

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le  
Par M Benjamin Segain**

---

**Influence du microbiote intestinal sur l'efficacité des immunothérapies :  
exemple des inhibiteurs de checkpoints immunitaires et des cellules CAR-T.**



---

**Membres du jury :**

**Président :** Professeur SIMON Nicolas (Pharmacien, PU-PH, CHU de Lille).

**Assesseur(s) :** Docteur SAINT-LORANT Guillaume (Pharmacien, MCU-PH, CHU de Caen), Docteur BERTIN Benjamin (PU, Université de Lille).

**Membre(s) extérieur(s) :** Docteur MARTON Chrystel (Pharmacien, CHU de Lille), Docteur MERESSE Bertrand (CR, U1286 Infnite).

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 2/72

### Université de Lille

Président  
Premier Vice-président  
Vice-présidente Formation  
Vice-président Recherche  
Vice-président Ressources humaines  
Directrice Générale des Services

Régis BORDET  
Etienne PEYRAT  
Corinne ROBACZEWSKI  
Olivier COLOT  
Bertrand DÉCAUDIN  
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

### UFR3S

Doyen  
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité  
Vice-Doyenne Recherche  
Vice-Doyen Finances et Patrimoine  
Vice-Doyen International  
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires  
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie  
Vice-Doyen Territoire-Partenariats  
Vice-Doyen Santé numérique et Communication  
Vice-Doyenne Vie de Campus  
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX  
Hervé HUBERT  
Karine FAURE  
Damien CUNY  
Vincent DERAMECOURT  
Sébastien D'HARANCY  
Caroline LANIER  
Thomas MORGENROTH  
Vincent SOBANSKI  
Anne-Laure BARBOTIN  
Valentin ROUSSEL

### Faculté de Pharmacie

Doyen  
Premier Assesseur et  
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement  
Assesseur à la Vie de la Faculté et  
Assesseur aux Ressources et Personnels  
Responsable des Services  
Représentant étudiant  
Chargé de mission 1er cycle  
Chargée de mission 2eme cycle  
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche  
Chargé de mission Relations Internationales  
Chargée de Mission Qualité  
Chargé de mission dossier HCERES

Delphine ALLORGE  
Anne GARAT  
Emmanuelle LIPKA  
Cyrille PORTA  
Honoré GUISE  
Philippe GERVOIS  
Héloïse HENRY  
Nicolas WILLAND  
Christophe FURMAN  
Marie-Françoise ODOU  
Réjane LESTRELIN

### Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81

Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

### Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86

M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

#### Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82
-----	------	-----------------	---------------------------	----

**Maîtres de Conférences des Universités (MCU)**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86

M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85

Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

#### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

#### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

#### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

#### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

#### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

#### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	



M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
----	-----------------	---------	---	--

#### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

#### CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour

## Remerciements

La réalisation de ce travail concluant mes études de pharmacie n'aurait pu être réalisé sans le concours de nombreuses personnes que je souhaiterais remercier.

Je voudrais tout d'abord remercier le Professeur Benjamin Bertin pour sa confiance, ses conseils avisés et son expertise qui m'ont aidé à grandement améliorer ma perception scientifique. Avec le Docteur Annie Standaert et le Professeur Benoit Foligné vous m'avez accueilli à Lille durant mes deux premières années d'internat et m'avez toujours soutenu.

Je tiens également à remercier le Docteur Julie Demaret, coordinatrice du DES IPR pour ses conseils, son soutien et son écoute constante tout du long de mon internat.

Je souhaite remercier le Docteur Suman Mitra de m'avoir accueilli dans son équipe afin que je puisse y réaliser une thèse de Science et d'avoir accepté que je puisse réaliser ma thèse de Pharmacie en parallèle sous la direction du Professeur Benjamin Bertin. Je remercie chaleureusement les membres de son équipe, Adeline, Silvia, Malo, Pauline, Gemma, Leila pour leurs aide précieuse et leur joie de vivre, je suis sincèrement heureux de partager ma thèse de science avec vous.

Je remercie également tous les membres de l'équipe Leukemia notamment Julie, Lama, Pauline, Djoanna, Claire, Axel, Salim, Hassiba pour votre accueil et vos rires dans les bons comme les moins bons moments. Vous êtes tous d'un soutien émotionnel sans faille.

Merci également à l'ensemble des internes IPR de Lille notamment, Fethi et Pauline, qui m'ont fait découvrir les nombreux bars de Lille et qui m'ont rendu fier d'être IPR.

Des remerciements tous particuliers sont de mise pour mes amis de Paris que j'ai dû quitter pour vivre cette aventure lilloise. A commencer par mes amis du lycée, cela fait maintenant un bon moment que nous nous connaissons, nous avons vécu pleins d'aventures merveilleuses et malgré la distance je sais que nous en vivrons plein d'autres.

Je tiens à spécialement remercier les Schtroumpfs, de nombreux souvenirs me traversent l'esprit en écrivant ces mots, en commençant par nos staffs à la SE dans le froid sous les

arcades, à mes chansonnettes sur les bancs de la fac, à mon compte chez le japonais, aux chorées pharma que je massacrais gaiement. Merci d'être un groupe d'amis si fidèle et si incroyable.

Enfin, il n'y pas de mots pour décrire à quel point je suis reconnaissant envers ma famille. Merci à mes chers parents qui m'ont permis de réaliser les études que je voulais et qui m'ont soutenu d'une manière incroyable durant ces dix années. Nous avons traversé de nombreuses épreuves ensemble et je vous remercie du fond du cœur d'avoir été là pour moi et de continuer à l'être. Je suis extrêmement heureux que vous soyez mes parents et je suis fier d'être votre fils.

Ma chère petite sœur chérie, bien que nous nous soyons souvent embêtés ça a toujours été avec amour. Je chéris chaque souvenir que j'ai avec toi et suis heureux de la femme que tu es devenue. Peu importe la situation je sais que je peux compter sur toi et toi sur moi. Ton grand frère fier qui t'aime.

Les derniers mots de ces remerciements sont pour toi Clara, mon cœur, mon amour, my love. Je ne peux exprimer la gratitude de t'avoir à mes côtés, tu as toujours été présente peu importe les situations. Tu es restée après avoir découvert mon humour d'une finesse incomprise, tu m'as soutenue quand j'en avais besoin. Tu me pousses à me dépasser chaque jour et avancer jours après jours avec toi est un réel bonheur. Je suis heureux de t'avoir à mes côtés. Je terminerai par te dire que tu es et resteras craquante comme une chips. Je t'aime.

## SOMMAIRE

<b>Liste des figures.....</b>	<b>13</b>
<b>Liste des tableaux.....</b>	<b>14</b>
<b>Abréviations.....</b>	<b>15</b>
<b>I. Introduction.....</b>	<b>16</b>
<b>A. Le cancer, où en sommes-nous ? .....</b>	<b>16</b>
<b>B. Quel arsenal thérapeutique contre le cancer ?.....</b>	<b>17</b>
1. Les premiers traitements historiques.....	18
2. Les chimiothérapies ciblant l'ADN .....	19
3. Les inhibiteurs de tyrosine kinase et anticorps monoclonaux.....	20
4. Les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire .....	22
<b>II. Les cellules CAR-T, le traitement tant attendu dans la lutte contre le cancer ? .....</b>	<b>24</b>
<b>A. Quel-est leur mécanisme d'action ? .....</b>	<b>24</b>
<b>B. Quelles sont les limites des cellules CAR-T ? .....</b>	<b>30</b>
<b>III. Le microbiote intestinal a-t-il un rôle dans la réponse antitumorale médiée par les cellules CAR-T ?.....</b>	<b>35</b>
<b>A. Qu'est-ce que le microbiote intestinal et quel est son impact sur notre santé ?</b>	<b>35</b>
<b>B. Quelle-est la relation entre microbiote intestinal et cancer ?.....</b>	<b>39</b>
<b>C. Le microbiote intestinal-a-t-il une influence sur l'efficacité des inhibiteurs de checkpoints immunitaires ? .....</b>	<b>42</b>
<b>D. Le microbiote intestinal, allié ou ennemi des cellules CAR-T ?.....</b>	<b>47</b>
<b>IV. La manipulation du microbiote intestinal peut-il améliorer la réponse aux cellules CAR-T ?.....</b>	<b>54</b>
<b>V. Conclusion.....</b>	<b>57</b>
<b>Bibliographie : .....</b>	<b>59</b>

## Liste des figures

Figure 1 : Frise chronologique de l'évolution de l'arsenal thérapeutique dans la lutte contre le cancer. ....	18
Figure 2 : Système de présentation des antigènes endogènes ou exogènes aux lymphocytes. ....	25
Figure 3 : Principe d'insertion d'un gène d'intérêt dans le génome cellulaire à l'aide d'une particule virale. ....	26
Figure 4 : Structure du récepteur CAR. ....	27
Figure 5 : Étapes de production des cellules CAR-T. ....	28
Figure 6 : Mécanisme d'action des cellules CAR-T. ....	29
Figure 7 : Comparaison de l'organisation vasculaire entre un tissu sain et un tissu tumoral. ....	32
Figure 8 Métabolisme du glucose chez une cellule différenciée et chez une cellule proliférative ou tumoral. ....	33
Figure 9 : Acteurs impliqués dans la mise en place de l'homéostasie intestinale. ....	36
Figure 10 : Rôle et mécanisme d'action du butyrate produit par le microbiote intestinal dans l'immunité intestinale. ....	37
Figure 11 : Impact de la dysbiose intestinale dans le développement du carcinome hépatocellulaire. ....	41
Figure 12 : Impact de la modulation du microbiote intestinal sur l'efficacité des ICI. ....	45
Figure 13 : Impact de l'association d'un probiotique (CBM588) avec la combinaison nivolumab-ipilimumab dans le cas du carcinome rénal métastatique. ....	46
Figure 14 : Impact de la transplantation de microbiote fécal sur l'efficacité des ICI. Panel A : Plan expérimental, une transplantation de microbiote fécal est réalisée sur des souris « germ free » à partir de selles de patients répondeurs ou nonaux ICI. ....	47
Figure 15 : Impact des AGCC sur la fonctionnalité des lymphocytes T et des cellules CAR-T. ....	49
Figure 16 : Impact de l'antibiothérapie en pré-injection des cellules CAR-T sur la survie des patients atteints de lymphomes non Hodgkinien (NHL) ou de leucémie aiguë lymphoïde (LAL). ....	50
Figure 17 : Relation entre la prise d'antibiotique avant l'injection des cellules CAR-T et la survenue d'effets indésirables SRC ou neurotoxicité. ....	52
Figure 18 : Étapes nécessaire à la réalisation de la transplantation de microbiote fécal. ....	55

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification du SRC se reposant sur les signes cliniques.....	51
Tableau 2 : Gradation de la neurotoxicité associée aux cellules CAR-T.....	51

## Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AGCC : Acide Gras à Chaîne Courte

ATP : Adénosine Triphosphate

BCR-ABL : Breakpoint Cluster Region – Abelson

CAR : Chimeric Antigen Receptor

CD : Cluster de Différenciation

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

CTLA4 : Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4

ESMO : European Society for Medical Oncology

GATA3 : GATA Binding protein 3

ICI : Inhibiteur de Checkpoint Immunitaire

IFN : Interféron

INCa : Institut National du Cancer

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoïde

MET : Microenvironnement tumoral

MICI : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PD1 : Programmed cell Death 1

SRC : Syndrome de relargage cytokinique

TNF : Tumor Necrosis Factor

# **I. Introduction**

## **A. Le cancer, où en sommes-nous ?**

Le cancer est une maladie ancrée dans l'histoire de l'humanité avec des mentions datant de l'Égypte antique. Il fallut attendre les descriptions d'Hippocrate pour donner un nom à cette pathologie, l'analogie morphologique des tumeurs à celle du crabe aboutit au nom de cancer. Déjà à cette époque, la chronologie de l'intervention thérapeutique était importante, le docteur grec préconisait une prise en charge rapide pour espérer une guérison. Galien a été à l'origine d'une des premières définitions du cancer qui était considéré comme un excès d'humeur, notamment de la bile noire qui se solidifiait. Le traitement préconisé était la dissolution de cette masse ou bien l'excision complète.

C'est au Moyen-Âge que la notion de rechute est apparue, Henri de Mondeville pointait la difficulté de guérir du cancer et dont l'un des traitements les plus efficaces était l'excision dans l'intégralité de la masse. Cependant, il a souligné que si cette dernière n'était pas complète alors la maladie réapparaissait. Ainsi, la rechute après chirurgie venait d'être décrite.

C'est au XIX<sup>ème</sup> siècle avec l'avènement du microscope que l'anatomiste Johannes Peter Müller décrivit une tumeur comme étant constituée de cellules, bouleversant les structures tissulaires et pouvant récidiver et tuer.

Aujourd'hui, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le cancer comme étant des cellules anormales qui se développent de manière incontrôlée et se répandent au-delà de leurs limites habituelles pour envahir des régions voisines du corps et/ou se propager à d'autres organes.

Grâce à des techniques de diagnostic plus précises et à cause d'une augmentation constante de la population mondiale, l'incidence du cancer dans le monde a atteint près de 20 millions de nouveaux cas en 2020. Cette même année, le cancer a été la cause de 10 millions de décès, correspondant à près d'un décès sur six dans le monde. L'OMS estime qu'en 2040, l'incidence du cancer sera de 30 millions de nouveaux cas et sera la cause du décès de 16 millions de personnes.



Ainsi le cancer est un problème de santé publique majeur et le sera probablement dans les années à venir avec un poids sur la santé mondiale de plus en plus important.

Outre l'impact sur la santé, le cancer pèse énormément sur l'économie mondiale. En 2023, une étude menée par l'ESMO (European Society for Medical Oncology) estime que les pertes économiques générées entre 2020 et 2050 par le cancer seront de 25 trillions de dollars [1].

En France, en 2021, l'Institut National du Cancer (INCa) estime les dépenses hospitalières associées au diagnostic, traitement et suivi des pathologies cancéreuses à 6,3 milliards d'euros, soit une augmentation de 6,6% par rapport à l'année précédente. Cette dépense va tendre à augmenter avec pour cause, les nouveaux traitements de plus en plus onéreux et le nombre de patients en constante augmentation. De plus, une personne sur cinq perd son emploi dans les cinq ans après le diagnostic d'un cancer et près d'une personne sur trois estime éprouver une dégradation persistante de sa qualité de vie mentale. Ces données démontrent un impact sociétal pour les personnes ayant ou ayant eu un cancer.

Au vu de ces données, l'oncologie est un domaine de recherche majeur, que ce soit dans la compréhension physiopathologique du cancer ou dans l'élaboration de nouveaux traitements. A ce jour, près de 100 000 essais cliniques sont en cours dans le monde ([www.clinicaltrial.gov](http://www.clinicaltrial.gov), recherche du mot « cancer » en juillet 2023) démontrant une effervescence dans le monde scientifique pour élaborer de nouveaux traitements.

## B. Quel arsenal thérapeutique contre le cancer ?

L'ensemble des options thérapeutiques disponible afin de lutter contre les pathologies tumorales n'a cessé de se développer au cours de l'Histoire (Figure 1). L'évolution des traitements est marquée par des événements historiques mais également des découvertes majeures dans les domaines de la biologie et de l'immunologie. A l'aide de ces avancées scientifiques, les médecins ont eu accès à des thérapies ciblant les cellules tumorales avec pour point initial la chirurgie avant d'arriver à une médecine de précision grâce à l'immunothérapie.

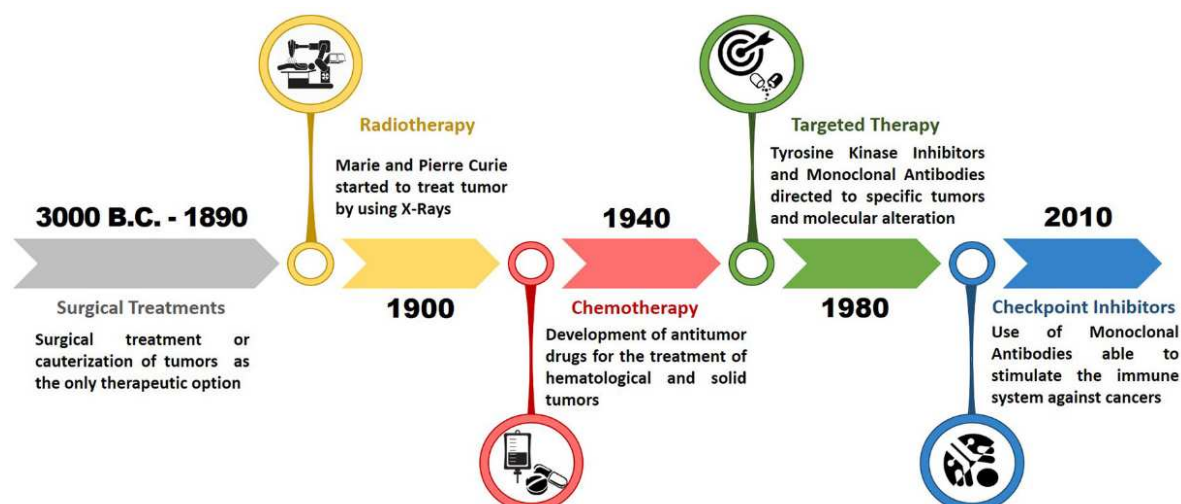


Figure 1 : Frise chronologique de l'évolution de l'arsenal thérapeutique dans la lutte contre le cancer [2].

### 1. Les premiers traitements historiques

Historiquement, l'un des premiers traitements décrits est l'excision de la masse tumorale lorsque cette dernière est localisée. Dans le cas contraire, des traitements palliatifs à base de dérivés du pavot étaient utilisés [3].

La prise en charge du cancer évolue avec la découverte des rayons X à la fin du XIXème siècle par Wilhelm Conrad Röntgen [4]. Leur application première était pour le diagnostic, cependant les chercheurs Pierre et Marie Curie décidèrent d'utiliser ces rayons dans un but thérapeutique aidés par les travaux d'Emil H Grubbé qui fut le premier à appliquer les rayons X comme traitement contre le cancer du sein [5].

Ces différents travaux posèrent les bases de la radiothérapie qui se démocratisa dans les années 1920 grâce aux travaux de Claudius Regaud démontrant qu'un fractionnement de l'administration des rayons X permettait de réduire les effets indésirables [6].

Ces deux premières options thérapeutiques étaient préconisées pour les stades précoces avec pour objectif d'éradiquer la tumeur. Cependant, ces traitements étaient peu efficaces en cas de stades plus avancés et peu d'options thérapeutiques existaient en cas d'échecs thérapeutiques.

## 2. Les chimiothérapies ciblant l'ADN

Il faut attendre les années 1940 et la Seconde Guerre mondiale pour voir apparaître les premiers agents alkylants. L'un d'entre eux est la moutarde azotée présente dans le gaz moutarde responsable d'aplasies chez les soldats l'ayant respiré [7]. Le mécanisme d'action de cette molécule repose sur l'inhibition de la réparation de l'ADN. L'ADN est composé de deux brins complémentaires constitués d'une succession de nucléotides de quatre types : adénosine, thymine, guanine et cytosine. Lors de la division cellulaire, les brins d'ADN sont séparés et l'ADN polymérase permet de reconstituer les brins complémentaires. A la fin de ce processus, deux molécules d'ADN double brins sont synthétisées et réparties dans les cellules issues de la division.

La cytotoxicité des agents alkylants repose sur la liaison du groupe aziridium de la molécule sur les guanines créant des liaisons covalentes entre les deux brins d'ADN. L'apparition de ces liaisons augmente l'encombrement stérique réduisant l'accès à l'ADN pour les polymérases et empêche la réplication de l'ADN. De plus, ces agents se lient aux groupes alkyl des bases de l'ADN ce qui induit des coupures simple et double brin par les enzymes de réparation de l'ADN et provoque l'apoptose des cellules.

Le chef de file de cette classe thérapeutique est le cyclophosphamide qui est moins toxique que les substances utilisées durant la guerre. La réduction de la toxicité est liée aux propriétés de la molécule qui a besoin d'être métabolisée par le foie afin d'aboutir au métabolite alkylant qui cible les cellules en division. Les cellules tumorales sont particulièrement ciblées par ces molécules à cause de leur forte prolifération comparée aux cellules saine qui sont moins impactées par les agents alkylants.

D'autres agents alkylants furent développés dans les années 1970 avec notamment les agents dérivés du platine.

Peu après la Seconde Guerre mondiale, une nouvelle classe médicamenteuse fait son apparition dans l'arsenal thérapeutique antinéoplasique : les antimétabolites. Ces molécules inhibent la prolifération cellulaire en bloquant la synthèse de l'ADN. Le chef de file de cette classe est le méthotrexate. Cette molécule inhibe la dihydrofolate réductase et réduit de ce fait la conversion du dihydrofolate en tétrahydrofolate, ce dernier étant crucial pour la synthèse des base purines (adénosine et guanine) et de

la thymidine. Ainsi, cette classe thérapeutique empêche la prolifération cellulaire mais induit également des perturbations métaboliques qui conduisent à la mort cellulaire [8].

L'avènement de la chimiothérapie avec l'ensemble des classes thérapeutiques qu'elle inclut permet une amélioration de la survie des patients. La compréhension de la biologie cellulaire tumorale amène à mettre au point de nouveaux composés ainsi qu'à l'élaboration de protocoles thérapeutiques. L'objectif de ces derniers est d'utiliser, en association, différentes molécules ayant différents mécanismes d'action afin d'améliorer l'efficacité des traitements. Une réponse antitumorale synergique est recherchée tout en respectant les seuils de tolérance à ces différentes molécules et permet de réduire les risques d'apparition de résistance.

L'un des premiers protocoles utilisés est le MOPP, élaboré par l'équipe du Dr De Vita en 1964, qui associe de la mechlorethamine (agent alkylant), la vincristine (inhibiteur de topoisomérase, empêchant la prolifération cellulaire), la procarbazine (agent alkylant) et la prednisone (corticostéroïde). L'utilisation de ce protocole dans les cas de maladie de Hodgkin avancée a permis la rémission complète chez 80% des patients traités ainsi que l'absence de symptômes ou rechute chez 60% d'entre eux [9].

La combinaison de la chimiothérapie avec la chirurgie ou la radiothérapie sert de base à l'élaboration des protocoles de prise en charge des patients en fonction des caractéristiques des différentes pathologies.

Cependant ces molécules manquent de sélectivité et provoquent des effets indésirables hématologiques comme une aplasie [10] nécessitant le développement d'autres options thérapeutiques.

### 3. Les inhibiteurs de tyrosine kinase et anticorps monoclonaux

L'amélioration des connaissances en biologie cellulaire et en immunologie a facilité l'appréhension de la genèse, la propagation et le traitement des cancers. Cela aboutit au développement d'une nouvelle approche thérapeutique appelée thérapie ciblée qui regroupe de nombreuses classes thérapeutiques.

Grâce à l'identification des voies de signalisation moléculaires impliquées dans la prolifération des cellules cancéreuses, de petites molécules ont été développées. Ces

dernières ciblent, pour la plupart, des tyrosines kinases qui sont des enzymes clés dans la signalisation intracellulaire et les réponses biologiques. Par exemple, l'imatinib (Glivec®) est une molécule utilisée dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique, caractérisée par une translocation à l'origine du chromosome de Philadelphie. Cette anomalie conduit à la formation d'un oncogène nommé BCR-ABL qui augmente l'activité de la tyrosine kinase ABL impliquée dans la division cellulaire et amplifie les signaux de prolifération cellulaire. Ainsi les cellules qui présentent cette anomalie, majoritairement issues de la lignée myéloïde, sont sujettes à une prolifération accrue et constante qui caractérise la leucémie myéloïde [11]. L'imatinib a été synthétisé pour se lier spécifiquement au domaine kinase de BCR-ABL et induire un changement de conformation de l'enzyme la rendant inactive [12]. En plus d'empêcher leur prolifération, l'inactivation de cette voie de signalisation induit l'apoptose des cellules.

Comme dans le cas de l'imatinib, la synthèse chimique de ces molécules permet de moduler leur structure et de cibler spécifiquement les enzymes tyrosine kinases exprimées par les cellules cancéreuses.

Une autre classe médicamenteuse emblématique des thérapies ciblées est les anticorps monoclonaux. Ces derniers sont apparus avec le développement des hybridomes qui consistent en la fusion de lymphoblastes B produisant des anticorps et une cellule de myélome dotée d'une capacité de prolifération et d'immortalité [13]. Cette technique permet de produire de grande quantité d'anticorps afin de les appliquer en thérapie.

Parmi les anticorps monoclonaux nous avons le Rituximab qui est dirigé contre le CD20 indiqué dans le lymphome non-Hodgkinien [14]. Cette pathologie est associée à une prolifération non régulée de lymphocytes B induisant une défaillance de l'immunité mais également de divers organes en fonction de la localisation. Le CD20 a été défini comme une cible intéressante dans cette pathologie à cause de sa forte expression à la surface des différents stades de maturation du lymphocyte B et est restreint à ce type cellulaire. Le CD20 est impliqué dans la régulation du calcium intracellulaire, du cycle cellulaire, de l'apoptose [15] et semble participer à la fonctionnalité des lymphocytes B [16]. La liaison de l'anticorps monoclonal au CD20 va induire une cytotoxicité dépendante des anticorps [17] mais également activer la

voie du complément par agrégation à la surface cellulaire du lymphocyte de la protéine C1q qui initialise la cytotoxicité liée au complément [18,19].

Jusqu'à présent, les thérapies se sont concentrées sur le ciblage des cellules tumorales via différentes molécules. L'avancée des connaissances immunologiques permet de développer de nouveaux traitements qui vont supporter le système immunitaire. Un ensemble de traitement est alors développé et regroupé sous le nom d'immunothérapie, nous nous concentrerons sur les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire et les cellules chimeric antigen receptor T (CAR-T).

#### 4. Les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire

Le début des années 2000 a été marqué par la découverte des points de contrôle (checkpoint) immunitaires parmi lesquels PD1 et CTLA4 [20,21]. Ces molécules sont exprimées par les cellules immunitaires afin de réguler et contrôler la réponse immune [22–24]. Le PD1 interagit avec son ligand PDL1, exprimé à la surface des cellules du « soi » qui par définition ne sont pas ciblées par le système immunitaire [24]. Cette interaction diminue l'expression de facteurs de transcription comme GATA3 et aboutit à l'inhibition des fonctions effectrices des lymphocytes ainsi que de leur prolifération [25].

Le CTLA4 a un mécanisme d'action différent, ce récepteur est exprimé par les cellules immunitaires ainsi que par les cellules du « soi » [26], il interagit avec le ligand du CD28 avec une meilleure affinité que ce dernier [26,27]. En plus de ces propriétés d'antagonistes, le CTLA4 est capable d'internaliser les ligands du CD28 exprimés sur les cellules présentatrices d'antigène empêchant l'interaction de ces derniers avec leur récepteur [28]. Afin d'être activé et fonctionnel, les lymphocytes T CD8 ont besoin de trois signaux : interaction avec l'antigène cible, induction des voies de costimulations (CD28, 4-1 BB) et la présence de cytokines qui orientent la réponse immunitaire [29]. Ainsi, en empêchant l'interaction avec le CD28, le CTLA4 empêche la mise en place du second signal d'activation, ce qui conduit à un état anergique des lymphocytes T CD8 [30,31].

L'étude des mécanismes d'échappement tumoral aux traitements a permis d'observer que la forte expression de PD1 et/ou CTLA4 est de mauvais pronostic et constitue une source de résistance aux différentes options thérapeutiques [32,33]. Cette

surexpression inactive les lymphocytes avoisinant les cellules tumorales et empêche la mise en place de la réponse immunitaire contre ces dernières. L'identification de ces mécanismes de résistance a abouti au développement des inhibiteurs de checkpoint immunitaires (ICI).

Cette classe thérapeutique a pour mécanisme d'action l'inhibition des checkpoints immunitaires précédemment décrits à l'aide d'anticorps monoclonaux. L'utilisation de ces traitements lève les mécanismes immunosuppresseurs tumoraux et soutient la réponse immunitaire antitumorale. Ces anticorps vont se lier aux CTLA4 ou PD1 et empêcher leur interaction avec leurs ligands [34,35].

Ces thérapies montrent une efficacité notable dans différents cancers comme le cancer du poumon ou le mélanome, qui sont deux cancers répandus, avec 20% [36] et 36% [37] de rémission complète obtenue respectivement. Cependant, selon les cancers, le taux de rechute peut atteindre 58% [34].

En dépit de bons résultats, ces traitements présentent des effets indésirables non négligeables comme des atteintes pulmonaires, cutanées et digestives liés à l'absence de régulation de la réponse immunitaire [38,39].

Malgré le développement de nouvelles options thérapeutiques au cours de l'Histoire, aucun traitement n'est efficace chez tous les patients. Face à des maladies en constante progression et à la biologie complexe des tumeurs, le développement de nouveaux traitements efficaces reste une priorité de recherche.

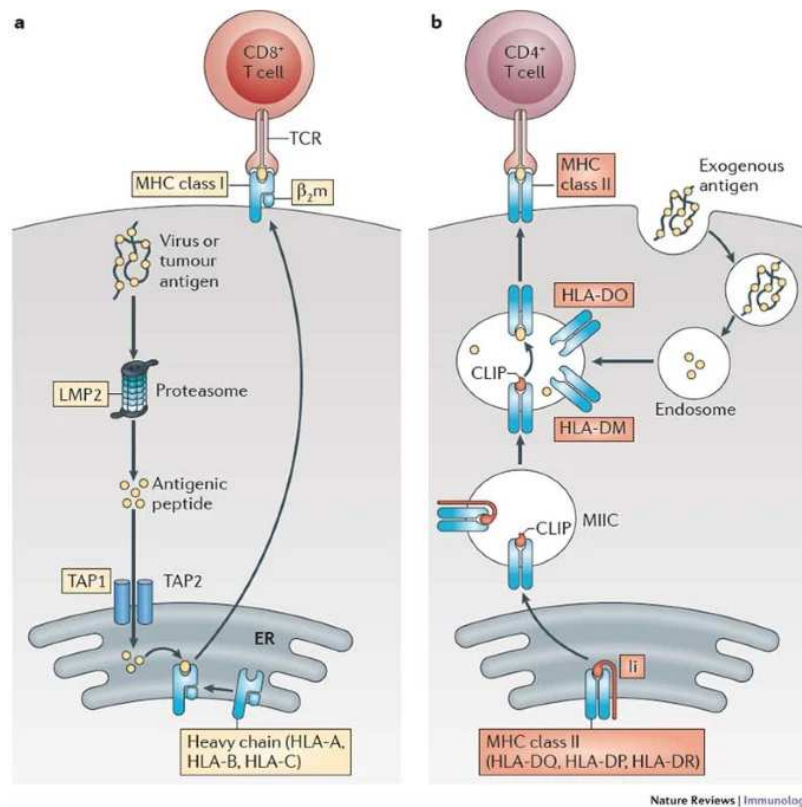
En 2017, la Food and Drug Administration (FDA) autorise l'utilisation d'un traitement appelé cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T) dont l'indication est la leucémie aiguë lymphoïde. Ce nouveau type de traitement apporte de nouveaux espoirs dans la lutte contre les cancers.

## **II. Les cellules CAR-T, le traitement tant attendu dans la lutte contre le cancer ?**

### **A. Quel-est leur mécanisme d'action ?**

Le concept de cellules CAR- T est apparu à la fin des années 1990 avec les travaux du Professeur Zelig Eshhar. Les lymphocytes T perçoivent les antigènes sous forme de peptides associés à une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) exprimée par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) [40]. La reconnaissance de ce complexe peptide/CMH permet d'induire une réponse immunitaire spécifique d'un antigène tout en évitant des réactions auto-immunes [29]. Au cours de leur développement, les lymphocytes T sont sélectionnés afin de ne pas générer de cellules auto-réactives. Les cellules capables de reconnaître le complexe formé de peptides endogènes non pathogènes, dits du « soi », associés au CMH sont éliminées [41]. A la suite de cette sélection, tout complexe composé d'antigène étranger et d'une molécule de CMH sera reconnu et activera une réponse immunitaire [40,42]. En fonction de son origine, l'antigène ne sera pas présenté de la même manière (Figure 2). Un antigène exogène sera pris en charge par des molécules de CMH de type II et sera présenté aux lymphocytes T CD4 afin d'orchestrer la réponse immunitaire [40,42]. Si l'antigène étranger est produit par une cellule du « soi », par exemple en cas d'infection virale, il sera associé à une molécule de CMH de type I et activera les lymphocytes T CD8 pour induire une cytotoxicité immédiate [40,42].





Nature Reviews | Immunology

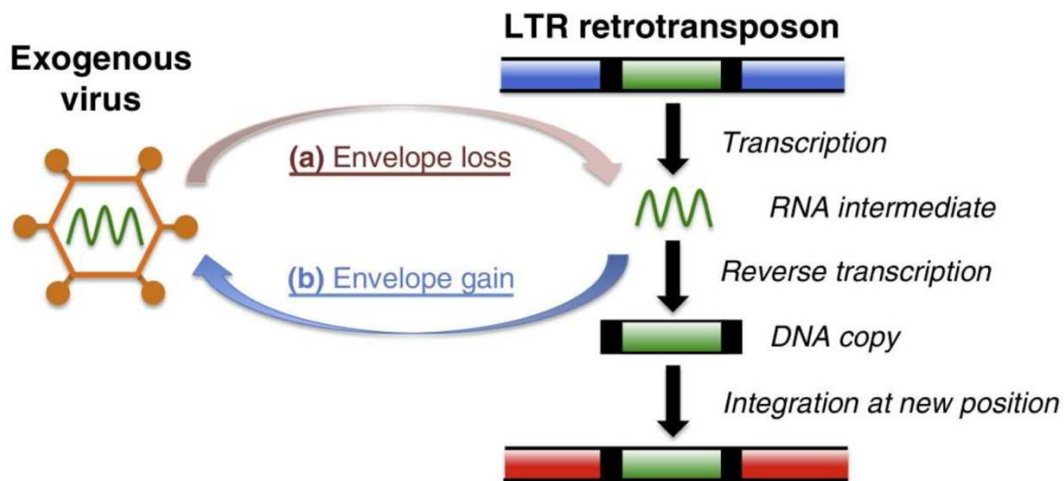
**Figure 2 :** Système de présentation des antigènes endogènes ou exogènes aux lymphocytes. Adapté de [42]. **Fig2A.** Système de présentation de l'antigène aux lymphocytes T CD8. Le virus ou l'antigène tumoral est dégradé en peptides antigéniques qui sont associés à la molécule de CMH I dans le réticulum endoplasmique. Le complexe est exporté à la membrane et sera reconnu par le lymphocyte T CD8. **Fig2B.** Système de présentation de l'antigène aux lymphocytes T CD4. L'antigène exogène est endocyté par la CPA, puis dégradé en peptide dans l'endosome. Le réticulum endoplasmique produit des vésicules contenant la molécule de CMH II, cette vésicule fusionne avec l'endosome et permet la formation du complexe CMH-peptide. Le complexe est exporté à la membrane pour être présenté aux lymphocytes T CD4.

Les cancers sont, à l'origine, des cellules saines qui vont proliférer de manière non contrôlée à cause de mutations. Cette instabilité génétique, conduit à l'expression de nouveaux antigènes qui sortent du répertoire du « soi », ces néo-antigènes sont associés à une molécule de CMH de type I [42]. Le complexe est reconnu par les lymphocytes T CD8 et induit une réaction antitumorale. Afin d'échapper au système immunitaire, les cellules tumorales réduisent l'expression des molécules de CMH afin de ne plus être détectées par les cellules du système immunitaire [43,44].

En se basant sur cette observation, l'équipe du Professeur Eshhar modifia génétiquement des lymphocytes T afin de les rendre indépendants du CMH, ces cellules sont appelées T-bodies [45], ancêtres des cellules CAR-T.

L'objectif de cette modification génétique est de permettre aux lymphocytes T de reconnaître l'antigène cible indépendamment du CMH [29,45].

Pour cela, un gène synthétique est inséré dans le génome du lymphocyte T grâce à l'utilisation de rétrovirus. Via la machinerie cellulaire, le gène synthétique sera exprimé par la cellule [46] (Figure 3).



**Figure 3 :** Principe d'insertion d'un gène d'intérêt (vert) dans le génome cellulaire (rouge) à l'aide d'une particule virale [46]. Le virus contenant la séquence génétique d'intérêt perd son enveloppe lors de l'infection de la cellule. L'ARN est rétrotranscrit en ADN et sera inséré dans le génome. Dans le cas des cellules CAR-T, le fragment d'ADN codant pour le CAR est apporté par un rétrovirus et est inséré dans le génome des lymphocytes T.

Dans le cas des cellules CAR-T, le gène d'intérêt code pour un récepteur synthétique constitué d'une partie extracellulaire dont la fonction est de reconnaître l'antigène cible, d'une partie transmembranaire permettant d'ancrer le récepteur à la membrane cellulaire et d'une partie intracellulaire permettant la mise en place de voies de signalisation [47] (Figure 4).

L'un des objectifs des cellules CAR-T est de reconnaître spécifiquement les cellules tumorales. Pour cela, la partie extracellulaire du récepteur est composée du fragment variable d'un anticorps [47]. L'une des particularités des anticorps est de reconnaître un antigène de manière spécifique et indépendante du CMH. Cette spécificité est due à leur région variable générée par des mutations aléatoires qui permettent à un anticorps de reconnaître un seul antigène [48]. Ainsi, en exploitant cette région variable comme site de reconnaissance de l'antigène cible, la cellule modifiée pourra reconnaître et être activée par un unique antigène.

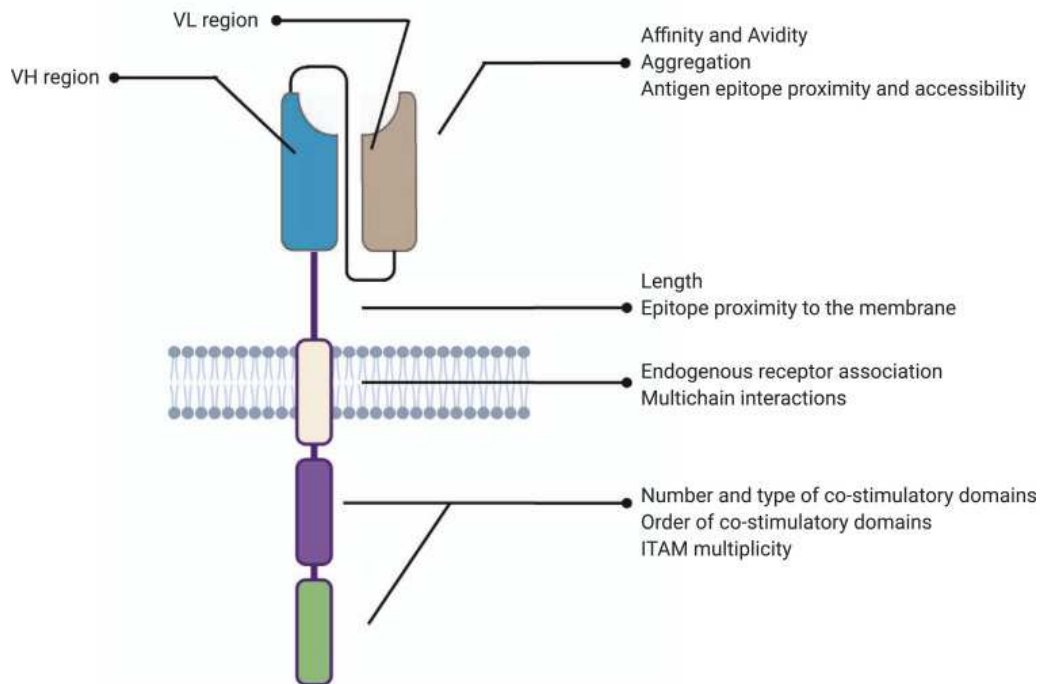


Figure 4 : Structure du récepteur CAR [47]. Le domaine extracellulaire est composé d'une chaîne variable légère et lourde similaire dérivées d'un anticorps qui assure la spécificité et la forte affinité pour l'antigène cible. Un domaine transmembranaire permet d'ancrer le récepteur à la membrane cellulaire. La partie intracellulaire assure l'activation de la cellule lors de la reconnaissance de l'antigène cible, elle est classiquement composée d'un domaine de costimulation (CD28 ou 4-1BB) et de la chaîne zêta du CD3.

L'interaction entre le récepteur et l'antigène cible induit un signal qui permet d'activer les fonctions effectrices de la cellule CAR-T. Le domaine du CAR qui assure la transduction du signal est composé d'une séquence qui code pour le domaine intracellulaire du récepteur coactivateur, le CD28 ou le 4-1BB et du domaine de signalisation CD3 $\zeta$  intracellulaire. Ces deux éléments ont été décrits comme ayant un rôle crucial dans l'activation du lymphocyte T lors de la reconnaissance de l'antigène au sein du complexe antigène/CMH [49].

Grâce à la composition génétique du CAR, les cellules CAR-T réunissent deux des trois signaux nécessaires à l'activation d'un lymphocyte T avec la stimulation antigénique et l'engagement d'un domaine de costimulation. Pour maintenir l'activité du lymphocyte et polariser sa réponse, des cytokines sont nécessaires et sont apportées par le microenvironnement cellulaire [49,50].

Le traitement par cellules CAR-T nécessite plusieurs étapes afin de préparer le patient et les cellules. Tout d'abord, les lymphocytes T du patient sont isolés, puis transduit à

l'aide d'un rétrovirus afin d'insérer la séquence du CAR dans le génome de la cellule. Les cellules transduites sont sélectionnées et amplifiées avant d'être réinjectées au patient [51] (Figure 5). Entre l'isolation des lymphocytes T et l'injection des cellules, le patient se voit administré une chimiothérapie afin de réduire la masse tumorale mais également pour diminuer son nombre de leucocytes. Cet affaiblissement volontaire du système immunitaire a pour but de concentrer certaines cytokines comme l'IL-7 et l'IL-2 nécessaires à la croissance des lymphocytes T dans le corps du patient afin de maximiser l'expansion des cellules CAR-T après l'injection.

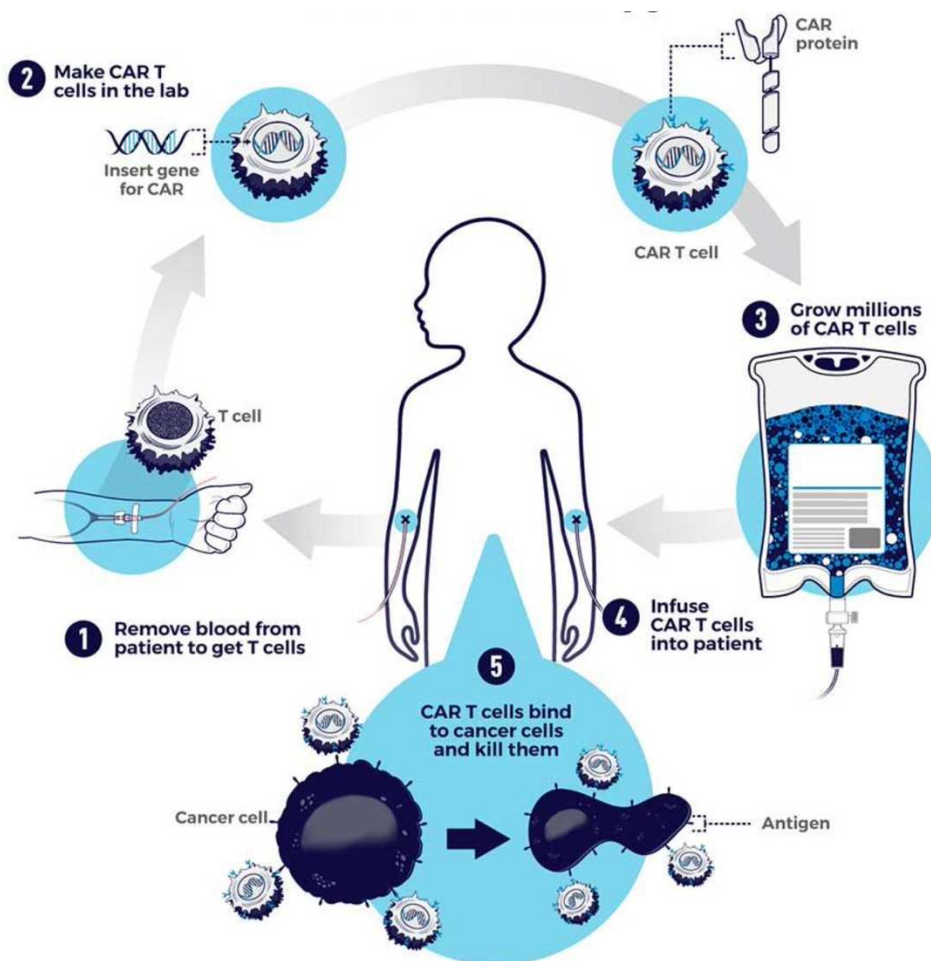
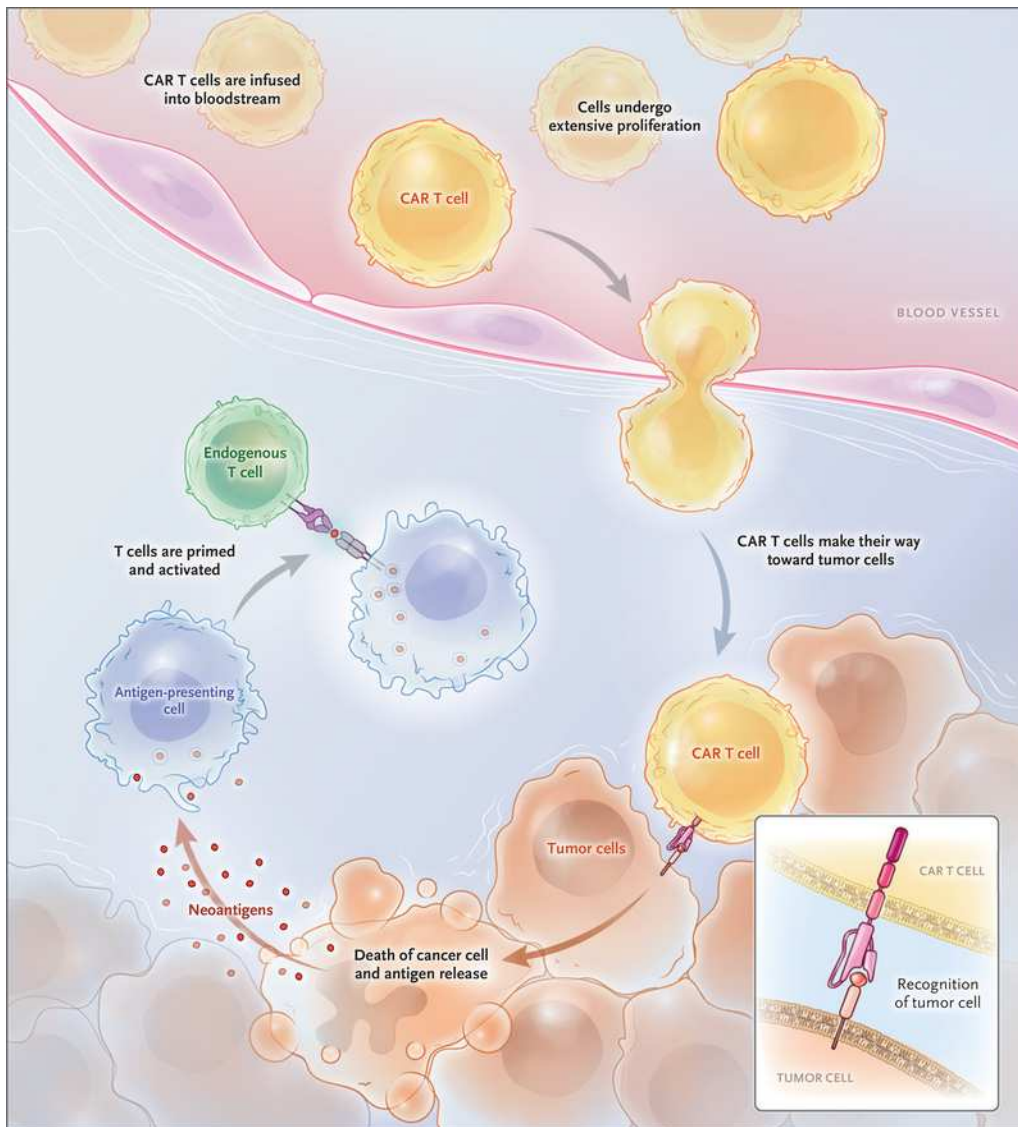


Figure 5 : Étapes de production des cellules CAR-T [51]. Tout d'abord les lymphocytes T du patient sont isolés puis transduits. Les cellules qui expriment le CAR sont amplifiées puis réinjectées chez le patient.

Après réinjection, les cellules CAR-T gagnent le site tumoral où elles reconnaissent spécifiquement les cellules cancéreuses. Cette reconnaissance entraîne l'activation du lymphocyte et induit la lyse de la cellule cible [52]. La cellule lysée libère des néo-antigènes alors captés par les cellules présentatrices d'antigènes qui vont activer les cellules T endogènes et amplifier la réponse antitumorale (Figure 6).



**Figure 6 :** Mécanisme d'action des cellules CAR-T. Après réinjection les cellules CAR-T gagnent le site tumoral où ils reconnaissent l'antigène tumoral via leur CAR. La reconnaissance de l'antigène active les cellules CAR-T et permet la lyse spécifique des cellules tumorales [52].

Les indications de cette thérapie sont pour le moment restreintes aux hémopathies malignes comme les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) [53] et lymphomes [54]. Ces hémopathies sont caractérisées par une prolifération non contrôlée des précurseurs des lymphocytes B due à des mutations [55]. Ce défaut de maturation amène à l'accumulation de cellules immatures dans la moelle osseuse amenant à un défaut de production des autres cellules sanguines [55]. Les cellules B immatures expriment fortement le CD19 qui constitue la cible des cellules CAR-T. L'utilisation des cellules CAR-T est accompagnée de résultats probants avec 50% de rémission chez



les patients traités [56–58]. Cependant, des effets secondaires ont été observés comme le syndrome de relargage cytokinique (SRC) et une neurotoxicité.

Au vu des résultats prometteurs dans les hémopathies malignes, la communauté scientifique appliqua les cellules CAR-T aux tumeurs solides comme le mélanome [59] et le glioblastome [60]. Les résultats n'ont toutefois pas été à la hauteur de ceux observés dans les LAL et lymphomes. Les efforts se concentrent aujourd'hui sur la compréhension et le contournement des résistances observées dans les tumeurs solides.

Ainsi les cellules CAR-T sont actuellement un traitement innovant qui se confronte à des limites qui empêchent leur application à un plus large panel de pathologies cancéreuses.

## B. Quelles sont les limites des cellules CAR-T ?

La spécificité des cellules CAR-T repose sur la cible antigénique choisie et reconnue par le domaine extracellulaire du récepteur. De nombreux paramètres influent sur le choix de la cible, cette dernière doit être exclusivement exprimée par les cellules cancéreuses, en quantité suffisante et de manière constante [61]. Dans le cas des LAL, la cible choisie est le CD19 qui est exprimé en grande quantité par les cellules tumorales. Ainsi, les cellules CAR-T auront un effet cytotoxique majoritairement « on-target », c'est à dire restreint aux cellules cibles et peu d'effet « off-target » associé à de la toxicité [62]. Dans le cas des LAL, les cellules CAR-T vont réagir contre toutes les cellules qui expriment le CD19, dont les précurseurs lymphoblastiques malins qui seront lysés mais également les lymphocytes B matures fonctionnels et sains. Ainsi, chez les patients atteints de LAL et traités par des cellules CAR-T, il est attendu d'observer une lymphopénie B [63] synonyme d'efficacité du traitement. Cet effet indésirable est associé à une toxicité « on-target » c'est à dire associé à une lyse des cellules exprimant l'antigène cible.

Parmi les effets indésirables les plus décrits, le syndrome de relargage cytokinique (SRC) est un autre effet « on-target » associé à la thérapie [64,65]. En plus d'induire la lyse des cellules tumorales, les cellules CAR-T vont produire des cytokines et favoriser la mise en place d'une réponse antitumorale. Cette production de cytokines

entraîne un emballement du système immunitaire induisant un état inflammatoire généralisé pouvant conduire le patient en unité de soins intensifs [64,65].

Dans le cas où l'antigène cible est exprimé par des tissus sains, les cellules CAR-T vont induire un effet toxique « off-target », qui constitue l'une des hypothèses avancées pour expliquer l'apparition d'une neurotoxicité après la réinjection des cellules modifiées [65]. Cette neurotoxicité serait associée à l'expression du CD19 par les cellules périvasculaires du cerveau comme les péricytes qui sont alors considérées comme des cibles pour les cellules CAR-T [60,65]. Une autre cause de cet effet indésirable est l'affaiblissement de la barrière hémato-encéphalique qui laisserait passer les cytokines pro-inflammatoires à l'origine des lésions neuronales conduisant à la neurotoxicité [65].

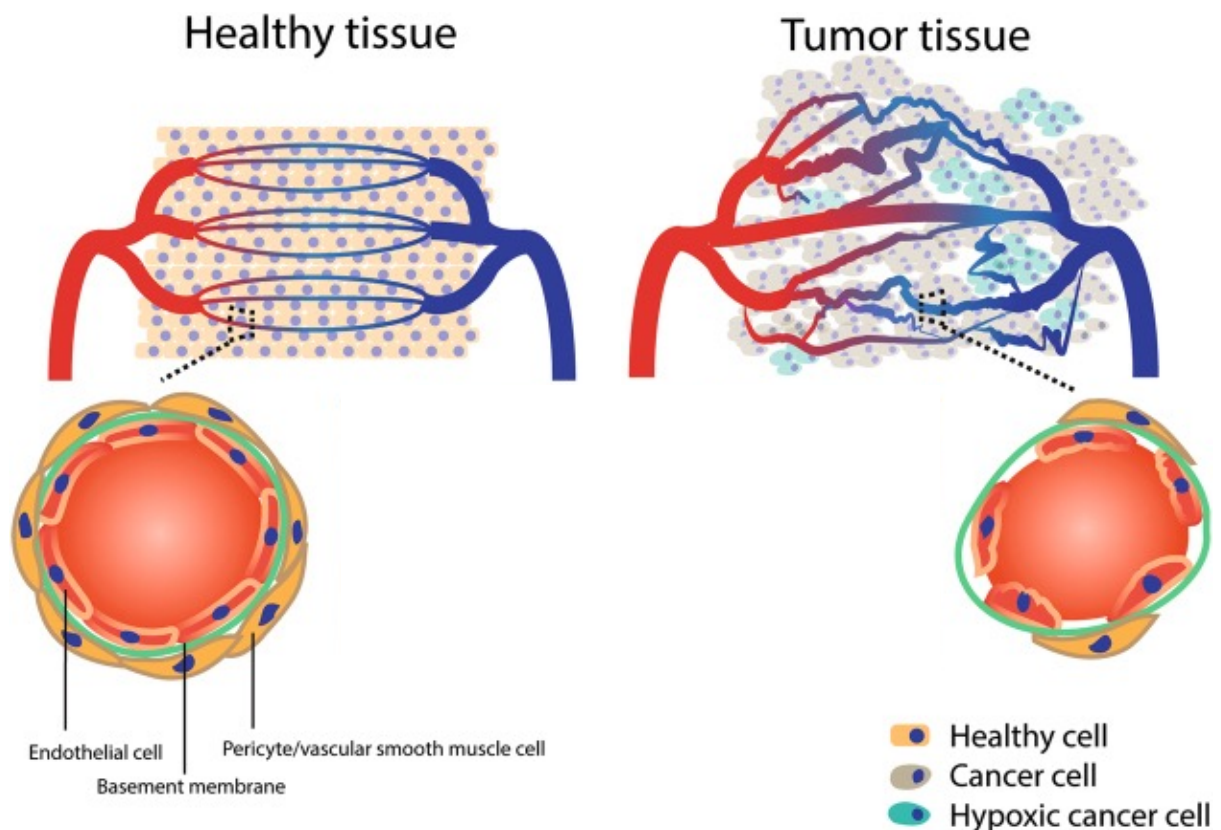
Le SRC et la neurotoxicité sont deux effets indésirables souvent décrits lors de l'utilisation des cellules CAR-T, mais ne constituent pas les seuls obstacles à l'extension de leurs indications.

L'application des cellules CAR-T aux tumeurs solides reste un challenge de taille et essuyent de nombreux échecs [66,67]. Cette différence de réponse est associée aux propriétés particulières des tumeurs solides qui, de par leur croissance non contrôlée, vont créer et entretenir un environnement spécifique appelé microenvironnement tumoral (MET) [68].

La première barrière que vont rencontrer les cellules CAR-T est une barrière physique constituée de fibrogène, amas de cellules et collagène [67–69]. La matrice extracellulaire empêche les cellules immunes d'infiltrer le cœur de la tumeur et de participer à la réponse antitumorale [70]. Cette barrière physique est ciblée afin de favoriser la pénétration des cellules CAR-T via divers mécanismes comme la surexpression de l'héparinase en utilisant un vecteur rétroviral contenant le gène qui code pour cette enzyme. Cette modification des cellules CAR-T facilite la dégradation de la matrice extracellulaire et d'améliore l'activité antitumorale des cellules [71].

En plus de cet obstacle physique, l'infiltration des cellules CAR-T est réduite à cause d'une vascularisation tumorale aberrante et inefficace [72]. Les cellules sont administrées par voie intraveineuse et vont atteindre la tumeur par voie vasculaire [52]. Cependant, à cause de leur activité proliférative incontrôlée, les cellules cancéreuses ont besoin d'un apport en oxygène et nutriments accru [73]. Ainsi, via des facteurs pro-angiogéniques produits par les cellules tumorales, de nouveaux vaisseaux immatures

sont créés de façon anarchique [74] (Figure7). Ce réseau vasculaire non fonctionnel empêche les cellules CAR-T de rejoindre le site tumoral et de lyser les cellules tumorales [74]. Encore une fois, différentes stratégies sont étudiées afin de surmonter ce défaut de perfusion, l'une d'entre elles consiste à diriger les cellules CAR-T contre les cellules exprimant le récepteur au facteur de croissance endothélial [75]. Ce récepteur est exprimé au niveau des cellules endothéliales tumorales, leur lyse induite par les cellules CAR-T améliore l'infiltration de cellules immunitaires et la réponse antitumorale [75].



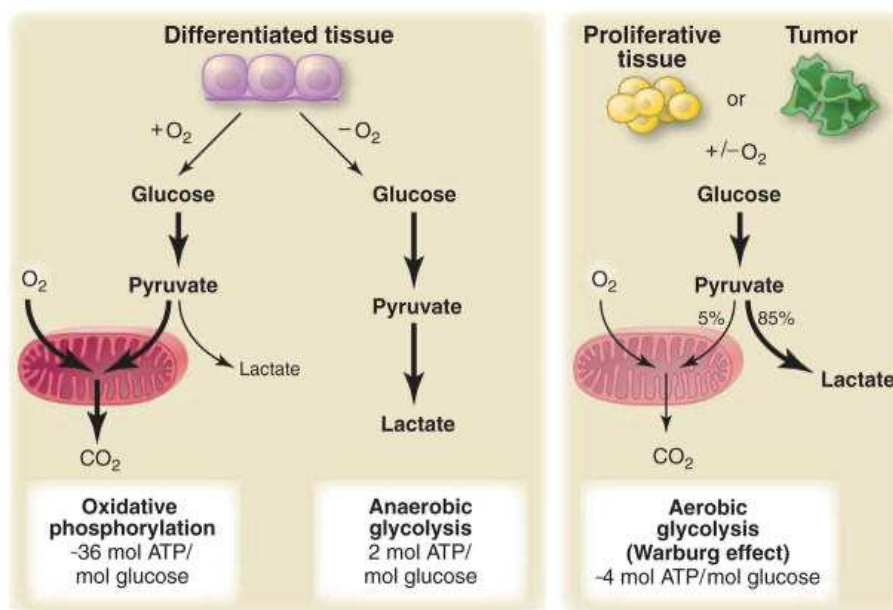
**Figure 7 :** Comparaison de l'organisation vasculaire entre un tissu sain (à gauche) et un tissu tumoral (à droite) [74]. Dans un tissu sain, la vascularisation se ramifie afin d'assurer un échange efficace des gaz et des nutriments, les vaisseaux sont constitués d'une couche de cellules endothéliales soutenue par des péricytes. Au sein de la tumeur, le réseau vasculaire est désorganisé et peu fonctionnel. Cette dysfonction est associée à une architecture des vaisseaux instable due à la discontinuité de la couche de cellule endothéliale.

Afin de maintenir leur état prolifératif, les cellules tumorales nécessitent une quantité importante d'énergie. Ce besoin en nutriments associé au réseau vasculaire inefficace entraîne, au sein de la tumeur, une compétition métabolique entre les cellules tumorales et les cellules immunitaires [76]. A cause de leur demande énergétique accrue, les cellules tumorales consomment rapidement les nutriments et l'oxygène à disposition [77] participant à la création d'un environnement hypoxique amplifié par le



réseau vasculaire défaillant et la forte densité cellulaire. Ces conditions drastiques réduisent la fonctionnalité des cellules immunitaires et donc des cellules CAR-T par extension [78].

Dans des conditions physiologiques, les cellules produisent de l'énergie grâce à la glycolyse, processus au cours duquel le glucose est transformé en pyruvate [79]. En présence d'oxygène, le pyruvate est oxydé puis transporté dans la mitochondrie afin d'entrer dans un processus métabolique appelé cycle de Krebs qui aboutit à la production d'énergie sous forme de molécule d'adénosine triphosphate (ATP) [79] (Figure 8).



**Figure 8** Métabolisme du glucose chez une cellule différenciée (panel de gauche) et chez une cellule proliférative ou tumorale (panel de droite) [80]. Les cellules différenciées produisent leur énergie à partir du glucose qui est transformé en pyruvate. En présence d'oxygène ce dernier est transformé par phosphorylation oxydative dans la mitochondrie afin de produire de grandes quantités d'ATP. En absence d'oxygène le pyruvate est transformé en lactate par fermentation qui produit peu d'ATP. Dans le cadre de cellules tumorales ou prolifératives, la voie conduisant à la fermentation lactique est favorisée, cette reprogrammation métabolique est appelée effet Warburg.

Dans les conditions hypoxiques de l'environnement tumoral, la raréfaction de l'oxygène empêche l'engagement du pyruvate dans le cycle de Krebs et favorise sa fermentation en lactate permettant la production de molécule d'ATP. Cette adaptation métabolique, appelée l'effet Warburg [80], explique comment les cellules cancéreuses se sont adaptées à des conditions métaboliques pauvres.

L'accumulation de lactate dans le cytoplasme des cellules tumorales induit son export par un transport couplé à l'export d'un ion hydrogène afin de limiter l'acidification

intracellulaire [81]. Cette sécrétion induit une acidification du milieu extracellulaire [82] avec un pH pouvant atteindre la valeur de 6,5 [83], à titre de comparaison, la valeur de pH physiologique est d'environ 7,4.

Cette acidification du milieu tumoral participe à l'établissement d'un environnement défavorable à la réponse antitumorale [84]. Par exemple, il a été décrit que les lymphocytes T en milieu acide perdent leur capacité à produire des cytokines pro-inflammatoires comme le  $TNF\alpha$  ou l' $IFN\gamma$  [84,85].

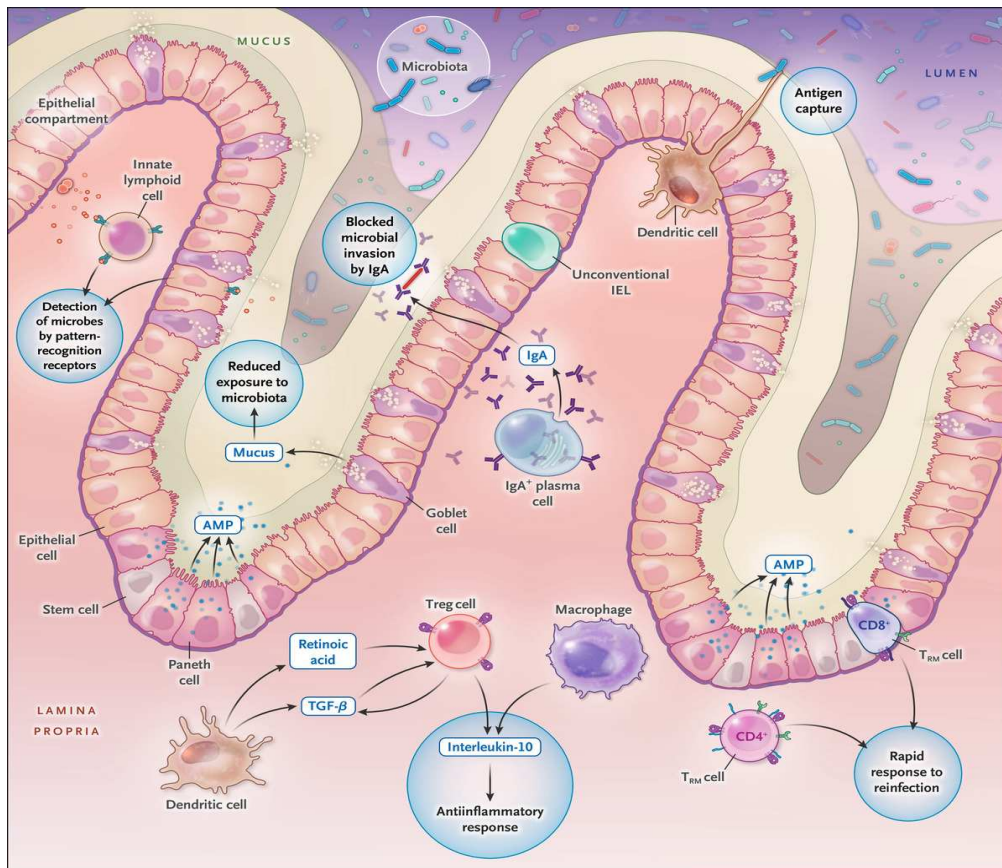
Ainsi de nombreuses limites qu'elles soient physiques, métaboliques mais également biochimiques impactent la réponse antitumorale médiée par les cellules CAR-T. De nombreux efforts se concentrent sur l'identification des marqueurs qui caractérisent ces résistances afin d'utiliser le traitement le plus adéquat. Nous avons vu que les métabolites, comme le lactate, ont un rôle prépondérant dans le développement des cellules cancéreuses et dans la réponse antitumorale. Ces métabolites peuvent être produits par les cellules du corps humains mais également et parfois exclusivement par des bactéries que l'on retrouve au niveau intestinal, constituant le microbiote intestinal. La composition de ce dernier et donc la palette de métabolites qui en découle est unique entre chaque individu et semble avoir une influence sur l'efficacité des traitements antitumoraux. Cette hypothèse interroge sur les mécanismes par lesquels des bactéries localisées au niveau intestinal peuvent avoir un effet sur les traitements antitumoraux qui ont une cible à distance de l'intestin.

### **III. Le microbiote intestinal a-t-il un rôle dans la réponse antitumorale médiée par les cellules CAR-T ?**

#### **A. Qu'est-ce que le microbiote intestinal et quel est son impact sur notre santé ?**

Le microbiote intestinal est défini comme l'ensemble des microorganismes incluant bactéries, virus et protozoaires présents dans la lumière intestinale [86,87]. L'intestin est une niche particulière, caractérisée par une tolérance immunitaire [88,89] qui permet la persistance du microbiote intestinal. Les mécanismes à l'origine de cet environnement sont à ce jour peu compris mais l'une des hypothèses est que le microbiote produit des métabolites qui diffusent à travers la barrière intestinale et induisent un effet anti-inflammatoire et tolérogène [90]. Cependant, afin d'éviter une colonisation de la muqueuse intestinale par les composants du microbiote, les cellules épithéliales produisent un mucus à leur surface [88,90]. Cette couche protectrice comprend des peptides antimicrobiens qui permettent d'éviter le contact entre les composants du microbiote et les cellules épithéliales [88]. Ainsi, l'équilibre constant entre le système immunitaire intestinal, le microbiote et ses métabolites, et les cellules épithéliales intestinales permet la mise en place de l'homéostasie intestinale [90] (Figure 9).

La perturbation de l'un de ces éléments entraîne une rupture de l'homéostasie qui, si elle n'est pas corrigée, participe à l'apparition de pathologies intestinales comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin [91].



**Figure 9 :** Acteurs impliqués dans la mise en place de l'homéostasie intestinale [91]. *Différents mécanismes réduisent le contact entre le contenu de la lumière intestinale et l'épithélium intestinal. Une barrière mécanique composée de mucus recouvre cet épithélium et contient des peptides antimicrobiens qui limitent l'invasion bactérienne de l'épithélium. Au sein de la lamina propria, la réponse immunitaire repose sur un équilibre entre réponse anti-inflammatoire assurée par l'IL-10, produit par les lymphocytes T régulateurs, et la réponse inflammatoire médiée dans le cas de réinfection.*

Le microbiote influe sur la santé intestinale par les métabolites qu'il produit à partir des fibres alimentaires ingérées [92]. L'une des classes de métabolites les plus décrites sont les acides gras à chaîne courte (AGCC) issus d'un processus de fermentation des fibres [92].

Par exemple, le butyrate qui fait partie de cette classe de métabolite présente de nombreux effets bénéfiques pour la santé intestinale [93–95] (Figure 10). Ce métabolite semble être une source d'énergie importante pour les cellules épithéliales intestinales [96] mais également favoriser la cicatrisation de ces dernières suite à une lésion [94,97]. Le butyrate présente également un effet sur l'immunité intestinale avec un effet anti-inflammatoire associé à l'induction de lymphocytes T régulateurs [98], dont le rôle est de contrôler la réponse immunitaire.

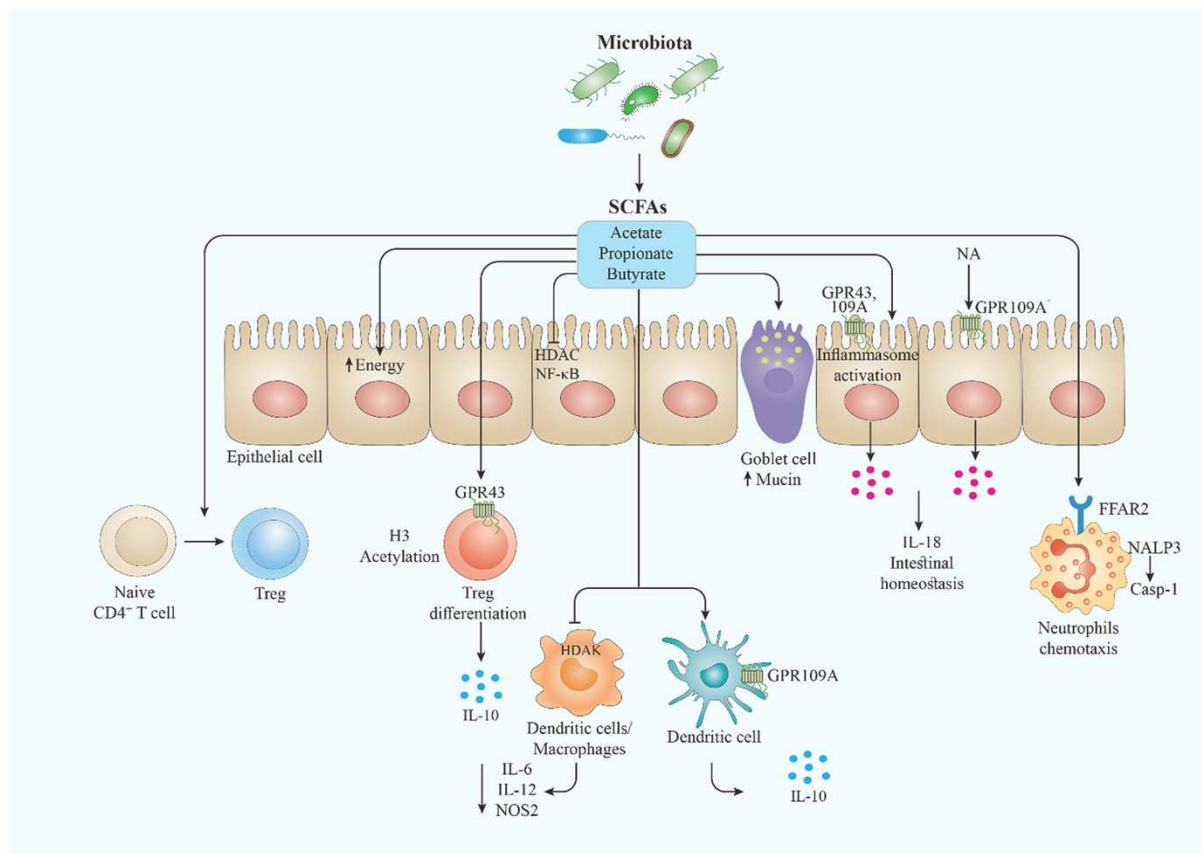


Figure 10 : Rôle et mécanisme d'action du butyrate produit par le microbiote intestinal dans l'immunité intestinale [95]. Le butyrate est produit par certaines espèces bactériennes à partir des fibres alimentaires ingérées. Ce métabolite présente des fonctions variées en fonction du type cellulaire ciblé. Par exemple, il constitue une source d'énergie pour les cellules épithéliales intestinales, tandis qu'il favorise la différenciation des lymphocytes T CD4 en lymphocytes T régulateurs et induit la production d'IL-10 par ces derniers.

En plus d'avoir un rôle important dans la physiologie intestinale, le microbiote intestinal semble avoir un impact sur la mise en place de pathologies intestinales comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) [91]. Ces pathologies sont caractérisées par une inflammation chronique de la muqueuse intestinale qui se manifeste par des crises entrecoupées de périodes de rémission [91,99] et qui peut se transformer en cancer du côlon [100]. Les mécanismes associés à l'apparition de ces maladies sont peu connus, cependant une dysbiose est souvent observée chez ces patients [101,102]. Cette altération du microbiote est associée à une baisse de la production des AGCC [103,104] qui entraîne un état inflammatoire de la muqueuse intestinale et favorise l'apparition d'infections bactériennes [105,106]. La restauration des niveaux de production de ces métabolites permet d'étendre les phases de

rémission et de réduire la symptomatologie des patients, démontrant le rôle des AGCC dans le maintien de l'homéostasie intestinale [107].

Ainsi le microbiote intestinal est un élément clé dans le maintien de l'homéostasie intestinale grâce à son implication dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques en cas de déséquilibre.

Outre un effet local, le microbiote intestinal est capable d'influer sur des organes situés à distance de l'intestin. Par exemple, il a déjà été rapporté qu'une perturbation du microbiote intestinal était observé en cas de pathologies du système nerveux [108]. Chez les patients atteints de la maladie de Parkinson, caractérisée par une dégradation progressive des neurones dopaminergiques, les niveaux de butyrate sont abaissés comparés à ceux observés chez les personnes saines [109,110]. Le butyrate présente des propriétés neuroprotectrices via une réduction de la neuro-inflammation [111,112]. De plus, une supplémentation en butyrate améliore les fonctions motrices des souris atteintes de la maladie de Parkinson [111].

Un autre exemple de l'effet du microbiote à distance du site intestinal est la relation étroite qui existe entre le foie et le microbiote intestinal. Anatomiquement, les deux organes sont reliés par la veine porte où le sang venant du petit et large intestin est drainé pour arriver au niveau hépatique. Grâce à cette connexion anatomique, les métabolites produits par le microbiote intestinal et qui ont diffusé jusque dans la circulation sanguine intestinale peuvent rejoindre le foie [113]. Ainsi ces métabolites agissent au niveau hépatique et vont par exemple, stimuler la réponse immunitaire hépatique en activant les macrophages résidents du foie [114] afin d'éliminer les pathogènes circulants.

En plus d'un rôle physiologique au niveau hépatique, le microbiote intestinal semble être impliqué dans la physiopathologie de maladies hépatiques. L'hépatite alcoolique est associée à une consommation excessive d'alcool mais des facteurs inter-individuels favorisent le développement et la sévérité de cette pathologie [115]. L'un des facteurs observé dans cette pathologie est la perturbation du microbiote intestinal, ou dysbiose, qui est associée à une augmentation de la production de métabolites pro-inflammatoires par les bactéries intestinales [116]. La dysbiose, caractérisée par la perturbation de certaines familles bactériennes, est associée à la progression de la cirrhose [116], stade le plus avancé de l'hépatite alcoolique. De plus, le transfert du

microbiote des patients à des souris dépourvu de microbiote intestinal induit une perturbation du métabolisme de l'éthanol et une susceptibilité aux pathologies hépatiques [117].

La stéato-hépatite non alcoolique appelée NASH est une autre pathologie hépatique où le microbiote intestinal semble jouer un rôle. Cette maladie est caractérisée par un syndrome métabolique (association d'une obésité, hyperglycémie et hypertriglycémie) [118] et peut aboutir à un carcinome hépatique, une hypertension portale voire au décès du patient [119]. Cette pathologie aurait deux points de départ, le premier est une stéatose hépatique, accumulation de graisse au niveau du foie, le second correspond à une accumulation d'espèces réactives de l'oxygène qui sont des molécules pro-inflammatoires [120]. En cas de dysbiose, le microbiote intestinal peut être une source importante de molécules induisant une réponse inflammatoire au niveau hépatique. La perturbation du microbiote peut donc constituer le second point de départ de la NASH et participer à son entretien via une inflammation constante [121].

Donc le microbiote intestinal est capable d'influer sur des processus physiologiques mais également pathologiques à distance du site intestinal, sur tous les organes, via les métabolites produits par les bactéries intestinales et diffusant dans la circulation sanguine. Comme évoqué précédemment, les tumeurs solides sont perfusées via un réseau vasculaire désorganisé et peu efficace, pourtant le microbiote intestinal semble être un acteur du microenvironnement tumoral.

## B. Quelle-est la relation entre microbiote intestinal et cancer ?

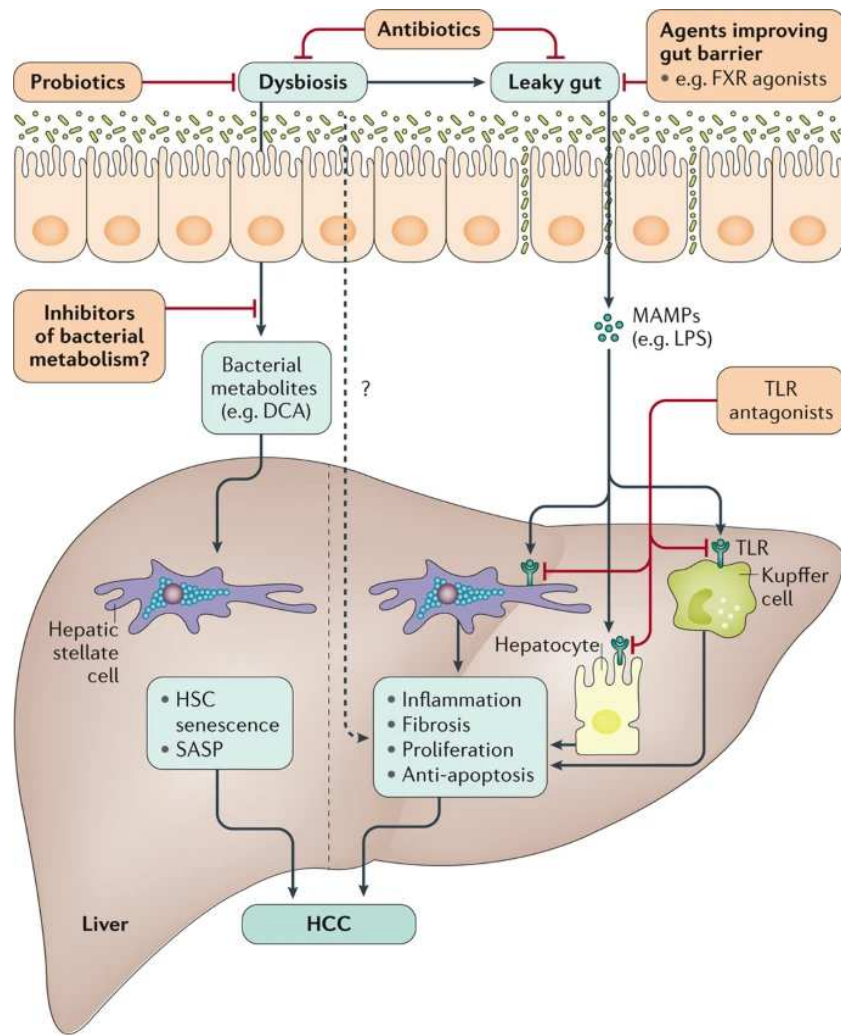
Le microbiote intestinal empêche l'implantation de souches bactériennes opportunistes et potentiellement pathogènes [87]. Lors d'un déséquilibre, cette flore délétère peut s'implanter et causer une inflammation, dans certains cas elle peut produire des toxines [122]. Parmi les toxines produites, la colibactine produite par une souche d'*Escherichia coli* est associée à l'apparition de mutations retrouvées dans le cancer colorectal [123]. Un autre exemple de l'effet carcinogène du microbiote intestinal est sa relation avec la protéine p53 codée par le gène TP53 [124,125]. Cette protéine a pour fonction de réparer les lésions de l'ADN [125,126] ou d'induire la mort de la cellule en cas de prolifération non contrôlée [125]. Dans plus de 50% des cancers chez l'homme le gène TP53 est muté ce qui rend la protéine p53 non fonctionnelle et

favorise la tumorigenèse [124]. Il a été décrit que la production d'acide gallique par certaines souches bactériennes du microbiote intestinal favorise l'apparition de mutations sur le gène qui code la protéine p53 ce qui induit la perte de sa fonction antitumorale [124,127].

Ainsi une dysbiose peut avoir un impact direct sur la mise en place de cancers en favorisant le développement de populations bactériennes produisant des métabolites qui peuvent induire des mutations sur des gènes clés dans le développement de cellules tumorales.

Une dysbiose intestinale est associée à un affaiblissement de la barrière intestinale qui devient perméable aux éléments de la lumière intestinale. Une plus grande proportion de peptides microbiens diffuse dans la circulation sanguine et rejoint le foie. Au niveau hépatique, des cellules myéloïdes immunosuppressives détectent les peptides microbiens et prolifèrent. Ces cellules produisent des cytokines anti-inflammatoires qui induisent un dysfonctionnement des lymphocytes T hépatiques [128]. Dans le cas de l'hépatocarcinome, un déséquilibre de la barrière intestinale est associé à une progression de la maladie [128,129]. En parallèle, l'augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale est associée à une translocation de molécules pro-inflammatoires qui vont induire une inflammation hépatique et favoriser la mise en place de l'hépatocarcinome [128,129] (Figure 11).





**Figure 11 :** Impact de la dysbiose intestinale dans le développement du carcinome hépatocellulaire [129]. La dysbiose intestinale favorise la production de peptides microbiens pro-inflammatoires qui diffusent dans la muqueuse intestinale. Ces protéines gagnent le foie via la veine porte où elles sont reconnues par les cellules immunitaire du foie et induisent une réaction inflammatoire. De plus, la dysbiose favorise l'implantation d'une flore bactérienne produisant des métabolites délétères. Ces métabolites gagnent le foie et peuvent induire une sénescence des cellules hépatique. La sénescence et l'inflammation sont deux facteurs initiaux au développement de l'hépatocarcinome.

En situation d'homéostasie intestinale, le microbiote n'a pas d'effet cancérogène et présente même des propriétés anti-cancéreuses. Ainsi, une étude a démontré que dans différents modèles murins de cancer, le microbiote intestinal produit des métabolites qui activent les monocytes intra-tumoraux favorisant une réponse antitumorale [130]. En plus de cet effet antitumoral, il a été démontré que l'absence ou la perturbation du microbiote intestinal réduit l'activation des monocytes qui se différencient alors en macrophages pro-tumoraux et favorisent le développement des cellules tumorales [130]. Enfin, une alimentation riche en fibres favorise l'induction de

la réponse antitumorale et améliore l'efficacité des inhibiteurs de checkpoints immunitaires [130].

Une étude s'est penchée sur le lien entre la composition du microbiote intestinal et le développement des cancers. Dans un modèle pré-clinique, la croissance de mélanome est évaluée en fonction de la composition du microbiote intestinal [131]. Dans cette étude, des mélanomes sont implantés dans deux groupes de souris génétiquement identiques issus de deux laboratoires différents (Jackson et Taconic). En fonction de leur origine, la progression du mélanome est différente. Les souris issues du laboratoire Jackson sont plus résistantes au mélanome par rapport aux souris issues de Taconic [131]. Cette différence de croissance tumorale peut être expliquée par la différence de composition de microbiote des souris issues de différents laboratoires. Une étude a démontré que le microbiote intestinal des souris issues du laboratoire Jackson et Taconic était différent en termes de composition et de diversité [132]. Afin de vérifier cette hypothèse, le microbiote intestinal des souris Jackson, qui sont résistantes au mélanome, est transféré aux souris Taconic dont les mélanomes se développent rapidement [131]. Après le transfert du microbiote intestinal, les mélanomes des souris Taconic progressent aussi rapidement que ceux des souris Jackson [131]. L'ensemble de ces résultats laisse supposer que la composition du microbiote semble être un facteur favorisant ou non le développement des cancers.

Le microbiote intestinal semble avoir un rôle dans l'initiation et le développement de différentes tumeurs aussi bien au niveau local qu'à distance du site intestinal et influencer la réponse immunitaire. Les traitements antitumoraux les plus récents comme les inhibiteurs de checkpoints immunitaires (ICI) reposent sur le renforcement et la réactivation de l'immunité antitumorale du patient. Ainsi, la communauté scientifique s'est intéressée sur le lien qui existerait entre l'efficacité des ICI et la stabilité du microbiote intestinal.

### C. Le microbiote intestinal a-t-il une influence sur l'efficacité des inhibiteurs de checkpoints immunitaires ?

L'organisme des patients atteints de cancer est affaibli par les traitements antitumoraux utilisés les rendant particulièrement à risque de développer des

infections opportunistes. Ainsi, il n'est pas rare d'observer la prescription d'antibiotiques en amont ou durant la prise d'ICI.

La modification de la composition du microbiote intestinal peut influencer la fonctionnalité des cellules immunitaires à distance du site intestinal. Cette relation entre le microbiote et l'immunité conditionne l'efficacité des ICI [133]. Il a été observé dans des modèles murins de sarcome, que la perturbation du microbiote intestinal par l'utilisation d'antibiotiques réduit l'efficacité des anti-CTLA4 [133]. Cet effet s'explique par la réduction de la proportion de *Bacteroides fragilis* lors du traitement antibiotique. Cette souche bactérienne participe à la maturation de cellules dendritiques via la reconnaissance des antigènes capsulaires de *Bacteroides fragilis* qui entraîne la production d'interleukine 12 et favorise une réaction inflammatoire [133,134]. Cette diminution entraîne donc une immaturité des cellules dendritiques et la perte de leur fonctionnalité lors de leur recrutement au niveau du site tumoral [133,134].

L'étude qui a démontré que le transfert de microbiote pouvait retarder le développement du mélanome, s'est intéressée à l'efficacité de l'association du transfert de microbiote et des ICI [131]. Cette combinaison améliore le contrôle de la tumeur et augmente l'infiltration de lymphocytes T au sein de cette dernière [131]. L'amélioration de l'efficacité des ICI est associée au genre bactérien *Bifidobacterium*, dont l'inoculation induit une meilleure réponse immunitaire antitumorale et réduit la croissance de la tumeur [131]. Cet effet serait dû à une activation des cellules dendritiques par les bactéries du genre *Bifidobacterium* qui activeraient par la suite les lymphocytes T [131].

Outre le mélanome, l'efficacité des ICI semble être influencée par le microbiote intestinal également dans le traitement du cancer du poumon non à petite cellules. Chez les patients ayant reçu une antibiothérapie dans les deux mois avant l'administration d'ICI ou un mois après, présentent un cancer qui progresse plus rapidement [135]. Une autre étude montre que l'utilisation d'antibiotiques large spectre dans les trente jours précédant l'utilisation des ICI réduit les chances de survie et augmente le risque de rechute, tout cancer confondu [136].

La déstabilisation du microbiote intestinal par les antibiotiques semble avoir un impact négatif sur l'efficacité des traitements par ICI. Grâce à l'identification des souches

bactériennes associées à un profil répondeur aux ICI, il est possible de moduler la composition du microbiote afin de maximiser l'efficacité du traitement.

Différentes actions peuvent être entreprises afin de moduler la composition du microbiote intestinal. La première est la modification du régime alimentaire qui peut influencer sur sa fonctionnalité. Par exemple, une étude a montré qu'un régime pauvre en fibres réduisait la survie des patients atteints de mélanome traités par des ICI (Figure 12 A) [137]. L'équipe de recherche a ensuite cherché à évaluer l'impact d'un régime riche en fibres sur l'efficacité des ICI en utilisant un modèle préclinique de mélanome traité par des ICI associé à un régime riche ou pauvre en fibre. Il a ainsi été démontré que l'association des ICI avec un régime riche en fibres permet d'améliorer la réponse antitumorale (Figure 12 B) [137].

Le microbiote intestinal peut également être modulé en utilisant des probiotiques qui sont des compléments alimentaires contenant des micro-organismes couramment utilisés lors de traitements antibiotiques afin de limiter les diarrhées induites par ces derniers. Une étude a exploré l'impact de l'utilisation de probiotiques sur le développement tumoral. Dans le modèle préclinique, l'administration de probiotiques permet de ralentir la croissance des mélanomes et améliore la survie des souris mais n'est pas suffisant pour éradiquer la tumeur (Figure 12 C) [138].

Les mécanismes associés à cet effet reposent sur la colonisation du site tumoral par les bactéries contenues dans le probiotique utilisé qui amplifie la réponse antitumorale [138].

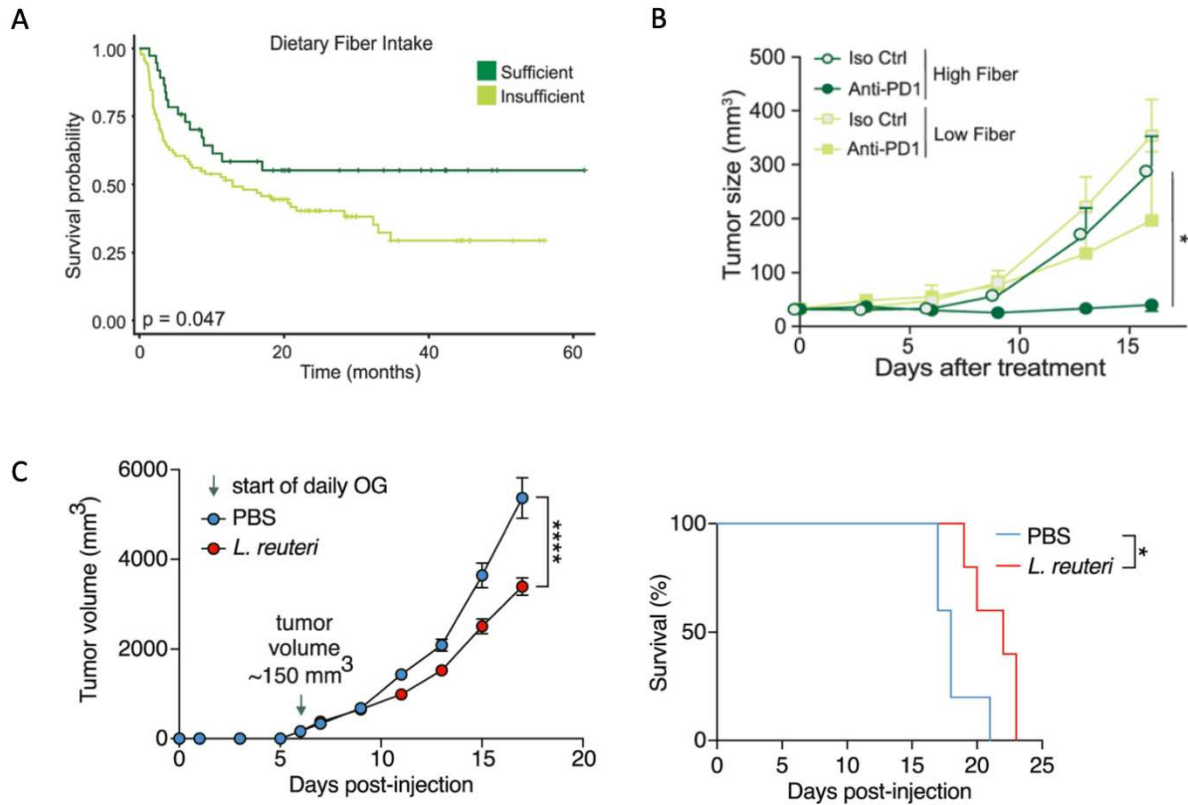
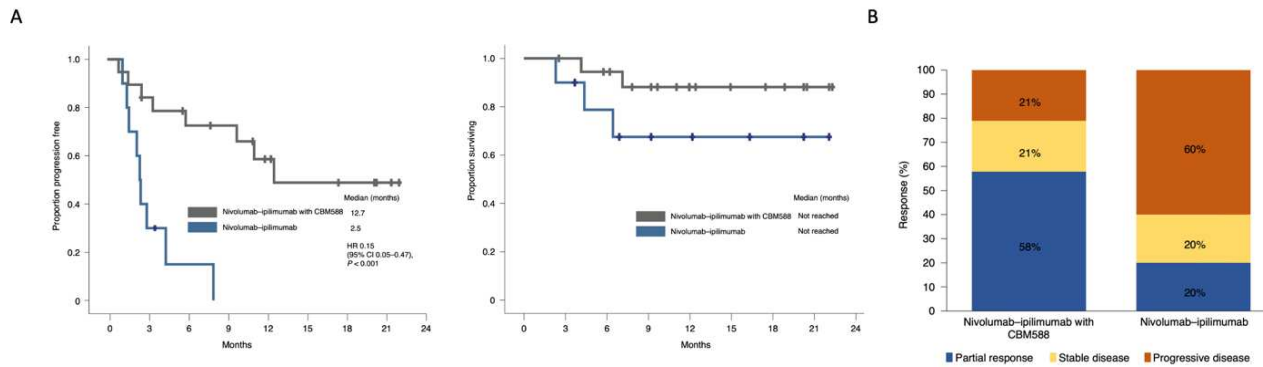


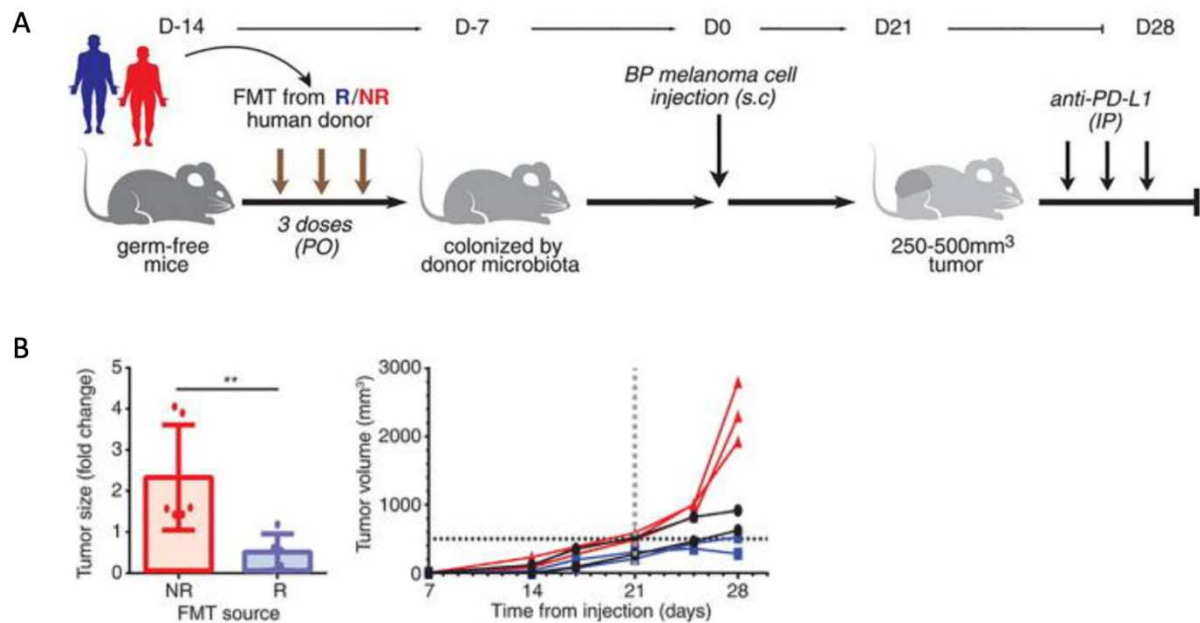
Figure 12 : Impact de la modulation du microbiote intestinal sur l'efficacité des ICI. *Panel A* : Comparaison de la survie des patients atteint de mélanome traité par ICI en fonction du régime en fibre. *Panel B* : Impact de l'association du régime en fibre et des ICI sur la croissance de la tumeur dans un modèle préclinique de mélanome [137]. *Panel C* : Impact de l'utilisation d'un probiotique sur le développement de mélanome et sur la survie dans un modèle préclinique [138].

L'ensemble des données pré-cliniques ont permis la mise en place d'un essai clinique de phase 1 (NCT03829111). Ce dernier consiste à étudier l'efficacité d'un probiotique composé de *Clostridium butyricum* en association avec la combinaison nivolumab-ipilimumab utilisée dans le cadre du carcinome rénal métastatique [139]. L'étude montre que la combinaison d'un probiotique produisant du butyrate aux ICI permet d'améliorer le contrôle de la maladie mais n'a pas amélioré significativement la survie des patients (Figure 13) [139].



**Figure 13 :** Impact de l'association d'un probiotique (CBM588) avec la combinaison nivolumab-iplimumab dans le cas du carcinome rénal métastatique. *Panel A : Impact sur la stabilité de la maladie (gauche) et sur la survie (droite) de la combinaison. Panel B : Comparaison de la réponse entre les deux bras traités. Figures issues de [139].*

Afin de moduler la composition du microbiote intestinal, il est possible d'implanter un tout nouveau microbiote chez les patients. Cette thérapeutique, appelée transplantation de microbiote fécal consiste en l'introduction des selles d'un donneur sain dans le tube digestif du patient [140]. Cette transplantation est indiquée dans le cas du traitement d'une infection à *Clostridium difficile* résistante à l'antibiothérapie. Au vu de la relation entre le microbiote intestinal et l'efficacité des thérapies antitumorales, une étude a exploré l'impact de la transplantation de microbiote fécal sur la réponse médiée par les ICI. Pour cela, des souris dépourvues de microbiote intestinal appelées « germ-free » sont colonisées par le microbiote fécal des patients répondeurs ou non aux ICI puis des cellules de mélanome leur sont injectées en sous cutanée. Après 21 jours de développement des mélanomes, les souris sont traitées par des ICI (Figure 14 A). Les souris transplantées avec le microbiote fécal de patients répondeurs répondent mieux aux ICI que les souris transplantées avec le microbiote fécal de patients non répondeurs [141] (Figure 14 B). Ainsi cette étude suggère que la manipulation du microbiote intestinal permet d'influer sur l'efficacité des ICI.



**Figure 14 :** Impact de la transplantation de microbiote fécal sur l'efficacité des ICI. *Panel A :* Plan expérimental, une transplantation de microbiote fécal est réalisée sur des souris « germ free » à partir de selles de patients répondeurs (bleu) ou non (rouge) aux ICI. 14 jours après, des cellules de mélanome sont injectées en sous-cutanée. Dès que la tumeur a atteint un volume suffisant, un traitement par ICI est administré aux souris. *Panel B :* Étude de la croissance tumorale 14 jours après injection des cellules tumorales (gauche) et 28 jours après l'injection. Figures issues de [141]

La relation entre le microbiote intestinal et l'efficacité des ICI attire de plus en plus l'attention de la communauté scientifique. Grâce à l'avancée des techniques de séquençage il est possible d'étudier en profondeur la composition du microbiote. L'identification d'espèces bactériennes associées à la réponse aux ICI permettrait l'élaboration de probiotiques qui semblent potentialiser l'efficacité des ICI.

Il a été décrit que le microbiote intestinal avait un impact sur la fonctionnalité des cellules immunitaires. La thérapie par cellules CAR-T étant basée sur la modification génétique de lymphocytes T CD8, ces derniers pourraient être sujets à l'influence du microbiote intestinal qui pourrait entraîner des variations de réponse à la thérapie entre les différents patients.

#### D. Le microbiote intestinal, allié ou ennemi des cellules CAR-T ?

Le microbiote intestinal est capable d'influer sur les cellules du système immunitaire et de moduler leur fonctionnalité. Comme décrit précédemment, l'un des mécanismes d'action, est la production d'éléments solubles tels que les acides gras à chaîne

courtes (AGCC) qui diffusent jusque dans la circulation sanguine et influent sur les cellules. Dans l'optique d'étudier la relation entre ces éléments solubles et la fonctionnalité des lymphocytes T, les cellules ont été incubées avec du surnageant riche en AGCC produit par la souche *Megasphaera massiliensis*. Cette condition de culture des cellules a permis d'augmenter la production d'IFN $\gamma$  et de TNF $\alpha$ , deux cytokines associées à la réponse antitumorale [142] (Figure 15 A). Parmi les AGCC, le pentanoate est le métabolite qui induit la sécrétion la plus importante de ces cytokines. Afin d'étudier la relation entre le pentanoate et la réponse antitumorale médiée par les cellules CAR-T, ces dernières sont cultivées trois jours en présence du métabolite avant d'être transférées chez une souris porteuse de tumeurs pancréatiques. Les cellules CAR-T incubées avec le pentanoate induisent une meilleure réponse antitumorale que celles classiquement cultivées. Cette réponse est associée à une production accrue d'IFN $\gamma$  et de TNF $\alpha$  par les cellules CAR-T ayant infiltrées la tumeur (Figure 15 B). Ainsi les éléments produits par le microbiote semblent avoir un effet sur la fonctionnalité des cellules CAR-T.

Lors de l'utilisation des cellules CAR-T dans le cas des hémopathies malignes, une lymphodéplétion est nécessaire afin de réduire la masse tumorale et favoriser l'amplification des cellules CAR-T [143]. La déplétion des lymphocytes augmente le risque de développer des infections opportunistes. Afin de réduire ce risque, des antibiotiques à large spectre peuvent être utilisés [144] mais l'une des conséquences indirectes de cette thérapie de support est l'apparition d'une dysbiose intestinale. Ainsi, des études se sont intéressées à établir un lien entre l'utilisation d'antibiotiques large spectre et l'efficacité des cellules CAR-T.



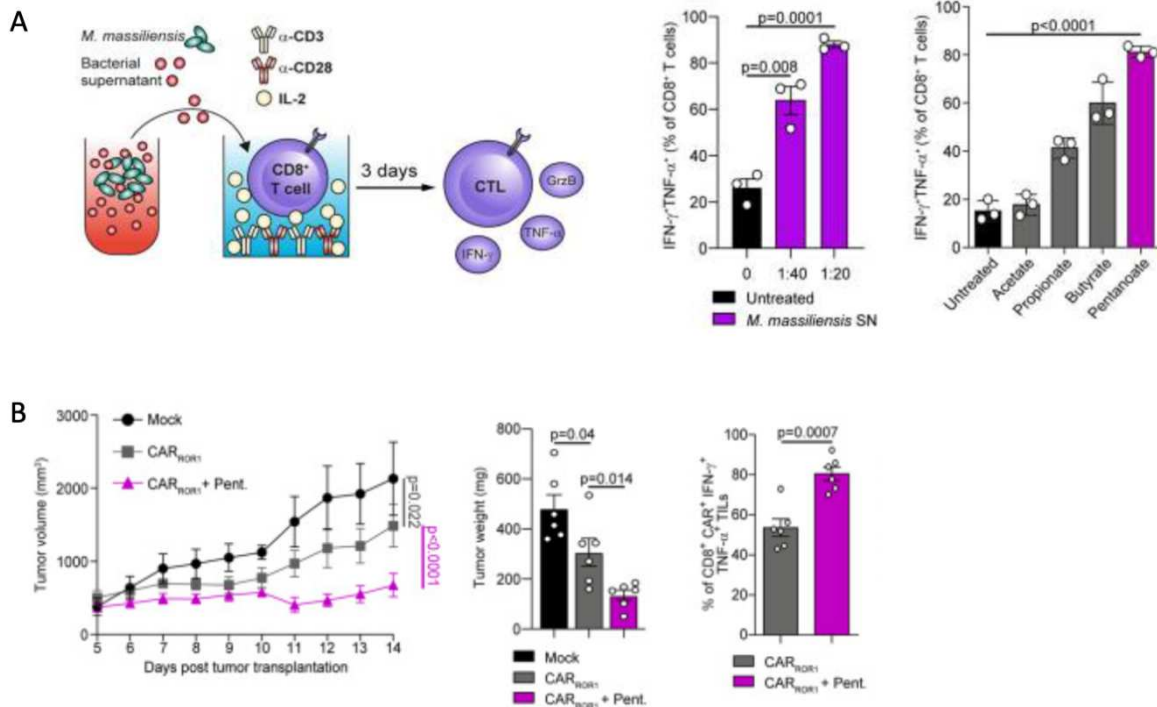
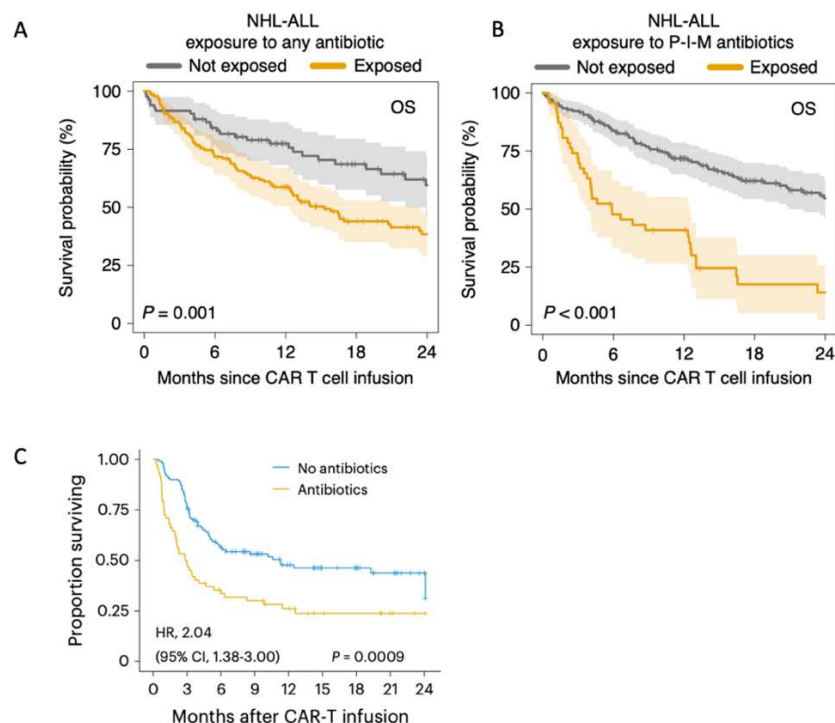


Figure 15 : Impact des AGCC sur la fonctionnalité des lymphocytes T et des cellules CAR-T (adapté de [142]). *Panel A.* Impact de l'incubation des lymphocytes T CD8 avec du surnageant riche en AGCC sur la production d'IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$ . *Panel B.* Impact d'une incubation des cellules CAR-T avec du pentanoate sur leur fonctionnalité antitumorale et sur la production de cytokines inflammatoires.

Afin d'étudier l'impact de l'utilisation d'antibiotiques sur l'efficacité des cellules CAR-T, la survie des patients ayant reçu des antibiotiques quatre semaines avant l'injection des cellules a été comparée à celle des patients n'ayant pas reçu d'antibiothérapie. Dans la cohorte étudiée, 60% des patients ont reçu au moins un antibiotique avant l'administration des cellules CAR-T, dont les plus fréquents sont le triméthoprim/sulfaméthoxazol, vancomycine, pipéracilline/tazobactam, céfépime. La prise de l'un de ces antibiotiques est associée à une moins bonne survie des patients un an après l'injection des cellules CAR-T (Figure 16 A). L'étude s'est ensuite concentrée sur les patients ayant pris l'association triméthoprim/sulfaméthoxazol, imipénem/cilastatine et méropénem dont l'utilisation est associée à un profond déséquilibre du microbiote intestinal. Les patients exposés à l'un de ces antibiotiques correspondent à 20,6% de la cohorte étudiée, la survie chez ces derniers est significativement réduite comparée à celle des patients non exposés à ces antibiotiques (Figure 16 B) [145].

Une deuxième étude s'est concentrée sur l'impact sur la survie des patients lors de l'utilisation de méropénem, céfépime, ceftazidime et de pipéracilline/tazobactam dans les trois semaines avant l'injection des cellules CAR-T [144]. Les résultats de cette étude viennent appuyer les résultats précédemment décrits en observant qu'un an après l'injection des cellules, les patients n'ayant pas reçu d'antibiotiques avaient une survie de 50% contre 25% chez les patients ayant été sous antibiothérapie [144] (Figure 16 C). Ainsi, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre dans un délai de trois à quatre semaines avant l'administration de cellules CAR-T est associée à une moins bonne survie des patients [144,145]. Au vu de cette association, les équipes de recherches ont cherché à décrire la composition du microbiote intestinal chez les patients ayant reçu les antibiotiques.

La diversité bactérienne du microbiote intestinal est réduite avec une perte des populations *Roseburia* et *Bifidobacterium* [144,146] mais une augmentation des populations *Enterococcus* et *Streptococcus* [144] est également observée. La mise en lumière du lien entre la dysbiose induite par les antibiotiques et la réponse aux cellules CAR-T permet d'identifier des profils microbiotiques prédictifs de l'efficacité de la thérapie.



**Figure 16 :** Impact de l'antibiothérapie en pré-injection des cellules CAR-T sur la survie des patients atteints de lymphomes non Hodgkinien (NHL) ou de leucémie aiguë lymphoïde (LAL). *Panel A et B* issus de [145] et *panel C* issus de [144].

Outre la survie des patients, le microbiote intestinal semble avoir un impact sur la survenue d'effets indésirables associés aux cellules CAR-T.

Les effets indésirables les plus courants associés à l'utilisation des cellules CAR-T sont le SRC et la neurotoxicité. En fonction de leur intensité, ces effets indésirables sont répartis en différents grades allant du grade I au IV associé à une prise en charge en soin intensifs [147,148] (Tableau 1 et 2). Grâce à ces classifications, les praticiens peuvent administrer un traitement adapté à l'intensité des effets indésirables [147].

<b>Classification du SRC selon le groupe CARTOX [18] (inspirée de la publication de Lee <i>et al.</i> [20])</b>				
Symptôme de SRC	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
<b>Signes vitaux</b>				
Fièvre (> 38 °C)	oui	NA	NA	NA
Hypotension (TA systolique < 90 mmHg)	non	Correction avec remplissage IV ou faible dose de vasopresseurs	Nécessité d'une forte dose de vasopresseurs* ou de plusieurs vasopresseurs	Menace vitale
Hypoxie (saturation < 90 %)	non	FiO2 < 40 %	FiO2 > 40 %	Ventilation mécanique
Toxicité d'organe#	Grade 1	Grade 2	Grade 3 ou cytolysé de grade 4	Grade 4 à l'exception cytolysé de grade 4
<b>Classification du SRC selon le Penn Grading Scale [23]</b>				
Grade	Bénin	Modéré	Sévère	Mise en jeu du pronostic vital
	- Réaction bénigne ne nécessitant que des mesures symptomatiques telles que des antipyrétiques, antiémétiques	- Dysfonction d'organe de grade 2 (ou cytolysé grade 3), - Patient hospitalisé pour la prise en charge du SRC	- Dysfonction d'organe de grade 3 (ou cytolysé grade 4), - Hypotension artérielle nécessitant un remplissage IV ou faible dose de vasopresseurs, - Coagulopathie nécessitant un traitement par plasma frais congelé, - Hypoxie nécessitant une oxygénothérapie ou ventilation non invasive.	- manifestations cliniques mettant en jeu le pronostic vital du patient, telles qu'une hypotension nécessitant de forte dose de traitement vasopresseur, ou hypoxie impliquant une ventilation mécanique...

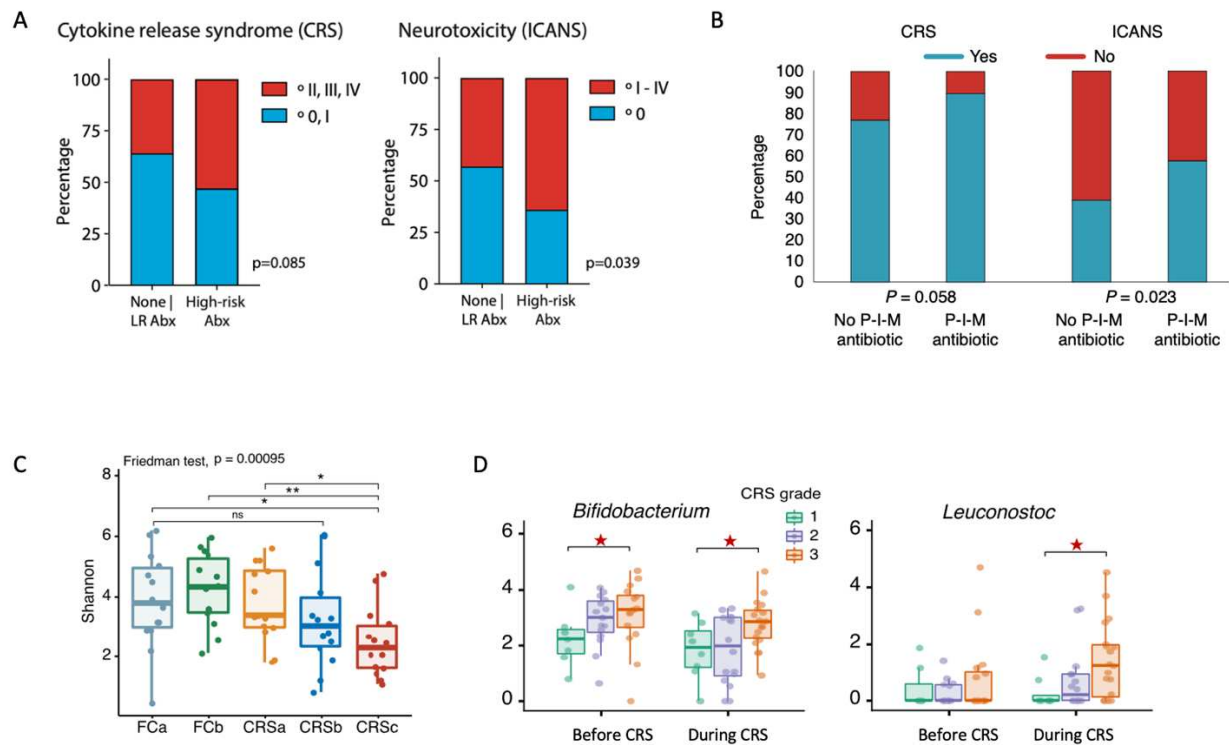
**Tableau 1 :** Classification du SRC se reposant sur les signes cliniques [147,148].

Symptômes	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Score d'efficience neurologique (CARTOX-10*)	Altération mineure (score entre 7 et 9)	Altération modérée (score entre 3 et 6)	Altération majeure (score entre 0 et 2)	Patient dont l'état neurologique rend impossible la réalisation du test
Augmentation de la pression intracranienne	NA	NA	Œdème papillaire de stade 1-2#, ou pression d'ouverture du LCR à la PL < 20 mmHg	Œdème papillaire de stade 3-5#, ou pression d'ouverture du LCR à la PL ≥ 20 mmHg, ou œdème cérébral
Déficit neurologique et convulsions	NA	NA	Crise d'épilepsie partielle ou convulsions infra-clinique à l'EEG et réponse aux traitements par benzodiazépine	Crise convulsive généralisée ou état de mal épileptique avec ou sans convulsions, déficit neurologique

**Tableau 2 :** Gradation de la neurotoxicité associée aux cellules CAR-T [147].

Cependant, les facteurs associés à la gravité de ces effets indésirables ne sont pas clairement définis. Parmi les hypothèses, la stabilité et la composition du microbiote intestinal semblent associés à la survenue d'effets indésirables graves. En plus d'étudier l'impact sur la survie, la perturbation du microbiote semble être impliquée dans la survenue des effets indésirables. Il a été décrit que les patients ayant pris des

antibiotiques large spectre avant l'injection des cellules CAR-T étaient plus susceptibles de développer une neurotoxicité bien que les mécanismes à l'origine de cette association ne sont à ce jour pas connus [144,145] (Figure 17 A et B).



**Figure 17 :** Relation entre la prise d'antibiotique avant l'injection des cellules CAR-T et la survenue d'effets indésirables SRC ou neurotoxicité. *Panel A* issu de [144] et *panel B* issu de [145] montrent la relation entre la survenue de SRC ou neurotoxicité (ICANS) en fonction de la prise d'antibiotiques chez des patients atteints de lymphome. *Panel C :* Diversité du microbiote intestinal (Indice de Shannon) en fonction du stade du SRC (FcA : prélèvement avant lymphodéplétion, Fcb : prélèvement après lymphodéplétion, CRSa, b, c : stade de gravité du CRS) chez les patients atteints de myélome multiple traité par cellules CAR-T issu de [146]. *Panel D :* abondance de *Bifidobacterium* et *Leuconostoc* en fonction de la gravité du CRS chez les patients atteints de myélome multiple traité par cellules CAR-T [146].

La relation entre la survenue de SRC et la dysbiose induite par les antibiotiques est moins claire [145] et semble être associée au type de cancer. Dans le cas des leucémies aiguës lymphoblastiques, le microbiote intestinal ne semble pas être associé à la survenue de SRC (Figure 17 A et B) [144,145]. Une autre étude s'est portée sur le lien entre la survenue de SRC et la composition du microbiote intestinal dans le cadre du myélome multiple [146]. Les patients qui développent cet effet indésirable présentent une diversité bactérienne réduite dont l'intensité est proportionnelle à la gravité de ce dernier (Figure 17 C). Les grades les plus élevés de

SRC sont associés à un enrichissement de la flore intestinale en *Bifidobacterium* et *Leuconostoc* (Figure 17 D) [146]. D'un point de vue mécanistique, la capacité des *Bifidobacterium* à produire une grande quantité d'AGCC induirait une réponse inflammatoire via l'induction de la production de cytokines ce qui favoriserait l'apparition de SRC sévère [146,149].

Ainsi, le microbiote intestinal semble être impliqué dans l'apparition des effets indésirables ainsi que dans l'efficacité des cellules CAR-T.

De nouvelles études sont nécessaires afin de comprendre si la diminution de la survie est associée à une augmentation de la fréquence des effets indésirables ou à une moindre efficacité des cellules CAR-T ou les deux.

L'implication du microbiote intestinal sur l'efficacité et la toxicité des cellules CAR-T, fait de ce dernier une piste intéressante afin d'améliorer cette thérapie.

#### **IV. La manipulation du microbiote intestinal peut-il améliorer la réponse aux cellules CAR-T ?**

L'un des enjeux dans l'utilisation des cellules CAR-T est de découvrir des biomarqueurs prédictifs de l'efficacité de cette thérapie. L'étude de la composition du microbiote intestinal avant l'administration de cellules pourrait permettre de prédire l'efficacité du traitement [144] et pourrait intégrer les critères d'éligibilité des patients. Ainsi des profils favorables et défavorables à l'utilisation des cellules CAR-T seraient établis. Dans le dernier cas, une modification de la composition du microbiote serait nécessaire pour assurer une efficacité du traitement.

L'une des options qui permet de moduler la composition du microbiote intestinal est la transplantation de microbiote fécal. La constitution d'une banque de transplant fécal favorables à la thérapie par cellules CAR-T permettrait de corriger un microbiote défavorable des patients avant l'injection.

Cependant, l'étude du microbiote de chaque patient nécessite des ressources importantes et peut retarder la mise en place du traitement. Ce retard de prise en charge peut constituer une perte de chance pour les patients au vu de l'évolution rapide de la maladie. Les cellules CAR-T sont utilisés en dernière ligne de traitement, chez des patients dont la maladie est avancée et pour lesquels les autres lignes de traitement n'ont pas été satisfaisantes. En plus de cette position dans la stratégie thérapeutique, la production des cellules CAR-T nécessite environ un mois entre l'isolement des lymphocytes T et la réinjection des cellules, durant lequel une chimiothérapie est administrée au patient. Le processus de transplantation de microbiote fécal nécessite une sélection des donneurs, un dépistage des agents infectieux, puis une étape de contrôle de la prise du transplant et peut nécessiter un mois entre le prélèvement et l'implantation du microbiote (Figure 18) [150]. Le temps nécessaire à la mise en place de la transplantation de microbiote fécal ne semble pas compatible avec les étapes de la thérapie par cellules CAR-T.

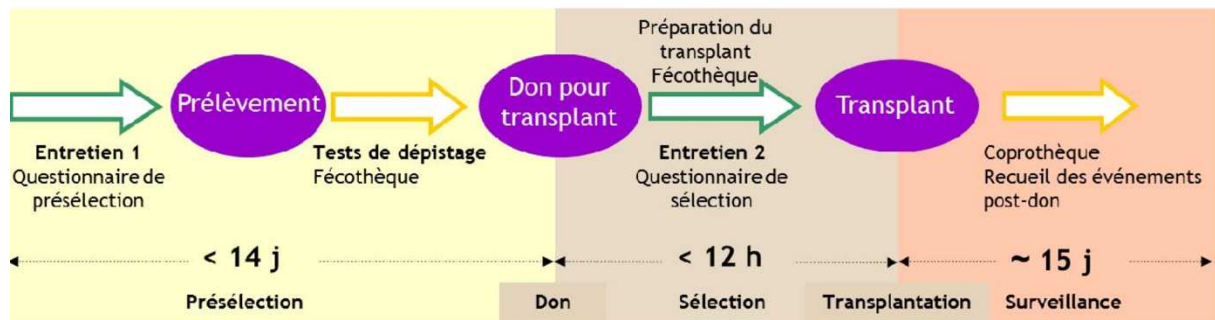


Figure 18 : Étapes nécessaires à la réalisation de la transplantation de microbiote fécal [150]. Les donneurs sont sélectionnés grâce à un questionnaire, puis réalisent le don. Des tests de détection d'agents pathogènes sont réalisés avant la transplantation. Puis des contrôles de l'implantation de la greffe sont réalisés durant une quinzaine de jours.

Une solution à cette problématique pourrait consister à congeler les prélèvements et ainsi constituer une banque de transplants congelés et qualifiés en amont. Cependant, l'état actuel des connaissances, ne permet pas de savoir comment cette étape de congélation et de décongélation impacterait la qualité du greffon « microbien ».

En plus de cette contrainte de temps vient s'ajouter une contrainte de planification. Le moment où la transplantation doit être réalisée peut-être crucial pour son efficacité. S'il est choisi de la réaliser avant la chimiothérapie, il est possible que cette dernière altère la colonisation et/ou la qualité du greffon. Si elle est réalisée après la chimiothérapie, il faut alors s'assurer de son innocuité, le patient étant particulièrement à risque de développer des infections durant cette étape. Enfin il peut être choisi de transplanter après l'administration des cellules CAR-T à condition que cela n'altère pas l'expansion et la fonctionnalité des cellules injectées.

Ainsi, améliorer la thérapie par cellules CAR-T via la transplantation fécale pourrait être intéressant au vu de la relation entre le microbiote intestinal et l'efficacité de ce traitement. Cependant des études approfondies notamment sur la faisabilité et la sécurité de cette association sont nécessaires.

Un autre moyen moins contraignant d'ajuster le microbiote intestinal serait d'utiliser des probiotiques. Les études effectuées jusqu'ici se sont arrêtées à l'étude des genres bactériens, regroupant plusieurs espèces bactériennes, mais n'ont pas identifié les espèces bactériennes associées à l'efficacité des cellules CAR-T. Afin de rendre l'utilisation des probiotiques optimale, l'identification des espèces précisément impliquées dans l'efficacité des cellules CAR-T permettrait d'orienter la composition

des probiotiques. Ces derniers auraient pour unique fonction d'enrichir le microbiote des patients en bactéries bénéfiques pour cette thérapie permettant d'améliorer la réponse des cellules CAR-T. Cette fois-ci la planification de l'administration est moins préoccupante que pour la transplantation de microbiote fécal. Dans le cas des probiotiques, l'administration pourrait s'étendre durant tout le processus de préparation et d'administration des cellules CAR-T.



## **V. Conclusion**

L'arsenal thérapeutique antitumoral n'a cessé d'évoluer au cours de l'histoire, la compréhension de l'oncologie et de l'immunité ont permis de mettre en place des traitements de plus en plus efficaces. Jusqu'à récemment, les thérapies antitumorales ciblaient les cellules cancéreuses, les dernières thérapies développées consistent à supporter le système immunitaire du patient. Dans cette optique, les inhibiteurs de checkpoints immunitaires permettent d'outrepasser les mécanismes immunosuppresseurs des tumeurs et favoriser la réponse antitumorale. Les cellules CAR-T sont une autre stratégie qui repose sur la modification des lymphocytes T afin de les rendre réactifs vis-à-vis des cellules tumorales. Malgré des avancées significatives dans la lutte contre le cancer, tous les patients ne répondent pas à ces thérapies pouvant correspondre à 50% d'entre eux dans le cas des cellules CAR-T. De plus des effets indésirables ont été observés pouvant être important et conduire au décès du patient. A l'heure actuelle, aucun facteur permet de prédire la réponse à ces deux immunothérapies.

L'un des éléments qui attire l'attention sur l'origine de ces disparités est la composition du microbiote intestinal. Ce dernier est constitué de nombreux micro-organismes dont des bactéries qui assurent de nombreuses fonctions. De récentes études ont démontré que le microbiote intestinal avait des effets à distance du site intestinal et semblait influencer sur les thérapies antitumorales. Il a ainsi été montré que la perturbation du microbiote intestinal par l'utilisation d'antibiotique réduisait l'efficacité des immunothérapies et favorisait la survenue d'effets indésirables graves dans le cas des cellules CAR-T.

Ainsi l'étude des profils microbiotiques permettrait non seulement de prédire l'efficacité des thérapies antitumorales mais également d'ajuster la composition du microbiote intestinal si ce dernier est délétère pour l'efficacité de ces traitements.

Différentes options sont actuellement utilisées pour moduler le microbiote intestinal, la plus connue est l'utilisation de probiotiques. Des études ont démontré que le régime alimentaire et l'utilisation de probiotiques permettaient d'améliorer la réponse aux inhibiteurs de checkpoints immunitaires. Ces études ont abouti à un essai clinique de phase I évaluant l'efficacité de l'association de cette immunothérapie avec un

probiotique et a démontré une augmentation de l'efficacité du traitement lors de la combinaison avec un probiotique. Une autre possibilité est d'utiliser la transplantation de microbiote fécal, cette dernière permet d'implanter un nouveau microbiote chez les patients ce qui assure un renouvellement de la composition de ce dernier. Encore une fois cette technique a démontré son efficacité dans le cas des inhibiteurs des checkpoints immunitaires dans le traitement du mélanome chez la souris.

A ce jour, les études n'ont pas étudié la relation entre la modulation du microbiote intestinal et la réponse médiée par les cellules CAR-T. L'association d'un probiotique à ce traitement semble être la plus propice afin d'étudier ce lien grâce à sa facilité d'administration et le peu de temps nécessaire à sa préparation. A contrario, la transplantation de microbiote fécal nécessite un temps de préparation, qui doit se greffer à la planification de production des cellules CAR-T. Cette contrainte peut être levée grâce à l'utilisation de transplants congelés, cependant des études sur les conséquences sur la viabilité et la fonctionnalité de ces conditions de conservation sont nécessaires. De plus, une étude de compatibilité entre ces deux traitements sont nécessaires afin d'écartier tout effet délétère direct de la transplantation fécale sur la fonctionnalité des cellules CAR-T.

Ainsi, l'étude du microbiote intestinal semble être intéressante afin d'améliorer les immunothérapies. Cependant de nouvelles études sont nécessaires afin de vérifier la compatibilité de la modulation de ce dernier avec le traitement par les cellules CAR-T. Aujourd'hui, uniquement la composante bactérienne du microbiote intestinal est étudiée dans son association avec les immunothérapies, aucune étude n'a été réalisée sur la composante virologique, protozoaire et fongique du microbiote intestinal. Des études sur l'impact des différents composants du microbiote intestinal et leur relation avec les immunothérapies pourraient aider améliorer les connaissances sur cette relation et offrir de nouvelles perspectives d'amélioration des traitements.

## Bibliographie :

1. Chen S, Cao Z, Prettner K, Kuhn M, Yang J, Jiao L, Wang Z, Li W, Geldsetzer P, Bärnighausen T, Bloom DE, Wang C. Estimates and Projections of the Global Economic Cost of 29 Cancers in 204 Countries and Territories From 2020 to 2050. *JAMA Oncology*. 1 avr 2023;9(4):465-72.
2. Falzone L, Salomone S, Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2018 [cité 10 sept 2023];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01300>
3. Faguet GB. A brief history of cancer: Age-old milestones underlying our current knowledge database. *International Journal of Cancer*. 2015;136(9):2022-36.
4. On a New Kind of Rays | Science [Internet]. [cité 6 août 2023]. Disponible sur: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.3.59.227>
5. Grubbé EH. Priority in the Therapeutic Use of X-rays. *Radiology*. août 1933;21(2):156-62.
6. Rodger A. Fears over radiotherapy fractionation regimens in breast cancer. *BMJ*. 18 juill 1998;317(7152):155-6.
7. Brookes P. The early history of the biological alkylating agents, 1918-1968. *Mutat Res*. 1990;233(1-2):3-14.
8. Koźmiński P, Halik PK, Chesori R, Gniazdowska E. Overview of Dual-Acting Drug Methotrexate in Different Neurological Diseases, Autoimmune Pathologies and Cancers. *Int J Mol Sci*. 14 mai 2020;21(10):3483.
9. Devita VT, Serpick AA, Carbone PP. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Ann Intern Med*. déc 1970;73(6):881-95.
10. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, Glick JH, Coltman CA, Miller TP. Comparison of a Standard Regimen (CHOP) with Three Intensive Chemotherapy Regimens for Advanced Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med*. 8 avr 1993;328(14):1002-6.
11. Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloid leukemia: mechanisms of blastic transformation. *J Clin Invest*. 1 juill 2010;120(7):2254-64.
12. Sacha T. Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia: an Overview. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2 janv 2014;6(1):e2014007.
13. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. août 1975;256(5517):495-7.
14. Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene*. oct 2003;22(47):7359-68.
15. Dotan E, Aggarwal C, Smith MR. Impact of Rituximab (Rituxan) on the Treatment of B-

Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *P T. mars* 2010;35(3):148-57.

16. Pavlasova G, Mraz M. The regulation and function of CD20: an "enigma" of B-cell biology and targeted therapy. *Haematologica*. juin 2020;105(6):1494-506.

17. Glennie MJ, French RR, Cragg MS, Taylor RP. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol*. sept 2007;44(16):3823-37.

18. Marshall MJE, Stopforth RJ, Cragg MS. Therapeutic Antibodies: What Have We Learnt from Targeting CD20 and Where Are We Going? *Front Immunol*. 2017;8:1245.

19. Casan JML, Wong J, Northcott MJ, Opat S. Anti-CD20 monoclonal antibodies: reviewing a revolution. *Hum Vaccin Immunother*. 6 sept 2018;14(12):2820-41.

20. Azoury SC, Straughan DM, Shukla V. Immune Checkpoint Inhibitors for Cancer Therapy: Clinical Efficacy and Safety. *Current Cancer Drug Targets*. 15(6):452-62.

21. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 22 mars 1996;271(5256):1734-6.

22. Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nat Rev Immunol*. mars 2018;18(3):153-67.

23. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol*. nov 2020;20(11):651-68.

24. Patsoukis N, Wang Q, Strauss L, Boussiotis VA. Revisiting the PD-1 pathway. *Science Advances*. 18 sept 2020;6(38):eabd2712.

25. Ghosh C, Luong G, Sun Y. A snapshot of the PD-1/PD-L1 pathway. *J Cancer*. 5 mars 2021;12(9):2735-46.

26. Oyewole-Said D, Konduri V, Vazquez-Perez J, Weldon SA, Levitt JM, Decker WK. Beyond T-Cells: Functional Characterization of CTLA-4 Expression in Immune and Non-Immune Cell Types. *Front Immunol*. 15 déc 2020;11:608024.

27. Human B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA-4 receptors: Immunity [Internet]. [cité 9 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.cell.com/immunity/pdf/S1074-7613\(94\)80021-9.pdf?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761394800219%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/immunity/pdf/S1074-7613(94)80021-9.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761394800219%3Fshowall%3Dtrue)

28. Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, Attridge K, Manzotti C, Schmidt EM, Baker J, Jeffery LE, Kaur S, Briggs Z, Hou TZ, Futter CE, Anderson G, Walker LSK, Sansom DM. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 29 avr 2011;332(6029):600-3.

29. Harty JT, Badovinac VP. Shaping and reshaping CD8+ T-cell memory. *Nat Rev Immunol*. févr 2008;8(2):107-19.

30. Harding FA, McArthur JG, Gross JA, Raulet DH, Allison JP. CD28-mediated signalling co-stimulates murine T cells and prevents induction of anergy in T-cell clones. *Nature*. avr

1992;356(6370):607-9.

31. Wells AD, Walsh MC, Bluestone JA, Turka LA. Signaling through CD28 and CTLA-4 controls two distinct forms of T cell anergy. *J Clin Invest.* 15 sept 2001;108(6):895-904.
32. Kahlmeyer A, Stöhr CG, Hartmann A, Goebell PJ, Wullich B, Wach S, Taubert H, Erlmeier F. Expression of PD-1 and CTLA-4 Are Negative Prognostic Markers in Renal Cell Carcinoma. *J Clin Med.* 24 mai 2019;8(5):743.
33. Kim TK, Vandsemb EN, Herbst RS, Chen L. Adaptive immune resistance at the tumour site: mechanisms and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov.* juill 2022;21(7):529-40.
34. Jenkins RW, Barbie DA, Flaherty KT. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Br J Cancer.* janv 2018;118(1):9-16.
35. Johnson DB, Nebhan CA, Moslehi JJ, Balko JM. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity. *Nat Rev Clin Oncol.* avr 2022;19(4):254-67.
36. Tang S, Qin C, Hu H, Liu T, He Y, Guo H, Yan H, Zhang J, Tang S, Zhou H. Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: Progress, Challenges, and Prospects. *Cells.* 19 janv 2022;11(3):320.
37. Holmberg CJ, Ny L, Hieken TJ, Block MS, Carr MJ, Sondak VK, Örténwall C, Katsarelis D, Dimitriou F, Menzies AM, Saw RP, Rogiers A, Straker RJ, Karakousis G, Applewaite R, Pallan L, Han D, Vetto JT, Gyorki DE, Tie EN, Vitale MG, Ascierto PA, Dummer R, Cohen J, Hui JY, Schachter J, Asher N, Helgadottir H, Chai H, Kroon H, Coventry B, Rothermel LD, Sun J, Carlino MS, Duncan Z, Broman K, Weber J, Lee AY, Berman RS, Teras J, Ollila DW, Long GV, Zager JS, van Akkooi A, Olofsson Bagge R. The efficacy of immune checkpoint blockade for melanoma in-transit with or without nodal metastases - A multicenter cohort study. *Eur J Cancer.* juill 2022;169:210-22.
38. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, Drake CG, Camacho LH, Kauh J, Odunsi K, Pitot HC, Hamid O, Bhatia S, Martins R, Eaton K, Chen S, Salay TM, Alaparthi S, Grosso JF, Korman AJ, Parker SM, Agrawal S, Goldberg SM, Pardoll DM, Gupta A, Wigginton JM. Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. *New England Journal of Medicine.* 28 juin 2012;366(26):2455-65.
39. Martins F, Sofiya L, Sykiotis GP, Lamine F, Maillard M, Fraga M, Shabafrouz K, Ribí C, Cairoli A, Guex-Crosier Y, Kuntzer T, Michielin O, Peters S, Coukos G, Spertini F, Thompson JA, Obeid M. Adverse effects of immune-checkpoint inhibitors: epidemiology, management and surveillance. *Nat Rev Clin Oncol.* sept 2019;16(9):563-80.
40. Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of Antigen Processing. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:443-73.
41. Takaba H, Takayanagi H. The Mechanisms of T Cell Selection in the Thymus. *Trends in Immunology.* 1 nov 2017;38(11):805-16.
42. Kobayashi KS, van den Elsen PJ. NLRC5: a key regulator of MHC class I-dependent

immune responses. *Nat Rev Immunol*. déc 2012;12(12):813-20.

43. Schaafsma E, Fugle CM, Wang X, Cheng C. Pan-cancer association of HLA gene expression with cancer prognosis and immunotherapy efficacy. *Br J Cancer*. août 2021;125(3):422-32.

44. Dhatchinamoorthy K, Colbert JD, Rock KL. Cancer Immune Evasion Through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2021 [cité 21 janv 2024];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.636568>

45. Eshhar Z. Tumor-specific T-bodies: towards clinical application. *Cancer Immunol Immunother*. 1997;45(3-4):131-6.

46. Hayward A. Origin of the retroviruses: when, where, and how? *Curr Opin Virol*. août 2017;25:23-7.

47. Jayaraman J, Mellody MP, Hou AJ, Desai RP, Fung AW, Pham AHT, Chen YY, Zhao W. CAR-T design: Elements and their synergistic function. *eBioMedicine* [Internet]. 1 août 2020 [cité 2 oct 2023];58. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS23523964\(20\)303078/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS23523964(20)303078/fulltext)

48. Sela-Culang I, Kunik V, Ofra Y. The Structural Basis of Antibody-Antigen Recognition. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2013 [cité 21 janv 2024];4. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2013.00302>

49. Shah K, Al-Haidari A, Sun J, Kazi JU. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease. *Sig Transduct Target Ther*. 13 déc 2021;6(1):1-26.

50. Curtsinger JM, Mescher MF. Inflammatory cytokines as a third signal for T cell activation. *Curr Opin Immunol*. juin 2010;22(3):333-40.

51. CAR T Cells: Engineering Immune Cells to Treat Cancer - NCI [Internet]. 2013 [cité 1 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>

52. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. *N Engl J Med*. 5 juill 2018;379(1):64-73.

53. FDA approval Kymriah.pdf [Internet]. [cité 10 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/107296/download>

54. FDA approval Yescarta [Internet]. [cité 10 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/108377/download>

55. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. juin 2017;7(6):e577-e577.

56. Srivastava S, Riddell SR. Engineering CAR-T cells: Design concepts. *Trends Immunol*. août 2015;36(8):494-502.

57. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 6 avr 2021;11(4):1-11.

58. Chong EA, Ruella M, Schuster SJ, Lymphoma Program Investigators at the University of Pennsylvania. Five-Year Outcomes for Refractory B-Cell Lymphomas with CAR T-Cell Therapy. *N Engl J Med*. 18 févr 2021;384(7):673-4.
59. Soltantoyeh T, Akbari B, Karimi A, Mahmoodi Chalbatani G, Ghahri-Saremi N, Hadjati J, Hamblin MR, Mirzaei HR. Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Therapy for Metastatic Melanoma: Challenges and Road Ahead. *Cells*. 9 juin 2021;10(6):1450.
60. Parker KR, Migliorini D, Perkey E, Yost KE, Bhaduri A, Bagga P, Haris M, Wilson NE, Liu F, Gabunia K, Scholler J, Montine TJ, Bhoj VG, Reddy R, Mohan S, Maillard I, Kriegstein AR, June CH, Chang HY, Posey AD, Satpathy AT. Single-Cell Analyses Identify Brain Mural Cells Expressing CD19 as Potential Off-Tumor Targets for CAR-T Immunotherapies. *Cell*. 1 oct 2020;183(1):126-142.e17.
61. Ponterio E, De Maria R, Haas TL. Identification of Targets to Redirect CAR T Cells in Glioblastoma and Colorectal Cancer: An Arduous Venture. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2020 [cité 21 janv 2024];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.565631>
62. Flugel CL, Majzner RG, Krenciute G, Dotti G, Riddell SR, Wagner DL, Abou-El-Enein M. Overcoming on-target, off-tumour toxicity of CAR T cell therapy for solid tumours. *Nat Rev Clin Oncol*. janv 2023;20(1):49-62.
63. Cappell KM, Kochenderfer JN. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. juin 2023;20(6):359-71.
64. Wei J, Liu Y, Wang C, Zhang Y, Tong C, Dai G, Wang W, Rasko JEJ, Melenhorst JJ, Qian W, Liang A, Han W. The model of cytokine release syndrome in CAR T-cell treatment for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Sig Transduct Target Ther*. 29 juill 2020;5(1):1-9.
65. Morris EC, Neelapu SS, Giavridis T, Sadelain M. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. févr 2022;22(2):85-96.
66. Liu G, Rui W, Zhao X, Lin X. Enhancing CAR-T cell efficacy in solid tumors by targeting the tumor microenvironment. *Cell Mol Immunol*. mai 2021;18(5):1085-95.
67. Guzman G, Reed MR, Bielamowicz K, Koss B, Rodriguez A. CAR-T Therapies in Solid Tumors: Opportunities and Challenges. *Curr Oncol Rep*. 2023;25(5):479-89.
68. Kankeu Fonkoua LA, Sirpilla O, Sakemura R, Siegler EL, Kenderian SS. CAR T cell therapy and the tumor microenvironment: Current challenges and opportunities. *Mol Ther Oncolytics*. 19 mars 2022;25:69-77.
69. Jin L, Tao H, Karachi A, Long Y, Hou AY, Na M, Dyson KA, Grippin AJ, Deleyrolle LP, Zhang W, Rajon DA, Wang QJ, Yang JC, Kresak JL, Sayour EJ, Rahman M, Bova FJ, Lin Z, Mitchell DA, Huang J. CXCR1- or CXCR2-modified CAR T cells co-opt IL-8 for maximal antitumor efficacy in solid tumors. *Nat Commun*. 5 sept 2019;10:4016.
70. Valkenburg KC, de Groot AE, Pienta KC. Targeting the tumour stroma to improve

cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. juin 2018;15(6):366-81.

71. Caruana I, Savoldo B, Hoyos V, Weber G, Liu H, Kim ES, Ittmann MM, Marchetti D, Dotti G. Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirectioned T-lymphocytes. *Nat Med*. mai 2015;21(5):524-9.
72. Ribatti D, Pezzella F. Overview on the Different Patterns of Tumor Vascularization. *Cells*. 13 mars 2021;10(3):639.
73. Parlani M, Jorgez C, Friedl P. Plasticity of cancer invasion and energy metabolism. *Trends in Cell Biology*. 1 mai 2023;33(5):388-402.
74. Schaaf MB, Garg AD, Agostinis P. Defining the role of the tumor vasculature in antitumor immunity and immunotherapy. *Cell Death Dis*. 25 janv 2018;9(2):1-14.
75. Chinnasamy D, Yu Z, Theoret MR, Zhao Y, Shrimali RK, Morgan RA, Feldman SA, Restifo NP, Rosenberg SA. Gene therapy using genetically modified lymphocytes targeting VEGFR-2 inhibits the growth of vascularized syngenic tumors in mice. *J Clin Invest*. 1 nov 2010;120(11):3953-68.
76. Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, Buck MD, Noguchi T, Curtis JD, Chen Q, Gindin M, Gubin MM, van der Windt GJW, Tonc E, Schreiber RD, Pearce EJ, Pearce EL. Metabolic Competition in the Tumor Microenvironment Is a Driver of Cancer Progression. *Cell*. 10 sept 2015;162(6):1229-41.
77. Niu Y, Mayr T, Muders MH. Competition for nutrients or cell intrinsic programming? – Metabolic mechanisms behind the tumor promoting immune microenvironment in cancer. *Sig Transduct Target Ther*. 20 juill 2021;6(1):1-2.
78. Chen Z, Han F, Du Y, Shi H, Zhou W. Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Sig Transduct Target Ther*. 17 févr 2023;8(1):1-23.
79. Ganapathy-Kanniappan S, Geschwind JFH. Tumor glycolysis as a target for cancer therapy: progress and prospects. *Molecular Cancer*. 3 déc 2013;12(1):152.
80. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*. 22 mai 2009;324(5930):1029-33.
81. Li X, Yang Y, Zhang B, Lin X, Fu X, An Y, Zou Y, Wang JX, Wang Z, Yu T. Lactate metabolism in human health and disease. *Sig Transduct Target Ther*. 1 sept 2022;7(1):1-22.
82. Boedtker E, Pedersen SF. The Acidic Tumor Microenvironment as a Driver of Cancer. *Annu Rev Physiol*. 10 févr 2020;82:103-26.
83. Estrella V, Chen T, Lloyd M, Wojtkowiak J, Cornnell HH, Ibrahim-Hashim A, Bailey K, Balagurunathan Y, Rothberg JM, Sloane BF, Johnson J, Gatenby RA, Gillies RJ. Acidity Generated by the Tumor Microenvironment Drives Local Invasion. *Cancer Research*. 3 mars 2013;73(5):1524-35.
84. Navarro F, Casares N, Martín-Otal C, Lasarte-Cía A, Gorraiz M, Sarrión P, Llopiz D, Reparaz D, Varo N, Rodríguez-Madoz JR, Prosper F, Hervás-Stubbs S, Lozano T, Lasarte JJ.



Overcoming T cell dysfunction in acidic pH to enhance adoptive T cell transfer immunotherapy. *Oncoimmunology*. 11(1):2070337.

85. Gaggero S, Martinez-Fabregas J, Cozzani A, Fyfe PK, Leprohon M, Yang J, Thomasen FE, Winkelmann H, Magnez R, Conti AG, Wilmes S, Pohler E, van Gijssel Bonnelo M, Thuru X, Quesnel B, Soncin F, Piehler J, Lindorff-Larsen K, Roychoudhuri R, Moraga I, Mitra S. IL-2 is inactivated by the acidic pH environment of tumors enabling engineering of a pH-selective mutein. *Sci Immunol*. 9 déc 2022;7(78):eade5686.
86. Beam A, Clinger E, Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients*. 15 août 2021;13(8):2795.
87. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of Pathogens and Pathobionts by the Gut Microbiota. *Nat Immunol*. juill 2013;14(7):685-90.
88. Allaire JM, Crowley SM, Law HT, Chang SY, Ko HJ, Vallance BA. The Intestinal Epithelium: Central Coordinator of Mucosal Immunity. *Trends Immunol*. sept 2018;39(9):677-96.
89. McDole JR, Wheeler LW, McDonald KG, Wang B, Konjufca V, Knoop KA, Newberry RD, Miller MJ. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ dendritic cells in the small intestine. *Nature*. mars 2012;483(7389):345-9.
90. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. mars 2014;14(3):141-53.
91. Chang JT. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. Reply. *N Engl J Med*. 8 avr 2021;384(14):1378.
92. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 3 mai 2016;7(3):189-200.
93. Martin-Gallausiaux C, Béguet-Crespel F, Marinelli L, Jamet A, Ledue F, Blottière HM, Lapaque N. Butyrate produced by gut commensal bacteria activates TGF-beta1 expression through the transcription factor SP1 in human intestinal epithelial cells. *Sci Rep*. 27 juin 2018;8(1):9742.
94. Wang RX, Lee JS, Campbell EL, Colgan SP. Microbiota-derived butyrate dynamically regulates intestinal homeostasis through regulation of actin-associated protein synaptopodin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26 mai 2020;117(21):11648-57.
95. Ranjbar R, Vahdati SN, Tavakoli S, Khodaie R, Behboudi H. Immunomodulatory roles of microbiota-derived short-chain fatty acids in bacterial infections. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1 sept 2021;141:111817.
96. Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunker MK, Bultman SJ. The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon. *Cell Metabolism*. 4 mai 2011;13(5):517-26.
97. Peng L, He Z, Chen W, Holzman IR, Lin J. Effects of butyrate on intestinal barrier

function in a Caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier. *Pediatr Res.* janv 2007;61(1):37-41.

98. Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veeke J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudenski AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T cell generation. *Nature.* 19 déc 2013;504(7480):451-5.

99. Gersemann M, Wehkamp J, Stange EF. Innate immune dysfunction in inflammatory bowel disease. *J Intern Med.* mai 2012;271(5):421-8.

100. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Microbiol Rev.* janv 2002;15(1):79-94.

101. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res.* 1 déc 2019;2019:7247238.

102. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Fölsch UR, Timmis KN, Schreiber S. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut.* 1 mai 2004;53(5):685-93.

103. Kumari R, Ahuja V, Paul J. Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India. *World J Gastroenterol.* 14 juin 2013;19(22):3404-14.

104. Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijis I, Eeckhaut V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, Ferrante M, Verhaegen J, Rutgeerts P, Vermeire S. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut.* août 2014;63(8):1275-83.

105. Nell S, Suerbaum S, Josenhans C. The impact of the microbiota on the pathogenesis of IBD: lessons from mouse infection models. *Nat Rev Microbiol.* août 2010;8(8):564-77.

106. Saleh M, Elson CO. Experimental inflammatory bowel disease: insights into the host-microbiota dialogue. *Immunity.* 25 mars 2011;34(3):293-302.

107. Recharla N, Geesala R, Shi XZ. Gut Microbial Metabolite Butyrate and Its Therapeutic Role in Inflammatory Bowel Disease: A Literature Review. *Nutrients.* 11 mai 2023;15(10):2275.

108. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:25.

109. Tan AH, Chong CW, Lim SY, Yap IKS, Teh CSJ, Loke MF, Song SL, Tan JY, Ang BH, Tan YQ, Kho MT, Bowman J, Mahadeva S, Yong HS, Lang AE. Gut Microbial Ecosystem in Parkinson Disease: New Clinicobiological Insights from Multi-Omics. *Ann Neurol.* mars 2021;89(3):546-59.

110. Zhu M, Liu X, Ye Y, Yan X, Cheng Y, Zhao L, Chen F, Ling Z. Gut Microbiota: A Novel Therapeutic Target for Parkinson's Disease. *Frontiers in Immunology [Internet].* 2022 [cité 17 févr 2024];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.937555>

111. Guo TT, Zhang Z, Sun Y, Zhu RY, Wang FX, Ma LJ, Jiang L, Liu HD. Neuroprotective

Effects of Sodium Butyrate by Restoring Gut Microbiota and Inhibiting TLR4 Signaling in Mice with MPTP-Induced Parkinson's Disease. *Nutrients*. 13 févr 2023;15(4):930.

112. Tan AH, Lim SY, Lang AE. The microbiome-gut-brain axis in Parkinson disease - from basic research to the clinic. *Nat Rev Neurol*. août 2022;18(8):476-95.

113. Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. *Journal of Hepatology*. 1 mars 2020;72(3):558-77.

114. McDonald B, Zucoloto AZ, Yu IL, Burkhard R, Brown K, Geuking MB, McCoy KD. Programming of an Intravascular Immune Firewall by the Gut Microbiota Protects against Pathogen Dissemination during Infection. *Cell Host Microbe*. 11 nov 2020;28(5):660-668.e4.

115. Teli MR, Day CP, Burt AD, Bennett MK, James OF. Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. *Lancet*. 14 oct 1995;346(8981):987-90.

116. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol*. mai 2014;60(5):940-7.

117. Llopis M, Cassard AM, Wrzosek L, Boschhat L, Bruneau A, Ferrere G, Puchois V, Martin JC, Lepage P, Le Roy T, Lefèvre L, Langelier B, Cailleux F, González-Castro AM, Rabot S, Gaudin F, Agostini H, Prévot S, Berrebi D, Ciocan D, Jousse C, Naveau S, Gérard P, Perlemuter G. Intestinal microbiota contributes to individual susceptibility to alcoholic liver disease. *Gut*. mai 2016;65(5):830-9.

118. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. avr 2003;37(4):917-23.

119. Propst A, Propst T, Judmaier G, Vogel W. Prognosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 1 mai 1995;108(5):1607.

120. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Clore JN. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 1 avr 2001;120(5):1183-92.

121. Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM, Flavell RA. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*. févr 2012;482(7384):179-85.

122. Sepich-Poore GD, Zitvogel L, Straussman R, Hasty J, Wargo JA, Knight R. The microbiome and human cancer. *Science*. 26 mars 2021;371(6536):eabc4552.

123. Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, Huber AR, van Hoeck A, Wood HM, Nomburg J, Gurjao C, Manders F, Dalmaso G, Stege PB, Paganelli FL, Geurts MH, Beumer J, Mizutani T, van der Linden R, van Elst S, Top J, Willems RJL, Giannakis M, Bonnet R, Quirke P,

Meyerson M, Cuppen E, van Boxtel R, Clevers H. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ E. coli. *Nature*. avr 2020;580(7802):269-73.

124. Mantovani F, Collavin L, Del Sal G. Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death Differ*. févr 2019;26(2):199-212.

125. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ*. janv 2018;25(1):104-13.

126. Rodriguez-Pastrana I, Birli E, Coutts AS. p53-dependent DNA repair during the DNA damage response requires actin nucleation by JMY. *Cell Death Differ*. juill 2023;30(7):1636-47.

127. Kadosh E, Snir-Alkalay I, Venkatachalam A, May S, Lasry A, Elyada E, Zinger A, Shaham M, Vaalani G, Mernberger M, Stiewe T, Pikarsky E, Oren M, Ben-Neriah Y. The gut microbiome switches mutant p53 from tumour-suppressive to oncogenic. *Nature*. oct 2020;586(7827):133-8.

128. Schneider KM, Mohs A, Gui W, Galvez EJC, Candels LS, Hoenicke L, Muthukumarasamy U, Holland CH, Elfers C, Kilic K, Schneider CV, Schierwagen R, Strnad P, Wirtz TH, Marschall HU, Latz E, Lelouvier B, Saez-Rodriguez J, de Vos W, Strowig T, Trebicka J, Trautwein C. Imbalanced gut microbiota fuels hepatocellular carcinoma development by shaping the hepatic inflammatory microenvironment. *Nat Commun*. 8 juill 2022;13(1):3964.

129. Yu LX, Schwabe RF. The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. sept 2017;14(9):527-39.

130. Lam KC, Araya RE, Huang A, Chen Q, Di Modica M, Rodrigues RR, Lopès A, Johnson SB, Schwarz B, Bohrsen E, Cogdill AP, Bosio CM, Wargo JA, Lee MP, Goldszmid RS. Microbiota triggers STING-type I IFN-dependent monocyte reprogramming of the tumor microenvironment. *Cell*. 14 oct 2021;184(21):5338-5356.e21.

131. Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Aquino-Michaels K, Earley ZM, Benyamin FW, Lei YM, Jabri B, Alegre ML, Chang EB, Gajewski TF. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 27 nov 2015;350(6264):1084-9.

132. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, Wei D, Goldfarb KC, Santee CA, Lynch SV, Tanoue T, Imaoka A, Itoh K, Takeda K, Umesaki Y, Honda K, Littman DR. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. 30 oct 2009;139(3):485-98.

133. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, Rusakiewicz S, Routy B, Roberti MP, Duong CPM, Poirier-Colame V, Roux A, Becharef S, Formenti S, Golden E, Cording S, Eberl G, Schlitzer A, Ginhoux F, Mani S, Yamazaki T, Jacquelot N, Enot DP, Bérard M, Nigou J, Opolon P, Eggermont A, Woerther PL, Chachaty E, Chaput N, Robert C,

Mateus C, Kroemer G, Raoult D, Boneca IG, Carbonnel F, Chamaillard M, Zitvogel L. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*. 27 nov 2015;350(6264):1079-84.

134. Troy EB, Kasper DL. Beneficial effects of *Bacteroides fragilis* polysaccharides on the immune system. *Front Biosci*. 1 janv 2010;15:25-34.

135. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, Fluckiger A, Messaoudene M, Rauber C, Roberti MP, Fidelle M, Flament C, Poirier-Colame V, Opolon P, Klein C, Iribarren K, Mondragón L, Jacquelot N, Qu B, Ferrere G, Clémenson C, Mezquita L, Masip JR, Naltet C, Brosseau S, Kaderbhai C, Richard C, Rizvi H, Levenez F, Galleron N, Quinquis B, Pons N, Ryffel B, Minard-Colin V, Gonin P, Soria JC, Deutsch E, Loriot Y, Ghiringhelli F, Zalcman G, Goldwasser F, Escudier B, Hellmann MD, Eggermont A, Raoult D, Albiges L, Kroemer G, Zitvogel L. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 5 janv 2018;359(6371):91-7.

136. Pinato DJ, Howlett S, Ottaviani D, Urus H, Patel A, Mineo T, Brock C, Power D, Hatcher O, Falconer A, Ingle M, Brown A, Gujral D, Partridge S, Sarwar N, Gonzalez M, Bendle M, Lewanski C, Newsom-Davis T, Allara E, Bower M. Association of Prior Antibiotic Treatment With Survival and Response to Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Patients With Cancer. *JAMA Oncol*. 1 déc 2019;5(12):1774-8.

137. Spencer CN, McQuade JL, Gopalakrishnan V, McCulloch JA, Vetizou M, Cogdill AP, Khan MAW, Zhang X, White MG, Peterson CB, Wong MC, Morad G, Rodgers T, Badger JH, Helmink BA, Andrews MC, Rodrigues RR, Morgun A, Kim YS, Roszik J, Hoffman KL, Zheng J, Zhou Y, Medik YB, Kahn LM, Johnson S, Hudgens CW, Wani K, Gaudreau PO, Harris AL, Jamal MA, Baruch EN, Perez-Guijarro E, Day CP, Merlino G, Pazdrak B, Lochmann BS, Szczepaniak-Sloane RA, Arora R, Anderson J, Zobniw CM, Posada E, Sirmans E, Simon J, Haydu LE, Burton EM, Wang L, Dang M, Clise-Dwyer K, Schneider S, Chapman T, Anang NAAS, Duncan S, Toker J, Malke JC, Glitza IC, Amaria RN, Tawbi HA, Diab A, Wong MK, Patel SP, Woodman SE, Davies MA, Ross MI, Gershenwald JE, Lee JE, Hwu P, Jensen V, Samuels Y, Straussman R, Ajami NJ, Nelson KC, Nezi L, Petrosino JF, Futreal PA, Lazar AJ, Hu J, Jenq RR, Tetzlaff MT, Yan Y, Garrett WS, Huttenhower C, Sharma P, Watowich SS, Allison JP, Cohen L, Trinchieri G, Daniel CR, Wargo JA. Dietary fiber and probiotics influence the gut microbiome and melanoma immunotherapy response. *Science*. 24 déc 2021;374(6575):1632-40.

138. Bender MJ, McPherson AC, Phelps CM, Pandey SP, Laughlin CR, Shapira JH, Medina Sanchez L, Rana M, Richie TG, Mims TS, Gocher-Demske AM, Cervantes-Barragan L, Mullett SJ, Gelhaus SL, Bruno TC, Cannon N, McCulloch JA, Vignali DAA, Hinterleitner R, Joglekar AV, Pierre JF, Lee STM, Davar D, Zarour HM, Meisel M. Dietary tryptophan metabolite released by intratumoral *Lactobacillus reuteri* facilitates immune checkpoint inhibitor treatment.

Cell. 27 avr 2023;186(9):1846-1862.e26.

139. Dizman N, Meza L, Bergerot P, Alcantara M, Dorff T, Lyou Y, Frankel P, Cui Y, Mira V, Llamas M, Hsu J, Zengin Z, Salgia N, Salgia S, Malhotra J, Chawla N, Chehrazi-Raffle A, Muddasani R, Gillece J, Reining L, Trent J, Takahashi M, Oka K, Higashi S, Kortylewski M, Highlander SK, Pal SK. Nivolumab plus ipilimumab with or without live bacterial supplementation in metastatic renal cell carcinoma: a randomized phase 1 trial. *Nat Med.* avr 2022;28(4):704-12.

140. microbiote-fecale-rapport-nov-2016.pdf [Internet]. [cité 14 avr 2024]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2022/09/19/microbiote-fecale-rapport-nov-2016.pdf>

141. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, Prieto PA, Vicente D, Hoffman K, Wei SC, Cogdill AP, Zhao L, Hudgens CW, Hutchinson DS, Manzo T, Petaccia de Macedo M, Cotechini T, Kumar T, Chen WS, Reddy SM, Szczepaniak Sloane R, Galloway-Pena J, Jiang H, Chen PL, Shpall EJ, Rezvani K, Alousi AM, Chemaly RF, Shelburne S, Vence LM, Okhuysen PC, Jensen VB, Swennes AG, McAllister F, Marcelo Riquelme Sanchez E, Zhang Y, Le Chatelier E, Zitvogel L, Pons N, Austin-Breneman JL, Haydu LE, Burton EM, Gardner JM, Sirmans E, Hu J, Lazar AJ, Tsujikawa T, Diab A, Tawbi H, Glitza IC, Hwu WJ, Patel SP, Woodman SE, Amaria RN, Davies MA, Gershenwald JE, Hwu P, Lee JE, Zhang J, Coussens LM, Cooper ZA, Futreal PA, Daniel CR, Ajami NJ, Petrosino JF, Tetzlaff MT, Sharma P, Allison JP, Jenq RR, Wargo JA. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science.* 5 janv 2018;359(6371):97-103.

142. Luu M, Riester Z, Baldrich A, Reichardt N, Yuille S, Busetti A, Klein M, Wempe A, Leister H, Raifer H, Picard F, Muhammad K, Ohl K, Romero R, Fischer F, Bauer CA, Huber M, Gress TM, Lauth M, Danhof S, Bopp T, Nerreter T, Mulder IE, Steinhoff U, Hudecek M, Visekruna A. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8+ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nat Commun.* 1 juill 2021;12(1):4077.

143. Lickefett B, Chu L, Ortiz-Maldonado V, Doglio M, Henderson D, Hudecek M, Kremer A, Negre H, Sanges C, Kuball J, Luu M, Jäger U. Lymphodepletion – an essential but undervalued part of the chimeric antigen receptor T-cell therapy cycle. *Front Immunol* [Internet]. 22 déc 2023 [cité 16 mars 2024];14. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1303935/full>

144. Stein-Thoeringer CK, Saini NY, Zamir E, Blumenberg V, Schubert ML, Mor U, Fante MA, Schmidt S, Hayase E, Hayase T, Rohrbach R, Chang CC, McDaniel L, Flores I, Gaiser R, Edinger M, Wolff D, Heidenreich M, Strati P, Nair R, Chihara D, Fayad LE, Ahmed S, Iyer SP, Steiner RE, Jain P, Nastoupil LJ, Westin J, Arora R, Wang ML, Turner J, Menges M, Hidalgo-Vargas M, Reid K, Dreger P, Schmitt A, Müller-Tidow C, Locke FL, Davila ML, Champlin RE, Flowers CR, Shpall EJ, Poeck H, Neelapu SS, Schmitt M, Subklewe M, Jain

MD, Jenq RR, Elinav E. A non-antibiotic-disrupted gut microbiome is associated with clinical responses to CD19-CAR-T cell cancer immunotherapy. *Nat Med.* avr 2023;29(4):906-16.

145. Smith M, Dai A, Ghilardi G, Amelsberg KV, Devlin SM, Pajarillo R, Slingerland JB, Beghi S, Herrera PS, Giardina P, Clurman A, Dwomoh E, Armijo G, Gomes ALC, Littmann ER, Schluter J, Fontana E, Taur Y, Park JH, Palomba ML, Halton E, Ruiz J, Jain T, Pennisi M, Afuye AO, Perales MA, Freyer CW, Garfall A, Gier S, Nasta S, Landsburg D, Gerson J, Svoboda J, Cross J, Chong EA, Giralt S, Gill SI, Riviere I, Porter DL, Schuster SJ, Sadelain M, Frey N, Brentjens RJ, June CH, Pamer EG, Peled JU, Facciabene A, van den Brink MRM, Ruella M. Gut microbiome correlates of response and toxicity following anti-CD19 CAR T cell therapy. *Nat Med.* avr 2022;28(4):713-23.

146. Hu Y, Li J, Ni F, Yang Z, Gui X, Bao Z, Zhao H, Wei G, Wang Y, Zhang M, Hong R, Wang L, Wu W, Mohty M, Nagler A, Chang AH, van den Brink MRM, Li MD, Huang H. CAR-T cell therapy-related cytokine release syndrome and therapeutic response is modulated by the gut microbiome in hematologic malignancies. *Nat Commun.* 9 sept 2022;13(1):5313.

147. Le Bourgeois A. Gestion des toxicités des lymphocytes T exprimant un récepteur à l'antigène chimérique (CAR-T cells). *Bulletin du Cancer.* 1 déc 2018;105:S188-97.

148. Lee DW, Gardner R, Porter DL, Louis CU, Ahmed N, Jensen M, Grupp SA, Mackall CL. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood.* 10 juill 2014;124(2):188-95.

149. Ashraf R, Shah NP. Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(7):938-56.

150. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques. 2015;

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2023/2024

**Nom : Segain**  
**Prénom : Benjamin**

**Titre de la thèse : Influence du microbiote intestinal sur l'efficacité des immunothérapies : exemple des inhibiteurs de checkpoint immunitaire et des cellules CAR-T.**

**Mots-clés : Immunologie, CAR-T cells, microbiote, cancer**

---

**Résumé :**

Au cours de l'histoire les traitements antitumoraux n'ont cessé d'évoluer et de gagner en efficacité. Les dernières avancées dans le domaine de l'immunologie ont abouti au développement des inhibiteurs de checkpoints immunitaires et aux cellules CAR-T. Malgré des résultats prometteurs ces thérapies restent inefficaces vis-à-vis de certains cancers et tous les patients ne sont pas répondeurs.

Les récentes études sur le microbiote intestinal ont démontré que ce dernier avait une influence à distance du site intestinal et était impliqué dans la mise en place de certains cancers ainsi que dans la réponse antitumorale. De nombreuses études se sont intéressées au lien qui pouvait exister entre le microbiote intestinal et l'efficacité des immunothérapies. Il a ainsi été observé que la prise d'antibiotiques avant l'instauration d'une immunothérapie réduisait l'efficacité de cette dernière.

La modulation du microbiote intestinal ouvre donc une perspective intéressante afin d'améliorer les traitements antitumoraux. Cependant des études approfondies sur la faisabilité et la compatibilité avec les immunothérapies sont nécessaires.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Professeur SIMON Nicolas (Pharmacien, PU-PH, CHU de Lille).

**Assesseur(s) :** Docteur SAINT-LORANT Guillaume (Pharmacien, MCU-PH, CHU de Caen), Docteur BERTIN Benjamin (PU, Université de Lille).

**Membre(s) extérieur(s) :** Docteur MARTON Chrystel (Pharmacien, CHU de Lille), Docteur MERESSE Bertrand (CR, U1286 Infinite).