéniques semblent peu toxiques (très peu de CRS ou de toxicité neurologique)

- les CAR-NK peuvent agir de deux façons : cytotoxicité classique via le récepteur chimérique spécifique de l'antigène d'intérêt et ADCC permettant de reconnaître un second antigène tumoral et limiter les risques de rechute par perte de l'antigène.

- les sources de cellules NK pour générer des CAR-T sont multiples : sang périphérique de donneurs adultes sains, sang placentaire, lignée tumorale NK92, iPSC.

Les inconvénients et obstacles à la thérapie cellulaire NK :

-l'interaction entre les récepteurs NK inhibiteurs (KIR et NKG2A) et leurs ligands (HLA-Cw, HLA-Bw4 et HLA-E) inhibe les fonctions NK. Il faut donc trouver des moyens de dépasser cette inhibition : soit en sélectionnant des donneurs selon leur HLA (notamment les donneurs familiaux haploidentiques), soit en intégrant des signaux cytokiniques de type IL-15 ou IL-2.

- comme toutes les cellules allogéniques HLA incompatibles, le risque est le rejet et la faible persistance des cellules injectées. Les injections répétées et l'intégration des signaux cytokiniques sont des voies pour dépasser cet obstacle mais restent à être validées par des essais cliniques. À ce jour, la majorité des essais CAR-NK sont au stade pré-clinique ou phase clinique précoce.

## Liens d'intérêts

Aucun

**Cet article fait partie du numéro supplément Nouvelles stratégies en immunothérapie : CAR-T et cellules bispécifiques réalisé avec le soutien institutionnel de Celgene – BMS et Gilead – Kite.**

## Bibliographie

1. Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood*. 1 août 2008;112(3):461-9.
2. Sivori S, Vacca P, Del Zotto G, Munari E, Mingari MC, Moretta L. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. *Cell Mol Immunol*. mai 2019;16(5):430-41.
3. Pahl J, Cerwenka A. Tricking the balance: NK cells in anti-cancer immunity. *Immunobiology*. janv 2017;222(1):11-20.
4. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*. 15 mars 2002;295(5562):2097-100.
5. Nguyen S, Béziat V, Roos-Weil D, Vieillard V. Role of natural killer cells in hematopoietic stem cell transplantation: myth or reality? *J Innate Immun*. 2011;3(4):383-94.
6. Nguyen S, Achour A, Souchet L, Vigouroux S, Chevallier P, Furst S, et al. Clinical impact of NK-cell reconstitution after reduced intensity conditioned unrelated cord blood transplantation in patients with acute myeloid leukemia: analysis of a prospective phase II multicenter trial on behalf of the Société Française de Greffe de Moelle Osseuse et Thérapie Cellulaire and Eurocord. *Bone Marrow Transplant*. oct 2017;52(10):1428-35.
7. Nguyen S, Dhedin N, Vernant J-P, Kuentz M, Al Jijakli A, Rouas-Freiss N, et al. NK-cell reconstitution after haploidentical hematopoietic stem-cell transplantations: immaturity of NK cells and inhibitory effect of NKG2A override GvL effect. *Blood*. 15 mai 2005;105(10):4135-42.
8. André P, Denis C, Soulas C, Bourbon-Caillet C, Lopez J, Arnoux T, et al. Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. *Cell*. 13 déc 2018;175(7):1731-1743.e13.
9. Cooley S, Parham P, Miller JS. Strategies to activate NK cells to prevent relapse and induce remission following hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 8 mars 2018;131(10):1053-62.
10. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *N Engl J Med*. 16 oct 2014;371(16):1507-17.
11. Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, Nasta SD, Mato AR, Anak Ö, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med*. 28 déc 2017;377(26):2545-54.
12. Pfefferle A, Huntington ND. You Have Got a Fast CAR: Chimeric Antigen Receptor NK Cells in Cancer Therapy. *Cancers*. 17 mars 2020;12(3).

13. Basar R, Daher M, Rezvani K. Next-generation cell therapies: the emerging role of CAR-NK cells. *Blood Adv.* 24 nov 2020;4(22):5868-76.
14. Myers JA, Miller JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol.* févr 2021;18(2):85-100.
15. Geller MA, Miller JS. Use of allogeneic NK cells for cancer immunotherapy. *Immunotherapy.* déc 2011;3(12):1445-59.
16. Mitwasi N, Feldmann A, Arndt C, Koristka S, Berndt N, Jureczek J, et al. « UniCAR »-modified off-the-shelf NK-92 cells for targeting of GD2-expressing tumour cells. *Sci Rep.* 7 févr 2020;10(1):2141.
17. 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. *N Engl J Med.* 2020 Feb 6;382(6):545-553.
18. Ciurea SO, Schafer JR, Bassett R, Denman CJ, Cao K, Willis D, et al. Phase 1 clinical trial using mbIL21 ex vivo-expanded donor-derived NK cells after haploidentical transplantation. *Blood.* 19 oct 2017;130(16):1857-68.
19. Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, McNearney SA, Yun GH, Fautsch SK, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood.* 15 avr 2005;105(8):3051-7.
20. Björklund AT, Carlsten M, Sohlberg E, Liu LL, Clancy T, Karimi M, et al. Complete Remission with Reduction of High-Risk Clones following Haploidentical NK-Cell Therapy against MDS and AML. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 avr 2018;24(8):1834-44.
21. Trébédén-Negre H, Vieillard V, Rosenzweig M, Garderet L, Cherai M, Nguyen-Quoc S, et al. Polyvalent immunoglobulins, platelet lysate and lenalidomide: cocktail for polyfunctional NK cells expansion for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* mars 2017;52(3):480-3.
22. Yamanaka S. Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy-Promise and Challenges. *Cell Stem Cell.* 1 oct 2020;27(4):523-31.
23. Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS, Kaufman DS. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity. *Cell Stem Cell.* 2 août 2018;23(2):181-192.e5.
24. Saetersmoen ML, Hammer Q, Valamehr B, Kaufman DS, Malmberg K-J. Off-the-shelf cell therapy with induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells. *Semin Immunopathol.* janv 2019;41(1):59-68.
25. Goodridge JP et al. . FT596: Translation of First-of-Kind Multi-Antigen Targeted Off-the-Shelf CAR-NK Cell with Engineered Persistence for the Treatment of B Cell Malignancies. *Blood* (2019) 134 (Supplement\_1): 301
26. Bachanova V, Cayci Z, Lewis D, Maakaron JE, Janakiram M, Bartz A, Payne S, Wong C, Cooley S, Valamehr B, Chu YW, MD, Miller JS, MD. ; Initial Clinical Activity of FT596, a First-in-Class, Multi-Antigen Targeted, Off-the-Shelf, iPSC-Derived CD19 CAR NK Cell Therapy in Relapsed/Refractory B-Cell Lymphoma. *Blood* (2020) 136 (Supplement 1): 8.
27. Rubio MT, Varlet P, Allain V, Ballot C, Cuffel C, Deschamps M, Ferrand F, Foguene J, Forcade E, Huynh A, Guihot A, Latouche JB, Clemaire C, Martinroche G, Morin F, Nguyen S, Schmit K, Servais S, Simonetta F, Yacoub-Agha I, et Caillat-Zucman S. Suivi immunologique des patients traités par cellules CAR-T pour hémopathie maligne : recommandations du groupe CARTi et de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bulletin du cancer, in press*
28. Kararoudi N, Likhite S, Elmas E, Yamamoto K, et al. CRISPR-Targeted CAR Gene Insertion Using Cas9/RNP and AAV6 Enhances Anti-AML Activity of Primary NK Cells. *BioRxiv*; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.03.17.435886>

29. Tang X, Yang L, Li Z, Nalin AP, Dai H, Xu T, et al. First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Am J Cancer Res.* 2018 Jun 1;8(6):1083-1089.

## Abréviations

NK, Natural killer ; CMH, complexe majeur d'histo-compatibilité ; TRAIL, tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand; HLA, Human Leucocyte Antigen ; GVHDD, graft-versus-host disease ; GvL, Graft versus Leukemia/Lymphoma ; NCRs, natural cytotoxicity receptors ; KIRs, killer cell Ig-like receptors ; ADCC, cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps ; Ig, immunoglobuline; LAL-B, Leucémie aigue lymphoblastique B ; CAR, Chimeric antigen receptor ; CRS, cytokine release syndrome ; TCR, T cell receptor ; scFv, fragment variable à chaîne unique ; iPSCs, cellules souches pluripotentes induites.

## Légendes des figures

### Figure 1. Cytotoxicité des cellules NK : une balance entre activation et inhibition

**1a.** En situation autologue non « stressée », l'inhibition NK domine. Il n'y a pas d'auto-réactivité

**1b.** En situation de « stress », le signal activateur domine le signal inhibiteur.

**1c-**En situation d'incompatibilité HLA de classe I entre NK du donneur et cellules leucémiques du receveur (greffes haploidentiques), les cellules NK du donneur expriment des molécules HLA de classe I (ligand de KIR) qui ne sont pas exprimées sur les cellules leucémiques du receveur, et ne peuvent donc se lier aux KIR inhibiteurs des cellules NK du donneur. Le signal activateur domine.

### Figure 2. Fonctionnement de l'UniCAR NK-92 contre les cellules tumorales GD2+

L'UniCAR-92 est dérivé de la lignée tumorale humaine NK92. Il est constitué (i) d'un anticorps extracellulaire à fragment variable à chaîne unique (scFv) dirigé contre l'épitope peptidique E5B9 qui n'est pas exprimé sur les cellules de l'hôte, (ii) du domaine costimulateur CD28 et (iii) du fragment de signalisation CD3ζ. Les cellules NK-92 modifiées pour exprimer l'UniCAR peuvent être redirigées vers des cellules tumorales exprimant l'antigène cible GD2 via des « Target Module » (TM) ou module cible spécifiques. Ces modules cibles sont constitués d'un anticorps bispécifique qui reconnaît l'antigène GD2 sur la cellule tumorale, et l'épitope E5B9 qui interagit avec la cellule UniCAR NK92.

### Figure 3. CAR-NK issues du sang de cordon

La construction du CAR-NK décrit par l'équipe de Rezvani et al. au MD Anderson comprend un CAR-CD19 classique avec la molécule de co-stimulation CD28, auquel a été rajouté un gène suicide Caspase 9 et le gène de l'IL-15.

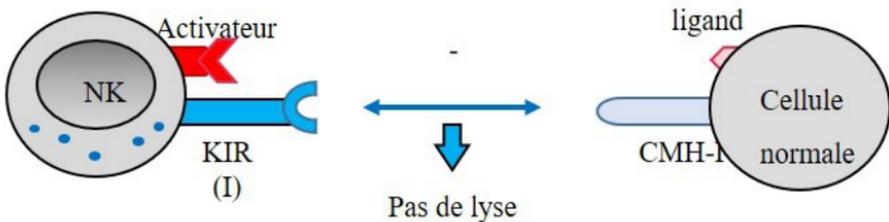
### Figure 4. Mode d'action de la cellule FT596, issue des iPSC

La cellule FT596 est composée d'un CAR anti-CD19 optimisé pour les cellules NK, avec un domaine transmembranaire pour le récepteur activateur NKG2D, un domaine de co-stimulation 2B4 et un domaine de signalisation CD3-zêta. Un récepteur Fc de haute affinité, non clivable, du CD16 (hnCD16), a été rajouté pour

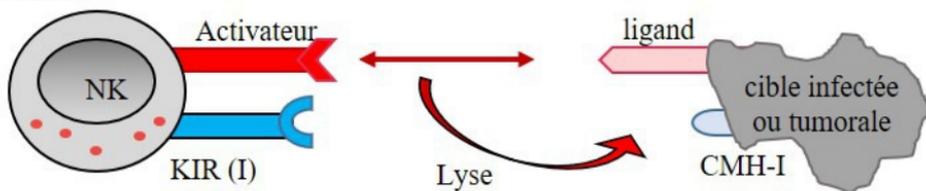
augmenter l'ADCC en empêchant la régulation négative du CD16 et en augmentant la liaison du CD16 aux anticorps ciblant les tumeurs. Une protéine de fusion du récepteur IL-15 (IL-15RF) est également ajoutée. Lorsqu'il est utilisé en combinaison avec des anticorps monoclonaux anti-CD20 tels que le Rituximab ou l'Obinutuzumab, le récepteur hnCD16 Fc du FT596 se lie à la portion Fc des anticorps monoclonaux liés aux cellules tumorales, provoquant l'ADCC. L'IL-15RF renforce l'effet cytotoxique et la persistance des cellules NK. Le FT596 agit donc via 3 voies : le CAR anti CD19, l'ADCC via l'anti-CD20 et l'IL-15.

**Figure 1. Cytotoxicité NK, une balance entre activation/inhibition**

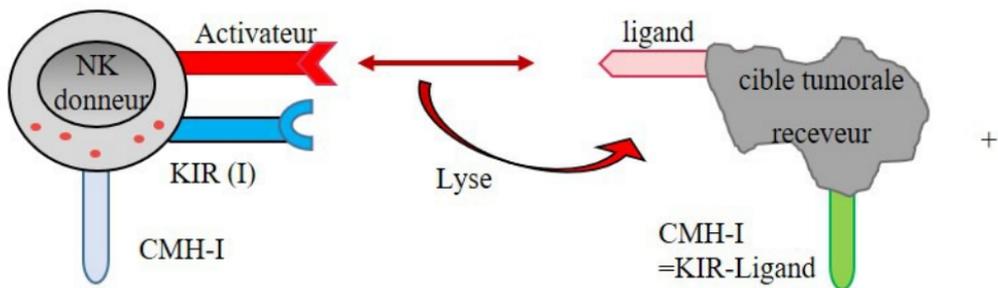
A-Autologue



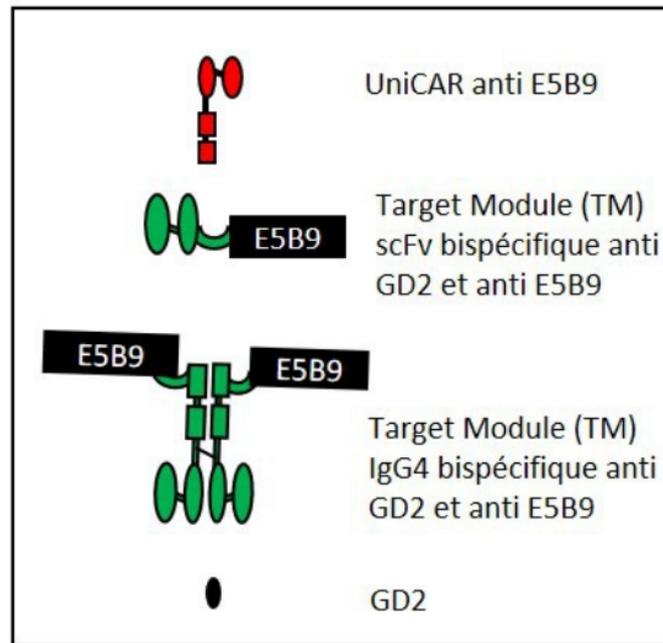
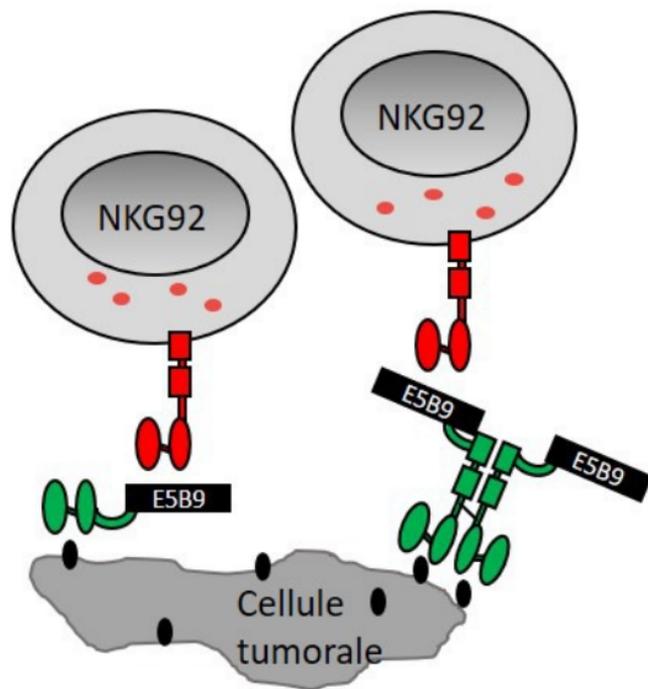
B-Stress



C-Mismatch KIR/KIR-Ligand

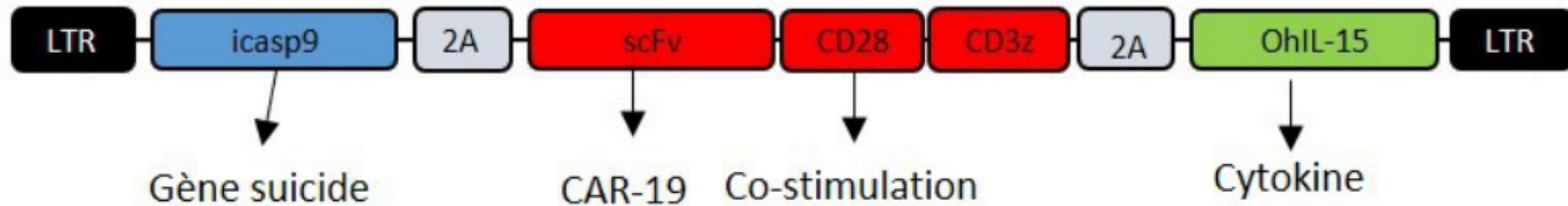


**Figure 2. Fonctionnement de l'UniCAR NK-92 contre les cellules tumorales GD2+**



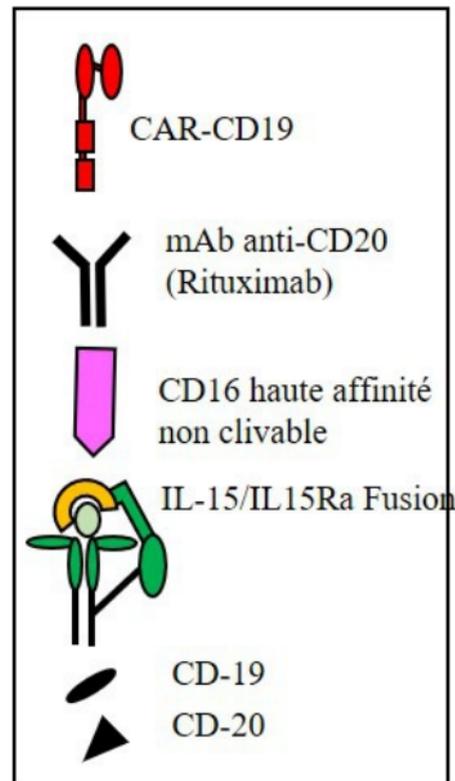
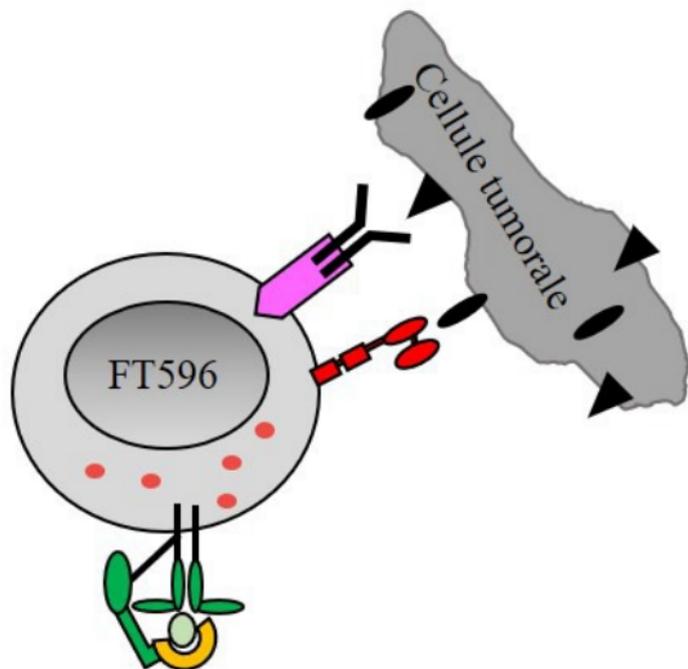
D'après Mitwasi N., Sci Rep 2020

**Figure 3. Construction du CAR-T issu du sang de cordon**



D'après Liu et al.; Leukemia 2018

**Figure 4. Mode d'action de la cellule FT596, issue des iPSC**



D'après Goodridge et al. ; Blood 2019

**Tableau 1: Essais CAR-NK sur clinicaltrials.gov**

INTITULE DE L'ETUDE	INDICATION	INTERVENTION/BIOLOGIE	LOCALISATION DE L'ETUDE	NUMERO NCT	STATUT DE L'ETUDE
Anti-CD19 CAR NK Cell Therapy for R/R Non-Hodgkin Lymphoma	LNH B rec/ref	Anti-CD19 CAR-NK Cells	Xinqiao Hospital,, Chongqing, Chine	NCT04639739	Ne recrute pas
Study of Anti-CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma	LNH B rec/ref	Anti-CD22 CAR-NK Cells		NCT03692767	Ne recrute pas
Study of Anti-CD19 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma	LNH B rec/ref	Anti-CD19 CAR-NK Cells		NCT03690310	Ne recrute pas
A Phase I/II Study of Universal Off-the-shelf NKG2D-ACE2 CAR-NK Cells for Therapy of COVID-19	COVID-19	NK cells, IL15-NK cells, NKG2D-ACE2 CAR-NK	Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing, Chine	NCT04324996	Recrute
Study of Anti-Mesothelin Car NK Cells in Epithelial Ovarian Cancer	Cancer épithelial de l'ovaire	Anti-Mesothelin Car-NK Cells		NCT03692637	Ne recrute pas
Study of Anti-PSMA CAR NK Cell in Castration-Resistant Prostate Cancer	Cancer de prostate résistant à un traitement par castration	Anti-PSMA CAR-NK cells		NCT03692663	Ne recrute pas
Pilot Study of NKG2D-Ligand Targeted CAR-NK Cells in Patients With Metastatic Solid Tumours	Tumeurs solides métastatiques	NKG2D-ligand CAR-NK Cells	Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Chine	NCT03415100	Recrute
Clinical Research of ROBO1 Specific CAR-NK Cells on Patients With Solid Tumors	Tumeurs solides	ROBO1 CAR-NK cells	Suzhou Cancer Center, Nanjing Medical University, Jiangsu, Chine	NCT03940820	Recrute
Clinical Research of Adoptive BCMA CAR-NK Cells on Relapse/Refractory MM Myélome multiple rec/ref	MM Myélome multiple rec/ref	BCMA CAR-NK92 cells	Wuxi People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu, Chine	NCT03940833	Recrute
Study of Anti-CD19/CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma	LNH B rec/ref	Anti-CD19/CD22 CAR-NK Cells		NCT03824964	Ne recrute pas
CAR-pNK Cell Immunotherapy for Relapsed/Refractory CD33+ AML	LAM rec/ref	Anti-CD33 CAR-NK Cells	PersonGen BioTherapeutics, Suzhou, Jiangsu, Chine	NCT02944162	Statut inconnu
PCAR-119 Bridge Immunotherapy Prior to Stem Cell Transplant in Treating Patients With CD19 Positive Leukemia and Lymphoma	hémapathies B CD19+ en brigue à l'alloSCT (LAL, LLC, prolympho, LNH folliculaire, manteau, DLBCL	Anti-CD19 CAR-NK Cells	PersonGen BioTherapeutics, Suzhou, Jiangsu, Chine	NCT02892695	Statut inconnu
Safety of Intravenous Allogeneic Engineered Natural Killer Cells in Adults With AML or MDS	LAM et syndrome myélodysplasique rec/ref	NKX101 CAR-NK Cells	Colorado,Denver ; Cleveland , Nashville ; USA	NCT04623944	Recrute
Clinical Research of ROBO1 Specific BiCAR-NK Cells on Patients With Pancreatic Cancer	Cancer du pancréas	BiCAR-NK Cells (ROBO1 CAR-NK cells)	Shanghai Ruijin Hospital, Département de radiologie, Shanghai, Chine	NCT03941457	Recrute
Clinical Research of ROBO1 Specific BiCAR-NK/T Cells on Patients With Malignant Tumor	Tumeurs malignes	BiCAR-NK/T Cells (ROBO1 CAR-NK/T cells)	Suzhou Kowloon Hospital, Suzhou, Jiangsu, Chine	NCT03931720	Recrute
CAR.CD19-CD28-zeta-2A-iCasp9-IL15-Transduced Cord Blood NK Cells, High-Dose Chemotherapy, and Stem Cell Transplant in Treating Participants With B-cell Lymphoma	Lymphome B CD19+ (manteau,folliculaire, DLBCL rec/ref)	Auto-SCT, Rituximab, NK dérivées du cordon	M D Anderson Cancer Center, Houston, USA	NCT03579927	Retiré
Umbilical & Cord Blood (CB) Derived CAR-Engineered NK Cells for B Lymphoid Malignancies	Leucémie et LNH B CD19+ (LAL, LLC, LNH)	iC9/CAR.19/IL15- Transduced CB-NK Cells	University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, ,USA	NCT03056339	Recrute

Abréviations :LNH , lymphome non hodgkinien; LAM, Leucémie aiguë myéloïde; LAL , Leucémie aiguë lymphoblastique; LLC ,leucémie lymphoïde chronique, DLBCL, Lymphome B diffus à grandes cellules; rec, rechute; ref, réfractaire