



Université  
de Toulouse

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2021

THÈSE N°: 2021/TOU3/2045

# THÈSE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement  
par

DUPIS Edouard

**L'immunothérapie intratumorale en oncologie :  
concept, résultats et perspectives**

Date de soutenance :  
09 juillet 2021

Directeur de thèse : M. GAIRIN, Jean-Edouard

## JURY

Président : M. GAIRIN, Jean-Edouard  
1<sup>er</sup> assesseur : Mme COUDERC, Bettina  
2<sup>e</sup> assesseur : Mme MULLER-STAU MONT, Catherine  
3<sup>e</sup> assesseur : M. DAMY, Pascal

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier**  
**au 1er octobre 2020**

**Professeurs Emérites**

|                  |                      |
|------------------|----------------------|
| Mme BARRE A.     | Biologie Cellulaire  |
| M. BENOIST H.    | Immunologie          |
| M. BERNADOU J.   | Chimie Thérapeutique |
| M. CAMPISTRON G. | Physiologie          |
| M. GAIRIN J.E.   | Pharmacologie        |
| Mme NEPVEU F.    | Chimie analytique    |
| M. ROUGE P.      | Biologie Cellulaire  |
| M. SALLES B.     | Toxicologie          |

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

|                        |                           |
|------------------------|---------------------------|
| Mme AYYOUB M.          | Immunologie               |
| M. CESTAC P.           | Pharmacie Clinique        |
| M. CHATELUT E.         | Pharmacologie             |
| Mme DE MAS MANSAT V.   | Hématologie               |
| M. FAVRE G.            | Biochimie                 |
| Mme GANDIA P.          | Pharmacologie             |
| M. PARINI A.           | Physiologie               |
| M. PASQUIER C. (Doyen) | Bactériologie - Virologie |
| Mme ROQUES C.          | Bactériologie - Virologie |
| Mme ROUSSIN A.         | Pharmacologie             |
| Mme SALLERIN B.        | Pharmacie Clinique        |
| M. VALENTIN A.         | Parasitologie             |

**Universitaires**

|                           |                          |
|---------------------------|--------------------------|
| Mme BERNARDES-GÉNISSON V. | Chimie thérapeutique     |
| Mme BOUTET E.             | Toxicologie - Sémiologie |
| Mme COUDERC B.            | Biochimie                |
| M. CUSSAC D. (Vice-Doyen) | Physiologie              |
| M. FABRE N.               | Pharmacognosie           |
| Mme GIROD-FULLANA S.      | Pharmacie Galénique      |
| M. GUIARD B.              | Pharmacologie            |
| M. LETISSE F.             | Chimie pharmaceutique    |
| Mme MULLER-STAU MONT C.   | Toxicologie - Sémiologie |
| Mme REYBIER-VUATTOUX K.   | Chimie analytique        |
| M. SEGUI B.               | Biologie Cellulaire      |
| Mme SIXOU S.              | Biochimie                |
| M. SOUCHARD J-P.          | Chimie analytique        |
| Mme TABOULET F.           | Droit Pharmaceutique     |
| M. VERHAEGHE P.           | Chimie Thérapeutique     |

## Maîtres de Conférences des Universités

| Hospitalo-Universitaires  |                      | Universitaires              |                           |
|---------------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| M. DELCOURT N.            | Biochimie            | Mme ARELLANO C. (*)         | Chimie Thérapeutique      |
| Mme JUILLARD-CONDAT B.    | Droit Pharmaceutique | Mme AUTHIER H.              | Parasitologie             |
| M. PUISSET F.             | Pharmacie Clinique   | M. BERGE M. (*)             | Bactériologie - Virologie |
| Mme ROUCH L.              | Pharmacie Clinique   | Mme BON C. (*)              | Biophysique               |
| Mme ROUZAUD-LABORDE C.    | Pharmacie Clinique   | M. BOUJILA J. (*)           | Chimie analytique         |
| Mme SERONIE-VIVIEN S. (*) | Biochimie            | M. BROUILLET F.             | Pharmacie Galénique       |
| Mme THOMAS F. (*)         | Pharmacologie        | Mme CABOU C.                | Physiologie               |
|                           |                      | Mme CAZALBOU S. (*)         | Pharmacie Galénique       |
|                           |                      | Mme CHAPUY-REGAUD S.        | Bactériologie - Virologie |
|                           |                      | Mme COLACIOS C.             | Immunologie               |
|                           |                      | Mme COSTE A. (*)            | Parasitologie             |
|                           |                      | Mme DERAËVE C. (*)          | Chimie Thérapeutique      |
|                           |                      | Mme ECHINARD-DOUIN V.       | Physiologie               |
|                           |                      | Mme EL GARAH F.             | Chimie Pharmaceutique     |
|                           |                      | Mme EL HAGE S.              | Chimie Pharmaceutique     |
|                           |                      | Mme FALLONE F.              | Toxicologie               |
|                           |                      | Mme FERNANDEZ-VIDAL A.      | Toxicologie               |
|                           |                      | Mme GADEA A.                | Pharmacognosie            |
|                           |                      | Mme HALOVA-LAJOIE B.        | Chimie Pharmaceutique     |
|                           |                      | Mme JOUANJUS E.             | Pharmacologie             |
|                           |                      | Mme LAJOIE-MAZENC I.        | Biochimie                 |
|                           |                      | Mme LEFEVRE L.              | Physiologie               |
|                           |                      | Mme LE LAMER A-C.           | Pharmacognosie            |
|                           |                      | M. LE NAOUR A.              | Toxicologie               |
|                           |                      | M. LEMARIE A.               | Biochimie                 |
|                           |                      | M. MARTI G.                 | Pharmacognosie            |
|                           |                      | Mme MONFERRAN S.            | Biochimie                 |
|                           |                      | M. SAINTE-MARIE Y.          | Physiologie               |
|                           |                      | M. STIGLIANI J-L.           | Chimie Pharmaceutique     |
|                           |                      | M. SUDOR J. (*)             | Chimie Analytique         |
|                           |                      | Mme TERRISSE A-D.           | Hématologie               |
|                           |                      | Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*) | Pharmacie Galénique       |
|                           |                      | Mme VANSTEELANDT M.         | Pharmacognosie            |
|                           |                      | Mme WHITE-KONING M. (*)     | Mathématiques             |

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

| Assistants Hospitalo-Universitaires |                      | Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER) |                      |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|----------------------|
| Mme LARGEAUD L.                     | Immunologie          | M. François-Xavier TOUBLET                               | Chimie Thérapeutique |
| M. LE LOUEDEC F.                    | Pharmacologie        |                                                          |                      |
| M. MOUMENI A.                       | Biochimie            |                                                          |                      |
| M. PAGES A.                         | Pharmacie Clinique   |                                                          |                      |
| Mme SALABERT A.S                    | Biophysique          |                                                          |                      |
| Mme TRIBAUDEAU L.                   | Droit Pharmaceutique |                                                          |                      |

## **Remerciements**

### **Au Professeur émérite Gairin Jean-Edouard, directeur de thèse et président du jury.**

Merci pour vos enseignements et conseils durant toutes ces années. Merci pour votre disponibilité constante et votre formidable encadrement, toujours avisé. Je n'aurai pu mener à bien ce travail sans votre précieux soutien au long cours. Merci pour votre direction éclairée tout au long de la rédaction de cette thèse.

### **Aux Professeures Couderc Bettina et Muller-Staumont Catherine, membres du jury.**

Merci pour vos enseignements prodigués lors de mon parcours universitaire et votre enthousiasme à l'idée de participer à mon jury de thèse.

### **Au Pharmacien Damy Pascal.**

Merci d'avoir accepté de rejoindre le jury en ce vendredi 9 juillet 2021, votre participation fut tant inespérée qu'inestimable. Ce fut un plaisir de vous retrouver après ces étés passés à la Pharmacie.

A Olivier Rixe, un grand merci pour son initiation aux essais cliniques de pointe en oncologie, lors de cette passionnante expérience professionnelle que fut l'UNM Cancer Center. Merci pour la confiance sans faille qu'il a su m'accorder durant ces cinq dernières années et enfin, merci pour son soutien indéfectible, même éloigné.

A mes parents, Florence et François, vous qui m'avez toujours appris à donner le meilleur de moi-même pour faire de mon travail une réussite, vous qui avez toujours su me tirer vers le haut. Vous êtes les deux modèles sur lesquels se base mon quotidien. Votre soutien et vos encouragements depuis toutes ces années sont un réel moteur pour que je continue à me dépasser.

A ma grande sœur Géraldine, qui a toujours su faire preuve de bienveillance à mon égard, je m'efforcerai de faire de même envers notre cher petit Eliott.

A mon petit frère William, qui m'inspire constamment avec la vision singulière qu'il porte sur le monde.

A mes amis, qui occupent une importance toute particulière dans ce qui me définit aujourd'hui, qui m'ont accueilli en France comme si ces quatre années au-delà de l'Atlantique n'avaient rien changé, et qui contribuent à faire de moi quelqu'un de plus complet, jour après jour. Merci Aurélien, Jonathan, Julian, Kévin, Nicolas, Pierre, Quentin et Yan.

Je réserve une mention estudiantine spéciale à Anatole, sans qui je n'aurai pas accompli tout ce travail au cours de ces années, dont le plus récent.

A 30 ans être étudiant est une vraie expérience !

Merci Elsa et Mary, qui ont toujours fait preuve d'une grande affection et qui tentent, tant bien que mal, de m'aider à prendre les meilleures décisions.

Merci également à Agathe, Chloé, Julie, Maéva qui m'apportent beaucoup.

A tous, vous êtes ma deuxième famille et je m'estime très chanceux.

A mes amis d'outre-Atlantique, Marta, Kalin, Dan, Derek, Julien et Pierre-Alexandre, merci pour tous ces moments passés sur les terres néo-mexicaines et californiennes.

A Marion, qui m'a porté pendant mes années de fac. Je n'en serai pas là aujourd'hui sans elle.

Enfin, à Julie, qui m'a « supporté » pendant ces huit derniers mois. Merci d'avoir embelli mes journées de son sourire et sa bonne humeur.

## **Abréviations**

AACR : American association for cancer research

ADCC : Antibody-dependent cellular cytotoxicity

AE : Adverse event - Effet indésirable

Ag : Antigène

AMM : Autorisation de mise sur le marché

APAF1 : Apoptotic protease activating factor 1

ASCO : American society of clinical oncologie - Société américaine d'oncologie clinique

AUC : Area under the curve

BIM : Bcl-2-like protein 11

BSC : Best supporting care

CARD : Caspases Activation and Recruitment Domaine

CAR T : Chimeric antigen receptor T

CCL21 : Chemokine (C-C motif) ligand 21

CDN : Dinucléotides cycliques

cDNA : complementary DNA

CEA : Carcinoembryonic antigen

CED : Convection-enhanced delivery

cGAMP : Guanosine monophosphate cyclique

cGAS : Guanosine monophosphate cyclique synthase

CLR : C-type lectin receptor

CMC : Complement-mediated cytotoxicity

c-MET : Mesenchymal epithelial transition factor

CNBPC : Cancers bronchiques non à petites cellules

CPA : Cellule présentatrice d'antigènes

CPIs : Checkpoints inhibitors - Inhibiteurs des checkpoints

CR : Complete response - Réponse complète

CRPC : Castration resistant prostate cancer

CSCC : Cutaneous squamous cell carcinoma

CT : Computerized tomography

CTCAE : Common Terminology Criteria for Adverse Events

CTLA-4 : Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4

CVA21 : Coxsackievirus A21

DAMPs : Damage-associated molecular patterns

Dbait : DNA strand break bait

DLT : Dose limiting toxicity

DNA : Deoxyribonucleic acid

DRR : Durable response rate

DT-A : Chaîne A de la toxine de la diphtérie

EGF : Epidermal growth factor

EGFR : Epidermal growth factor receptor

EGFR-TK : Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase

ESMO : European Society for Medical Oncology

FasL : Fas Ligand

FIH : First in human

GBM : Glioblastome multiforme

GCV : Ganciclovir

GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

GSC : Gliomasphere-forming cell

HCC : Hepatocellular carcinoma

hGM-CSF : Humanized GM-CSF

HIT-IT : Human intratumoral immunothérapie

HMGB1 : High mobility group box 1

HNSCC : Head and neck squamous cell carcinoma

HSP70 : Heat shock protein 70

HSP90 $\alpha$  : Heat shock protein 90 alpha

HSV-1 : Herpes simplex virus 1

HVEM : Herpes virus entry mediator

ICAM-1 : Intercellular adhesion molecule

ICI : Immunes checkpoint inhibiteurs

IDO : Indoleamine 2,3-dioxygenase

IFN : Interferon

IL : Interleukine

IP : Investigational product

IRF3 : Interferon Regulatory Factor 3

irIL-12 : recombinant humain de l'interleukine-12

IRM : Imagerie à résonance magnétique

irPFS : Immune-related progression free survival

irSD : Immune-related stable disease

IT : Intratumoral

ITK : Inhibiteur des tyrosines kinases

LD : Long diameter

LEC : Local Effect Cohort

LT : Lymphocytes T

MAPK : Mitogen-activated protein kinase

MCC : Merkel cell carcinoma

MEK : Mitogen-activated protein kinase kinase

MMP-9 : Matrix metalloproteinase 9

mRECIST : modified RECIST

mRNA : messenger ribonucleic acid

MTD : Maximal tolerated dose

NFκB : Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NK : Natural killer

NLRs : Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors

NT : Non-Toxic

NSCLC : Non-small cell lung cancer

ORL : Oto-rhino-laryngée

ORR : Overall response rate  
 OS : Overall survival  
 P53 : protéine P53  
 PAMPs : Pathogen-associated molecular patterns  
 PCD : Programmed cell death  
 PD : Progressive disease  
 PD : Pharmacodynamic  
 PD-1 : Programmed death - 1  
 PDL-1 : Programmed death ligand 1  
 PK : Pharmacokinetics - Pharmacocinétique  
 PKC : Protéine kinase C  
 PLC : Phospholipase C  
 PR : Partial response - réponse partielle  
 PRR : Pattern recognition receptors  
 PT : Peritumoral  
 Q3W : Every 3 weeks  
 R2PD : Recommended phase 2 dose  
 RCC : Renal cell carcinoma  
 RCP : Résumé des caractéristiques du produit  
 RECIST : Response Evaluation Criteria in Solid Tumours  
 rhIL-12 : Interleukine 12 recombinante humaine  
 RIG-1 - Retinoic acid-inducible gene I  
 RLR - RIG-I-like receptor  
 RTK : Recepteur tyrosine kinases  
 rtPCR : Reverse transcription polymerase chain reaction  
 SAE : Serious adverse event  
 SCCHN : Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck  
 SCLC : Small cell lung cancer - Cancer du poumon à petites cellules  
 SD : Stable disease - Maladie stable

SITC : Society for Immunotherapy of Cancer  
SOS : Son of Sevenless  
SSX-2 : Synovial sarcoma X breakpoint 2  
STING : Stimulator of interferon genes  
TAA : Tumor Associated Antigen  
TCID : Tissue culture infective dose  
TIM-3 : T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3  
TLR : Toll-like receptors  
TNBC : Triple negative breast cancer  
TNF : Tumor necrosis factor  
TTF : TTF : Time to Treatment Failure  
T-VEC : Talimogene laherparepvec  
VEGF : Vascular endothelial growth factor  
Vp : Viral particules - Particules virales  
WHO : World health organization

# Table des matières

|                                                                         |            |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>AVANT PROPOS.....</b>                                                | <b>14</b>  |
| <b>INTRODUCTION .....</b>                                               | <b>15</b>  |
| <b>1. LE CONCEPT DE L'IMMUNOTHERAPIE INTRATUMORALE .....</b>            | <b>17</b>  |
| 1.1. L'ONCOGENESE .....                                                 | 17         |
| 1.2. IMMUNO-SURVEILLANCE ET IMMUNOTHERAPIE.....                         | 18         |
| 1.2.1. Les trois « E » de l'édition immunitaire.....                    | 19         |
| 1.2.2. L'immunothérapie .....                                           | 19         |
| 1.3. LA MODALITE INTRATUMORALE .....                                    | 21         |
| 1.4. LES AGENTS DE L'IMMUNOTHERAPIE INTRATUMORALE .....                 | 22         |
| 1.4.1. Les agonistes des PRRs .....                                     | 22         |
| 1.4.2. Les virus oncolytiques et peptides.....                          | 27         |
| 1.4.3. Anticorps dirigés contre les immune checkpoints inhibiteurs..... | 30         |
| 1.4.4. Les cellules du système immunitaire.....                         | 31         |
| 1.4.5. Les cytokines .....                                              | 33         |
| 1.4.6. Les modulateurs immuno-métaboliques.....                         | 34         |
| 1.4.7. Les séquences d'acides nucléiques codantes .....                 | 35         |
| 1.5. LA COMBINAISON AVEC LES CPIs.....                                  | 37         |
| <b>2. ESSAIS CLINIQUES.....</b>                                         | <b>39</b>  |
| 2.1. ESSAIS DE PHASES PRECOCES.....                                     | 39         |
| 2.1.1. Essais First-in-Human .....                                      | 40         |
| 2.1.2. Essais de Phase I .....                                          | 49         |
| 2.1.3. Essais de Phase I/Ib .....                                       | 65         |
| 2.1.4. Essais de Phase Ib .....                                         | 66         |
| 2.1.5. Essais de Phase I/II.....                                        | 67         |
| 2.2. ESSAIS DE PHASES PRECOCES EN COMBINAISON .....                     | 69         |
| 2.3. ESSAIS DE PHASE II.....                                            | 79         |
| 2.3.1. SCCHN .....                                                      | 79         |
| 2.3.2. Mélanomes .....                                                  | 82         |
| 2.3.3. Carcinomes hépatocellulaires .....                               | 85         |
| 2.4. ESSAIS DE PHASE III.....                                           | 90         |
| <b>3. DISCUSSION .....</b>                                              | <b>96</b>  |
| 3.1. RESULTATS DES ESSAIS ANALYSES.....                                 | 96         |
| 3.1.1. Faisabilité.....                                                 | 96         |
| 3.1.2. Toxicités.....                                                   | 96         |
| 3.1.3. Réponses observées.....                                          | 98         |
| 3.2. ESSAIS EN COURS AVEC DES RESULTATS EN ATTENTE .....                | 101        |
| 3.3. AUTORISATIONS DES AUTORITES COMPETENTES .....                      | 102        |
| 3.4. PERSPECTIVES.....                                                  | 103        |
| 3.4.1. HIT-IT guidelines .....                                          | 103        |
| 3.4.2. Autres combinaisons.....                                         | 106        |
| <b>CONCLUSION.....</b>                                                  | <b>108</b> |
| <b>REFERENCES.....</b>                                                  | <b>109</b> |
| <b>ANNEXE 1 .....</b>                                                   | <b>121</b> |
| <b>ANNEXE 2 .....</b>                                                   | <b>122</b> |
| <b>RÉSUMÉ EN FRANÇAIS.....</b>                                          | <b>131</b> |

## Tables des illustrations

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURE 1 : ILLUSTRATION DE L'EVOLUTION DE CLONES PRESENTANT UN POTENTIEL MALIN ET LEURS DIVERSIFICATION POUR ATTEINDRE UNE POPULATION TUMORALE. ....                                                                                                                                                                                                                         | 18 |
| FIGURE 2 : MECANISMES D'ACTION DES CPIs. (A) BLOCAGE DE LA LIAISON ENTRE CTLA-4 ET B7 PAR L'ANTI-CTLA-4. (B) BLOCAGE DES LIAISONS PD-1/PD-L1 ET PD-L2 PAR LES ANTI-PD-1/PD-L1. ....                                                                                                                                                                                          | 21 |
| FIGURE 3 : LES VOIES DE SIGNALISATION DES TLRs CONTRIBUENT A LA PROGRESSION TUMORALE AU SEIN DU MICRO-ENVIRONNEMENT. LES DAMPs PROVENANT DES CELLULES CANCEREUSES NECROTIQUES ACTIVERAIENT LES TLRs EXPRIMES, TANT SUR LES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE QUE SUR LES CELLULES TUMORALES, GENERANT LA PRODUCTION DE CYTOKINES QUI VONT INHIBER LE SYSTEME IMMUNITAIRE. .... | 24 |
| FIGURE 4 : VOIES DE SIGNALISATIONS DES CINQ FAMILLES DE PRRs.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 26 |
| FIGURE 5 : PROPRIETES DES DIFFERENTS VIRUS A ARN UTILISES EN THERAPEUTIQUE.....                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 29 |
| FIGURE 6 : PROPRIETES DES DIFFERENTS VIRUS A ARN UTILISES EN THERAPEUTIQUE.....                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 30 |
| FIGURE 7 : MECANISMES D'ACTION POTENTIELS DU L'ANTICORPS AGONISTE DU CD40.....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 31 |
| FIGURE 8 : ETAPES PRINCIPALES DU PROCESSUS DE FABRICATION D'UN CAR T CELL.....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 32 |
| FIGURE 9 : EFFETS DE LA STIMULATION PAR IL-12 SUR LES CELLULES DU MICROENVIRONNEMENT TUMORAL ET EN DEHORS. ....                                                                                                                                                                                                                                                              | 34 |
| FIGURE 10 : LES VOIES DE SIGNALISATION DE L'EGFR ET LEUR ROLE DANS LA TRANSCRIPTION, LA SYNTHESE DE PROTEINES, PROLIFERATION AINSI QUE L'INHIBITION DE L'APOPTOSE. ....                                                                                                                                                                                                      | 37 |
| FIGURE 11 : COMBINAISONS DE THERAPIES IMMUNO-MODULATRICES POUR SURMONTER LES MECANISMES DE RESISTANCES TUMORAUX ET INDUIRE UNE REPOSE IMMUNITAIRE ANTICANCEREUSE.....                                                                                                                                                                                                        | 38 |
| FIGURE 12 : SCHEMA DU DESIGN EN « 3+3 » DES ESSAIS CLINIQUES DE PHASES PRECOSES EN ONCOLOGIE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                           | 40 |
| FIGURE 13 : RECAPITULATIF DES EFFETS INDESIRABLES DE GRADE $\geq 3$ RELIES A L'ADC-1013. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                | 41 |
| FIGURE 14 : CONCENTRATION PLASMATIQUE MOYENNE DE DT01 SUR 24H APRES UNE ADMINISTRATION UNIQUE. (A) CONCENTRATION PLASMATIQUES DES PATIENTS EN ESCALADE DE DOSE. (B) MOYENNES DE CONCENTRATION DES 5 PATIENTS TRAITES EN IT + IP VERSUS MOYENNE DES 6 PATIENTS TRAITES SEULEMENT EN PT.....                                                                                   | 43 |
| FIGURE 15 : CORRELATION ENTRE LA TAILLE DE LA LESION INITIALE ET LA REPOSE A L'IMAGERIE. (A) PROBABILITE DE REPOSE SUIVANT LA TAILLE TUMORALE INITIALE. (B) REPOSES OBSERVEE CHEZ LES PATIENTS AYANT RECU L'EGF AS PAR RAPPORT A LEUR TAUX INITIAUX D'EGFR. ....                                                                                                             | 44 |
| FIGURE 16 : POURCENTAGE DE CHANGEMENT DE LA TAILLE TUMORALE DES LESIONS CIBLES, NON-CIBLES ET CUMULEES DES 22 PATIENTS EVALUES. ....                                                                                                                                                                                                                                         | 45 |
| FIGURE 17 : SCHEMA DETAILLANT LE DEROULEMENT DE L'ETUDE AVEC NOTAMMENT L'INJECTION IT DES CAR T CELLS A J-2 ET LA TUMORECTOMIE A J0.....                                                                                                                                                                                                                                     | 46 |
| FIGURE 18 : REPOSES OBSERVEES (YES/NO) AU NIVEAU DES LESIONS INJECTEES, LOCALES ET DISTANTES CHEZ LES 7 PATIENTS DE L'ETUDE. ....                                                                                                                                                                                                                                            | 47 |
| FIGURE 19 : EVOLUTION DES METASTASES DERMiques DU PATIENT #3 AVANT, 81 JOURS APRES ET 600 JOURS APRES LA PREMIERE INJECTION DE PX-594. ....                                                                                                                                                                                                                                  | 47 |
| FIGURE 20 : VARIATIONS DU TAUX D'INF- $\gamma$ PARMI LES PATIENTS DES 2 COHORTES. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 51 |
| FIGURE 21 : REPOSE IMMUNE MEDIEE PAR LE DNX-2401. (A) DENSITE DES CELLULES EXPRIMANT CD3, CD4 ET CD8 PRE ET POST-TRAITEMENT AINSI QUE (B) TIM-3. SPECIMENS (N=5 PRE ET N= 10 POST) OBTENUS PAR BIOPSIES. (C) AUGMENTATION DES TAUX DES PROTEINES HMGB1, HSP90A, HSP70 ET ATP ORIENTANT VERS UNE MORT CELLULAIRE. ....                                                        | 54 |
| FIGURE 22 : TAUX D'ANC ET DE GM-CSF CHEZ LES PATIENTS DES COHORTES 1 A 4 OBSERVES AU COURS DES 8 PREMIERS JOURS SUIVANT LA PREMIERE INJECTION.....                                                                                                                                                                                                                           | 55 |
| FIGURE 23 : FIGURE 23 : ETUDE DE LA REPOSE IMMUNITAIRE DIRIGEE CONTRE LES AG DU VACCIN CHEZ LES PATIENTS 03 ET 06 AVANT ET APRES L'INJECTION DE PEXA-VEC.....                                                                                                                                                                                                                | 56 |
| FIGURE 24 : IRMS DU PATIENT 13 REALISEES AVANT LA PREMIERE INJECTION PUIS 6 ET 12 MOIS APRES. LE PATIENT AVAIT RECU LA DOSE DE $1 \times 10^{10}$ TCID <sub>50</sub> SUR 72H EN 1 INJECTION. (A) PR OBSERVEE A 6 MOIS POST-TRAITEMENT. (B) CR OBSERVEE 12 MOIS POST-TRAITEMENT. ....                                                                                         | 58 |
| FIGURE 25 : DOSES, TOXICITES, REPOSES ET SURVIES DES PATIENTS DE L'ESSAI APRES INJECTION DE L'ADV.HSV-TK/GCV. ....                                                                                                                                                                                                                                                           | 60 |
| FIGURE 26 : PRODUCTION D'INF- $\gamma$ , TAA SPECIFIQUE ET VACCINATION DEPENDANTE, CHEZ LES PATIENTS SLC12, SLC23 ET SLC30. ....                                                                                                                                                                                                                                             | 61 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURE 27 : PRODUCTION D'INF- $\gamma$ , TAA NON-SPECIFIQUE ET VACCINATION INDEPENDANTE, CHEZ LES PATIENTS SLC01, SLC07 ET SLC28.....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 61  |
| FIGURE 28 : CORRELATION ENTRE L'EXPRESSION DE PD-L1 ET LA PRODUCTION D'INF- $\gamma$ OU L'INFILTRATION DE LT CD8+.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 62  |
| FIGURE 29 : SCHEMA D'ESCALADE DE DOSE ET REPARTITION DES PATIENTS AYANT REÇU L'EBC-46. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 63  |
| FIGURE 30 : PHOTOS DES LESIONS CUTANEEES DU PATIENT 102 PRE-INJECTION PUIS 5, 8 ET 22 JOURS POST. OBSERVATION DE LA REPOSE ANENESTIC AU NIVEAU DE LA 4 <sup>E</sup> LESION.....                                                                                                                                                                                                                                                   | 64  |
| FIGURE 31 : REPOSES ANTITUMORALES OBSERVEES A J29. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 66  |
| FIGURE 32 : VALEURS MOYENNES $\pm$ SD DU NOMBRE ABSOLU (CELLULES/ $\mu$ G) DE LYMPHOCYTES OU DES LYMPHOCYTES EXPRIMANT CD3, CD4, CD8, CD20 ET CD56 EN L'ABSENCE DE CD3 PRESENT DANS LES PRELEVEMENTS DE SANG PERIPHERIQUE AVANT (T=0) ET APRES (T=4, 12, 24, 48, 72 ET 96H) LA PREMIERE INJECTION D'IRIL-12 A LA DOSE DE 100NG/KG OU 300 NG/KG.....                                                                               | 67  |
| FIGURE 33 : REPOSE TUMORALE A LA FIN DE L'ETUDE (4 SEMAINES) ET LORS DU FOLLOW-UP A 3 MOIS. (A) LE PATIENT 204 PRESENTAIT UNE POTENTIELLE NOUVELLE LESION A 4 SEMAINES QUI NE FUT PAS RETROUVEE LORS DE L'EXAMEN A 3 MOIS. CE MEME EXAMEN REVELA UNE DIMINUTION DE PLUS DE 30% DE LA LESION CIBLE. (B) LE PATIENT 604 PRESENTAIT UNE LESION STABLE A 4 SEMAINES MAIS UNE DIMINUTION DE PLUS DE 30% LORS DE L'EXAMEN SUIVANT. .... | 69  |
| FIGURE 34 : REPOSES OBSERVEES CHEZ LES PATIENTS DE L'ETUDE A J60 POST-INJECTION.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 70  |
| FIGURE 35 : MODIFICATION DE L'ACTIVITE CORRELEE A LA CHARGE TUMORALE ENTRE LES JOURS 1 ET 29 DE L'ETUDE CHEZ LES PATIENTS INCLUS. LES MARQUEURS ROUGES INDIQUENT LES PATIENTS NAÏFS EN IMMUNOTHERAPIE PD1/PD-L1. ....                                                                                                                                                                                                             | 71  |
| FIGURE 36 : SCHEMA D'ADMINISTRATION DE L'ETUDE. (CTA = CLINICAL TUMORAL ASSESSMENT).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 72  |
| FIGURE 37 : REPOSE TUMORALE EN FONCTION DU STADE DE LA MALADIE CHEZ LES PATIENTS DE L'ETUDE.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 73  |
| FIGURE 38 : EVOLUTION DES LESIONS CIBLES EN POURCENTAGE PAR RAPPORT A LA BASELINE CHEZ LES 21 PATIENTS DE L'ETUDE MASTERKEY-265. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 74  |
| FIGURE 39 : PFS ET OS EXPRIMES EN MOIS DES 21 PATIENTS DE L'ETUDE MASTERKEY-265.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 74  |
| FIGURE 40 : DETAILS DU TRAITEMENT PAR CMP-001 REÇUS PAR LES PATIENTS ET ORR RESPECTIFS DE CHAQUE COHORTE.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 77  |
| FIGURE 41 : TOXICITES DE GRADE 2 ET 3 PRESENTEES PAR LES 10 PATIENTS INCLUS DANS LE BRAS DE TRAITEMENT.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 80  |
| FIGURE 42 : EFFETS SUR LES TAUX DE CYTOKINES PLASMATIQUES : TAUX D'INF- $\gamma$ ET D'IL-10 SUITE AUX INJECTIONS D'IL-12 IT.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 81  |
| FIGURE 43 : ORR CORRELE AU STADE DU MELANOME DES PATIENTS DE L'ESSAI DE 2009.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 83  |
| FIGURE 44 : ORR CORRELE AU STADE DU MELANOME DES PATIENTS DE L'ESSAI COMPARANT LA COMBINAISON T-VEC + IPILIMUMAB VS. IPILIMUMAB SEUL DANS L'ESSAI DE 2017. ....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 83  |
| FIGURE 45 : ESTIMATION DE KAPLAN-MEIER DU PFS DES 2 BRAS A L'ETUDE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 84  |
| FIGURE 46 : DETAILS DU RECRUTEMENT, DE LA RANDOMISATION, DU TRAITEMENT ET DE L'EVALUATION DES PATIENTS.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 86  |
| FIGURE 47 : (A) EVOLUTION DU DIAMETRE LONG DES LESIONS CIBLES A LA SEMAINE 8 SELON mRECIST (N=22). (B) EVOLUTION DU DIAMETRE LONG OU DE L'AMELIORATION DU CONTRASTE DES LESIONS CIBLES A LA SEMAINE 8 SELON MODIFIED CHOI CRITERIA (N=22). ....                                                                                                                                                                                   | 87  |
| FIGURE 48 : ANALYSE DE KAPLAN-MEIER DE LA SURVIE GLOBALE. (A) OS DES 29 PATIENTS DE L'ETUDE PAR GROUPE DE DOSE ET GLOBALE (EN POINTILLES). (B) OS DE 19 PATIENTS PRESENTANT DES TUMEURS MULTIPLES A LA BASELINE PAR GROUPE.....                                                                                                                                                                                                   | 88  |
| FIGURE 49 : ANALYSE DE KAPLAN-MEIER DE LA SURVIE GLOBALE ENTRE LES BRAS A (NOIR) ET B (BLEU).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 89  |
| FIGURE 50 : REPARTITION DES PATIENTS ENTRE LE BRAS EXPERIMENTALE ET LE BRAS CONTROLE DE L'ETUDE OPTiM.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 91  |
| FIGURE 51 : DUREE ET TYPE DE REPOSE OBSERVEE CHEZ LA POPULATION A L'ETUDE EN FONCTION DU TRAITEMENT REÇU : GM-CSF A GAUCHE ET T-VEC A DROITE. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                | 92  |
| FIGURE 52 : OS DE L'ENSEMBLE DE LA POPULATION TRAITEE DANS L'ESSAI OPTiM. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 93  |
| FIGURE 53 : EXPLORATION DE L'OS DANS DIFFERENTS SOUS-GROUPES : NOMBRE DE LIGNES PRECEDENTES, STADE DE LA MALADIE, INDICE DE PERFORMANCE, GENRE, STATUT HSV-1 A L'INCLUSION.....                                                                                                                                                                                                                                                   | 94  |
| FIGURE 54 : ELEMENTS A PRENDRE EN COMPTE LORS DU DESIGN D'UN ESSAI CLINIQUE UTILISANT L'IMMUNOTHERAPIE INTRATUMORALE.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 106 |

## **Avant Propos**

Le manuscrit constituant les pages suivantes est une image de l'exploration actuelle d'une approche thérapeutique émergente depuis le début des années 2000. Ce contenu n'est cependant pas exhaustif, du fait du nombre important d'essais actuellement en cours de réalisation. Il illustre cependant les avancées majeures réalisées dans ce domaine qui ont été publiées. La base de données utilisée pour ce travail est constituée à partir des mots-clés : « intratumoral » « intratumoral injection » « intratumoral immunotherapy » et « oncolytic virus » utilisés dans *PubMed*, ainsi que sur le site *clinicaltrials.gov* recensant l'intégralité des essais cliniques. Ces recherches s'étendent de novembre 2020 à avril 2021. Les résultats publiés après cette date n'y figureront pas, et notamment ceux présentés à l'ASCO 2021.

## Introduction

Le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde avec environ 10 millions de morts, soit approximativement un décès sur six, chaque année. En France, il fait l'objet de près de 355 000 diagnostics et provoque chaque année près de 150 000 décès. Les données d'épidémiologie rapportées par Santé publique France indiquent une incidence de 382 000 cas en 2018 en France, dont 54% chez l'homme adulte. Chez l'homme, le cancer de la prostate reste le plus fréquent, suivi des cancers pulmonaire et colorectal. Chez la femme, le cancer du sein est le plus répandu, suivi des cancers colorectal et pulmonaire (1). Cette maladie reste donc, en 2021, un enjeu de santé publique majeur qui s'est traduit par l'instauration du 4<sup>e</sup> plan cancer par le président de la République Emmanuel Macron, le 4 février dernier. Avec un investissement sur 5 ans de 1,7 milliard d'euros, soit 20% supplémentaires par rapport au précédent, il illustre l'importance actuelle de cette prise en charge (2).

La mise au point en 1909 de l'arsphénamine, un dérivé de l'arsenic utilisé durant la première moitié du 20<sup>e</sup> siècle pour traiter la trypanosomiase et la syphilis, est considéré comme le premier agent de chimiothérapie moderne. Il représente une étape essentielle dans le développement des médicaments de synthèse, faisant de Paul Ehrlich (1854-1915), son inventeur, le « père de la chimiothérapie ». Depuis, la chimiothérapie constitue toujours le traitement de référence pour un large panel de cancers.

En 2000, l'autorisation d'utilisation du trastuzumab dans les cancers du sein HER2 positifs marque un tournant dans la prise en charge des patients, avec désormais cette capacité à bloquer des mécanismes dysfonctionnels essentiels au développement et à la survie des cellules tumorales. La recherche de l'expression de ces marqueurs moléculaires constitue depuis une étape fondamentale dans le choix de la stratégie thérapeutique. Plus récemment, en 2011, l'arrivée d'une nouvelle classe thérapeutique va bouleverser la prise en charge de

nombreux cancers. L'ipilimumab est le premier agent d'immunothérapie à obtenir l'AMM pour la prise en charge des mélanomes avancés en 2<sup>e</sup> ligne. Il sera suivi notamment par le nivolumab et le pembrolizumab, qui possèdent depuis de nombreuses indications en oncologie. Entre-temps, l'année 2003 marquait le début du premier essai clinique utilisant une nouvelle technique d'administration : la voie intratumorale. Cette approche a pour but d'administrer un virus oncolytique destiné à provoquer la lyse tumorale et déclencher une réponse immunitaire, au sein du microenvironnement tumoral. Cet essai a constitué la première exploration clinique de l'immunothérapie intratumorale (3).

# **1. Le concept de l'immunothérapie intratumorale**

## **1.1. L'oncogenèse**

Le cancer est la multiplication anarchique de cellules anormales, dites malignes, dans le corps. Ces cellules échappent aux mécanismes de surveillance mis en place par le système immunitaire de l'hôte, originellement destinés à réguler leurs mécanismes de différenciation et leur multiplication. Elles vont alors envahir la zone située autour, créer des nouveaux vaisseaux sanguins et migrer via les ganglions vers d'autres zones pour former des métastases.

L'origine de la formation d'une tumeur, appelé oncogenèse provient d'une ou d'un groupe de cellules, selon qu'il s'agit d'une tumeur mono ou polyclonale, qui va réussir à se diviser tout en échappant à la régulation immunitaire. Cette croissance incontrôlée est le résultat de réarrangements métaboliques complexes intracellulaires et conduit à la modification des voies métaboliques et signalétiques. Ces voies impliquent des processus biosynthétiques qui vont favoriser la prolifération cellulaire, comme la synthèse nucléotidique et la production d'énergie (4). L'oncogenèse est divisée en 3 parties : l'initiation, la promotion et la progression, dont la finalité va être le développement tumoral au sein de l'hôte.

L'initiation est l'acquisition de propriétés malignes par les cellules, résultat de plusieurs mutations. Ces mutations sont, dans la majorité des cas, soit repérées et détruites par le système immunitaire, soit non-viables pour la cellule. Lorsque la cellule arrive à survivre, elle rentre dans un stade quiescent et ne va pas proliférer immédiatement, on la qualifie alors de cellule initiée.

Lors de la seconde étape, la cellule va commencer à se diviser, c'est la promotion. Cette étape est le résultat de mutations successives dans le génome cellulaire lequel va produire, soit un amas de cellules contenant les mêmes mutations pour une tumeur monoclonale (5), soit des mutations différentes pour une tumeur polyclonale (6). La prolifération est la dernière étape qui va consister en une multiplication rapide de ces clones (Figure 1) (7).

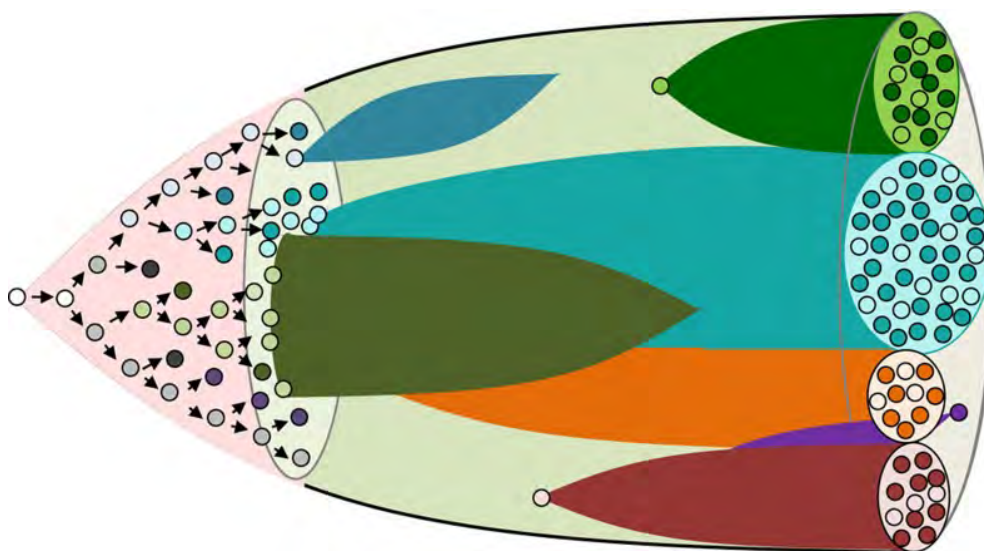


Figure 1 : Illustration de l'évolution de clones présentant un potentiel malin et leurs diversification pour atteindre une population tumorale.

En 2000 Hanahan D et al. explicitaient les sept caractéristiques communes présentes chez les cellules cancéreuses : l'autosuffisance en signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance, l'échappement à l'apoptose, un potentiel de réplication illimité, le maintien de l'angiogénèse, l'évasion tissulaire et la capacité de métastases (8). Quelques années plus tard, ce même groupe de chercheurs étendait ces caractéristiques à huit avec l'échappement à l'immuno-surveillance, qui constituera le concept sur lequel est basée l'immunothérapie (9).

## 1.2. Immuno-surveillance et immunothérapie

Cette faculté à reconnaître les antigènes tumoraux est appelée immuno-surveillance. Elle repose sur la capacité du système immunitaire à identifier les précurseurs malins et, dans la majorité des cas, à les détruire. Ce concept a été formulé par Paul Ehrlich (1854-1915) pour la première fois en 1909. Paul Ehrlich décrivit qu'en présence d'une fréquence trop importante de carcinomes, ceux-ci pouvaient être arrêtés par le système immunitaire (10). En 1957, ce concept est repris par Macfarlane Burnet (1899-1985) et Lewis Thomas (1913-1993) auquel ils ajoutent l'implication des lymphocytes comme sentinelles. Leur rôle consiste à reconnaître et empêcher le développement des cellules dont les modifications peuvent amener au développement de tumeurs (11).

### **1.2.1. Les trois « E » de l'édition immunitaire**

Deux phénomènes sont impliqués dans cette inhibition de la surveillance immunitaire : l'immuno-sélection et l'immuno-subversion.

L'immuno-sélection est la capacité du système immunitaire à sélectionner des cellules immunitaires peu différenciées et par extension inaptes à jouer leur rôle dans le maintien de l'immunité.

L'immuno-subversion, quant à elle, est la suppression active de la réponse immunitaire au sein de l'environnement tumoral. On retrouve, par exemple, la dégradation du tryptophane par l'indoléamine 2,3-dioxygénase (IDO) qui est produite de manière constitutive par les cellules tumorales, en kynurenine qui vont promouvoir le rejet immuno-médié des cellules cancéreuses (12).

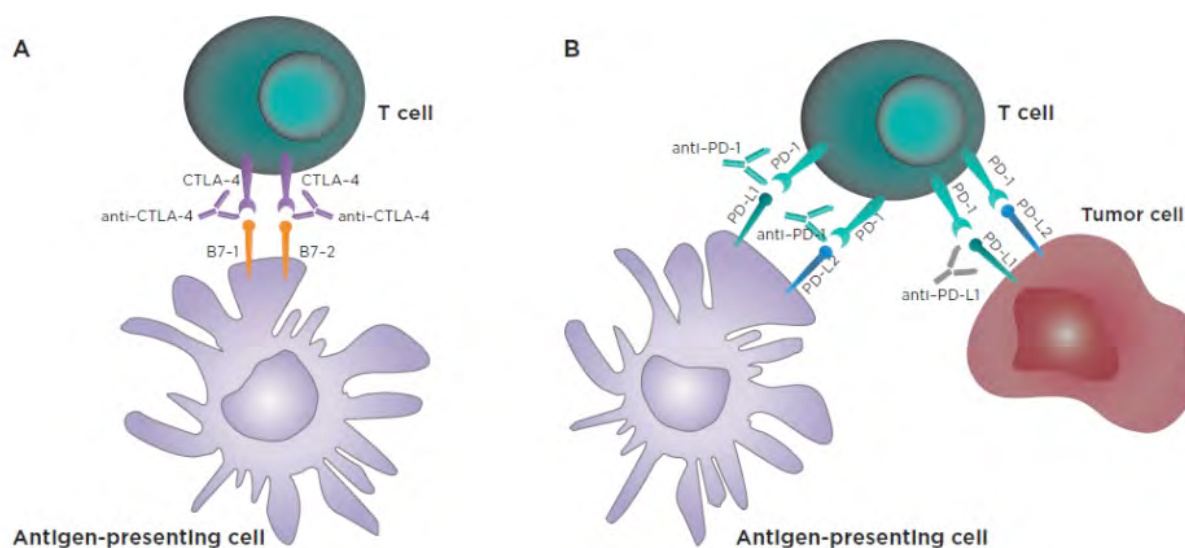
L'échappement à la surveillance immunitaire se déroule en trois étapes. La première, l'élimination, correspond à une immuno-surveillance fonctionnelle. Les différentes cellules du système immunitaire éliminent les composants présentant des modifications génétiques spontanées. La seconde, l'équilibre, consiste à sélectionner parmi l'hétérogénéité maligne un variant tumoral capable de résister au système immunitaire ; cette phase se déroulant sur plusieurs années. L'évasion, troisième étape du processus, advient lorsque le variant, promu lors de l'équilibre, prolifère de manière incontrôlée (13).

### **1.2.2. L'immunothérapie**

C'est donc dans le but de lever cette inhibition du système immunitaire qu'a été initiée une nouvelle stratégie thérapeutique : ne plus tenter de détruire les cellules tumorales directement mais former le système immunitaire à les identifier et à les détruire. La nouvelle cible sont désormais les molécules jouant un rôle dans l'activation du système immunitaire, afin d'inverser l'immunotolérance induite par la tumeur et permettre une réponse immune anticancéreuse (14).

Depuis juillet 2011, l'AMM du premier anticorps immuno-stimulant, l'ipilimumab, a confirmé ce changement de paradigme en ajoutant à l'accumulation d'anomalies génétiques de la cellule tumorale la tolérance du système immunitaire de l'hôte, face au développement de ces cellules.

Les immunes checkpoint inhibiteurs (CPIs) se sont depuis imposés comme traitements de référence. Ce sont des anticorps monoclonaux dirigés contre le programmed death receptor 1 (PD-1), le programmed death ligand 1 (PD-L1) ou le cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4 (CTLA-4). Ces cibles sont des points-clés de l'activation des lymphocytes T, afin de déclencher une réponse immunitaire antitumorale. L'activation des lymphocytes T est un procédé hautement régulé. Pour initier leur activation, leur prolifération et leur activité antitumorale, les lymphocytes T ont besoin de deux signaux distincts. Le premier est la reconnaissance d'un antigène tumoral via une CPA, appelé amorçage. Le second consiste dans la réception de signaux de co-stimulation, comme les cytokines, afin de renforcer cette réponse. C'est au niveau du second signal que les anti-CTLA-4 vont agir. En effet, suite à la reconnaissance d'un antigène tumoral, la présence de la voie de signalisation impliquant les CTLA-4 va permettre d'inhiber cette co-stimulation. C'est un mécanisme naturel qui va être surexploité par les cellules tumorales. Les anti-CTLA-4 vont bloquer cette voie de signalisation et permettre cette co-stimulation nécessaire à une réponse antitumorale renforcée (Figure 2 A). Le récepteur PD-1 est présent directement sur les lymphocytes T. Dans le micro-environnement tumoral, les ligands de ces récepteurs (PD-L1 et PD-L2), vont être exprimés. Leur liaison avec leur récepteur va inhiber la prolifération lymphocytaire T et diminuer la production de cytokines inflammatoires nécessaire au recrutement des autres effecteurs immunitaires. Les anti-PD-1/PD-L1 vont bloquer cette interaction et permettre l'initiation de la réponse immunitaire (Figure 2 B). Ces anticorps ont permis d'améliorer la prise en charge des patients présentant un large panel de cancers (15–17).



**Figure 2** : Mécanismes d'action des CPIs. (A) Blocage de la liaison entre CTLA-4 et B7 par l'anti-CTLA-4. (B) Blocage des liaisons PD-1/PD-L1 et PD-L2 par les anti-PD-1/PD-L1.

### 1.3. La modalité intratumorale

Malgré les progrès évidents apportés par les CPIs, ceux-ci sont cependant limités par plusieurs paramètres. On peut citer notamment la faible proportion de patients qui arrivent à une réponse objective, ou encore les effets indésirables immuno-médiés systémiques, surtout lors de leur utilisation en combinaison. Il y a également leur coût, ainsi que les phénomènes de résistance immunitaire observés même après une réponse initiale. Tous ces facteurs ont encouragés l'exploration de nouvelles modalités d'administration.

L'immunothérapie intratumorale que nous définirons succinctement comme l'injection directe d'agents immunostimulants au sein de la tumeur elle-même, s'est présentée comme une alternative potentiellement supérieure, notamment au niveau de l'amorçage de la réponse immunitaire (18). De plus, ce type d'administration pourrait réduire l'exposition systémique et donc les toxicités « off-target » associées, tout en permettant l'injection d'une dose supérieure par rapport aux doses administrées de manières systémiques. Enfin, elle pourrait permettre d'initier une réponse antitumorale plus forte au niveau des lésions injectées et potentiellement dans celles situées à distance (19,20). Pour finir, le support des données précliniques oriente vers une possibilité de lever la résistance au CPIs en assurant l'amorçage des LT et/ou leur action à l'intérieur du micro-environnement tumoral (21,22).

Cependant, une limite à cette modalité thérapeutique s'impose d'ores et déjà, à savoir la nécessité que le patient présente une lésion accessible, en vue de l'injection, soit macroscopiquement, comme une lésion cutanée, soit via échographie pour certains ganglions, ou par CT scanner pour les lésions hépatiques, par exemple.

#### **1.4. Les agents de l'immunothérapie intratumorale**

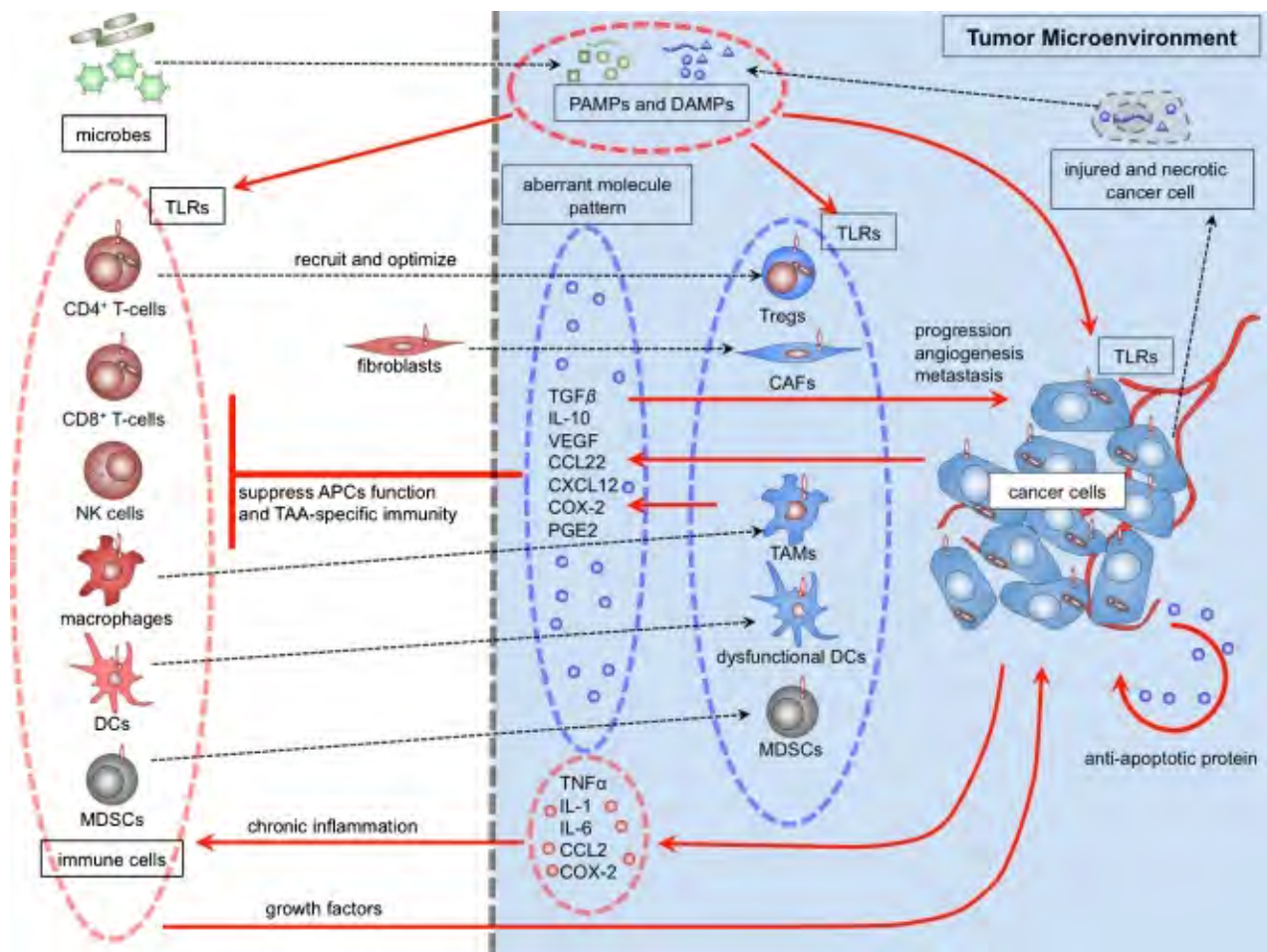
Parmi l'arsenal thérapeutique existant à ce jour, tout agent capable d'induire une stimulation du système immunitaire peut s'avérer un candidat potentiel pour la stratégie d'immunothérapie intratumorale, appelée Human Intratumoral Immunotherapy (HIT-IT). Ces candidats peuvent être regroupés en neuf catégories, chacune ayant des mécanismes d'action distincts (18).

##### **1.4.1. Les agonistes des PRRs**

Les pattern recognition receptors (PRRs) font partis des co-stimulateurs immunitaires présents au niveau des cellules myéloïdes, comme les cellules dendritiques ou les macrophages. Leur utilisation s'inscrit dans l'optique de contrer les résistances primaires et secondaires observées suite à l'utilisation des CPIs, comme l'ipilimumab, le nivolumab, le pembrolizumab ou l'atezolizumab. Les PRRs ont pour rôle la détection des patterns moléculaires associés aux pathogènes appelés PAMPS. Leur reconnaissance permet de déclencher l'expression de gènes pro-inflammatoires et l'activation des cellules du système immunitaire. Ils sont également capables de reconnaître les patterns moléculaires associés aux dommages endogènes, internes qui sont appelés DAMPs. L'apparition de DAMPs est généralement corrélée à la nécrose ou le stress cellulaire. Ils jouent également un rôle dans la réparation immuno-médiée. Les PRRs regroupent cinq familles : les Toll-like receptors (TLRs), les RIG-I-like receptors (RLRs), les nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (NLRs), les C-type lectin receptors (CLRs) et les DNA sensors (23) (Figure 3). Leur découverte et leur implication dans l'activation des cellules du système immunitaire inné et acquis fut récompensée en 2011 par le Prix Nobel de médecine décerné à Jules Hoffman (1941-) et Bruce Beutler (1957-).

Dans la stratégie HIT-IT, les familles de PRRs ciblées sont les Toll-like receptors (TLRs), les RIG-I-like receptors et les DNA sensors. Les TLRs sont des protéines transmembranaires exprimés à la surface des cellules immunitaires ou des cellules impliquées dans la première barrière de défense, comme les cellules épithéliales du tractus intestinal. Il en existe dix (TLR1 - TLR10) chez l'homme qui sont présents soit à la surface cellulaire, soit à l'intérieur des endosomes, voire les deux. Elles fonctionnent comme homo ou hétéro-dimères et vont déclencher une cascade de signalisations intracellulaires, suite à la reconnaissance d'un PAMPs ou d'un DAMPs. Ce circuit va aboutir à la translocation de NF- $\kappa$ B et d'IRF3/7 dans le noyau. Ces facteurs de transcription vont induire l'expression de gènes impliqués dans la survie et la prolifération cellulaire, ainsi que la production de cytokines inflammatoires et d'interféron de type I (Figure 3). Les TLRs ont également la capacité, une fois activés via une cellule présentatrice d'Ag, de favoriser cette production de cytokines inflammatoires. Les lymphocytes T, quant à eux, ont la capacité d'agir comme co-stimulateurs et de favoriser leur prolifération, leur survie et leur production de cytokines comme par exemple sur les LT CD8+ mémoire, où ils peuvent contribuer à leur prolifération et le maintien de leur diversité. Ils vont également contribuer à modifier les fonctions immunosuppressives des Treg CD4+ CD25+ (24). Concernant les lymphocytes B, ils vont participer à leur différenciation et leur activation (25).

Enfin, depuis 2008 une étude avance la théorie de l'utilisation des TLRs par les cellules tumorales et donc de leur présence sur ces dernières, notamment pour les carcinomes prostatiques, mammaires, les lymphomes et les neuroblastomes. Leur activation par les cellules tumorales pourrait favoriser leur prolifération par la création d'un environnement pro-inflammatoire, la néoangiogenèse et la génération de métastases (23,26,27) (Figure 3).



**Figure 3 :** Les voies de signalisation des TLRs contribuent à la progression tumorale au sein du micro-environnement. Les DAMPs provenant des cellules cancéreuses nécrotiques activeraient les TLRs exprimés, tant sur les cellules du système immunitaire que sur les cellules tumorales, générant la production de cytokines qui vont inhiber le système immunitaire.

Parmi les agonistes des TLRs utilisés dans la stratégie HIT-IT, on en retrouve quatre qui vont être agonistes du TLR9 présent au niveau des endosomes. Ces agonistes synthétiques sont présents sous la forme d'oligonucléotides et vont avoir une action au niveau de différents éléments du micro-environnement tumoral. Au moins quatre agonistes de TLR9 ont fait l'objet de développements cliniques à ce jour.

Le Tilsitolimod (IMO-2125) et le SD-101 vont agir sur les cellules dendritiques plasmacytoïdes, en les activant pour qu'elles deviennent des cellules présentatrice d'Ag, tout en induisant une réponse antitumorale médiée par les LT-CD8+ (28,29).

Le Cavrotolimod (AST-008) est un amas d'oligonucléotides qui possède une structure sphérique. Cette configuration améliorerait la pénétration cellulaire, par rapport aux oligonucléotides linéaires, ce qui pourrait jouer un rôle important pour son efficacité. L'action du Cavrotolimod va être d'augmenter les taux circulants de cytokines Th-1 dans le but de

déclencher une réponse immuno-médiée antitumorale, et de recruter les LT et NK circulants (30).

Le CMP-001 va générer un environnement riche en interféron via les cellules dendritiques plasmacytoïdes associées à la tumeur, et favoriser une réponse antitumorale des LT CD8+. Une différence avec les autres agonistes du TLR9 est que le CMP-001 contient une particule virale-like, qui va protéger l'agoniste synthétique du TLR9 (31).

Les RLRs sont présents au niveau du cytosol et vont détecter les ARNs doubles brins d'origine virale ou endogènes. Leur activation déclenche, via le domaine CARD, pour Caspases Activation and Recruitment Domaine, et, comme pour les TLRs, entraîne la translocation de NF- $\kappa$ B et d'IRF3/7 dans le noyau. Ce qui va induire l'expression de gènes impliqués dans la survie et la prolifération cellulaire, ainsi que la production de cytokines inflammatoires et d'interféron de type I (Figure 4).

Trois groupes ont été identifiés : le retinoïc acid-inducible gene I (RIG-I), le melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA-5) et le laboratory of genetics and physiology 2 (LGP2) (23). Les RLRs sont exprimés à la surface des cellules tumorales et présentent des propriétés antitumorales. RIG-1, pour exemple, déclenche un signal suite à son activation qui va entraîner l'apoptose mitochondriale via les caspases-9 et Apaf-1 et ce, indépendamment de p53 (32). L'activation du récepteur RIG-1 peut également inhiber les propriétés immunosuppressives du micro-environnement tumoral, via la production d'IL-12 et d'INF $\gamma$  (19). Au moins un agoniste de RIG-1 a été utilisé dans la stratégie intratumorale : le MK-4621 (RGT100) (33).

Une autre stratégie va être utilisée via l'administration, directement dans le foyer tumoral de spores de la bactérie *Clostridium novyi*-NT (Non-Toxic), afin de générer une réponse via les PAMPs présenté ci-dessus. Les spores vont se répliquer dans les régions tumorales hypoxiques, déclenchant ainsi une réponse inflammatoire et la lyse des cellules tumorales infectées (34).

Les DNA sensors représentent la troisième catégorie de cibles au sein de la stratégie HIT-IT. Le mécanisme repose sur la reconnaissance de l'ADN cytosolique étranger par une protéine transmembranaire du réticulum endoplasmique appelée stimulator of IFN genes (STING). L'ADN cytosolique va se lier à la cGAMP synthase (cGAS) qui va catalyser la production de GMP-AMP (cGAMP). L'activation de STING va donc être déclenchée par la liaison avec cGAMP. Cette activation induit l'activation des facteurs de transcription, tels qu'IRF3 et NF $\kappa$ B, conduisant à la production d'INF- $\beta$ , de cytokines pro inflammatoires et l'activation des lymphocytes T CD8+, qui vont être dirigés contre les cellules tumorales présentant l'ADN

cytosolique à l'origine de cette cascade d'activation (23,35–37) (Figure 4). Parmi les deux dinucléotides cycliques (CDNs) en cours d'étude, les résultats de la combinaison de l'ADU-S100 avec le pembrolizumab ou l'ipilimumab (38) sont en attente de publication. Le MK-1454 fut, quant à lui, évalué en combinaison avec le pembrolizumab, dans un essai first-in-human (FIH) (39).

Compte tenu de leurs mécanismes d'action et de la composition du microenvironnement tumoral, la possibilité de les rendre présents au plus proche du foyer tumoral est un réel atout. Ce sont donc ces propriétés immuno-modulatrices qui ont conduit à leur développement dans des essais cliniques de Phase I en premier lieu. On va donc les retrouver dans huit essais de phases précoces, quatre essais de phase II et trois essais de phase III, qui seront détaillés ultérieurement.

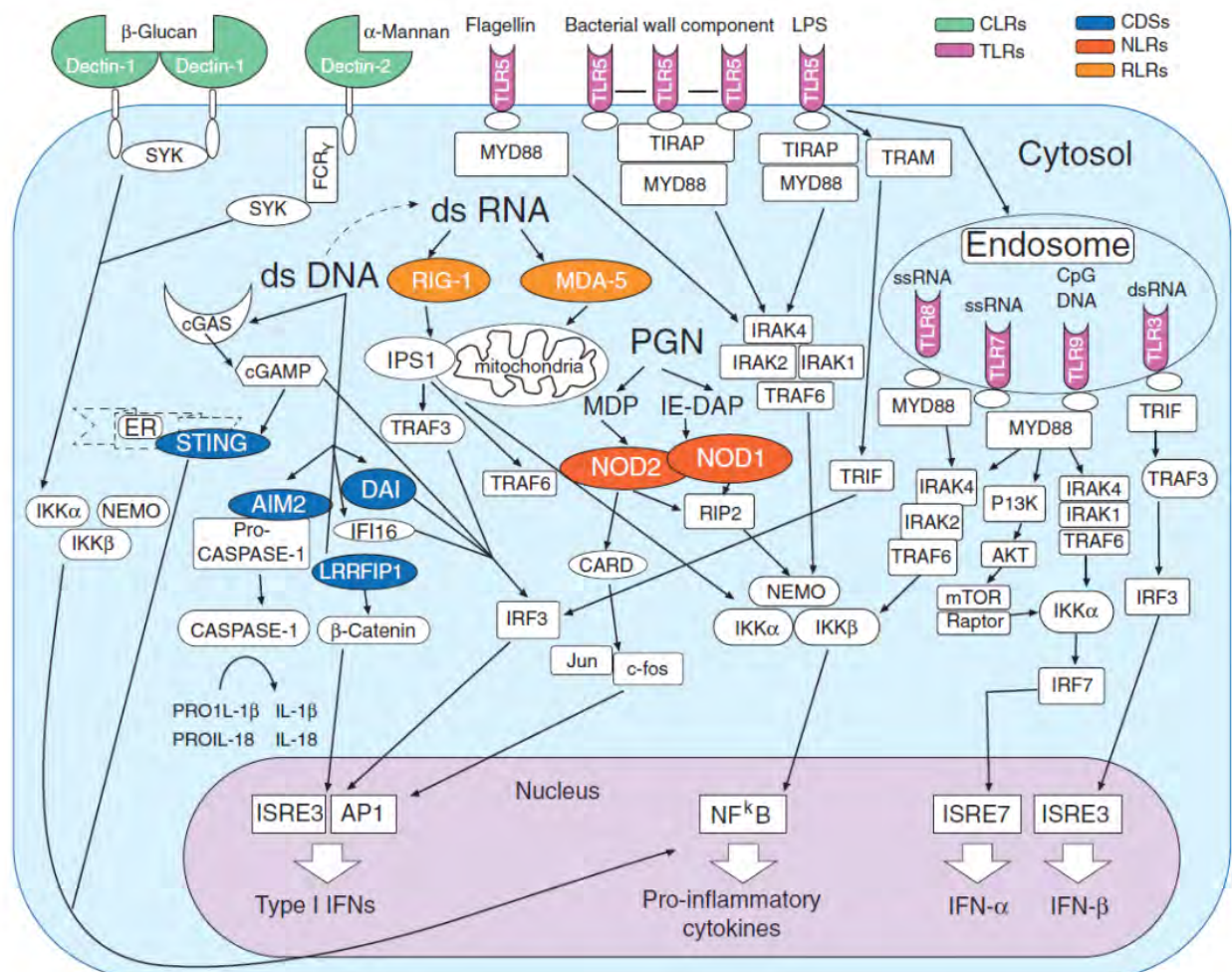


Figure 4 : Voies de signalisations des cinq familles de PRRs.

### 1.4.2. Les virus oncolytiques et peptides

Les virus oncolytiques représentent une nouvelle approche thérapeutique dans la lutte contre le cancer. Leur capacité à se répliquer dans les cellules tumorales ou leur micro-environnement, ainsi qu'à tuer ces mêmes cellules, fait l'objet de nombreux essais cliniques depuis les dernières années. En effet, part leur propriétés antigéniques, les cellules cancéreuses possèdent la propriété d'éviter les mécanismes de détection immunitaire de l'hôte, via des DAMPs ou des PAMPs non-fonctionnels, ce qui les rend particulièrement vulnérables aux infections virales (40). Le résultat de cette infection va dépendre de nombreux facteurs, comme l'interaction entre le virus et l'hôte ou la capacité du virus à se répliquer une fois à l'intérieur de la cellule de l'hôte. La réponse antitumorale induite par ces virus va donc reposer sur deux mécanismes connus à ce jour. Le premier va être une lyse cellulaire suite à la réplication du virus à l'intérieur de celle-ci. Le second repose sur une réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre la cellule infectée. Cependant un des inconvénients de la réponse immuno-médiée de l'hôte peut être l'empêchement de la propagation du virus dans d'autres cellules tumorales (41). Les oncovirus utilisés en thérapeutiques ont été améliorés dans le but d'optimiser leur spécificité tumorale, leur sécurité, leur potentiel oncolytique, leur immunogénicité qui est la capacité à provoquer une réponse du système immunitaire (42–44).

On distingue deux catégories de virus, les virus à ADN et les virus à ARN. Parmi les virus à ADN, quatre ont été sélectionnés pour la recherche contre le cancer : l'Adenovirus, le Vaccinia virus, l'Herpes virus et le Parvovirus H1 (Figure 5) (41). Cinq d'entre eux ont été utilisés en HIT-IT, l'Herpes virus (T-Vec, HF-10, RP1), l'Adenovirus (DNX-2401, Ad.IL-12, Adv.RSV-tk) et le Vaccinia virus (Pexa-Vec).

Les capacités d'intégration d'un transgène de l'Herpes virus ont permis le développement du T-Vec, capable de se répliquer sélectivement dans les cellules tumorales, de déclencher deux actions : la première va être locale, avec la lyse cellulaire et le relargage du GM-CSF, la seconde va être systémique, avec le recrutement de CPA par le GM-CSF qui vont présenter les Ag issus de la cellule tumorale aux lymphocytes cytotoxiques CD8+, lesquels vont ainsi pouvoir agir sur les cellules tumorales plus éloignées (45,46) (Annexe 1). L'HF-10, quant à lui est un HSV-1 non-modifié (47). Comme la réplication des Herpes virus a lieu dans le cytoplasme en plus du noyau, cela facilite leur utilisation, d'autant qu'ils possèdent une bonne capacité d'intégration dans celui-ci. De plus, leur utilisation du récepteur HVEM, présent

notamment sur les cellules du mélanome ainsi que sur les cellules hématopoïétiques, pourrait justifier leur utilisation en hémato-oncologie ou dans le mélanome (48).

L'Adenovirus possède également une aptitude à se répliquer dans le noyau et le cytoplasme, ainsi qu'une bonne intégration dans ce dernier. Le DNX a été modifié dans l'optique d'être tumeur sélectif et d'améliorer sa réplication (49). Son récepteur d'entrée est le CAR, présent dans de nombreux organes ainsi que sur les cellules tumorales (50). L'Ad.IL-12 utilise lui l'adénovirus comme vecteur aux gènes de l'interleukine-12. L'IL-12 possède plusieurs propriétés antitumorales qui seront détaillées dans la partie dédiée aux Cytokines (51).

Enfin, l'Adv.RSV-tk a été construit pour exprimer le gène de la thymidine kinase du virus de l'herpès qui, une fois exprimé, va rendre sensible la cellule au Ganciclovir (GCV) qui sera administré au patient dans un second temps. Cette sensibilité au GCV va se traduire par la phosphorylation de celui-ci et déclencher la nécrose de la cellule (52,53).

Le Pexa-Vec créé à partir du Vaccinia virus trouve son avantage dans sa réplication, ayant lieu dans le cytoplasme uniquement et ne nécessite donc pas d'intégration dans le noyau. Cependant, l'absence de connaissance établie de son récepteur cellulaire peut constituer une limite. Il possède les mêmes propriétés oncolytique que le T-Vec via le GM-CSF qui va activer les CPA une fois relargué de la cellule tumorale (54).

Un autre type de virus fut également utilisé, le Canarypox virus, issu de la même famille que le Vaccinia, virus pour constituer l'ALVAC. Il sert de vecteur à l'administration de deux stimulateurs immunitaires : l'IL-12 et la molécule B7.1 (55). La molécule B7.1 est nécessaire à l'initiation de la cascade immunitaire antitumorale, car présente sur les cellules présentatrices d'antigènes. Sa liaison avec les récepteurs CD-28 et CTLA-4 est essentielle à l'activation et à la régulation de l'immunité par les LT (56).

|                                 | Adenovirus                                                                        | Vaccinia virus                                                                    | Herpesvirus                                                                        | Parvovirus H1                                                                       |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 |  |  |  |  |
| <b>Baltimore classification</b> | Group I: dsDNA                                                                    | Group I: dsDNA                                                                    | Group I: dsDNA                                                                     | Group II: ssDNA                                                                     |
| <b>Family</b>                   | Adenoviridae                                                                      | Poxviridae                                                                        | Herpesviridae                                                                      | Parvoviridae                                                                        |
| <b>Virion</b>                   | Naked                                                                             | Complex coats                                                                     | Enveloped                                                                          | Naked                                                                               |
| <b>Capsid symmetry</b>          | Icosahedral                                                                       | Complex                                                                           | Icosahedral                                                                        | Icosahedral                                                                         |
| <b>Replication site</b>         | Nucleus and cytoplasm                                                             | Cytoplasm                                                                         | Nucleus and cytoplasm                                                              | Nucleus and cytoplasm                                                               |
| <b>Cell receptor*</b>           | CAR                                                                               | Unknown                                                                           | HVEM, nectin 1, nectin 2                                                           | Sialic acid residues                                                                |
| <b>Nuclear integration</b>      | +                                                                                 | —                                                                                 | +                                                                                  | +                                                                                   |
| <b>Transgene capacity</b>       | ++                                                                                | +++                                                                               | +++                                                                                | N/A                                                                                 |

**Figure 5** : Propriétés des différents virus à ADN utilisés en thérapie

Pour les virus à ARN, sept ont été utilisés parmi les différentes stratégies thérapeutiques ; le Reovirus, le Coxsackievirus, le Seneca Valley virus, le Poliovirus, le Measles virus, le Newcastle disease virus et le Vesicular stomatitis virus (Figure 6) (41). Deux ont été retenus pour une utilisation en HIT-IT : le Reovirus (Respiratory entericorphan) et le Coxsackievirus (CVA21).

Le Reovirus Respiratory entericorphan, sous la forme d'un ARN double brin, est un virus présent dans le tractus gastro-intestinal et pulmonaire présent chez l'homme, qui se réplique dans le cytoplasme. Plusieurs études pré-cliniques ont démontrées sa capacité à induire une lyse des cellules tumorales tout en épargnant les cellules saines. Ce mécanisme serait possible par l'utilisation de la voie de signalisation Ras des cellules tumorales (57,58).

Le CVA21, un Coxsackievirus, est présent sous la forme d'un ARN simple brin. Il utilise les récepteurs ICAM-1 pour rentrer dans la cellule afin de s'y répliquer. Le fait que ces récepteurs soient surexprimés chez les cellules tumorales et notamment au niveau des métastases en a fait un argument pour sa sélection dans la stratégie thérapeutique anticancéreuse (59,60).

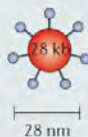
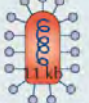
|                                 | Reovirus                                                                          | Coxsackievirus                                                                    | Seneca Valley Virus                                                               | Poliovirus                                                                        | Measles virus                                                                      | Newcastle disease virus                                                             | Vesicular stomatitis virus                                                          |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 |  |  |  |  |  |  |  |
| <b>Baltimore classification</b> | Group III: dsRNA                                                                  | Group IV: ssRNA                                                                   | Group IV: ss(+) RNA                                                               | Group IV: ss(+) RNA                                                               | Group V: ss(-) RNA                                                                 | Group V: ss(-) RNA                                                                  | Group V ss(-) RNA                                                                   |
| <b>Family</b>                   | Reoviridae                                                                        | Picornaviridae                                                                    | Picornaviridae                                                                    | Picornaviridae                                                                    | Paramyxoviridae                                                                    | Paramyxoviridae                                                                     | Rhabdoviridae                                                                       |
| <b>Virion</b>                   | Naked                                                                             | Naked                                                                             | Naked                                                                             | Naked                                                                             | Enveloped                                                                          | Enveloped                                                                           | Enveloped                                                                           |
| <b>Capsid symmetry</b>          | Icosahedral                                                                       | Icosahedral                                                                       | Icosahedral                                                                       | Icosahedral                                                                       | Icosahedral                                                                        | Helical                                                                             | Helical                                                                             |
| <b>Replication site</b>         | Cytoplasm                                                                         | Cytoplasm                                                                         | Cytoplasm                                                                         | Cytoplasm                                                                         | Cytoplasm                                                                          | Cytoplasm                                                                           | Cytoplasm                                                                           |
| <b>Cell receptor*</b>           | Unknown                                                                           | CAR/ICAM-1/DAF                                                                    | Unknown                                                                           | CD155                                                                             | SLAM and CD46                                                                      | Unknown                                                                             | LDLR                                                                                |
| <b>Nuclear integration</b>      | —                                                                                 | —                                                                                 | —                                                                                 | —                                                                                 | —                                                                                  | —                                                                                   | —                                                                                   |
| <b>Transgene capacity</b>       | N/A                                                                               | N/A                                                                               | N/A                                                                               | N/A                                                                               | +                                                                                  | +                                                                                   | +                                                                                   |

Figure 6 : Propriétés des différents virus à ARN utilisés en thérapeutique

### 1.4.3. Anticorps dirigés contre les immune checkpoints inhibiteurs

Dans cette catégorie, vont être présent les agonistes capables d'interagir avec les membres de la super famille des récepteurs TNF tels que le CD40, l'OX40 ou le 4-1BB. Vont être également représentés les immune checkpoints inhibiteurs (CPI), tels que les anti-PD-1/PDL-1. Le but va être de promouvoir une activité antitumorale, soit directe via les lymphocytes, en favorisant la présentation d'antigènes soit indirecte en levant l'inhibition générée par les lymphocytes T régulateurs dans le microenvironnement tumoral (61,62).

Un agoniste du CD40, l'ADC-1013 fut un des candidats testés dans un essai clinique de Phase I (63) pour lequel il a été injecté sous la forme d'un anticorps humain IgG1. Les effets générés seront sur trois niveaux. En premier lieu, il favorise la présentation d'antigènes par les CPA en se fixant sur le récepteur CD40 présent notamment sur les cellules dendritiques. Cette fixation active les CPA, ce qui potentialise l'activité des LT ayant été présenté à l'Ag tumoral. De plus, l'activation via le CD40 des macrophages permettrait de les diriger contre la tumeur (64). Enfin, il pourrait avoir un rôle cytotoxique direct sur les cellules tumorales via une cytotoxicité médiée par les anticorps (ADCC), via le complément (CMC) ou par mort cellulaire programmée (PCD) (Figure 7) (65,66).

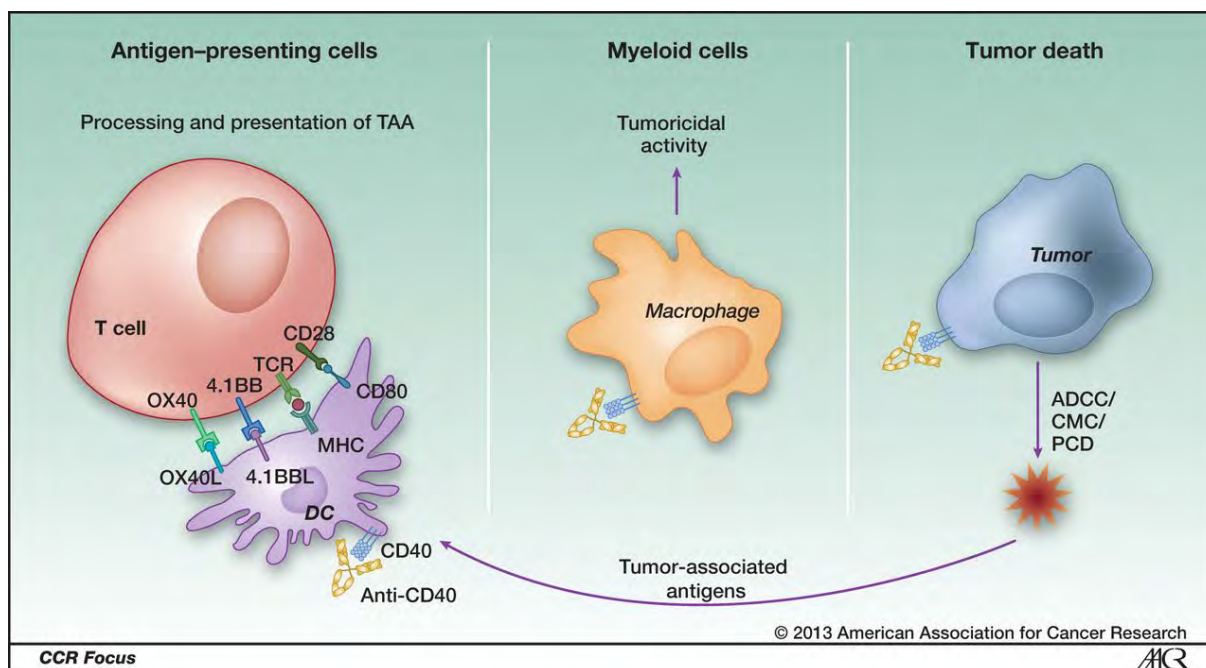


Figure 7 : mécanismes d'action potentiels du l'anticorps agoniste du CD40.

#### 1.4.4. Les cellules du système immunitaire

Une des autres stratégies du HIT-IT repose sur l'utilisation de cellules du système immunitaire injectées directement in situ. Trois catégories se sont illustrées dans des essais cliniques intratumoraux : les CAR T Cells, les cellules dendritiques prélevées chez l'hôte et réinjectées après modification, et un vaccin tumoral autologue.

Les CAR T Cells sont des lymphocytes T modifiés pour cibler spécifiquement la tumeur. Le processus de fabrication a lieu en trois étapes (Figure 8). La première, la sélection, consiste en une leucaphérèse où les globules blancs du patient vont être séparés du sang par aphérèse, les cellules myéloïdes (monocytes, granulocytes) sont ensuite séparées (elutriation) et les lymphocytes T sélectionnés. Les transgènes d'intérêt sont ensuite ajoutés par transduction dans la deuxième phase, l'expansion. La phase « harvest » est la dernière des trois. Elle consiste à récupérer et formuler les lymphocytes modifiés en vue de l'administration au patient. Une fois administrés, ils vont se lier aux récepteurs d'intérêt et provoquer la lyse de la cellule tumorale, suite à la reconnaissance de celle-ci par le système immunitaire (59). Les CAR T Cells ont montré d'excellents résultats en onco-hématologie, notamment dans les lymphomes, les leucémies et le myélome multiple. Les autorités les ont d'ailleurs approuvés comme traitements de référence depuis août 2017, date d'approbation du Kymriah® pour la leucémie aiguë lymphoblastique (67). L'utilisation des CAR T Cells se trouve cependant limitée contre les tumeurs solides, notamment en raison du micro-environnement tumoral

entourant la cible (68). Son administration directement en intratumoral pourrait s'avérer être une stratégie intéressante. Suivant ce concept, le mRNA meso-CAR T fut développé. Il possède la particularité d'être dirigé contre la molécule de surface c-MET, présente dans près de la moitié des cancers du sein (69).

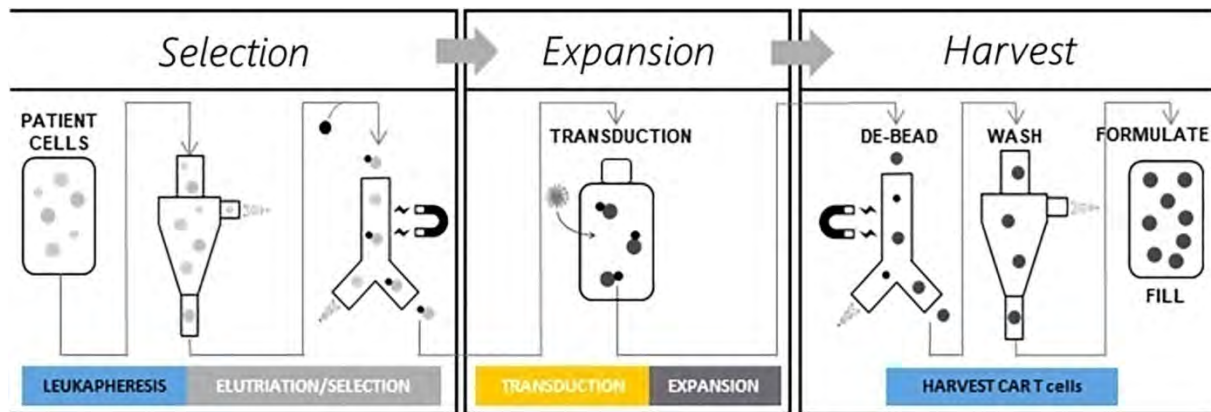


Figure 8 : Etapes principales du processus de fabrication d'un CAR T Cell.

La deuxième catégorie comprend les cellules dendritiques autologues. Le concept est similaire à l'utilisation des virus oncolytiques décrit précédemment. Un gène d'intérêt va être inséré dans les cellules dendritiques avant qu'elles ne soient réinjectées chez le patient. Un essai clinique a utilisé cette technique en insérant le gène CCL21, via un adénovirus comme vecteur pour créer l'Ad-CCL21-DC (70). Le gène CCL21 promeut l'activité immunitaire au sein du micro-environnement tumoral en favorisant l'attraction et les interactions entre les cellules dendritiques et les lymphocytes T (71). Son utilisation au sein de cellules dendritiques injectées directement dans ce micro-environnement a présenté des résultats dans ce sens, sur des modèles murins, justifiant un essai clinique chez l'Homme qui sera décrit ultérieurement.

Sur le même registre, une équipe a créé des CPA portant des récepteurs glycolipidiques  $\alpha$ -gal (72). Celui-ci se lie à l'anticorps anti-Gal, qui est l'anticorps naturel le plus abondant dans le corps humain. Sachant que les épitopes de l' $\alpha$ -gal sont présents sur les cellules tumorales, l'administration de CPA portant ces mêmes épitopes serait un moyen de favoriser une réaction immunitaire contre ces cellules (73).

### 1.4.5. Les cytokines

Les cytokines sont de petites protéines qui, pour certaines, possèdent un rôle dans la réponse immunitaire. Elles regroupent les interférons, le GM-CSF, ainsi que l'IL-2 ou l'IL-21 pour n'en citer que quelques-uns (74).

L'interleukine 12, mentionnée précédemment, possède plusieurs propriétés antitumorales (Figure 9). Elle a la capacité d'agir directement sur des cellules du système immunitaire, les NK, le CD8+, les CD4+ et les cellules lymphoïdes du système immunitaire innée (ILCs) qui vont avoir les mêmes fonctions que les LT CD4+ helpers mais sans leur spécialisation acquises après différenciation (75). De cette interaction résulte l'augmentation de la sécrétion d'INF- $\gamma$  qui va générer une action antitumorale. L'INF- $\gamma$  couplé à l'IL-12 va potentialiser l'action cytotoxique des NK et des LT CD8+, via la production de perforin et de granzyme et également du ligand Fas (Fasl). De plus l'INF- $\gamma$  va faciliter le recrutement de CPA qui vont, au-delà de leur rôle de présentation, sécréter CXCL9 et CXCL10, lesquels vont inhiber l'angiogénèse tumorale. Angiogénèse qui sera également ralentie par la suppression de la sécrétion de VEGF et de MMP-9 par ces mêmes CPA. L'IL-12 stimulera également l'activité de présentation des CPA dans les tissus lymphoïdes laquelle activera les lymphocytes cytotoxiques pour une action antitumorale. La production de GM-CSF par les LT CD4+ Helper fait également suite à une stimulation par l'IL-12, dont les effets ont été décrits précédemment (51). C'est donc dans l'optique de générer ces nombreux effets anti-tumoraux qu'un recombinant humain de l'IL-12 (irIL-12) fut créé. Ses potentiels bénéfiques, après injection directe dans le micro-environnement, tumoral furent testés dans la stratégie HIT-IT (76).

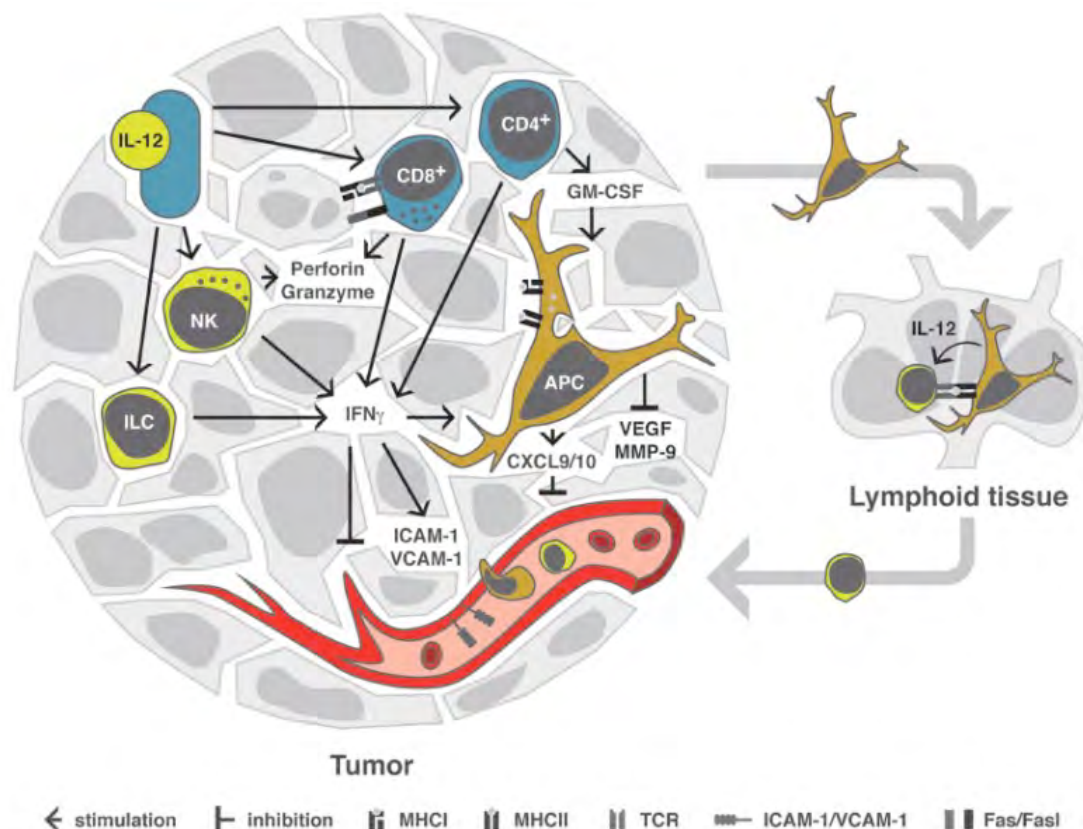


Figure 9 : Effets de la stimulation par IL-12 sur les cellules du microenvironnement tumoral et en dehors.

#### 1.4.6. Les modulateurs immuno-métaboliques

Les modulateurs immuno-métaboliques sont des composés ayant la capacité de modifier les propriétés d'une cellule, comme la réparation de l'ADN, la voie de signalisation des protéines Kinase, ou l'expression de gènes. Le concept de pouvoir influencer sur ces régulateurs des fonctions cellulaires constitue une approche déjà explorée. Les inhibiteurs des tyrosines kinases (ITK) ont, par exemple, obtenus leur AMM en 2015.

Dans cette optique le DT01, un ADN à signal interférent fut fabriqué (77). Aussi appelé Dbait, cette catégorie d'agents a pour propriété de perturber les enzymes réparatrices de l'ADN, suite à des dommages ou des anomalies présentes à ce niveau, en mimant une double hélice d'ADN endommagée, de manière à les dévier de leur cibles initiales (78). Suite aux résistances des cellules tumorales à la radiothérapie, cette stratégie fut pourtant considérée comme pouvant causer des dommages à l'ADN sévères et induire la mort cellulaire (79). Or, afin de maintenir leur viabilité, les cellules tumorales se sont avérées capables de résoudre ce problème, en identifiant puis en réparant ces dommages, générant de ce fait une

radio-résistance. Sachant que la radiothérapie constitue une modalité de traitement (seule ou en combinaison) pour près de la moitié des patients, l'utilisation de l'ADN à signal interférent fut considéré légitime (80).

Le Tigilanoliglate (EBC-46), agit au niveau des protéines Kinase C (PKC) en les activant. L'EBC-46 va agir sur certaines iso-enzymes des PKC ; les PKC- $\beta$ I, - $\beta$ II, - $\alpha$  et - $\gamma$  (81). Ces iso-enzymes se sont avérées être inhibées par les cellules tumorales, contrairement à ce que l'on pensait depuis les années 80. En effet, l'iso-enzyme PKC- $\alpha$  lorsqu'elle est peu exprimée est associée à un mauvais pronostic dans la leucémie aiguë lymphoblastique à cellules T. Les PKC- $\beta$ I et - $\beta$ II ont des niveaux plus bas dans les stades avancés et de hauts grades des cancers de la vessie, contrairement aux stades précoces et de bas grades. Egalement, un taux faible de PKC- $\beta$ II est associé à un mauvais pronostic des cancers colorectaux. Les taux de PKC étant corrélés à son activité, un taux diminué d'un ou plusieurs de ces iso-enzymes résulterait en une diminution de ces taux. Amenant donc la théorie qu'une perte d'activité des PKC serait associée au développement de perturbations prolifératives (82). Partant de ce postulat, leur activation par le Tigilanoliglate, directement administré en intratumorale, pourrait être intéressante.

#### **1.4.7. Les séquences d'acides nucléiques codantes**

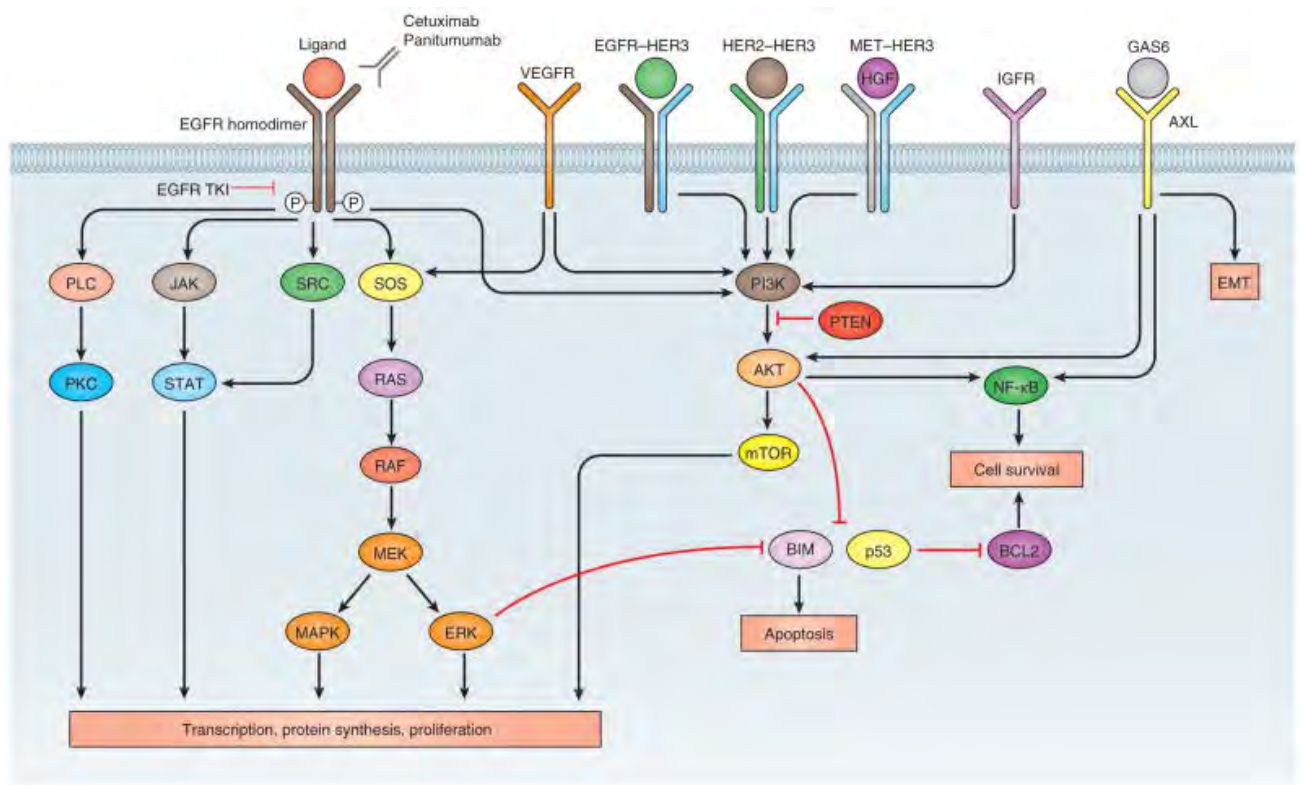
Cette catégorie d'agents regroupe des composés dont la fonction va être d'exprimer un ligand ou une cytokine à partir d'une séquence d'acides nucléiques insérés dans un vecteur tel qu'un plasmide.

De par les propriétés anticancéreuses de l'IL-12 décrites précédemment, on retrouve un ADN circulant exprimant l'IL-12, l'IL-12 cDNA. Les deux régions codantes de l'IL-12, la région p35 et p40, furent amplifiées par PCR. L'ADN amplifié ainsi obtenu fut inséré dans le vecteur pUC19. L'IL-12 cDNA fut testé dans un essai clinique parmi une population de patients présentant un mélanome (83).

Basé sur la même technique de développement, le B-819 est un plasmide à ADN double brin, capable d'exprimer la chaîne A de la toxine de la diphtérie (DT-A), mais uniquement dans un environnement spécifique. En effet, cette expression est dépendante du promoteur H19 qui est également inséré dans le plasmide (84). Le gène H19 est un gène présent lors du stade embryonnaire et est ensuite réprimé après la naissance. Il est cependant de nouveau exprimé dans certains types tumoraux tels que les carcinomes pulmonaires, ovariens ou hépatocellulaires, ainsi que les cancers de la vessie. Le dénominateur commun de ces tumeurs

malignes est qu'elles dérivent toutes de tissus embryonnaires qui exprimaient le gène H19 (85). Ces tumeurs malignes présentent donc le facteur de transcription du gène H19 qui va permettre l'expression de la DT-A. Grâce à cette stratégie, le B-819 devrait exprimer la toxine uniquement dans les cellules tumorales (86,87). Ce composé a été testé sur une population de patients présentant des cancers pancréatiques, au cours d'un essai qui sera détaillé ultérieurement.

L'Epidermal growth factor receptor (EGFR) est un récepteur tyrosine kinase de la famille des récepteurs HER, pour Human epidermal growth factor receptor, appartenant à la superfamille des récepteurs tyrosine kinases (RTKs). Ces récepteurs sont activés par les ligands de la famille des epidermal growth factor (EGF) (88). Une fois activés, ils déclenchent plusieurs voies de signalisation, dont celles impliquant la phospholipase C (PLC) qui active la protéine kinase C (PKC), aboutissant à la transcription de gènes favorisant la prolifération. Egalement, la voie impliquant les MAP kinase (MAPK), via les effecteurs SOS, RAS, RAF et MEK, va aussi favoriser la prolifération. De plus, on retrouve également l'inhibition de BIM qui va empêcher l'apoptose cellulaire. (Figure 10) (89,90). Dans le contexte tumoral, l'EGFR est anormalement activé et ce via divers mécanismes comme son activation spontanée, sa surexpression, ou la perte des mécanismes de régulation négatifs. Cette activation anormale est retrouvée dans de nombreux cancers épithéliaux tels que les mélanomes, les cancers pulmonaires ou ORL (91). La stratégie d'inhibition de l'EGFR a été explorée via les ITK, comme le Gefinitib qui a obtenu l'AMM en 2009, dans le CNBPC localement avancé ou métastatique avec mutations activatrices de l'EGFR-TK. On retrouve également des anticorps comme le Cetuximab ayant obtenu l'AMM en 2006, dans le traitement des carcinomes épidermoïde localement avancé de la tête et du cou. Une autre stratégie consiste à utiliser un EGFR antisens dont le but est l'inhibition de la production d'EGFR par la cellule engendrant une diminution de la prolifération. Cette technique fut utilisée lors d'un essai clinique évaluant l'administration d'un ADN antisens de l'EGFR : EGFR AS injecté par voie intratumorale chez des patients présentant un cancer de la tête et du cou (92).



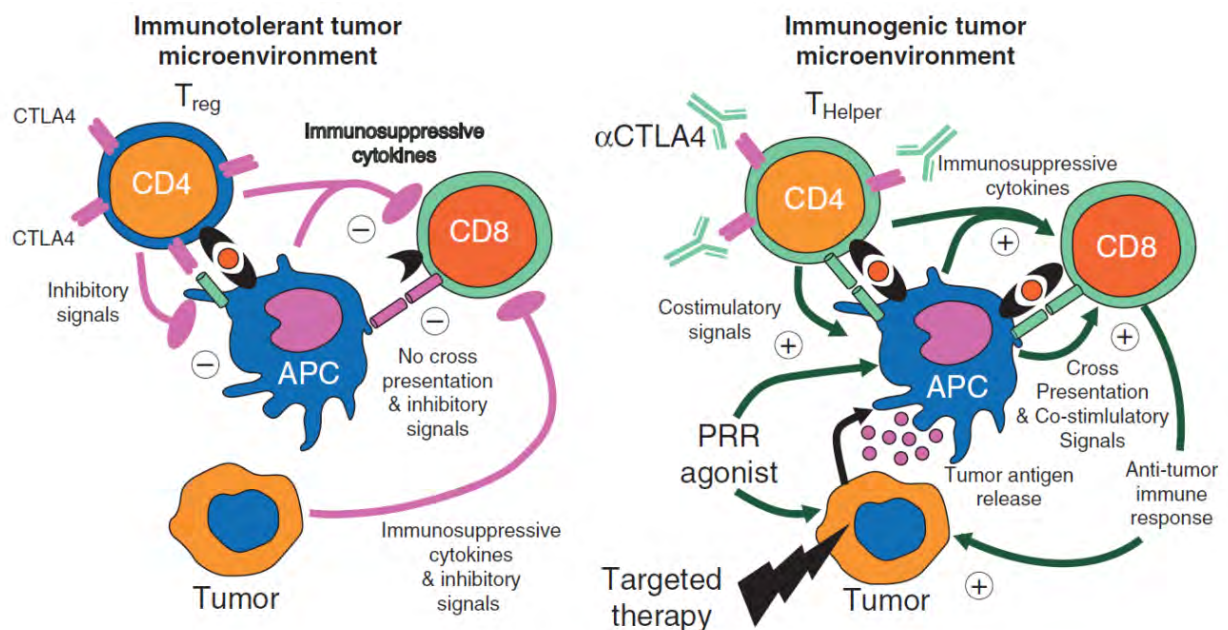
**Figure 10 :** Les voies de signalisation de l'EGFR et leur rôle dans la transcription, la synthèse de protéines, prolifération ainsi que l'inhibition de l'apoptose.

## 1.5. La combinaison avec les CPIs

Depuis plusieurs années, les avancées en matière de traitement des checkpoint inhibiteurs (CPIs) leur ont permis de devenir les références standard dans de nombreuses formes de cancers. Cela a commencé en 2011 avec l'approbation de l'ipilimumab (anti-CTLA4) dans le mélanome de stade avancé et il a depuis été rejoint par les anti-PD-1: le nivolumab, le pembrolizumab et le cemiplimab, ainsi que les anti-PD-L1 : l'avelumab, l'atezolizumab et le durvalumab. Ces sept anticorps monoclonaux ont permis d'améliorer considérablement la prise en charge et la survie des patients. Ils sont approuvés en France dans le traitement de nombreux cancers. Dans certains cas ils sont cependant limités par les mécanismes de résistance mis en place par la tumeur qui va continuer à échapper au système immunitaire et donc entraîner l'absence de réponse, malgré la stimulation du système immunitaire par les CPIs. La possibilité de pouvoir administrer directement au sein de la tumeur un agent stimulant le système immunitaire, que ce soit par le recrutement de macrophages, la stimulation de la présentation d'Ag ou d'autres mécanismes parmi ceux décrits précédemment, soulève la possibilité d'une action synergétique avec l'utilisation de CPIs par

voie systémique (23,93). En effet, il s'agirait de créer, d'une part, une levée d'inhibition par les CPIs en agissant sur les Treg et de générer une stimulation immunitaire au sein même du micro-environnement tumoral, d'autre part (Figure 11).

Cette stratégie fut retenue dans plusieurs essais qui combinèrent notamment un oncovirus, le T-Vec, avec le pembrolizumab dans les carcinomes de la tête et du cou (94) ou avec l'ipilimumab dans le mélanome (95). Un agoniste du TLR9, le SD-101, fut également associé au pembrolizumab dans le mélanome (29).



**Figure 11 :** Combinaisons de thérapies immuno-modulatrices pour surmonter les mécanismes de résistances tumoraux et induire une réponse immunitaire anticancéreuse.

## **2. Essais cliniques**

### **2.1. Essais de Phases Précoces**

Les essais de Phases Précoces (FIH, Phase I, Ia, Ib, I/II) ont deux objectifs principaux ; le premier va être la sûreté de l'Investigational Product (IP). Elle va être évaluée en utilisant une augmentation de la dose administrée graduelle appelée « escalade de dose », la première dose étant extrapolée des résultats précliniques réalisés sur les animaux. L'escalade de dose repose, dans la plupart des cas, sur le schéma dit « 3+3 » qui consiste à inclure trois patients à une dose identique et d'évaluer la toxicité de cette dose. Cette évaluation se fait lors d'une fenêtre de temps qui correspond généralement au premier cycle de traitement (28 jours). En l'absence de toxicité significative chez les trois patients, la dose suivante peut alors être explorée avec l'inclusion de trois nouveaux patients et ainsi de suite, jusqu'à la dose maximale prévue par le protocole. Cependant, si lors de ce laps de temps, au moins un des trois patients présente une toxicité sévère, c'est-à-dire de grade 3 ou plus, ou une toxicité spécifique mentionnée dans le protocole de l'étude, celle-ci est qualifiée de Dose Limiting Toxicity (DLT). La présence d'une DLT va voir l'inclusion de trois nouveaux patients au même niveau de dose afin de vérifier la toxicité de la dose. Deux cas se présentent alors : dans le premier cas, il n'y a pas de DLT parmi les trois nouveaux patients et l'escalade peut alors reprendre. Dans le second, cela entraîne une désescalade de dose, autrement dit un retour à la dose inférieure avec l'inclusion de trois nouveaux patients (Figure 12). Si aucune DLT n'est constatée à la dose inférieure, celle-ci devient alors la Maximal Tolerated Dose (MTD) et servira de Recommended Phase 2 Dose (R2PD) pour la phase suivante du développement clinique de l'IP : la Phase II (96).

Le second objectif est l'exploration de la faisabilité d'utilisation de l'IP. On entend par là que d'un point de vue pharmacocinétique, l'IP va être absorbée, distribuée, métabolisée et excrétée par l'organisme humain, tout en ayant la possibilité d'obtenir l'action escomptée. L'exploration de cet objectif va se faire grâce à des prélèvements sanguins et des biopsies réalisés à des points clés, avant et après l'administration du traitement.

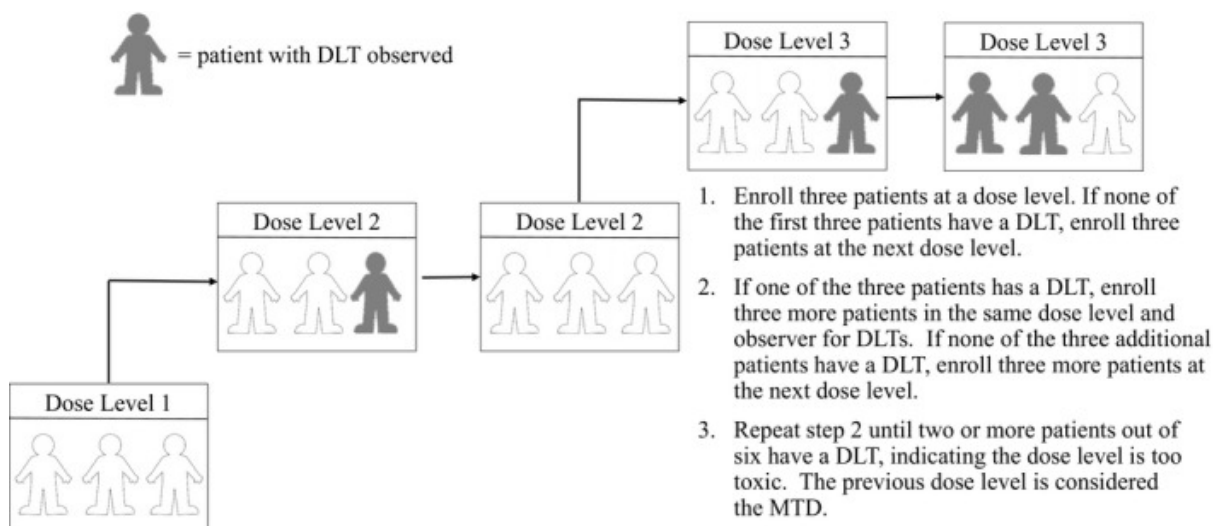


Figure 12 : Schéma du design en « 3+3 » des essais cliniques de Phases Précoces en oncologie.

### 2.1.1. Essais First-in-Human

La littérature cite cinq essais cliniques de phase précoce, ils représentent des administrations qualifiées de First-in-Human (FIH).

Le premier essai clinique a été réalisé entre avril 2015 et décembre 2016. L'agent à l'étude est un anticorps agoniste du CD40 : ADC-1013. Il rentre dans la catégorie des immuno-modulateurs métaboliques.

L'essai a porté sur 23 patients présentant un cancer à tumeurs solides de stade IV. Une escalade de dose en 3+3 a été réalisée avec quatre niveaux de doses : 22,5, 75, 200, et 400 µg/Kg pour la cohorte IT avec 4 injections à 2 semaines d'intervalle. La cohorte IV comprend un seul palier de dose à 75µg/kg toutes les 2 semaines. Au total 18 patients ont reçu un traitement par voie locale contre 5 par voie générale. L'administration par voie locale a eu lieu au niveau hépatique pour 12 d'entre eux, ganglionnaire pour 5 et sous-cutané pour 1.

Le profil des patients est de 62 ans d'âge médian pour le groupe IT contre 60 pour le groupe IV, avec un nombre de lignes thérapeutique antérieures allant de 1 à 3.

Au premier palier de dose de la cohorte IT (22,5 mg/kg), 3 patients (1 mélanome, 2 RCC) ont été traités et aucun n'a présenté de DLT. 4 patients ont été enrôlés au second palier de 75µg/kg. Ils présentaient tous les 3 des adénocarcinomes : 1 ovarien, 1 pulmonaire et 1 du colon ainsi que 1 SCLC. Aucune toxicité supérieure à un grade 2 n'a été constatée. Le palier 3 à 200 µg/kg a regroupé 3 patients atteints d'un RCC. Une première toxicité de grade 3, frissons, a été rapportée mais ne constitue pas une DLT. Cela a permis d'accéder au palier 4 à 400 µg/kg avec 8 patients présentant les pathologies suivantes : 2 RCC, 3 adénocarcinomes

du colon, 1 adénocarcinome du rectum, 1 cholangiocarcinome, 1 mélanome, et 1 cancer du sein. 4 toxicités de grade 3 ont été observées : hypotension, tremblements, douleur abdominale et cholecystite (Figure 13). Les deux dernières toxicités mentionnées ont été catégorisées en tant que DLT, car induites par l'injection d'ADC-1013 faisant de 400µg/kg la MTD et 200 µg/kg la RP2D.

L'évaluation de la réponse au traitement s'effectue 8 semaines après la première injection via un CT scan. Parmi toutes les réponses observées, 2 patients (n°15 et n°24) ont présenté une réponse stable (SD per RECIST 1.1 et irSD per irRECIST).

Le patient n°15 a pu recevoir 9 injections au-delà de 200µg/kg, 2 à la dose 400µg/kg et 7 à 900µg/kg comme prévu par le protocole. Montrant ainsi la capacité de la voie IT à administrer des doses bien supérieures à celle données par voie IV (75µg/kg pour rappel).

Il est à noter également que la profondeur des lésions injectées et leur vascularisation a son importance sur la tolérance à l'IP à l'étude ici, ainsi que pour le potentiel d'escalade de la dose injectée. Pour ce qui est de la tolérance, les patients (n°1, 5, 7, 15, 23 et 24) présentant un site d'injection superficiel (ici ganglionnaire ou métastatique sous-cutanées) n'ont pas présentés de SAE ni de DLT, à l'instar des patients n°9, 11, 14 et 16, comme décrits précédemment. De plus, les patients présentant des sites d'injection hépatiques ont tous rapporté des effets indésirables associé au relargage de cytokines se manifestant via les symptômes : frissons, syndrome grippal, vomissements, nausées, tachycardie, et hypotension contrairement à l'autre groupe (63).

| Adverse event           | Pat no | Dosage (µg/kg) | Grade | Dose limiting toxicity |
|-------------------------|--------|----------------|-------|------------------------|
| Chills                  | 9      | 200            | 3     | No                     |
| Hypotension             | 11     | 400            | 3     | No                     |
| Cholecystitis           | 14     | 400            | 3     | Yes                    |
| Shiverings <sup>1</sup> | 16     | 400            | 3     | No                     |
| Abdominal pain          |        |                | 3     | Yes                    |

**Figure 13** : Récapitulatif des effets indésirables de grade ≥3 reliés à l'ADC-1013.

Un second essai FIH et First-in-Class, publié en 2016, explore la safety d'un inhibiteur de la réparation de l'ADN, le DT01, en combinaison avec la radiothérapie chez les patients atteints d'un mélanome à métastases cutanées. Il rentre dans la stratégie utilisant des séquences d'acides nucléiques codantes.

Un total de 23 patients ont participés à 5 paliers de doses ; 16, 32, 48, 64 et 96mg, en schéma d'escalade 3+3. Le protocole de traitement correspondait à 3 injections de DT01, 1 jour sur 2 par semaine pendant 2 semaines avec une dose totale de 30Gy en 10 fractions dans les 3 à 5h suivant l'injection intra tumorale.

Aucune DLT ne fut observée durant l'essai, et ce, quel que soit le palier de dose. Seuls des effets indésirables de grade 1 et 2, reliés au DT01, ont été rapportés : douleur au site d'injection et érythèmes cutanés chez respectivement 52 et 30% des patients.

Au niveau de l'efficacité, 21 patients ont été évaluables, avec un ORR de 67% : 5% de CR, 62% de PR. Toutes les lésions cibles ayant été irradiées, on ne peut cependant pas conclure sur la réponse DT01 induite seule dans cet essai.

Les auteurs de l'essai ont également mesuré le passage systémique du DT01 en comparant les Cmax chez les patients ayant reçu une administration IT et chez ceux ayant reçu une administration IT et péri-tumoral (PT). Une augmentation de la concentration plasmatique en DT01 supérieure de 40% a été constatée lorsque l'administration se fait en IT + PT, comparé à une administration PT seule. Il est également à noter que les écarts de données PK sont plus larges chez les patients IT+PT comparés aux données des patients PT seules. Ceci souligne la corrélation entre la différence de vascularisation tumorale et le passage au niveau systémique (Figure 14).

Une concordance entre le pourcentage d'évolution de la lésion et l'AUC a même été établie. En effet une meilleure réponse, à savoir la diminution de la taille de la tumeur, a été constaté chez les patients de cette étude ayant une AUC supérieure ( $P=0.049$ ) (77).

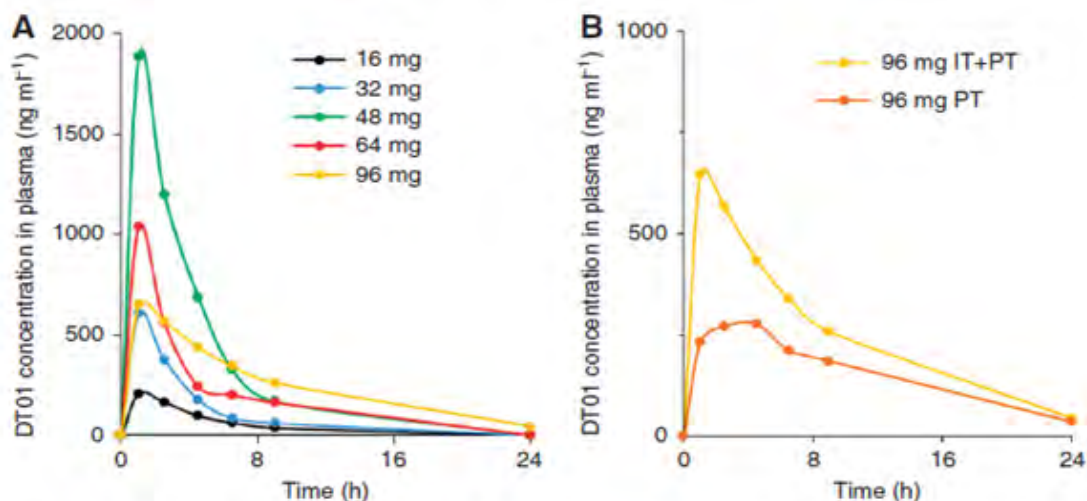


Figure 14 : Concentration plasmatique moyenne de DT01 sur 24h après une administration unique. (A) Concentration plasmatiques des patients en escalade de dose. (B) Moyennes de concentration des 5 patients traités en IT + IP versus moyenne des 6 patients traités seulement en PT.

Un troisième essai en FIH, moins récent mais publié dans l'*ASCO Journal* en 2009, étudiait la sûreté de l'administration IT d'un epidermal growth factor antisens : l'EGFR AS. Il s'inscrit dans la catégorie encoding nucleic acid sequences.

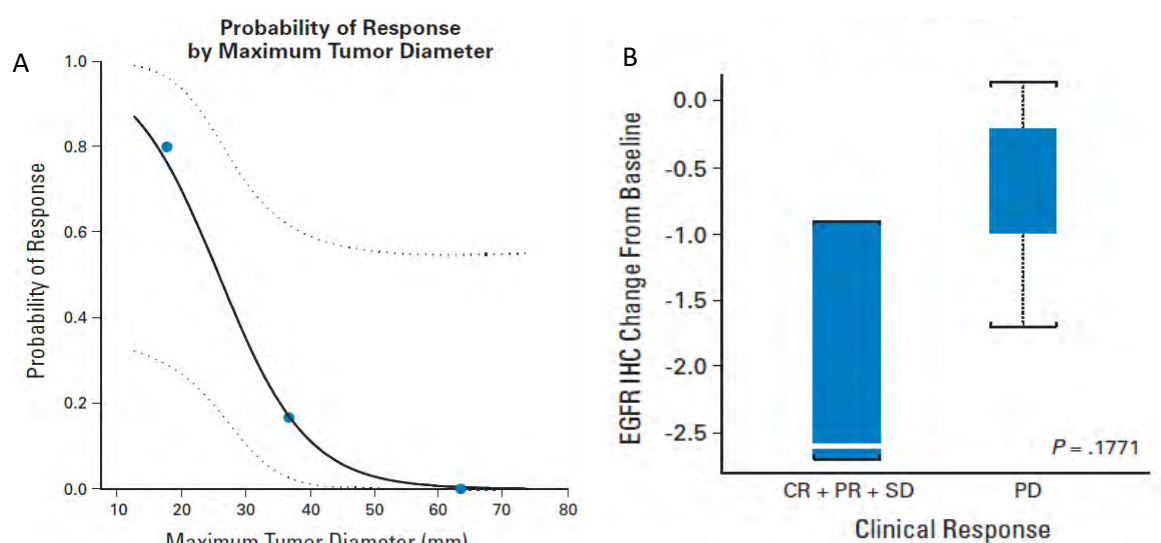
Le schéma d'administration comprenait 6 niveaux de doses, avec 100% d'augmentation entre chaque palier, au sein desquels 3 patients étaient inclus. Un total de 17 patients a été évalué sur les 20 inclus. Ils présentaient tous un carcinome à cellules squameuse de la tête et du cou dont la réponse fût évaluée par modified RECIST. Deux biopsies ont également été réalisées, une avant la première injection et la seconde 6 semaines post-traitement. Une seule lésion ciblée était sélectionnée chez les 17 patients évaluables. La safety fait état d'aucune DLT ni d'AEs de grade 3 ou 4 chez les sujets. Seuls 3 AEs de grade 1 reliés au traitement furent établis : 2 douleurs au site d'injection et 1 œdème local.

Sept patients sur 17 ont présentés une réponse au traitement, se traduisant par : 2 SD, 3PR et 2CR.

Pour approfondir les paramètres potentiellement associés à ces réponses, plusieurs combinaisons de résultats ont été explorées. Tout d'abord, une comparaison entre la taille tumorale initiale et la réponse observée a montré que les lésions de plus petite taille présentaient une meilleure probabilité de réponse ( $P=0.0592$ ). En revanche, elle ne semble pas être dose dépendante.

Au niveau de la pharmacodynamie, le taux d'expression d'EGFR a diminué chez 16 des 17 patients à la suite du traitement par EGFR AS ( $P=0.1771$ ). De plus, une diminution

importante du taux d'EGFR par rapport à la Baseline est associée aux réponses de type SD, PR et CR pour l'échantillon de patients de cet essai (Figure 15) (92).



**Figure 15** : Corrélation entre la taille de la lésion initiale et la réponse à l'imagerie. (A) Probabilité de réponse suivant la taille tumorale initiale. (B) Réponses observées chez les patients ayant reçu l'EGF AS par rapport à leur taux initiaux d'EGFR.

Le quatrième essai First-in-Human, publié en Octobre 2020, relate l'utilisation de spores de la bactérie *Clostridium novyi*-NT (Non-Toxic) chez des patients présentant des tumeurs solides réfractaires aux traitements standards. Les auteurs ont exploré sa tolérance à travers 6 paliers de doses allant de  $1 \times 10^4$  à  $3 \times 10^6$  spores. Le passage d'une dose à la suivante s'est effectuée via le modèle 3+3 et a vu le recrutement de 24 patients au total. La DLT était définie comme tout AE de grade 3 portant sur 3 jours ou plus, ou tout AE de grade 4 de n'importe quelle durée mais attribué au *C. novyi*-NT. Une observation de 2 semaines pour chaque premier patient de chaque cohorte était requise avant de pouvoir traiter le suivant. Le schéma d'administration reposait sur une seule administration intratumorale avec une évaluation par imagerie toutes les 8 semaines.

Trois patients ont présenté une DLT, définissant la MTD comme étant  $1 \times 10^6$  spores, explorée dans la cohorte 5. Deux septicémies et une gangrène gazeuse, tous de grade 4, ont été attribués au traitement à l'étude et ont donc constitué des DLT. Parmi les autres effets indésirables rapportés par 4 patients on retrouve une fracture de grade 3 qui a empêché la poursuite des injections aux niveaux osseux. On retrouve également un abcès, une infection des tissus mous, une insuffisance respiratoire et un rash cutané chez ces mêmes 4 patients.

Sur les 24 patients inclus, 22 ont été estimés évaluable pour déterminer la réponse au traitement. Quantifiée par RECIST 1.1, elle révèle un contrôle de la maladie (SD) chez 19

patients et ce tant au niveau des lésions injectées que celles non-injectées. Neuf patients, ont montré une diminution de la taille des tumeurs injectées (Figure 16) (34).

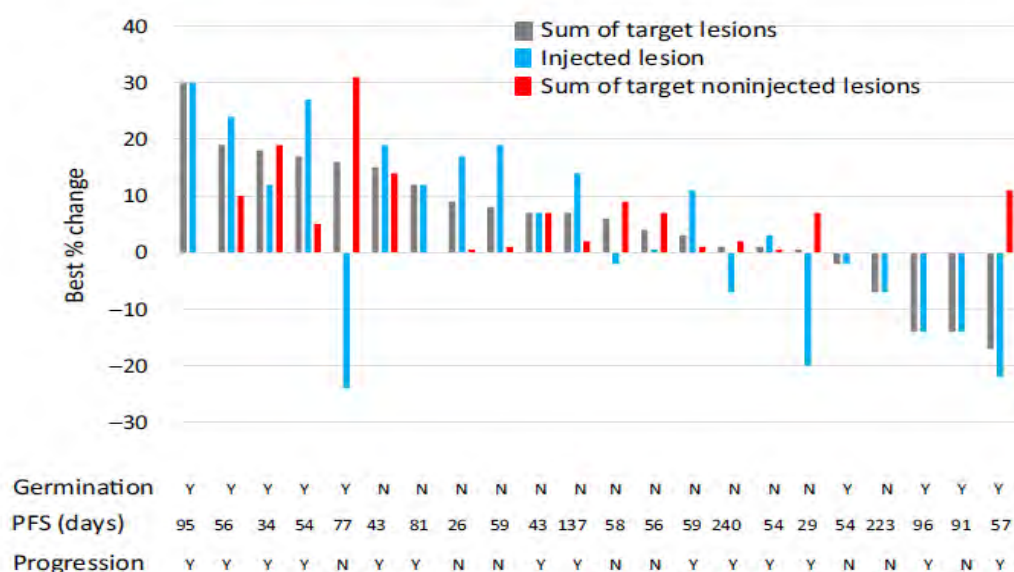


Figure 16 : Pourcentage de changement de la taille tumorale des lésions cibles, non-cibles et cumulées des 22 patients évalués.

Fin 2017, dans la revue *Cancer Immunology Research*, un article rapporte les résultats d'un essai de Phase 0 (FIH) utilisant des Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells injectés chez des patientes atteints de cancer du sein métastatiques. Un total de 6 patientes a été inclus (4 TNBC, 2 ER<sup>+</sup>Her2<sup>-</sup>), toutes présentant des métastases cutanées ou ganglionnaires accessibles pour l'injection des CAR T Cells. L'étude prévoyait une seule injection par patients à 2 niveaux de doses :  $3 \times 10^7$  ou  $3 \times 10^8$  cellules, avec 3 patients à chaque palier.

L'étude était construite comme suit : l'inclusion avait lieu à week-4 puis l'aphérèse à week-3. A J-2 avait lieu l'injection intratumorale des CAR T Cells suivie à J0 de la tumorectomie des lésions injectées. Les patientes étaient suivies jusqu'à J+25, ces visites comprenaient un examen clinique ainsi que des analyses sanguines corrélées (Figure 17). La période de DLT s'étendait entre J-2 et J+25 et fut défini comme toute toxicité non hématologique de grade  $\geq 3$  (à l'exception de nausée, vomissement, diarrhée ou fatigue), hématologique de grade  $\geq 3$  ou toute réaction allergique ou auto-immune de grade  $\geq 2$ .

Parmi les effets indésirables, on retrouve 6 événements de Grade 3 : 1 douleur au point de greffe, 4 épisodes de nausées et vomissements et 1 anémie nécessitant une transfusion sanguine. Aucuns d'entre eux ne fut attribué aux CAR T Cells, mais à des procédures (chirurgies, radiothérapie) antérieures à l'injection. Au niveau des réponses observées, seule

une patiente présentait une maladie contrôlée (SD), les autres avaient toutes progressées à la fin de l'étude.

Les prélèvements tumoraux à J0 des lésions ayant reçues l'injection montraient des signes de nécrose, d'inflammation et d'hémorragie ainsi qu'une infiltration de polynucléaires neutrophiles et de cellules immunitaires (69).

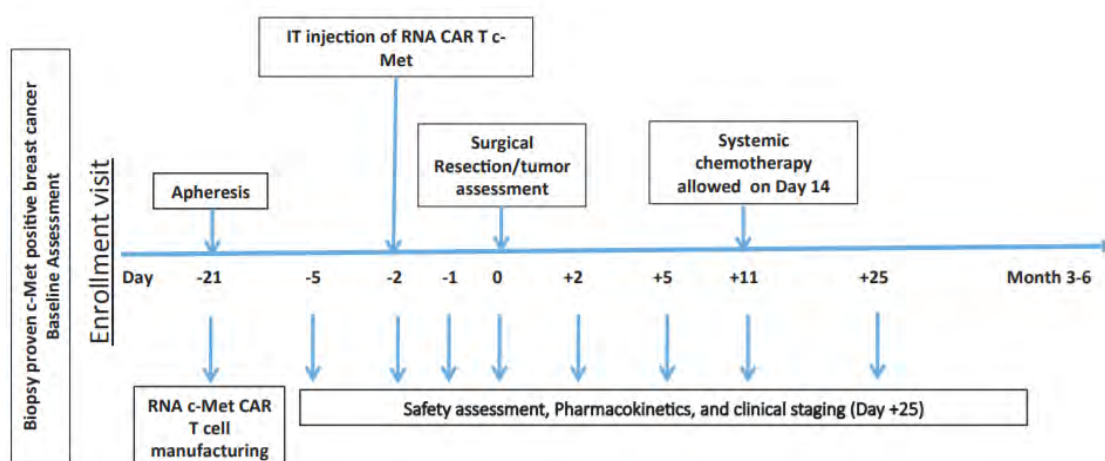


Figure 17 : Schéma détaillant le déroulement de l'étude avec notamment l'injection IT des CAR T Cells à J-2 et la tumorectomie à J0.

Le sixième essai concerne un oncovirus, le PX-594, codant pour le GM-CSF ayant pour but le recrutement de lymphocytes T au niveau local, en plus d'induire une lyse des cellules tumorales. Celui-ci fut administré via 2 modalités différentes : une première injection à J0 par voie percutanée puis à partir de J4 les patients recevaient 2 injections intratumorales par semaines. Les doses démarraient à  $1 \times 10^4$  pfu par lésions jusqu'à  $2 \times 10^7$ , avec une limite fixée de  $1 \times 10^4$  jusqu'à  $8 \times 10^7$  par session. Sept patients furent inclus, tous présentant des lésions cutanées provenant d'un mélanome chirurgicalement inopérable. Il est à noter que l'escalade de dose fut réalisée intra-patients pour cette étude.

Les toxicités rapportées furent modérées tant au niveau local que systémique, avec une inflammation des lésions injectées. Cette inflammation s'avéra dose dépendante. Au niveau systémique l'effet indésirable majeur fut des symptômes pseudo-grippaux de grade 1 qui sont apparus après 12% des injections et se sont résolus dans les 24 heures. Les auteurs ne rapportent aucunes modifications significatives dans les paramètres biologiques des patients. Les réponses locales et systémiques des 7 patients évalués furent diverses, allant de l'absence de réponse pour 2 patients (#2 et #6) jusqu'à une réponse partielle (#3) et une réponse

complète (#7). Les 3 autres patients présentèrent, quant à eux, une réponse dite partagée, signifiant une régression des lésions injectées, mais une progression des autres métastases distantes (Figure 18). Il est à noter que les patients #2 et #6 présentaient la charge tumorale la plus élevée parmi les patients de l'étude. Les explorations biologiques mirent en évidence une infiltration de lymphocytes éosinophiles, résultant de la stimulation du GM-CSF. Cependant aucune modification des globules blancs ne fut constatée (97).

| Patient | Injected             | Regional   | Distant | Type         |
|---------|----------------------|------------|---------|--------------|
| 2       | s.c.-no LN-no        | LN-no      | Lung-no | None         |
| 6       | s.c.-no LN-no        | s.c.-no    | Lung-no | None         |
| 1       | Dermal-yes LN-no     | Dermal-yes | —       | Mixed        |
| 4       | Dermal-yes s.c.-yes  | LN-no      | Lung-no | Mixed        |
| 5       | Dermal-yes           | Dermal-yes | LN-no   | Mixed        |
| 3       | Dermal-yes Breast-no | Dermal-yes | —       | PR (6 + mos) |
| 7       | Dermal-yes           | Dermal-yes | —       | CR (4 + mos) |

Figure 18 : Réponses observées (yes/no) au niveau des lésions injectées, locales et distantes chez les 7 patients de l'étude.

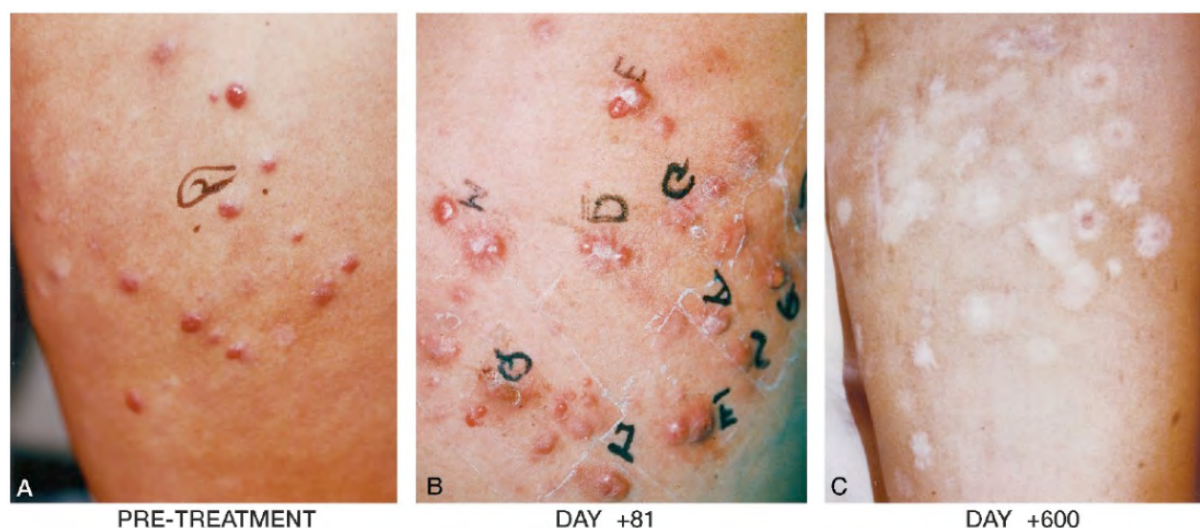


Figure 19 : Evolution des métastases dermiques du patient #3 avant, 81 jours après et 600 jours après la première injection de PX-594.

Le septième essai concerne le MK-1454, un agoniste du récepteur STING, qui fut évalué en combinaison avec le pembrolizumab au sein de 2 bras de traitement. Le premier bras (Arm 1) consiste en l'injection de MK-1454 en intratumoral et en monothérapie. Ce

dernier fut administré 1 fois par semaines pendant 9 semaines réparties sur 3 cycles, puis 1 fois toutes les 3 semaines par la suite. Le second bras (Arm 2) repose sur la combinaison avec le pembrolizumab en systémique administré toutes les 3 semaines à la dose fixe de 200mg. L'intervalle de dose fut de 30 à 3000 µg pour le bras 1 et de 90 à 1500 µg pour le bras 2. Il est à noter que la possibilité d'effectuer un cross-over du bras 1 au bras 2 fut possible pour les patients ayant progressé. Au 31 juillet 2018, 26 patients ont été inclus dans le premier bras, 34 dans le second et 9 ont effectué un cross-over.

Trois DLTs furent observées, 1 patient dans le bras 1 a présenté des vomissements à la dose de 1500µg. Deux patients du bras 2, à la même dose, ont tous deux présentés comme autre DLT, une réaction au niveau du site d'injection. Ces 3 DLTs n'ont cependant pas conduit à l'établissement d'une MTD. Au niveau des effets indésirables les plus fréquents observés chez les patients ( $\geq 10\%$ ) on retrouve ; fièvre, frissons, fatigue, douleur au site d'injection, nausée, démangeaisons. La fréquence d'AEs de grade  $\geq 3$  fut supérieure dans le bras combinaison avec 14% contre 9% pour la monothérapie.

Sur les 25 premiers patients du groupe 2 le nombre de réponses, selon les critères RECIST 1.1, s'élève à 6 PR portant le DCR à 48%. Ces réponses furent observées chez 3 HNSCC, 1 TNBC et 2 carcinomes anaplasiques thyroïdiens. Aucunes PR ni CR ne furent observées, au moment de la publication des résultats dans le bras 1 dont le DCR était de 20% (39).

La 2<sup>e</sup> partie de l'essai, impliquant jusqu'à 235 patients est en cours de réalisation et ses résultats sont en attente de publication (NCT03010176).

Ces sept essais de phases précoces en première administration chez l'Homme soulèvent plusieurs caractéristiques potentielles de cette nouvelle voie d'administration qu'est la voie intratumorale. Tout d'abord, la capacité à injecter des doses bien supérieures en comparaison à la voie classique, intraveineuse. Le premier essai décrit précédemment rapporte une dose 12 fois supérieure et ce sans apparition de toxicité en plus. La tolérance au traitement semble également impactée, cependant elle dépend du niveau de vascularisation, ainsi que de la profondeur de la lésion injectée. Ceci est corrélé au passage systémique du candidat médicament à l'étude. Passage systémique après une administration locale, appuyé par le quatrième essai, avec une stabilité de la taille des lésions non-injectées, même si le troisième essai rapporte une meilleure réponse de la population à l'étude ayant eu une AUC supérieure. Enfin la taille de la lésion initiale semble avoir son importance sur la finalité observée à l'imagerie ou au niveau macroscopique.

### 2.1.2. Essais de Phase I

Cet essai évalue la toxicité et la faisabilité d'injecter un glycolipide alpha-gal, un vaccin tumoral autologue, chez des patients présentant un mélanome métastatique non-résécable. Les patients présentaient des métastases cutanées, sous-cutanées ou lymphatiques (palpables). Le schéma classique d'escalade de dose en 3+3 a été retenu avec les doses suivantes : 0,1 mg/injection, 1.0 mg/injection, 10.0 mg/injection. Deux injections étaient réalisées à 4 semaines d'intervalle avec une évaluation par imagerie 8 semaines après la première injection.

Neuf patients ont été évalués, soit 3 à chaque palier de dose. L'évaluation par RECIST a montré un contrôle de la maladie (SD) sur 7 mois pour un patient du palier 2 et 8 mois pour un patient du palier 1. Les 7 autres ont tous présentés une progression à l'imagerie. Cependant, les biopsies post-traitements de 5 patients ont révélé une nécrose tumorale sans réponse inflammatoire contre 2 en prétraitement. Deux de ces 5 patients présentaient également une nécrose au niveau des métastases lymphatiques post-traitement.

Au niveau de la toxicité, aucune DLT n'a été rapportée. Une toxicité tolérable au niveau du site d'injection a été constatée, ainsi qu'une absence de toxicité systémique.

Les auteurs recommandent une évaluation subséquente en combinaison avec un immune checkpoint inhibiteur (72).

Un essai publié dans l'*American Society of Clinical Oncology* en 2004 étudiait la safety et la faisabilité de l'injection en intratumoral d'un vecteur à adénovirus des gènes de l'interleukine-12 (Ad.IL-12). Vingt et un patients présentant des tumeurs digestives avancées (9 HCC, 5CCR et 7 avec un cancer du pancréas) ont reçu des doses allant de  $1 \times 10^{10}$  à  $3 \times 10^{12}$  particules virales (vp) réparties dans 7 cohortes. Le schéma était une escalade en 3+3 avec 1 injection prévue tous les 30 jours, assistée par ultrasons et/ou CT scan ou par endoscopie. Les patients étaient évalués par CT scan (WHO criteria) et delayed-type hypersensitivity test avant la première injection et à J30. Deux biopsies furent également réalisées, une avant la première injection et la seconde à J10.

Les 21 patients de l'étude ont reçu 1 à 3 injections d'Ad.IL-12 en une fois. Les lésions injectées furent les suivantes : nodule tumoral hépatique pour 15 patients, tumeur pancréatique primaire pour 3, un conglomérat ganglionnaire rétro péritonéal pour 1 et un nodule péritonéal pour le dernier. Au total 44 injections ont été réalisées.

La DLT était définie par toute toxicité de grade 4, peu importe la durée, ou toute toxicité de grade 3 irréversible imputée à l'Ad.IL-12. Durant l'essai, 11 lymphopénies de grade 3 ont été attribuées à l'Ad.IL-12 dont 8 à des doses  $\geq 1 \times 10^{12}$  vp (cohortes 5 à 7). Deux Aes : douleurs au site d'injections, toutes doses confondues, ont également été rapporté ainsi qu'un épanchement pleural, un œdème intestinal des muqueuses et nausée, toutes de grade 3. La lymphopénie, tous grades confondus et toutes doses confondues a été observé chez 85% des patients pendant l'étude. C'est l'effet indésirable avec le taux d'incidence le plus important de l'étude.

L'évaluation de l'activité de l'Ad.IL-12 et de la réponse associée a été effectuée par différentes techniques ; par CT Scan (WHO criteria), mesure des taux cytokiniques (INF- $\gamma$  et IL-12) et immunohistochimie.

Pour ce qui est de l'activité antitumorale de l'Ad.IL-12, seulement 19 des 21 patients ont été évalués. L'imagerie révèle une stabilisation de la maladie chez 10 patients pour 8 progressions. Un patient (#9) a montré une réduction de plus de 60% du ganglion lymphatique injecté avec 2 doses de  $10 \times 10^{11}$  vp qui a duré plus de 5 mois.

Les résultats portant sur la modification des taux cytokiniques furent négatifs : les taux sériques d'IL-12 n'ont pas changé de manière significative après les injections ainsi que les taux d'INF- $\gamma$  (Figure 20). Il en a été de même pour les tests réalisés par rtPCR sur les biopsies de 11 participants.

En dépit du fait que cette stratégie de traitement se soit révélée bien tolérée, compte tenu de la faible toxicité observée, les résultats portant sur l'activité antitumorale furent décevants. De plus l'observation de taux d'INF- $\gamma$  endogène négatifs 10 jours après l'injection, dans les biopsies collectées, oriente vers une transduction limitée in situ ou une expression génique trop succincte pour obtenir un effet antitumoral localement (98).

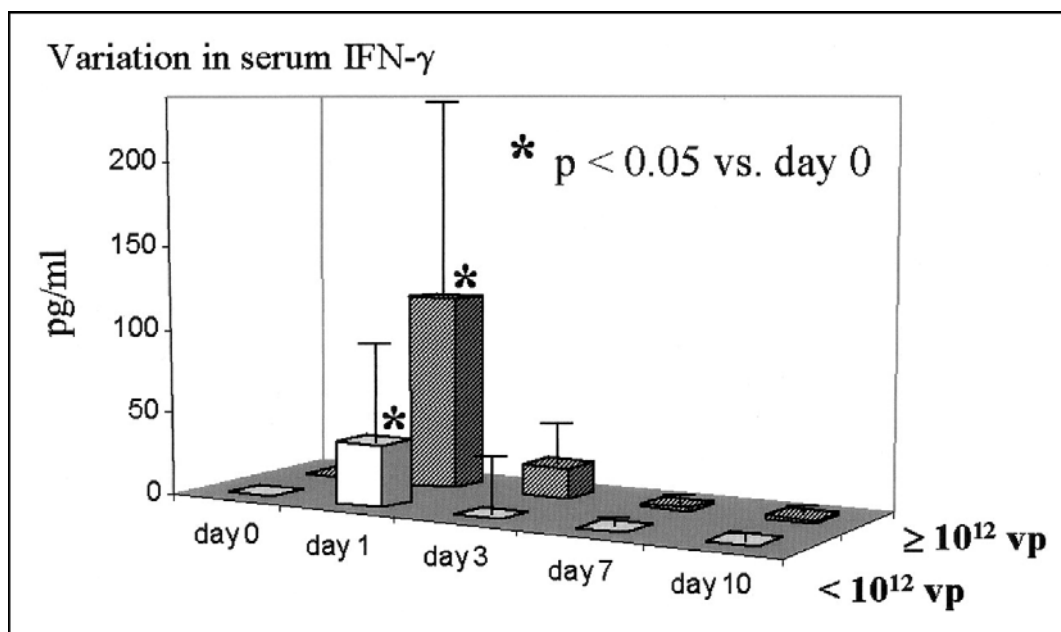


Figure 20 : Variations du taux d'INF- $\gamma$  parmi les patients des 2 cohortes.

L'American Association for Cancer Research publiait en 2005 un essai de Phase I analysant l'activité et la sécurité de l'injection de 2 virus recombinants exprimant le B7.1 et l'IL-12. L'étude a été construite sur 4 cohortes de 3 patients avec comme doses  $2,5 \times 10^8$  pfu d'ALVAC-B7.1 et  $10 \times 10^8$  pfu pour les cohortes 1 et 2 et une dose de  $25 \times 10^8$  pfu pour les cohortes 3 et 4. En plus de la dose d'ALVAC-B7.1, les patients de la cohorte 4 ont reçu de l'ALVAC-IL-12, à hauteur de  $2 \times 10^6$  pfu. Les 14 patients traités ont été évaluables par imagerie. Ils présentaient tous un mélanome métastatique avec des nodules sous-cutané qui ont servis de sites d'injection. Les injections étaient réalisées de manière bihebdomadaire sur 2 semaines : soit les jours 1, 4, 8 et 11. Pour les patients recevant les 2 IPs, l'injection d'ALVAC-B7.1 précédait celle d'ALVAC-IL-12. Les toxicités de grades 3 et 4 (CTCAE 2.0), à l'exception de la fièvre et des toxicités locales (au point d'injection), constituaient une DLT. L'évaluation de la réponse s'est faite par imagerie en utilisant les critères RECIST 1.1 sur l'ensemble des lésions à J43 post-injection. La mesure des taux de B7.1, d'IL-10, IL-12, d'INF- $\gamma$  et de VEGF mRNA fut réalisée par PCR grâce aux biopsies prélevées au jour 15.

Sur les 14 patients traités et évalués, l'imagerie montre 12 progressions et 2 SD chez les patients #6 et #13 traités aux doses  $10 \times 10^8$  pfu ALVAC-B7.1 et  $25 \times 10^8$  pfu d'ALVAC-B7.1 +  $2 \times 10^6$  pfu d'ALVAC-IL-12.

Les taux tumoraux des biopsies révèlent une grande variabilité parmi les résultats. En comparant les taux de d'ARN messagers recueillis à J15 dans les tumeurs injectées avec le l'ALVAC-B7.1 seul, ou avec l'ALVAC-IL-12, versus les taux présents dans les tumeurs

injectées avec une solution saline. Les lésions tumorales ayant reçus l'ALVAC-B7.1 seul ou en combinaison montrent une augmentation des taux de B7.1, de VEGF et d'IL-10. A l'inverse, parmi ces mêmes lésions ont été observée une diminution des taux d'IL-12 et d'INF- $\gamma$ . Il est à noter que des taux élevés de VEGF et d'IL-10 sont gages de mauvais pronostics et qu'une diminution des taux d'IL-12 et d'INF- $\gamma$ , qui sont des cytokines associées aux cellules T-helpers-1, oriente vers une absence de réponse immunitaire dirigée contre la tumeur.

Cette mixité de résultats ne permet malheureusement pas de statuer sur une évidence de modification de la réponse inflammatoire induite par les traitements à l'étude. Cela souligne également la complexité de l'induction d'une modification des niveaux de cytokines intratumorales, ainsi que la potentielle réponse immunitaire dirigée contre les tumeurs qui y sont associées (55).

En 2018, le *Journal of Clinical Oncology* publiait une étude de Phase I sur des patients atteints de glioblastomes multiforme (GBM). Trente-sept patients ont été inclus au sein de 2 groupes (A et B) avec un ratio 2:1 : soit 25 patients dans le A contre 12 dans le B. La population comprenait 33 GBM, 2 gliosarcomes et 2 astrocytomes anaplasique. Le design de l'étude repose sur une escalade 3+3 avec 2 stratégies de traitement distinctes. Les patients du groupe A recevaient une seule injection à J0 précédée d'une biopsie stéréotaxique servant de point d'accès, puis une évaluation des toxicités et de la réponse observée à l'imagerie. Le groupe B, quant à lui, recevait l'injection après l'implantation d'un cathéter. Puis d'une seconde injection, post-chirurgie destinée à enlever la plus grande portion tumorale possible. Il est à noter que la seconde injection était effectuée en plusieurs points situés sur les marges de résection de la tumeur.

L'IP à l'étude est le DNX-2401, un adénovirus oncolytique capable de réplication, d'infecter les cellules cibles et de plus tumeur sélectif. L'escalade de dose comprenait 4 niveaux de dose allant de  $1 \times 10^7$  à  $3 \times 10^8$ . La DLT fut établie comme tout AEs de grade 3 ou supérieur relié au DNX-2401 et comme étant non-hématologique. L'évaluation de la réponse par IRM était appuyée sur les critères Macdonald (99). Au niveau des résultats biologiques, plusieurs paramètres furent observés : les protéines de l'adénovirus : l'E1A, les marqueurs immuns : CD3, CD4 et CD8 et les protéines des immunes checkpoint inhibiteurs (ICI) : PD-L1, PD-1, TIM-3 et IDO-1. L'activité sur les lignes gliomasphere-forming cell (GSC) 327 et 308

(GSC327 et GSC308 respectivement) fut également mesurée via les marqueurs moléculaires associés aux dommages cellulaires : HMGB1, HSP90 $\alpha$ , HSP70 et ATP.

Le traitement fut globalement bien toléré par l'ensemble des patients avec aucune DLT rapportée et par conséquent pas de MTD également. Aucun événement de grade 3 ou supérieur relié au traitement ne fut constaté et seulement 5, de grades inférieurs à 3, ont été constatés : maux de tête, nausée, confusion, vomissement et pyrexie.

L'efficacité du traitement s'est distinguée par une réduction de la taille tumorale chez 18 des 25 patients du groupe A, dont 5 ont présenté une réduction de 95% ou plus, et 2 autres une stabilité de la maladie. A noter que les patients du groupe B n'ont été évalués que pour la survie, en raison de la résection tumorale à J14. Au niveau de la survie justement, on a pu constater une médiane de survie à 9,5 mois toutes doses confondues chez les patients du groupe A, avec notamment une absence de progression d'au moins 3 ans chez 3 des 5 patients ayant eu une CR. Dans le groupe B, 2 patients sur les 12 inclus ont survécu pendant 2 ans post-traitement. Au niveau de l'intégralité des patients, la médiane de survie était de 13.0 mois.

L'hypothèse d'une réponse immuno-médiée chez les patients de cet essai est corroborée en premier lieu par les réponses décrites ci-dessus observées à l'imagerie. L'évaluation du profil immunitaire des patients du groupe B a montré la présence de cellules T CD3+, avec une majorité de CD8+, pour l'intégralité d'entre eux. Leur positivité en tant que T-bet laisse suggérer une réponse médiée par des cellules T Helper-1. Il a également été rapportée, une augmentation des cellules T CD4+ de manière significative entre l'inclusion et le suivi ( $P=0,05$ ). Une diminution significative de TIM-3 ( $P=0,06$ ) est aussi observée. L'évaluation de la mort des cellules tumorales par voie immune a été réalisée via l'étude des GSC avant et après les 2 injections chez 2 patients du groupe B. L'augmentation des taux des protéines HMGB1, HSP90 $\alpha$ , HSP70 et ATP vont dans le sens d'une mort cellulaire immuno-induite par DNX-2401 (Figure 21) (11).

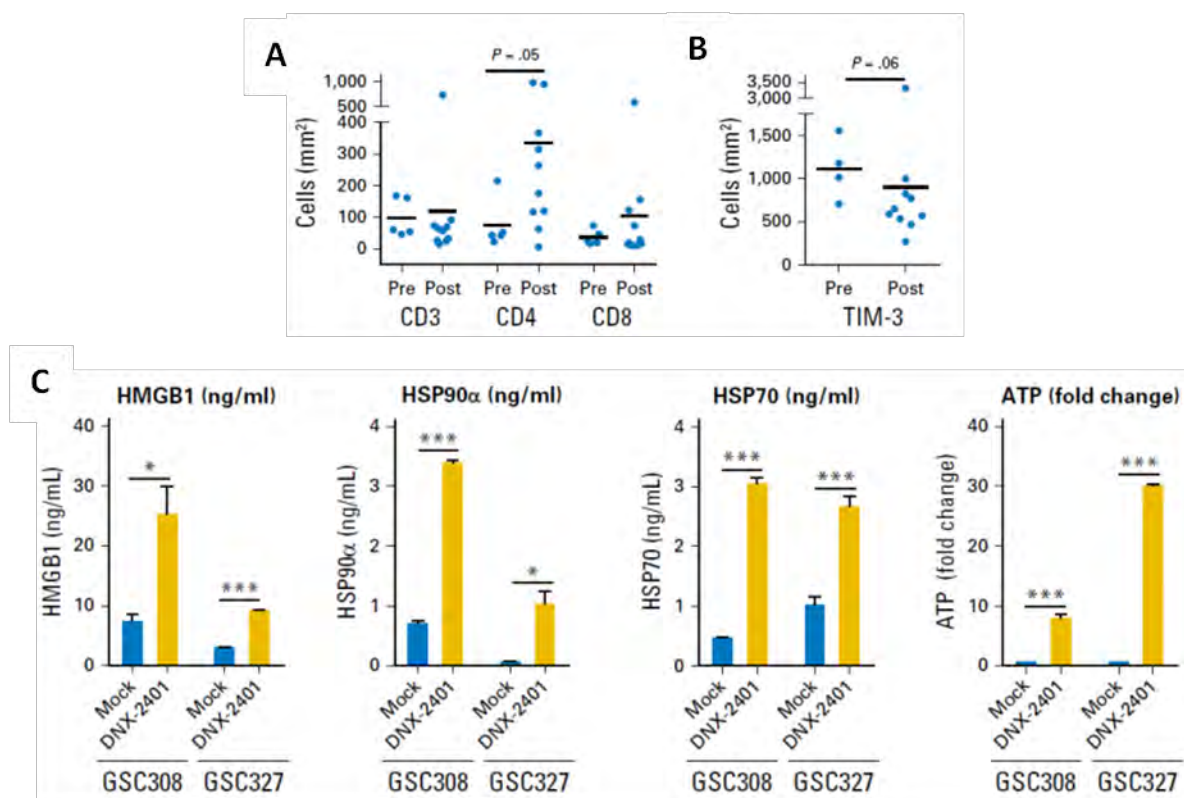


Figure 21 : Réponse immunitaire médiée par le DNX-2401. (A) Densité des cellules exprimant CD3, CD4 et CD8 pré et post-traitement ainsi que (B) TIM-3. Spécimens (n=5 pré et n= 10 post) obtenus par biopsies. (C) Augmentation des taux des protéines HMGB1, HSP90 $\alpha$ , HSP70 et ATP orientant vers une mort cellulaire.

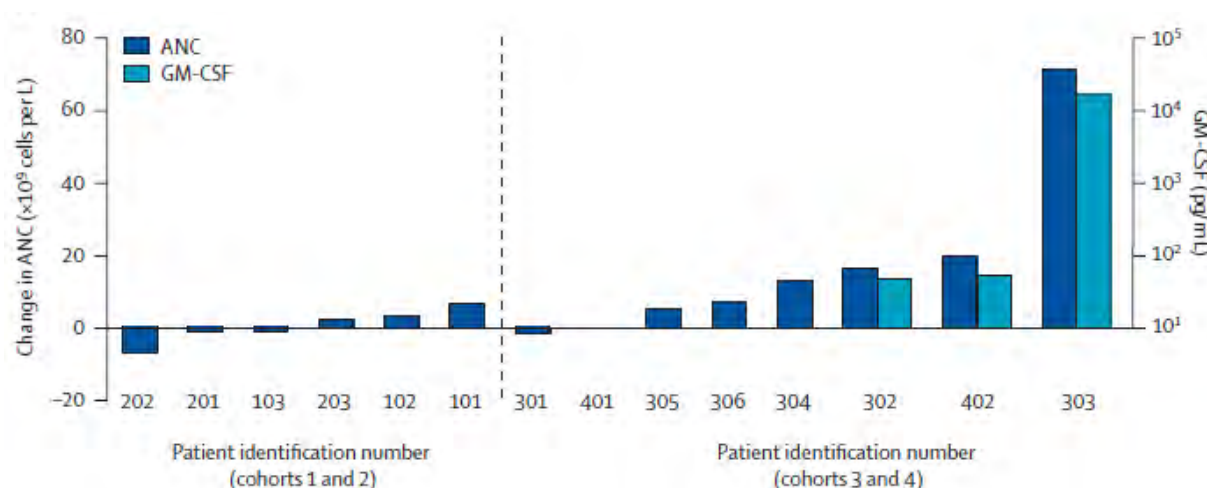
Le DNX-2401 est actuellement testé dans un essai de Phase II en combinaison avec le pembrolizumab.

En 2008, les résultats de l'utilisation du Pexa-Vec, un vaccin aux propriétés oncolytiques et immunothérapeutiques via le recrutement des macrophages étaient mentionnés dans le journal *The Lancet*. Un total de 21 patients furent screenés avec seulement 14 patients traités pour 10 évaluable par imagerie. La population à l'étude ici regroupait des patients présentant des lésions hépatiques soit primaires soit métastatiques. Le recrutement comprit donc des patients atteints de HCC, CRC, mélanomes et cancers bronchiques dont les lésions hépatiques étaient accessibles pour injection via l'imagerie. La dose de départ,  $1 \times 10^8$  pfu, fut sélectionnée suite aux résultats de l'essai pilote qui avait démontré la safety de la dose  $8 \times 10^7$  pfu. Les doses suivantes,  $3 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  et  $3 \times 10^9$  pfu furent réparties sur 4 cohortes en escalade 3+3. La MTD fut définie comme la dose précédente celle où au minimum 2 DLT seront observées. Le rythme d'injection était prévu sur un cycle de 3 semaines avec un maximum de 6 cycles. Différentes explorations étaient également prévues : la numération des

globules blancs, les Ac anti JX-594, la quantité de matériel génomique de JX-594, le taux de GM-CSF, ainsi que des biopsies des lésions injectées. Les résultats à l'imagerie furent mesurés tous les 2 cycles.

Parmi les 14 patients inclus, 3 furent traités dans chacune des 2 premières cohortes, 6 dans la 3<sup>e</sup> et 2 dans la dernière cohorte. Les 2 patients de la cohorte 4 ont présentés une DLT : hyperbilirubinémie, anorexie et douleur abdominales toutes de grade 3. Faisant de ce fait de la dose  $1 \times 10^8$  pfu la MTD pour cette étude. Un des effets indésirables majoritairement observé fut une hypotension lors de l'injection du JX-594. Une augmentation de l'ANC fut observée chez les patients des cohortes 3 et 4 et s'avéra être dose dépendante. Elle fut accompagnée d'une augmentation du taux de GM-CSF chez les patients 302, 402 et 303 (Figure 22).

A l'imagerie, sur les 10 patients évaluable, 3 PR et 6 SD pour 1 PD furent observées (100). Ces résultats permirent le lancement d'un essai de phase II qui sera décrit ultérieurement.



**Figure 22 :** Taux d'ANC et de GM-CSF chez les patients des cohortes 1 à 4 observés au cours des 8 premiers jours suivant la première injection.

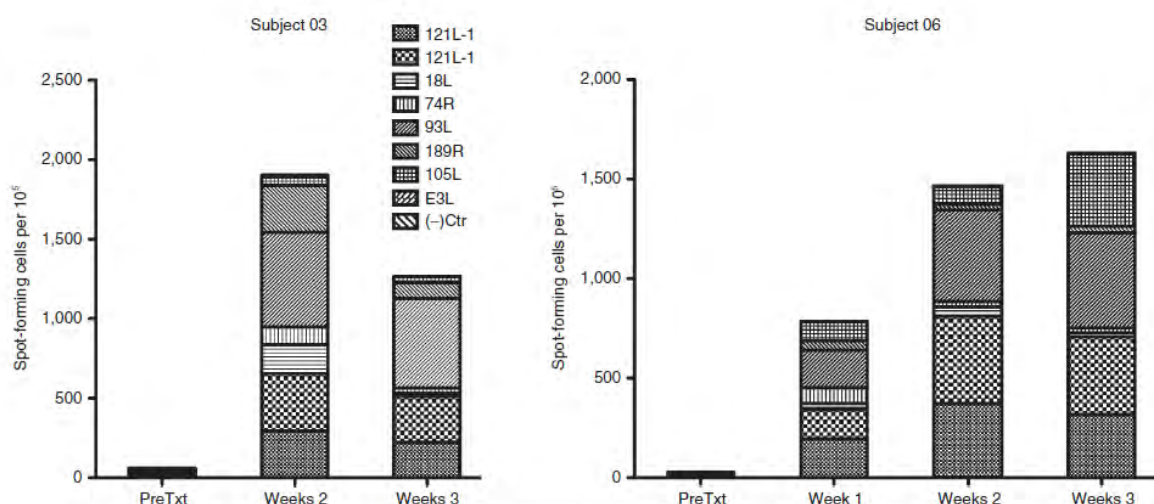
En 2015 était publié dans *Molecular Therapy*, un essai de Phase I qui s'est déroulé de novembre 2010 à février 2012 comprenant 6 patients âgés de 4 à 21ans. Ils avaient pour diagnostic un carcinome hépatocellulaire (n=3), un neuroblastome (n=2) et un sarcome de Ewing (n=1). Le concept de cet essai reposait également sur l'utilisation du Pexa-Vec. La safety et l'éventuelle efficacité de ce vaccin, déjà utilisé chez l'adulte en IV et IT, a donc été explorée en pédiatrie chez ces 6 patients. Le choix de la dose à administrer fut basé sur la MTD chez l'adulte que les investigateurs ont diminué de 10 à 20 fois. Il en a résulté 2 cohortes : une à la dose de  $1 \times 10^6$  pfu/kg et la seconde à  $1 \times 10^7$  pfu/kg. Trois des six patients

ont reçu une unique injection sur un seul site. Le patient 01 a reçu une injection mais sur 2 sites, le patient 03 sur 3 sites et le patient 05 fut le seul à recevoir une seconde injection 6 semaines après.

L'ensemble des injections fut bien toléré, avec seulement une fièvre grade 3 chez 2 patients ayant reçu la dose la plus élevée. C'est l'AE le plus représenté parmi les patients avec une présence, chez 5 des 6 patients, tous grades confondus. Le second effet indésirable notable est le développement de lésions pustuleuses chez les 3 patients de la cohorte 2. Ils ont été imputés au Pexa-Vec étant donné leur délai d'apparition : de quelques jours à une semaine post-injection. Leur résolution eu lieu au bout de 3 à 4 semaines. Les autres effets indésirables rapportés sont de type flu-like : frissons, vomissements et tachycardie sinusale tous de grade 2, avec seulement un cas de maux de tête de grade 3.

Les réponses radiologiques furent évaluées à J22 post-administration via les critères RECIST. Pour les lésions injectées, les résultats révélèrent 2 PD et 4 SD pour les lésions injectées. Deux des 4 patients ont vu leur maladie progresser en dehors des sites injectés, avec soit une augmentation de taille des sites non-injectés soit l'apparition de nouvelles lésions. A J28, l'intégralité des patients s'étaient tournés vers une autre stratégie thérapeutique.

Il est cependant à noter la présence d'une réponse immunitaire chez 2 patients : le 03 de la première cohorte et le numéro 06 de la seconde. A 3 semaines post-traitement tous deux possédaient un profil immunitaire compétent à l'encontre de la majorité des peptides vaccinaux (Figure 23) (54).



**Figure 23 :** Etude de la réponse immunitaire dirigée contre les Ag du vaccin chez les patients 03 et 06 avant et après l'injection de Pexa-Vec.

Toujours dans *Molecular Therapy*, en 2014 cette fois, était publié un essai sur 18 patients dont 15 furent traités de mars 2006 à janvier 2010. Leurs diagnostics respectifs étaient un astrocytome anaplasique (n=3) ou un GBM (n=12). L'IP à l'étude était un Reovirus, le respiratory entericorphan.

Le design de l'étude comportait cinq niveaux de doses ( $1 \times 10^8$  –  $1 \times 10^{10}$ ) en escalade avec un système en 3+3. La dose était administrée sur 72h à l'aide d'un pousse seringue et via la technique appelée « convection-enhanced delivery » (CED) qui consiste à créer un gradient de pression à l'extrémité d'un cathéter pour délivrer le traitement d'intérêt directement au sein de l'espace interstitiel du système nerveux central (101). Un de ses intérêts principaux est de s'affranchir du passage de la barrière hémato-encéphalique et de limiter le passage systémique (et ses effets indésirables associés). Le suivi des effets repose sur une IRM avant l'inclusion ainsi que toutes les 4 semaines suivant l'injection du Reovirus. Divers prélèvements (sérologie, titrage pour la virologie et expectorations, selles, urines pour les études virales) étaient également prévus lors des différentes visites au cours de l'étude.

Aucune DLT ne fut reportée au cours de l'étude, ne permettant pas de déterminer la MTD. Les AEs les plus sévères ont été observés chez 5 patients parmi les 15 participants à l'étude mais aucun ne fut attribué au Reovirus permettant de conclure à sa bonne tolérance, pour cette étude.

Sur le déroulé de l'étude, la meilleure réponse observée fut SD pour 10 patients, PR pour 1 patient et PD pour les 4 autres. Le patient 13 (GBM) a présenté la meilleure réponse avec une CR à 12 mois après l'injection (Figure 24). Il est également à noter que la médiane de PFS fut 61 jours avec un OS de près de 3 ans (989 jours) pour le patient 5 inclus dans la cohorte 2 et 2 ans (673 jours) pour le patient 13 inclus dans la cohorte 5 (102).

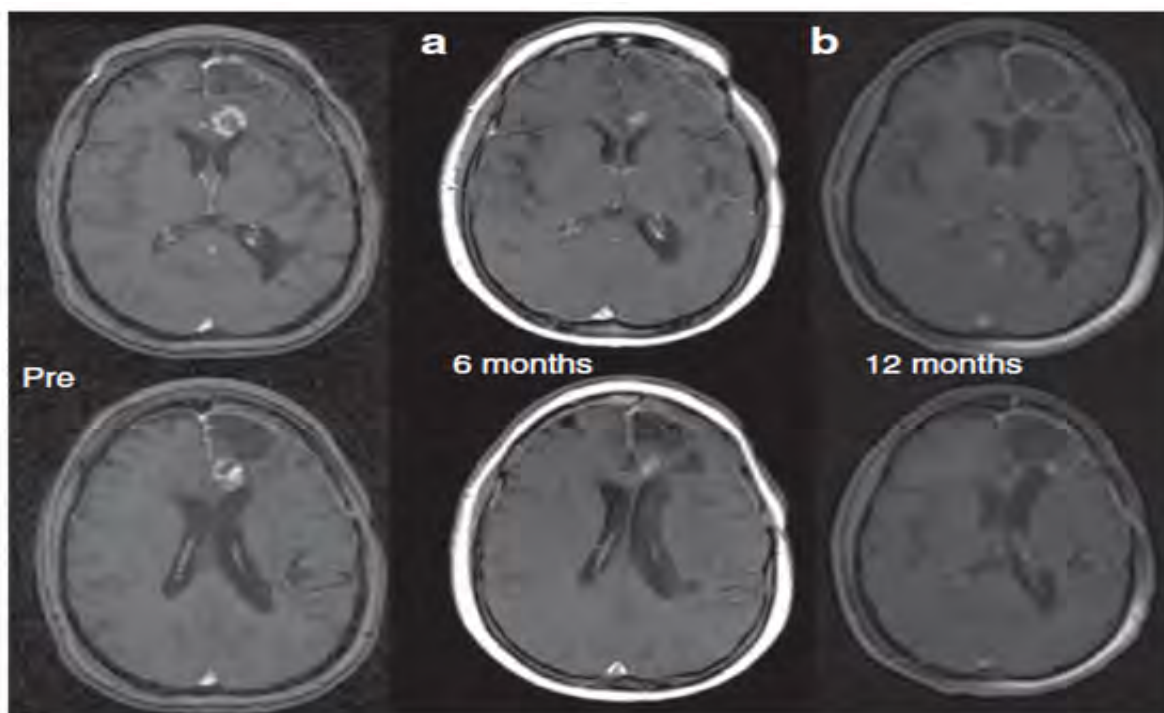


Figure 24 : IRMs du patient 13 réalisées avant la première injection puis 6 et 12 mois après. Le patient avait reçu la dose de  $1 \times 10^{10}$  TCID<sub>50</sub> sur 72h en 1 injection. (a) PR observée à 6 mois post-traitement. (b) CR observée 12 mois post-traitement.

Le journal *The American Society of Gene Therapy* publiait en 2001 un essai évaluant l'injection directe d'un vecteur viral, l'Adv.RSV-tk, au niveau des métastases hépatiques de patients atteints de cancers colorectaux avancés. Cinq cohortes de 3 patients traités à des doses allant de  $1 \times 10^{10}$  à  $1 \times 10^{13}$  vp étaient prévues. Le passage de la cohorte 3 ( $1 \times 10^{12}$  vp) à la cohorte 5 ( $1 \times 10^{13}$  vp) a nécessité l'ajout d'une cohorte intermédiaire à  $3.3 \times 10^{12}$  vp en raison d'AEs qui seront détaillés ultérieurement. Sur les 16 patients inclus, 9 présentaient des métastases extra-hépatiques, principalement au niveau ganglionnaire, péritonéal ou pulmonaire. Chaque dose fut administrée via 3 seringues au niveau de 1 à 9 sites en intra hépatique en une séance sans complications, lors de la procédure. Cette première injection était suivie de 14 injections IV de Ganciclovir (GCV), destinées à induire une nécrose des cellules infectées par le RSV-tk.

Seules des douleurs de grade 1 au point d'injection chez 10 des 16 patients furent reportées ainsi que la présence d'ecchymoses chez 1 seul patient, toutes résolues au bout d'une semaine.

L'évaluation de la toxicité hépatique révèle des augmentations des taux de transaminases de grade 1 chez 3 patients des cohortes 2 et 5. Au niveau hématologique, on retrouve une

leucopénie neutrophile de grade 2 chez 3 patients et de grade 1 chez 5 patients répartis dans tous les niveaux de dose étudiés. Une thrombocytopénie de grade 1 fut également présente chez 4 des 16 patients avec un délai de résolution d'1 semaine. Leurs causes ont été estimées être probablement imputables au vecteur plutôt qu'au GCV, en raison du délai rapide d'apparition et de résolution (1 semaine). Dernier AE observé majoritairement, la fièvre, apparue chez 12 patients soit 75% de la population incluse. Avec dans le détail, 1 évènement de grade 3, 4 de grade 2 et 7 de grade 1. Ces pics de fièvre furent atteints de 6 à 24 heures post-injection chez les patients avec 40,1°C en valeur maximale chez 1 patient. Leur traitement via paracétamol (650mg toutes les 4 à 6 heures) a permis leur résolution en quelques jours.

L'évaluation par les critères de réponse tumoraux WHO révéla une maladie stable chez 11 des 16 patients sachant que l'intégralité présentait une progression lors de leur inclusion dans l'essai (Figure 25). L'examen histopathologique par biopsie du patient 2 de la 3<sup>e</sup> cohorte révèle une nécrose étendue des tissus à 11 semaines post-traitement. Cependant, parmi les 6 patients biopsiés cela constitue la seule nécrose observée. Il est à noter que ce patient présentait une SD lors des examens d'imagerie. Une étude PCR des échantillons tumoraux fut également réalisée. L'ADN de l'Adv. RSV-tk n'était détectable dans aucun des prélèvements, orientant vers une absence de persistance du vecteur dans la tumeur dans les 11 à 43 semaines après son injection, dates auxquelles les biopsies furent réalisées. De plus, cela ne permet pas de conclure si la transduction a eu lieu dans l'ensemble des tumeurs injectées ou non (52).

| Patient number | Adv.RSV-tk (vp/patient) | Toxicities (actual value and CTC grade) |                        |            |                                   |                                        | Tumor response of injected tumor (WHO) | Survival (months after vector injection) |
|----------------|-------------------------|-----------------------------------------|------------------------|------------|-----------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
|                |                         | AST (U/L) <sup>a</sup>                  | ALT (U/L) <sup>b</sup> | Fever (°C) | WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) | Platelet ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) |                                        |                                          |
| 1-1            | $1.0 \times 10^{10}$    | 30 (0)                                  | 21 (0)                 | 37.5 (0)   | 4.3 (1)                           | 179 (0)                                | progression                            | 10.1                                     |
| 1-2            | $1.0 \times 10^{10}$    | 42 (0)                                  | 31 (0)                 | 38.1 (1)   | 6.8 (0)                           | 189 (0)                                | progression                            | 29.4                                     |
| 1-3            | $1.0 \times 10^{10}$    | 26 (0)                                  | 22 (0)                 | 37.5 (0)   | 3.6 (1)                           | 202 (0)                                | progression                            | 36.5                                     |
| 2-1            | $1.0 \times 10^{11}$    | 97 (1)                                  | 70 (1)                 | 38.5 (1)   | 3.6 (1)                           | 115 (1)                                | stable                                 | 21.5                                     |
| 2-2            | $1.0 \times 10^{11}$    | 32 (0)                                  | 16 (0)                 | 37.3 (0)   | 3.3 (1)                           | 201 (0)                                | stable                                 | 17.8                                     |
| 2-3            | $1.0 \times 10^{11}$    | 21 (0)                                  | 15 (0)                 | 38.7 (1)   | 4.4 (1)                           | 159 (0)                                | stable                                 | 40.5+                                    |
| 3-1            | $1.0 \times 10^{12}$    | 40 (0)                                  | 52 (0)                 | 39.7 (2)   | 5.0 (0)                           | 101 (1)                                | stable                                 | 11.4                                     |
| 3-2            | $1.0 \times 10^{12}$    | 22 (0)                                  | 15 (0)                 | 38.5 (1)   | 4.3 (1)                           | 144 (1)                                | stable                                 | 5.7                                      |
| 3-3            | $1.0 \times 10^{12}$    | 44 (0)                                  | 37 (0)                 | 39.3 (2)   | 4.1 (1)                           | 126 (1)                                | stable                                 | 11.3                                     |
| 4-1            | $3.3 \times 10^{12}$    | 34 (0)                                  | 23 (0)                 | 40.1 (3)   | 2.6 (2)                           | 41 (3)                                 | stable                                 | 11.6                                     |
| 4-2            | $3.3 \times 10^{12}$    | 25 (0)                                  | 42 (0)                 | 39.4 (2)   | 3.0 (1)                           | 214 (0)                                | stable                                 | 6.1                                      |
| 4-3            | $3.3 \times 10^{12}$    | 72 <sup>c</sup>                         | 43 <sup>c</sup>        | 39.1 (2)   | 3.7 (1)                           | 178 (0)                                | progression                            | 1.9                                      |
| 5-1            | $1.0 \times 10^{13}$    | 62 (1)                                  | 21 (0)                 | 37.6 (0)   | 2.6 (2)                           | 95 (1)                                 | stable                                 | 9.7                                      |
| 5-2            | $1.0 \times 10^{13}$    | 154 <sup>c</sup>                        | 60 <sup>c</sup>        | 38.5 (1)   | 7.0 (0)                           | 15 <sup>c</sup>                        | progression                            | 0.2                                      |
| 5-3            | $1.0 \times 10^{13}$    | 20 (0)                                  | 21 (0)                 | 38.7 (1)   | 2.0 (2)                           | 198 (0)                                | stable                                 | 15.8                                     |
| 5-4            | $1.0 \times 10^{13}$    | 53 (1)                                  | 19 (0)                 | 39.0 (1)   | 5.9 (0)                           | 135 (1)                                | stable                                 | 2.4                                      |

<sup>a</sup>Normal range 1–50 U/L.  
<sup>b</sup>Normal range 1–53 U/L.  
<sup>c</sup>Not related to study procedures.

**Figure 25 :** Doses, toxicités, réponses et survies des patients de l’essai après injection de l’Adv.HSV-tk/GCV.

Le journal *Cancer Clinical Research* publiait en 2017 les résultats d’un essai évaluant la tolérance, faisabilité et la réponse antitumorale immunitaire, suite à l’injection de cellules dendritiques autologues exprimant le gène CCL21 via un adénovirus. L’étude prévoyait 4 niveaux de doses :  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $3 \times 10^7$  DCs/injection et 17 patients présentant un NSCLC de stade IIIB/IV furent inclus. Deux injections, à J0 et J7 étaient programmées, en intratumoral, guidées par CT Scan ou bronchoscopie. Deux biopsies furent également réalisées lors de ces mêmes visites, ainsi que des échantillons sanguins. La réponse fut évaluée par imagerie à J28 et J56. Parmi les 17 patients inclus, 16 reçurent les 2 injections.

Le vaccin fut bien toléré par les patients et seuls 4 AEs, tous de grade 1, furent jugés comme potentiellement reliés. On retrouve des expectorations contenant du sang suivant l’injection, des syndromes grippaux, de la fatigue et des nausées.

L’évaluation de la réponse via CT Scan montre une maladie stable chez 4 patients sur 16 lors de la visite à J56. La survie médiane post-injection fut de 3.9 mois.

La recherche de marqueurs immuns exprimés suite à la vaccination fut également réalisée lors des différentes visites post-vaccination. On retrouve les Tumor Associated Antigen (TAA) associés au NSCLC basés sur la littérature : CEA, NY-ESO-1, MAGE-1, MAGE-3, P53, HER2/neu et SSX-2. Une réponse immunitaire, induite par la vaccination, fut observée chez 6 des 16 patients. Elle s’est traduite par augmentation de la production d’INF- $\gamma$  TAA spécifique chez 3 patients : SLC12, SLC23 et SLC3 (Figure 26).

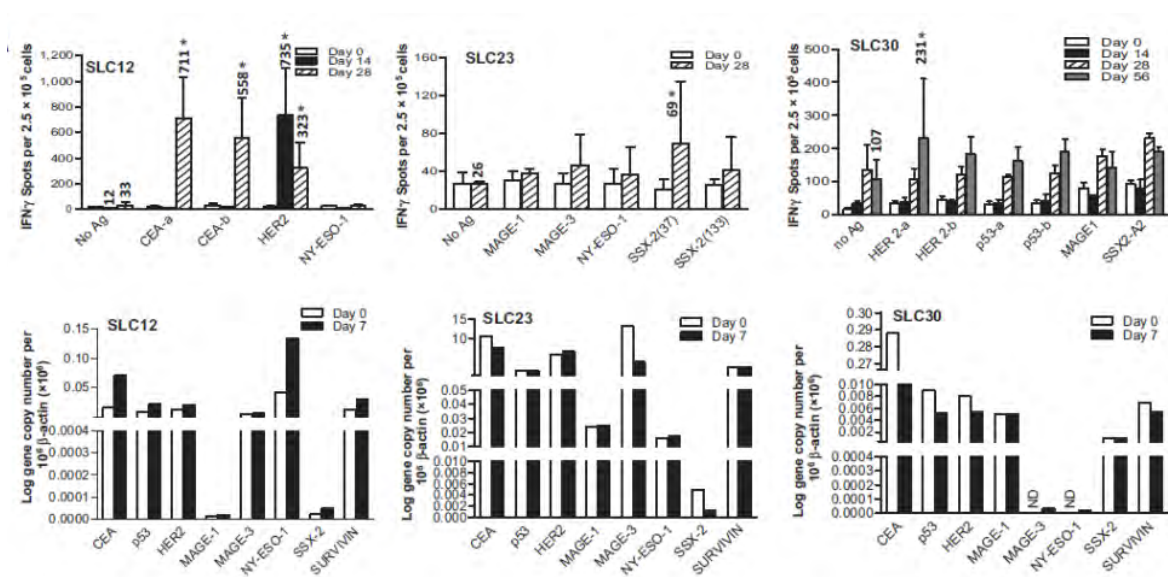


Figure 26 : Production d'INF- $\gamma$ , TAA spécifique et vaccination dépendante, chez les patients SLC12, SLC23 et SLC30.

Il est à noter également que parmi les 6 répondeurs, les 3 autres patients (SLC01, SLC07 et SLC28) ont présenté une réponse non TAA spécifique et indépendante de la vaccination. En effet, leur taux d'INF- $\gamma$  lors de la Baseline (J0) était très élevé mais diminua suite aux injections des DCs (Figure 27).

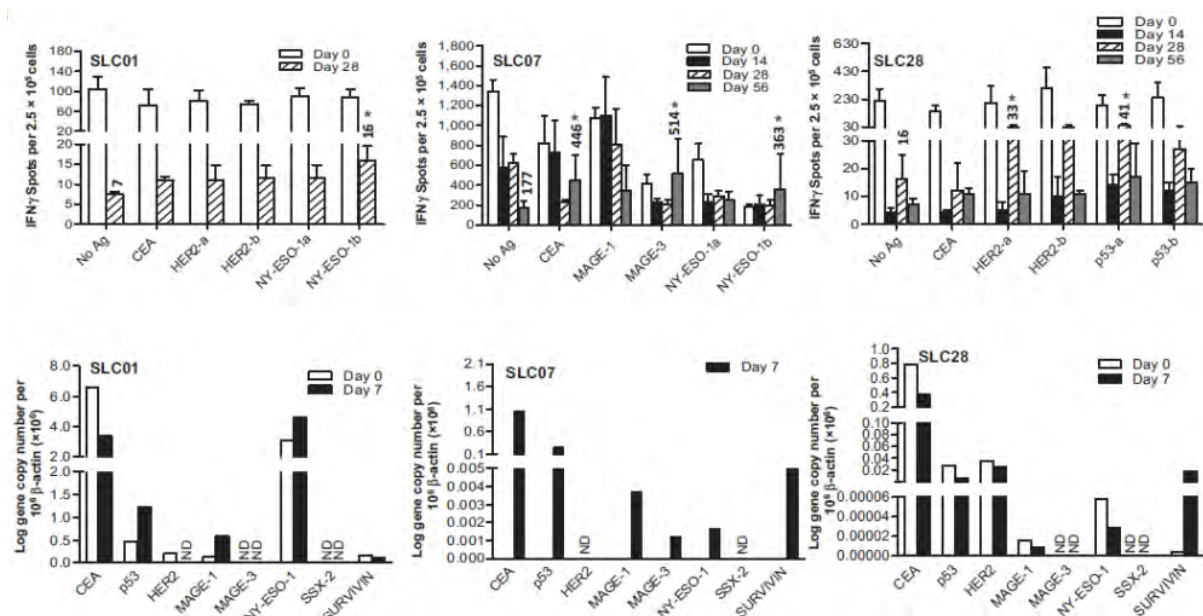


Figure 27 : Production d'INF- $\gamma$ , TAA non-spécifique et vaccination indépendante, chez les patients SLC01, SLC07 et SLC28.

Le taux d'expression de PD-L1 fut également corrélé à deux paramètres ; la production d'INF- $\gamma$  et l'augmentation de la population cellulaire tumorale en Lymphocytes T CD8+ suivant l'administration du vaccin. Il en résulte une augmentation significative du taux de PD-L1 à J7 chez les patients présentant un des LT CD8+ dans l'environnement tumoral (Figure 28). Cette adéquation n'est cependant pas valable pour la production d'INF- $\gamma$  post-vaccination. Ces résultats orientent vers une stimulation de l'infiltration tumorale par les LT CD8+ déclenchée par l'expression locale de CCL21, avec en parallèle une augmentation des taux de PD-L1 à J7. Ce homing de LT CD8+ fut observé chez 7 patients avec un facteur multiplicateur médian de 3,4 par rapport à la Baseline (70).

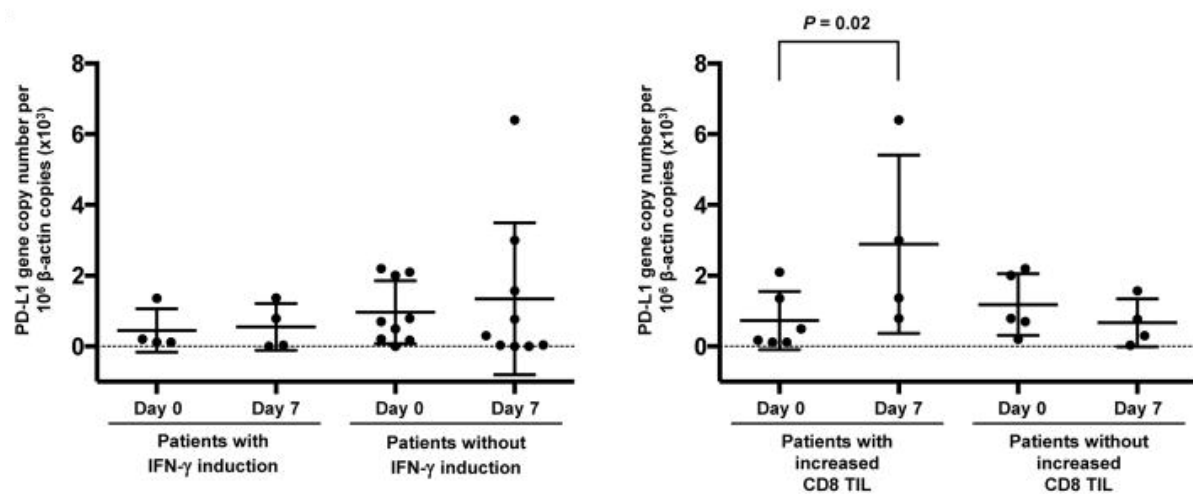
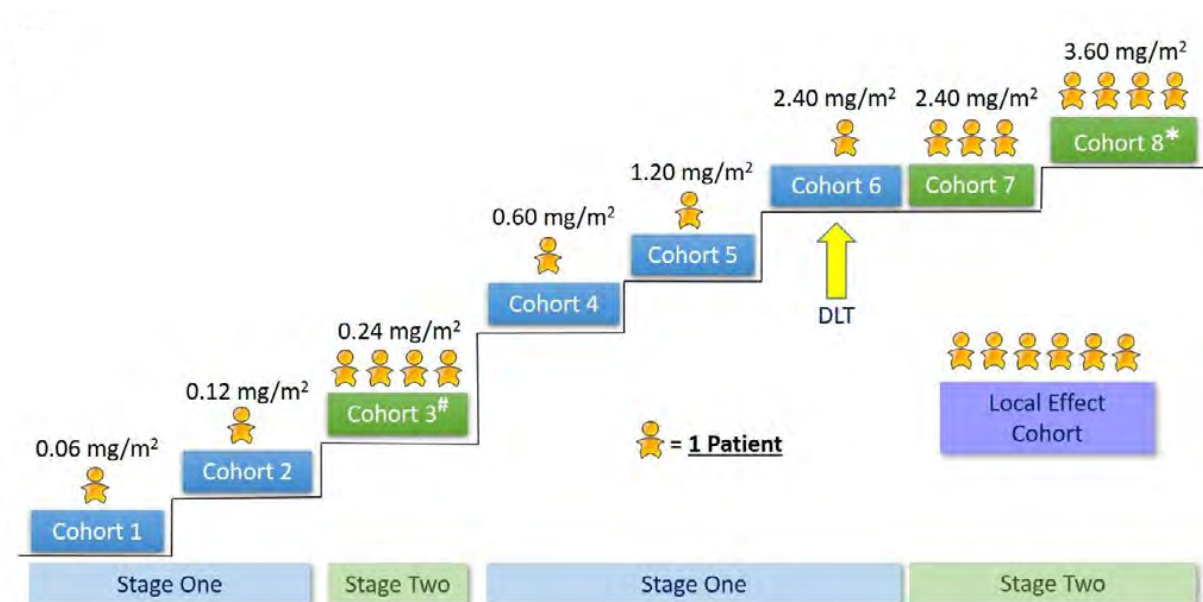


Figure 28 : Corrélation entre l'expression de PD-L1 et la production d'INF- $\gamma$  ou l'infiltration de LT CD8+.

Un essai de 2019, publié par *The Lancet* dans la revue *EBio Medecine*, rapporte les résultats de la tolérance du tigilanoltiglate (EBC-46), un activateur des protéines Kinase C (PKC) injecté dans des tumeurs superficielles (cutanées, sous-cutanées et nodulaires). Le schéma de l'étude comprenait 2 phases, la première est une escalade de dose avec 1 seul patient à chaque niveau de dose. La seconde comprend 3 patients minimum lorsqu'un SAE ou une DLT était constaté à un niveau de dose de la phase une (Figure 29). Au total, 22 patients furent inclus avec les pathologies suivantes, toutes de stades IV : 10 SCC, 3 mélanomes, 2 carcinomes basale cellulaire, 2 adénocarcinomes du sein et 1 fibroxanthome, 1 fibrosarcome, 1 carcinome adénoïde cystique et 1 angiosarcome. Les doses étaient multipliées par deux entre chaque palier et administrées en une fois, à J1. Les injections étaient réalisées dans 1 à 3 lésions maximum. Sept niveaux de doses de 0,06mg/m<sup>2</sup> à 3,6mg/m<sup>2</sup> furent administrés avec, en plus, un palier appelé LEC pour Local Effect Cohort. Cette cohorte de 6 patients fut créée

pour traiter les patients n'ayant pas un volume tumoral suffisant pour administrer les doses prévues par les paliers d'escalade de doses décrits précédemment. Ils reçurent, a posteriori, la plus haute dose possible en accord avec leur volume tumoral, une fois que celle-ci fut jugée tolérée par l'escalade de dose. La répartition était la suivante : 0,6mg/m<sup>2</sup> pour 1 patient, 1,2mg/m<sup>2</sup> pour 6 et 2,4mg/m<sup>2</sup> pour 1 patient.



**Figure 29** : Schéma d'escalade de dose et répartition des patients ayant reçu l'EBC-46.

La majorité des effets indésirables reliés au traitement étaient une réaction au niveau du site d'injection, avec cependant une corrélation entre la dose et le grade de l'événement. En effet, les douleurs de grade 3 ne sont apparues qu'à partir de la dose 2,4 mg/m<sup>2</sup> et suivante. Toujours au niveau des AEs de grade 3, une douleur abdominale et un stridor ont également été rapportés. Le premier patient du palier de dose 6, présentait une obstruction des voies aériennes supérieures de grade 4 qui fut considérée comme une DLT. Trois patients supplémentaires furent donc inclus à ce même palier de dose et aucun ne présenta de DLT. Une huitième cohorte, à la dose de 3,6 mg/m<sup>2</sup>, comprenant 4 patients au total, fut donc ouverte (il est à noter que l'inclusion du quatrième patient est due au sous-dosage d'un des 3 patients initiaux). L'absence de DLT parmi les patients de la cohorte 8 ne permit pas d'identifier de MTD mais les résultats, quant à la sécurité et les réponses observées, furent jugés suffisants pour stopper l'escalade de dose.

A niveau des réponses radiologiques observées, les critères RECIST 1.1 ont été utilisés sur les tumeurs injectées. On retrouve 1 CR, 3 PR, 10 SD, 1 PD et 1 non-évaluable pour les lésions injectées des 16 patients inclus dans l'escalade de dose. Pour les 6 patients de la cohorte LEC,

3 CR et 3 SD furent rapportées au niveau des sites d'injections. Il est intéressant de souligner que 2 patients de la cohorte LEC ont présenté une réponse dite anenestic. Le patient #102 présentait 4 lésions cutanées consécutives à son mélanome. Seule les 3 supérieures furent injectées. La 4<sup>e</sup> lésion s'est résorbée durant le suivi du patient (post J22) (Figure 30). Le patient 404 qui présentait un mélanome métastatique au niveau ganglionnaire (parotide, axillaire) est resté 33 semaines sans trace de la maladie à ces emplacements (81).

### Patient 102

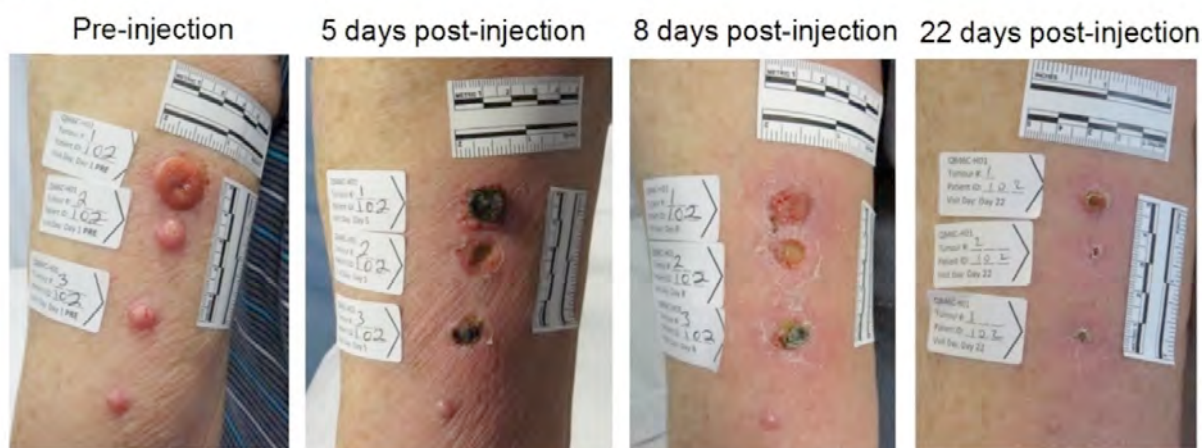


Figure 30 : Photos des lésions cutanées du patient 102 pré-injection puis 5, 8 et 22 jours post-observation de la réponse anenestic au niveau de la 4<sup>e</sup> lésion.

Un autre virus oncolytique, le Cocksackievirus A21 (CVA21) fut testé au sein d'une population de 9 patients présentant un mélanome de stade IV. Deux injections espacées de 48 heures étaient prévues, sur 3 niveaux de doses :  $1.0 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>,  $1.0 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub> et  $1.0 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub>. Les 2 injections furent bien tolérées par tous les patients et, malgré une dose cumulée de  $2 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub> pour les patients du dernier niveau de dose, la MTD ne fut pas atteinte. Les lésions de 5 des 9 patients se sont soit stabilisées, soit ont vu leur taille diminuer. Cependant, d'après les critères RECIST 1.0, aucune réponse objective (CR, PR) ne fut observée et seuls 2 patients présentèrent une SD. Du point de vue pharmacodynamique, un taux sérique élevé de GM-CSF fut rapporté chez 2 patients dont la taille des lésions injectées avait significativement diminuée. La corrélation de ces 2 événements pourrait suggérer une réponse antitumorale immuno-médiée (103).

Ces 12 essais mettent en avant une bonne tolérance de la stratégie d'injection locale. Seuls 3 essais rapportent des AEs systémiques dont le majoritaire retrouvé parmi les patients est la fièvre. Des effets indésirables ont été observés dans 3 études également mais s'avèrent être plus diverses. On retrouve des douleurs au site d'injection, des pustules ainsi qu'un œdème. Ces observations orientent vers une faisabilité et une sécurité de cette stratégie thérapeutique.

L'efficacité, bien que ne figurant pas parmi les objectifs principaux des essais précédemment décrits, dépend de la stratégie adoptée. Trois d'entre elles ont été étudié ici ; les virus oncolytiques, les cellules du système immunitaire et les immuno-modulateurs métaboliques. On notera cependant la présence de réponses encourageantes à l'imagerie, au niveau de la PFS et de la survie.

### **2.1.3. Essais de Phase I/Ib**

La faisabilité et la toxicité de l'administration en local de cDNA IL-12, dans le but de déclencher une réponse anticancéreuse immune, furent évaluées dans un essai publié en 2007. Bien que mono-centrique, cet essai a inclus 12 patients présentant des lésions métastatiques cutanées ou sous-cutanées. Deux groupes de traitements de 6 patients furent étudiés. Le premier groupe recevait 3 injections à une fréquence de 3 par semaine, aux jours 1, 3 et 5. Le groupe 2 recevait une injection aux jours 1, 3, 5, 8, 10 et 12. Pour chaque patient, l'injection avait lieu dans la même lésion à chaque fois. Si un patient présentait une réponse locale ou de type SD, une seconde série d'injections, avec les mêmes modalités décrites précédemment, démarrait à J28. L'évaluation de la réponse était basée sur les critères RECIST tous les 28 jours. Les taux d'IL-12 et d'INF- $\gamma$  sériques furent également évalués à la suite de chaque injection.

Les résultats de la toxicité ne révélèrent que des effets indésirables de grade 1 au nombre de 2 parmi la totalité des patients. Au niveau systémique, 6 furent dénombrés et également tous de grade 1. Les taux sériques d'IL-12 et d'INF- $\gamma$  furent indétectables chez tous les patients et ce à n'importe quel moment de l'étude.

L'activité antitumorale au niveau local fut constatée chez 7 des 12 patients avec notamment 5 réponses partielles (PR) et 4 SD. Cependant, aucunes réponses systémiques ne furent constatées même chez les meilleurs répondeurs au niveau local (Figure 31) (83).

| <i>Patient number</i> | <i>Lesion number</i> | <i>Change in diameter (%)</i> | <i>Total number of injections</i> | <i>Response</i> | <i>Local progression</i> |
|-----------------------|----------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------|
| 1                     | 1                    | -75                           | 6                                 | PD              | Y                        |
|                       | 2                    | 80                            |                                   |                 |                          |
| 2                     | 1                    | 0                             | 3                                 | SD              | N                        |
| 3                     | 1                    | -36                           | 3                                 | SD              | Y                        |
| 4                     | 1                    | 43                            | 6                                 | PD              | Y                        |
| 5                     | 1                    | ND                            | 1                                 | ND              | Y                        |
| 6                     | 1                    | -28                           | 3                                 | SD              | Y                        |
| 7                     | 1                    | -75                           | 6                                 | PD              | Y                        |
|                       | 2                    | 55                            |                                   |                 |                          |
| 8                     | 1                    | -30                           | 6                                 | PD              | Y                        |
|                       | 2                    | 8                             |                                   |                 |                          |
| 9                     | 1                    | -11                           | 6                                 | PD              | Y                        |
| 10                    | 1                    | 0                             | 12                                | SD              | N                        |
| 11                    | 1                    | -80                           | 12                                | SD              | N                        |
| 12                    | 1                    | 33                            | 12                                | PD              | Y                        |

Figure 31 : réponses antitumorales observées à J29.

#### 2.1.4. Essais de Phase Ib

Un essai de plus petite envergure, single center, regroupant 6 patients au total, publiait ses résultats en 2003. Un recombinant humain de l'interleukine-12 (irIL-12) était injecté par la voie intratumorale à 2 niveaux de dose, le premier à 100ng/kg et le second à 300ng/kg, avec une fréquence d'injection hebdomadaire et pour une durée maximale de 24 semaines. La population à l'étude était composée de patients présentant un HNSCC soit de récurrence locale, soit métastasée au niveau sous-cutanée ou ganglionnaire. L'objectif primaire fut défini autour de la tolérance et de la faisabilité et en objectif secondaire, l'étude pharmacocinétique et pharmacodynamique de l'irIL-12 injecté en IT. Les zones d'injections furent établies comme suit : au niveau de la zone de récurrence locale pour 2 patients et au niveau ganglionnaire pour les 4 autres.

Les 2 cohortes, composées de 3 patients chacune, ont obtenu de bons résultats au niveau de la tolérance, avec pour seul effet indésirable clinique associé au traitement une fièvre de grade 2, avec une temporalité d'apparition de 8 à 12h post-injection et absente après les injections suivantes. Seul 1 patient a présenté cet AE après chaque injection. Aucune DLT ne fut rapportée. Au niveau des résultats biologiques, une majoration des lymphopénies fut constatée chez tous les patients, avec un grade 4 (n=4) et un grade 3 (n=1). Il est à noter que ces patients

présentaient une lymphopénie de grades 2 ou 3 à la Baseline. Pour ce qui est des réponses à l'imagerie, une diminution de la vitesse de progression fut constatée chez 2 patients, avec une SD toujours présente à 10 mois pour le patient de la cohorte 1 et une SD à 12 mois chez celui de la cohorte 2. Les autres patients ont tous présenté une progression lors de l'essai.

Pour la partie concernant l'exploration de la pharmacocinétique de l'irIL-12, celui-ci fut observé au niveau plasmatique à t=30min post-injection chez tous les patients. Pour l'aspect pharmacodynamique, une réduction des lymphocytes et des sous-groupes (CD3, CD4, CD8, CD20 et CD56+CD53) fut constatée de manière transitoire suivant l'injection (Figure 32). La plus forte diminution fut observée à 12 et 24h post-dose et le retour à la normale à 96h (76).

| Lymphocyte subset | t = 0     | t = 4     | t = 12    | t = 24  | t = 48    | t = 72    | t = 96    |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Total lymphocytes | 697 ± 199 | 380 ± 120 | 145 ± 412 | 195 ± 5 | 445 ± 175 | 573 ± 224 | 629 ± 102 |
| CD3 + cells       | 392 ± 138 | 219 ± 86  | 64 ± 57   | 92 ± 25 | 270 ± 195 | 389 ± 90  | 345 ± 118 |
| CD4 + cells       | 181 ± 93  | 128 ± 68  | 49 ± 46   | 62 ± 22 | 163 ± 95  | 233 ± 58  | 174 ± 78  |
| CD8 + cells       | 168 ± 59  | 72 ± 43   | 13 ± 12   | 20 ± 4  | 87 ± 72   | 116 ± 39  | 114 ± 77  |
| CD20 + cells      | 70 ± 60   | 40 ± 24   | 39 ± 39   | 17 ± 8  | 52 ± 16   | 48 ± 37   | 46 ± 10   |
| CD56 + CD3-cells  | 135 ± 160 | 50 ± 43   | 30 ± 40   | 17 ± 19 | 101 ± 79  | 207 ± 11  | 150 ± 86  |

**Figure 32 :** Valeurs moyennes ± SD du nombre absolu (cellules/μg) de lymphocytes ou des lymphocytes exprimant CD3, CD4, CD8, CD20 et CD56 en l'absence de CD3 présent dans les prélèvements de sang périphérique avant (t=0) et après (t=4, 12, 24, 48, 72 et 96h) la première injection d'irIL-12 à la dose de 100ng/kg ou 300 ng/kg.

### 2.1.5. Essais de Phase I/II

En 2018 furent présentés à l'ESMO les résultats intermédiaires d'un essai de Phase I/II portant sur la faisabilité et la sécurité de l'injection du MK-4621 (RGT100) en intratumoral chez 15 patients. Les injections étaient réalisées 2 fois par semaines pendant 4 semaines. Un design d'escalade en 3+3 réparti sur 4 cohortes fut choisi pour explorer la tolérance des doses allant de 0,2 à 0,8mg. Trois patients furent inclus dans les 3 premières cohortes et 6 dans la dernière. Les principaux AEs furent la fièvre et la fatigue présents chez 11 patients, suivis par les maux de tête chez 5 patients et la nausée chez 4 patients. La fatigue, chez 6 des 11 patients et la fièvre, chez 11 patients, furent attribuées au traitement à l'étude. Au niveau de la sévérité des effets indésirables reliés au traitement, 3 événements de grade 3 furent observés : la fièvre, la douleur et l'anxiété. Aucune DLT ne fut reportée à la fin de l'essai. Au niveau de l'efficacité, 4 SD ont été observées après les 4 semaines de traitement. Au niveau systémique, une exposition minimale fut observée par les investigateurs, ainsi qu'une augmentation des taux circulants d'IL-6 et d'INF-γ (104).

Un second essai de Phase I/II datant de 2012 a inclus 9 patients avec un cancer du pancréas non résecable dans 2 cohortes, 4mg (n=3) et 8mg (n=6). Le design était de 2 injections par semaine, pendant 2 semaines. L'IP à l'étude était le BC-819 injecté en intratumoral au niveau des lésions pancréatiques. L'intégralité des 9 patients reçurent un total de 4 injections prévues par le protocole. L'évaluation de la DLT se fit sur 4 semaines. La réponse tumorale fut examinée par imagerie à la semaine 4. Une seconde évaluation fut réalisée lors de la visite des semaines 5 ou 6 pour une éventuelle résection tumorale.

Les patients de la première cohorte n'ont pas présenté d'effets indésirables à l'IP. Trois patients de la seconde ont présenté les effets indésirables suivants : anémie grade 1 chez 1 patient, diarrhée grade 1 pour le deuxième et une élévation de l'amylase grade 2, ainsi qu'une élévation des lipases de grade 3 pour le dernier. Seule l'élévation des lipases fut considérée comme une DLT mais aucun patient supplémentaire ne fut nécessaire car son apparition se fit chez le dernier patient inclus. Un retour à la normale fut constaté 6 semaines plus tard.

Au niveau des concentrations plasmatiques, le BC-819 était absent après un maximum de 4 jours post-injection. Le pic plasmatique fut variable au niveau du temps mais une majorité de patients présentait un taux maximal 15 minutes après l'injection.

La réponse tumorale à 4 semaines révéla 5 SD pour 4 PD avec, lors du follow-up à 3 mois, 3 PR, 3 SD et 3 PD (Figure 33). Il est à noter que les patients 204 et 604 n'ont pas reçu de traitements après la fin de l'essai et que le patient 1102 a pu bénéficier d'une résection complète 3 mois après la fin de l'étude, grâce à l'apport de la chimio-radiation (84).

| Cohort # | Subject ID | End of study at 4 weeks | 3 Months        | Other treatments                                |
|----------|------------|-------------------------|-----------------|-------------------------------------------------|
| 1        | 201        | PD                      | PD              | None                                            |
| 1        | 202        | PD                      | SD              | Chemotherapy                                    |
| 1        | 602        | SD                      | PD              | Chemotherapy                                    |
| 2        | 204        | PD <sup>a</sup>         | PR <sup>a</sup> | None                                            |
| 2        | 205        | SD                      | PR              | Chemotherapy                                    |
| 2        | 301        | PD                      | SD              | Chemotherapy                                    |
| 2        | 501        | SD                      | PD              | Radiation                                       |
| 2        | 604        | SD <sup>b</sup>         | PR <sup>b</sup> | None                                            |
| 2        | 1102       | SD                      | SD              | Chemoradiation - Complete Resection at 3 months |

**Figure 33** : Réponse tumorale à la fin de l'étude (4 semaines) et lors du follow-up à 3 mois. (a) Le patient 204 présentait une potentielle nouvelle lésion à 4 semaines qui ne fut pas retrouvée lors de l'examen à 3 mois. Ce même examen révéla une diminution de plus de 30% de la lésion cible. (b) Le patient 604 présentait une lésion stable à 4 semaines mais une diminution de plus de 30% lors de l'examen suivant.

## 2.2. Essais de Phases Précoces en combinaison

Les résultats d'un essai de Phase Ib combinant le SD-101 administré en IT et le pembrolizumab administré en IV furent publiés en 2018. Ciblant une population de patients présentant un mélanome de stade III et de stade IV. L'étude était construite en escalade de dose pour le SD-101 en intratumoral, aux doses 1, 2, 4 et 8mg par injections avec en parallèle le pembrolizumab en IV à dose constante de 200mg Q3W. Le SD-101 était injecté avant le pembrolizumab. En tout, 22 patients furent inclus et répartis dans 4 cohortes, chacune pour un niveau de dose de SD-101. La première cohorte a regroupé 6 patients, la deuxième et la troisième 5 patients. 6 patients furent inclus dans la cohorte 4 à la dose de 8mg. Les injections de SD-101 étaient programmées aux jours 1, 8, 15 et 22, puis toutes les 3 semaines. Les injections de pembrolizumab étaient programmées au jour 1, puis toutes les 3 semaines. La période de DLT correspondait aux 28 jours suivants la première injection de SD-101. La réponse par imagerie obtenue au bout de 60 jours. Au niveau de la PK/PD, des prélèvements sanguins ainsi que des biopsies furent réalisés afin d'établir le profil immunitaire des tumeurs, l'expression de gènes inflammatoire, ainsi que l'infiltration lymphocytaire.

Aucune DLT ne fut reportée, cependant tous les patients traités ont présenté des effets indésirables reliés aux traitements avec une minorité d'AEs de grade 3 ou supérieurs. Concernant le SD-101, 3 effets indésirables de grade 3 ou 4 lui furent attribués : frissons, myalgie et douleur au site d'injection. Ils furent constatés 6 fois comme suit : 3 occurrences dans la première cohorte, 2 dans la seconde et 1 dans la troisième. Concernant le

pembrolizumab, il fut à l'origine de 5 AEs de grade 3/4. Suite à ces effets indésirables, 1 patient a dû arrêter les injections de SD-101 et un second la combinaison des IPs à l'étude. Sur les 22 patients traités, 9 ont présenté une réponse (7 PR, 2 CR), 5 un contrôle de leur maladie (SD) et 6 ont progressé (PD). Deux patients n'ont pas pu être évalués. En affinant le terrain de ces 20 patients, 8 n'avaient jamais été traités par une immunothérapie de type anti-PD1/PD-L1 et contre 12 patients précédemment traités (Figure 34).

|                      | Naïve to prior anti-PD-1/PD-L1 therapy (N = 9) | Received prior anti-PD-1/PD-L1 therapy (N = 13) |
|----------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| BOR by investigator  | n (%)                                          | n (%)                                           |
| ORR                  | 7 (78)                                         | 2 (15)                                          |
| CR                   | 2 (22)                                         | 0                                               |
| PR                   | 5 (56)                                         | 2 (15)                                          |
| SD                   | 0                                              | 5 (38)                                          |
| PD                   | 1 (11)                                         | 5 (38)                                          |
| Disease control rate | 7 (78)                                         | 7 (54)                                          |
| Unevaluable          | 1 (11)                                         | 1 (8)                                           |

Figure 34 : Réponses observées chez les patients de l'étude à J60 post-injection.

Les résultats des explorations pharmacodynamiques révèlent une corrélation entre l'augmentation de l'activité des sous-groupes lymphocytaires T, CD8+, NK et Cytotoxiques intratumoraux et la diminution de la charge tumorale chez les patients (Figure 35) (29).

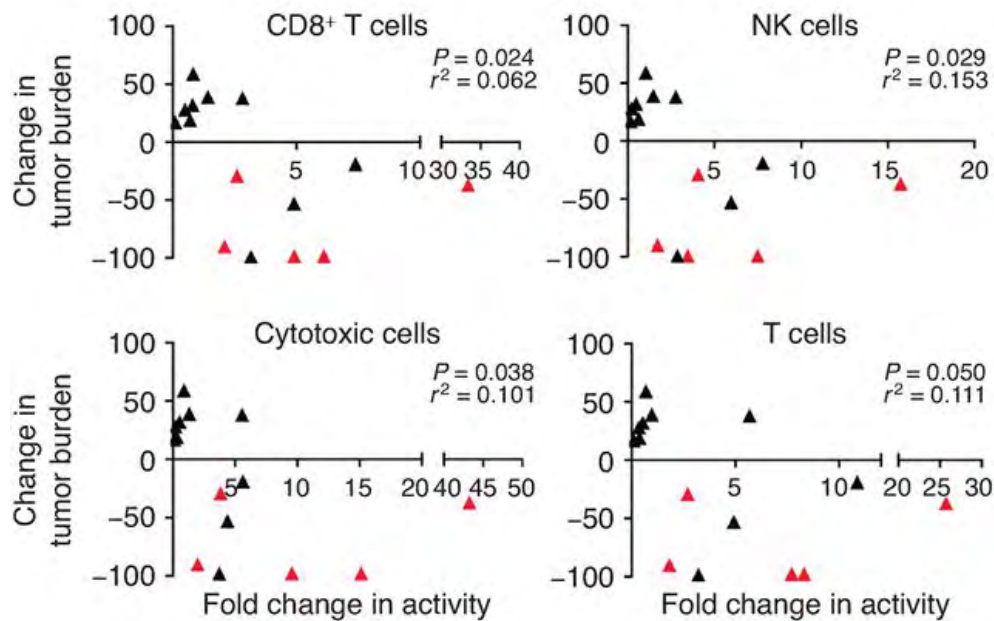


Figure 35 : modification de l'activité corrélée à la charge tumorale entre les jours 1 et 29 de l'étude chez les patients inclus. Les marqueurs rouges indiquent les patients naïfs en immunothérapie PD1/PD-L1.

Toujours dans le cadre de l'étude d'injections intratumorales combinées à de l'immunothérapie IV, un essai de 2016 publié dans *Journal of Clinical Oncology* étudiait le Talimogene Laherparevec (T-VEC), un virus oncolytique dans le traitement de mélanomes non-résécable de stade IIIB-IV. L'association était avec l'ipilimumab en IV toutes les 3 semaines à la dose de 3mg/kg. Le T-VEC fut d'abord injecté seul, à la dose de  $10^6$  pfu/mL, pour la 1<sup>ère</sup> injection, au niveau des lésions cutanées, sous-cutanées ou des ganglions superficiels, puis  $10^8$  pfu/mL. La première injection était programmée au jour 1 de la première semaine, puis les suivantes à partir du jour 1 de la 4<sup>e</sup> semaine et à un rythme bimensuel (Figure 36). Au total, 19 patients furent inclus pour une durée de traitement médiane de 13.3 semaines et pour une durée de suivi médiane de 20.0 mois.

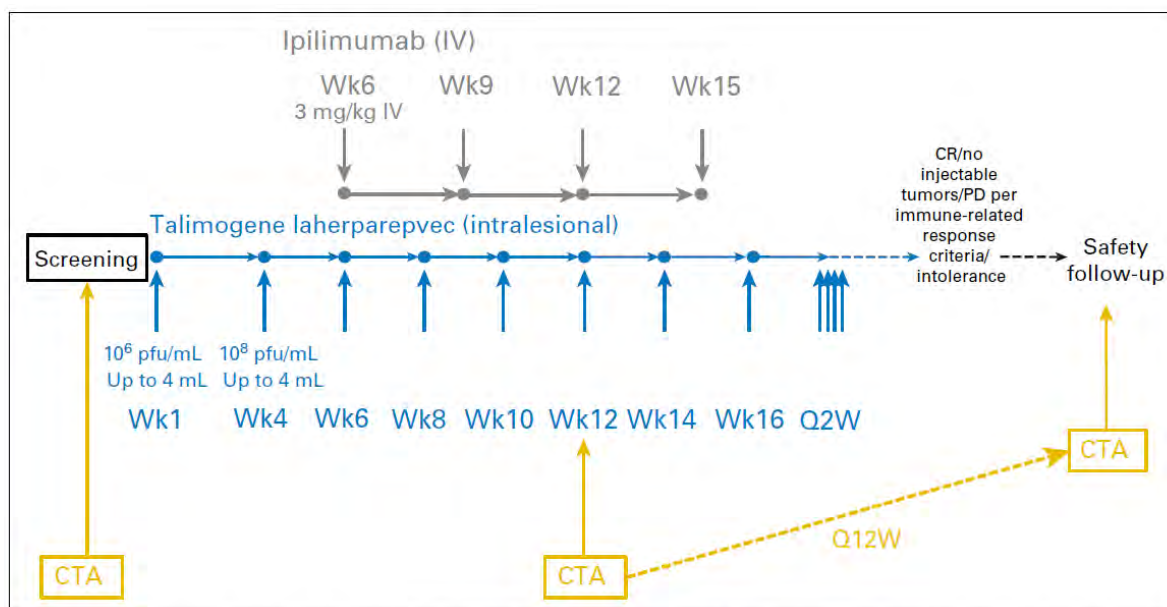


Figure 36 : Schéma d'administration de l'étude. (CTA = clinical tumoral assessment).

La combinaison des 2 traitements fut bien tolérée, avec aucune DLT rapportée et aucun effet indésirable n'a conduit à l'arrêt d'un des traitements à l'étude. Cependant, 3 patients ont observé un événement de grade 3 ou plus, attribué au T-VEC : fièvre, fatigue, diarrhée, nausée, syndrome pseudo-grippal, déshydratation et vomissement. Pour l'ipilimumab, 4 patients ont présenté les mêmes AEs de grade 3 ou plus. Aucun grade 5 n'a été rapporté pendant la durée de l'étude. Les résultats d'imagerie obtenus sur les 19 patients montrent un ORR de 50% avec 4 CR, 5 PR, 4 SD et 6 PD (Figure 37). Ces réponses furent constatées autant au niveau des lésions injectées que des non-injectés. Les auteurs ont également observé une augmentation des taux de lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, activés lors du traitement par T-VEC, seul chez les patients ayant une maladie contrôlée (45).

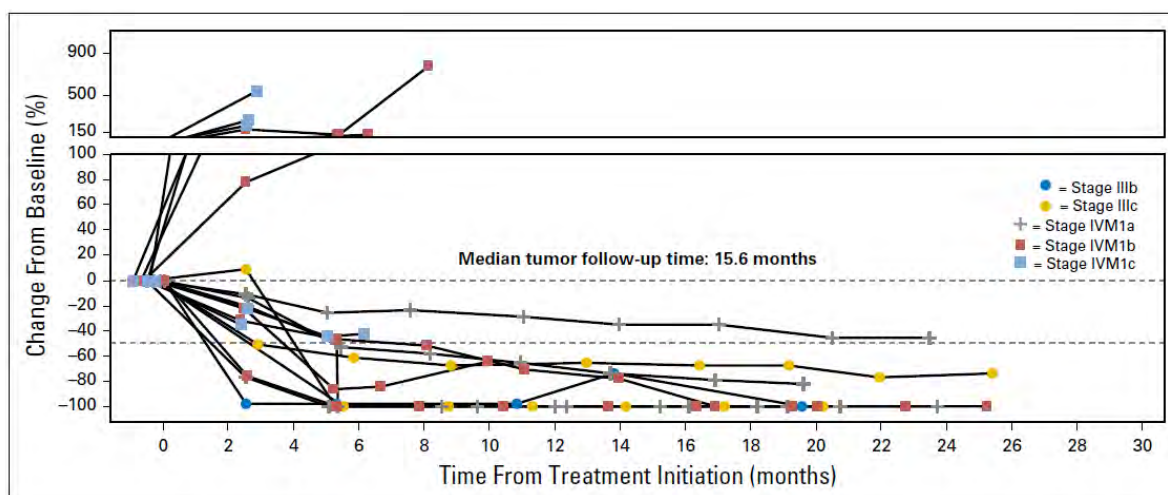


Figure 37 : Réponse tumorale en fonction du stade de la maladie chez les patients de l'étude.

Le T-VEC fut également étudié en combinaison avec le pembrolizumab, dans un essai de phase Ib appelé MASTERKEY-265 dont les résultats furent publiés en 2016. Il portait sur un total de 21 patients présentant un mélanome de stade IIb-IV non résecable. Le T-VEC fut administré à la dose de  $10^6$  pfu/mL au jour 1 de la première semaine, puis à la dose  $10^8$  pfu/mL au jour 1 de la troisième semaine et toutes les 2 semaines en suivant. La combinaison avec le pembrolizumab débutait au jour 1 de la semaine 5 et toutes les 2 semaines en suivant. Afin d'étudier l'impact du T-VEC sur le microenvironnement tumoral, d'abord seul puis en combinaison avec le pembrolizumab, 3 biopsies étaient prévues : la première avant l'initiation du traitement, la seconde avant la seconde dose de T-VEC et l'administration du pembrolizumab (semaine 6), et la troisième durant le traitement par la combinaison à la semaine 30.

Aucune DLT ne fut constatée pour la combinaison T-VEC + pembrolizumab. Le seul effet indésirable le plus sévère résultant de la combinaison fut 1 IRR ayant entraîné l'hospitalisation du patient. Au niveau des IPs à l'étude, le T-VEC a provoqué un événement indésirable de grade 3 ou supérieur : mal de tête. Le pembrolizumab, quant à lui, fut responsable d'une hépatite auto-immune, d'une méningite aseptique, toutes deux de grade 3 et d'une pneumonie de grade 4. Pour ce qui est des AEs ayant l'incidence la plus élevée, on retrouve la fatigue (62%), le rash (33%) et l'arthralgie (33%), pour le pembrolizumab ; la fatigue (62%), les frissons (48%) et la fièvre (43%), pour le T-VEC. La réponse tumorale fut évaluée à 6 semaines (avant la première administration de pembrolizumab), à 18 semaines, puis toutes les 12 semaines, pendant la durée de l'étude. A 18 mois, on remarque un ORR de 61,9% parmi les patients avec 7 CR, 6 PR et 3 SD. Les réponses des lésions cibles furent

particulièrement intéressantes, avec une diminution de 100% chez 11 patients et de au moins 50% chez 15 (Figure 38).

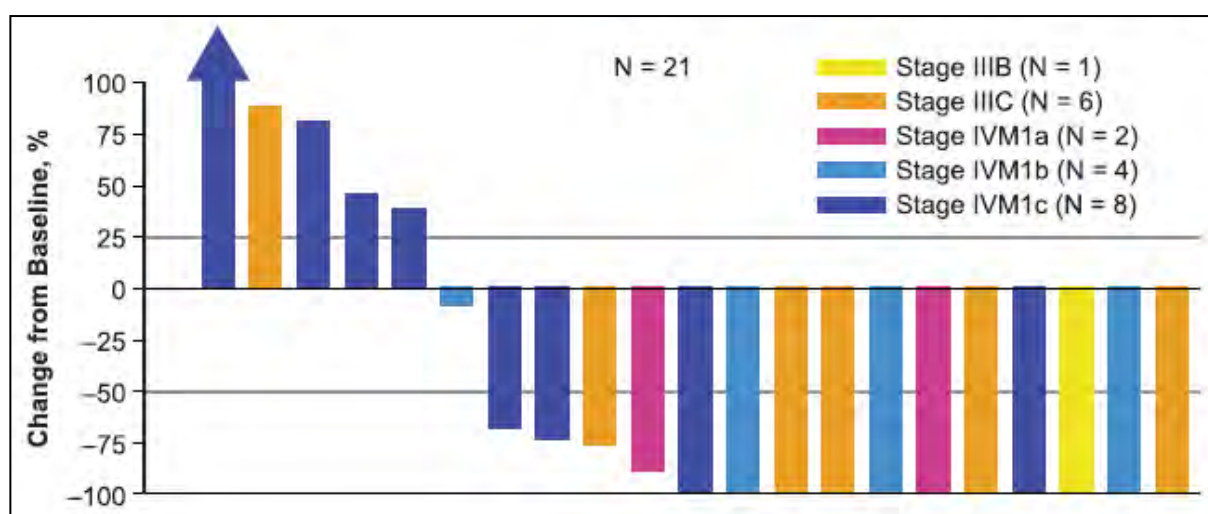


Figure 38 : Evolution des lésions cibles en pourcentage par rapport à la baseline chez les 21 patients de l'étude MASTERKEY-265.

Parmi les objectifs secondaires de l'étude on retrouve l'évaluation du PFS et de l'OS chez les patients. On note un PFS d'environ 70%, à 18 mois et un OS de 90%, à 20 mois (Figure 39). Ces résultats ont engendré la mise en place d'une Phase II puis III sous l'appellation KEYNOTE-034, qui sera traitée ultérieurement (105,106).

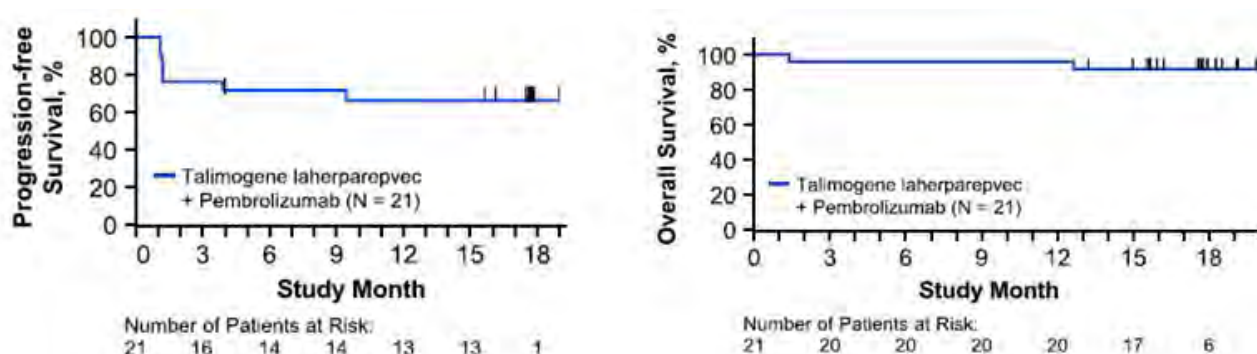


Figure 39 : PFS et OS exprimés en mois des 21 patients de l'étude MASTERKEY-265.

Au cours de l'année 2017, les résultats d'une étude (MITCI) portant sur la faisabilité de la combinaison du Coxsackievirus CVA21 et de l'ipilimumab furent présentés en 2 temps. Une première communication à l'ASCO 2017 rapportait les données récupérées sur 13 patients ayant tous reçu une immunothérapie anti-PD-1 au préalable. La seconde communication a eu lieu ultérieurement, en 2017 pour l'AACR, et portait sur un total de 23 patients. Le schéma d'administration prévoyait une seule dose de CVA21 ( $3 \times 10^8 \text{TCID}_{50}$ ) aux jours 1, 3, 5, 8 et 22. Les injections suivantes étaient séparées de 3 semaines avec un maximum de 6 séries supplémentaires. La combinaison avec l'ipilimumab démarrait au jour 22, à la dose de 3 mg/kg toutes les 3 semaines.

Aucune DLT n'a été rapportée pour la combinaison qui fut bien tolérée. Seul 2 événements de grade 3 furent observés : une fatigue et une toxicité hépatique, toutes deux imputables à l'ipilimumab. Les résultats, bien que préliminaires, font état d'un ORR chez 9 des 18 patients évaluables au moment du data cut-off. Seuls 4 des 18 patients ont progressé. Plusieurs autres données sont intéressantes. Tout d'abord, parmi les patients inclus, 3 sur 8 ont répondu à la combinaison, alors qu'ils avaient progressés lors de leur traitement par immunothérapie anti-PD-1 précédente. Deuxièmement, l'intégralité des 7 patients ayant un stade IVm1c ont présenté une maladie à minima contrôlée, depuis l'administration de la combinaison. Pour finir, une augmentation de la population de cellules T CD8 activées et T CD4 fut constatée dans le sang périphérique des patients, avec un pic suivant la 3<sup>e</sup> injection d'ipilimumab (59,107,108). Il est à noter que l'A21 avait été testé en Phase I en monothérapie précédemment (103).

Une extension de cette étude en phase II avec des inclusions supplémentaires fut réalisée et sera traitée ultérieurement.

La même année, l'abstract d'un second essai (CAPRA) avec le Coxsackievirus CVA21 fut présenté, mais cette fois-ci en combinaison avec le pembrolizumab en IV. La population à l'étude concernait toujours les patients atteints d'un mélanome de stade avancé précédemment traités ou non. Le schéma de dose s'articulait comme suit : le CVA21 en monothérapie IT aux jours 1, 3, 5, 8 puis toutes les 3 semaines avec un maximum de 19 injections. La dose était fixée à  $3 \times 10^8 \text{TCID}_{50}$ . L'ajout du pembrolizumab à la dose de 2mg/kg, démarrait à la fin de la première série d'injections du CVA21, au jour 8, puis toutes les 3 semaines. Une analyse intermédiaire était prévue après l'inclusion des 12 premiers

patients, et les résultats préliminaires rapportent des données sur 11 patients évaluable sur les 14 patients inclus au moment de la publication des données.

Concernant la tolérance des IPs, seuls des AEs de grades inférieurs à 3 furent constatés pour le CVA21, et ceux associés au pembrolizumab furent conformes à ceux attendus par le RCP. Une réponse fut observée chez 8 des 11 patients avec un délai médian de 1,6 mois. Si l'on ajoute les SD observées, c'est 10 patients au total qui ont vu leur maladie être contrôlée. A la vue de ces résultats, le nombre de patients attendus a été porté à 50 et les résultats sont en attente de publication (109).

Toujours sous forme d'abstract, en 2019 fut présenté au meeting annuel SITC, la combinaison du CMP-001, un agoniste du TLR9 en intratumoral, et du pembrolizumab en IV chez des patients atteints de mélanomes avancés et résistants aux traitements standard. Cet essai de Phase Ib avec une extension en 2 parties a réuni les données de 144 patients. Tout d'abord en escalade de dose avec 44 patients, puis en extension avec 69 patients pour la première et 31 pour la seconde. L'escalade de dose comprenait 5 niveaux (1, 3, 5, 7.5 et 10mg) administrés, soit toutes les semaines pendant 7 semaines puis à intervalles de 3 semaines, ou toutes les semaines pendant 2 semaines puis toutes les 3 semaines. Le pembrolizumab, lui, était administré toutes les 3 semaines à la dose de 200mg. La première extension de l'étude voyait les patients recevoir le CMP-001 à la dose de 5 ou 10mg, tandis qu'une seule dose à 10mg était administrée dans la seconde. L'extension n'a recruté que des patients ayant reçu une immunothérapie anti PD-1 précédemment. En parallèle, une autre cohorte fut ouverte pour étudier l'efficacité du CMP-001 en monothérapie avec 24 patients.

Les résultats montrent, pour la combinaison avec le pembrolizumab, un ORR de 22,7% pour l'escalade de dose qui augmente à 25,8% dans l'extension, montrant l'intérêt d'utiliser une dose à 10mg. L'administration d'une forme diluée du CMP-001 révéla une diminution de l'ORR pour cette cohorte. Sur l'ensemble de la partie monothérapie, l'ORR fut de 22% mais une progression fut constatée lors de la seconde évaluation par imagerie (Figure 40). A noter que les cohortes d'extension révèlent une levée de la résistance à l'immunothérapie chez les répondeurs. Pour ce qui est de la tolérance, aucune DLT ne fut observée et la majorité des AEs, reliés à la combinaison ou la monothérapie, furent des syndromes pseudo-grippaux et des réactions au site d'injection. Des effets indésirables de grade 3 ou supérieurs furent reportés chez 1/3 des patients ayant reçu la combinaison et chez 22% des patients inclus dans

la partie monothérapie. Les résultats des biopsies réalisées pendant l'étude corroborent le mécanisme d'activation du TLR9.

|                               | CMP-001 + Pembrolizumab<br>N = 144 |                            |                            |                               | CMP-001 monotherapy<br>N = 23 |                                              |                              |                                                      |
|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------|
|                               | Dose<br>escalation<br>N = 44       | First expansion<br>N = 69  |                            | Second<br>expansion<br>N = 31 |                               |                                              |                              |                                                      |
|                               |                                    | N = 8*                     | N = 61                     |                               | N = 13                        | N = 1                                        | N = 4                        | N = 5                                                |
| <b>CMP-001<br/>Treatment:</b> | CMP-001 <sup>^</sup>               | CMP-001<br>initially*      | Diluted<br>CMP-<br>001*    | CMP-001<br>(10 mg)            | CMP-001<br>(10 mg)            | CMP-001<br>initially<br>(10 mg) <sup>§</sup> | Diluted<br>CMP-001<br>(5 mg) | Diluted CMP-<br>001 initially<br>(5 mg) <sup>¶</sup> |
| <b>ORR<br/>(95% CI):</b>      | 22.7%<br>(11.5%-<br>37.8%)         | 37.5%<br>(8.5% -<br>75.5%) | 11.5%<br>(4.8% -<br>22.3%) | 25.8%<br>(11.9% -<br>44.6%)   | 15.4%                         | 0%                                           | 0%                           | 60%                                                  |

Figure 40 : Détails du traitement par CMP-001 reçus par les patients et ORR respectifs de chaque cohorte.

Lors de la publication des résultats finaux en 2020, la durée médiane de réponse pour la combinaison n'était toujours pas atteinte. Le recrutement de cet essai est actuellement terminé et les données finales sont en attente de publication (110–112).

A l'ESMO cette fois-ci, furent présentés les résultats préliminaires d'un essai de Phase I/II combinant le tilsotolimod (IMO-2125) un agoniste du TLR9 à l'ipilimumab par voie systémique. Lors de la présentation des résultats, 24 patients sur les 60 attendus avaient été inclus. Tous présentaient un mélanome réfractaire aux traitements standards. L'objectif principal de cette étude fut l'évaluation de l'ORR, la tolérance et la faisabilité étant ramenées au second plan. En parallèle, les populations cellulaires T furent étudiées. Le tilsotolimod était injecté à la dose de 8mg et l'ipilimumab à la dose standard de 3 mg/kg, toutes les 3 semaines. Cinq des patients inclus ont également reçu des immunoglobulines en IT.

Vingt-et-un patients furent évalués par imagerie révélant un ORR de 22,4% un DCR de 71% basé sur les réponses suivantes : 2 CR, 6 PR et 7 SD. Six patients présentaient encore une réponse en 2018 lors du congrès. Au niveau des toxicités, celles reliées à l'injection en IT furent des syndromes pseudo-grippaux de grade 1 ou 2 résolutifs en 24 à 48h maximum. 8 patients ont présenté des effets indésirables immunitaires : 2 patients ont eu une hypophysite et 2 autres une hépatite. 3 autres patients ont présenté un syndrome de Guillain-Barré, une colite et une entérocolite respectivement.

Ces résultats ont déclenché un essai de phase III (NCT03445533) comparant la combinaison à l'ipilimumab seul qui a démarré en 2018 et est toujours en cours. La phase II de l'essai a continué à recruter des patients et les résultats sont en attente de publication (113).

Le dernier essai de Phase Ib, dont les résultats ont été présentés récemment et qui se poursuit actuellement en Phase II, décrit la combinaison d'un agoniste de TLR9, le cavrotolimod combiné au pembrolizumab en IV. La tolérance fut étudiée sur 5 doses : 2, 4, 8, 16 et 32mg administrés chaque semaine, puis toutes les 3 semaines, chez des patients présentant des tumeurs solides avancées. Le pembrolizumab fut ajouté lors de la troisième injection de cavrotolimod. Vingt patients, dont 19 évaluable lors de la publication des résultats, furent inclus.

Aucune DLT ne fut observée au niveau des 5 paliers de dose et aucun AEs de grade 4 ou supérieurs. Seuls 2 événements indésirables de grade 3 furent attribués à la combinaison : agitation et réaction au site d'injection. Les plus communs de grades inférieurs furent des réactions aux sites d'injection et des syndromes pseudo-grippaux. L'ORR fut de 21%, avec 4 réponses (2 mélanomes et 2 carcinomes cellulaire de Merkel) parmi les 19 patients évaluable. Ces 4 patients avaient précédemment progressé sous immunothérapie anti PD-1. Les résultats des explorations ancillaires ont révélé une action systémique grâce à des infiltrations de lymphocytes T cytotoxiques, autant dans les lésions injectées que dans les non-injectées.

Ces résultats ont permis de sélectionner la dose de 32mg pour la phase suivante de l'essai (30).

Tous ces essais de phases précoces en monothérapie et en combinaison orientent vers des observations similaires. Tout d'abord, l'administration au niveau local permet l'utilisation de doses plus importantes par rapport au niveau systémique. De plus, aucune DLT n'a entraîné l'arrêt de l'escalade de dose au sein des essais ; le constat inverse a même été constaté à plusieurs reprises, avec l'absence de MTD après l'utilisation de la plus haute dose prévue par le protocole. Au niveau de l'efficacité, un effet local a été constaté dans chaque protocole, avec cependant un potentiel effet systémique relatif, voir nul pour certains essais. L'apport des checkpoints inhibiteurs en systémique est indéniable, avec une vraie plus-value à confirmer dans les essais de phases suivantes. Mais des résultats prometteurs sont déjà observés. L'absence de toxicités exacerbées par ces combinaisons est également à souligner. Aucune DLT ne fut constatée, ni même la présence de grade 4 ou 5, lors de l'addition de CPIs en intraveineux. Enfin, au niveau des effets sur la population immunitaire du microenvironnement tumoral, il y a le constat de la présence de lymphocytes T et de ses sous-groupes (T CD8+, NK) traduisant une réponse spécifique dirigée contre la tumeur.

Cette stratégie thérapeutique, en combinant des agents administrés localement avec des IOs systémiques ont également permis de lever l'inhibition rencontrée par certains patients, suite à leur traitement par immunothérapie systémique seule.

### **2.3. Essais de Phase II**

Les essais appartenant à la phase suivante, la Phase II, ont pour but de déterminer si la Recommended Phase II Dose (R2PD) issue de la Phase I s'avère être efficace, tout en gardant le critère de sûreté démontré antérieurement. La population à l'étude va être sélectionnée en utilisant les potentiels signaux observés sur un ou plusieurs types histologiques inclus dans la Phase Précoce. On distingue 2 sous-catégories de Phase II :

La Phase IIa va confirmer les résultats de la phase I, au niveau de l'efficacité (réponse tumorale) et préciser les toxicités ainsi que les résultats concernant la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'IP.

La Phase IIb va garder le critère d'apprentissage de la Phase I en explorant plusieurs doses, mais en ayant l'efficacité en critère principal, lorsque l'évaluation de la toxicité sera reléguée au second plan grâce aux résultats obtenus antérieurement (114).

Le pool des essais de Phase II en intratumoral fait ressortir 6 axes de recherche d'un point de vue histologique. Sur les 14 essais publiés, les investigateurs se sont intéressés à des populations de patients atteints de carcinomes cutanés squameux de la tête et du cou (SCCHN), mélanomes, carcinomes hépatocellulaire (HCC), carcinome à cellules de Merkel, carcinomes squameux cutané (CSCC) et cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC).

#### **2.3.1. SCCHN**

Un essai clinique s'est focalisé sur un groupe 10 patients présentant un SCCHN non traité précédemment, avec pour objectif principal d'évaluer la pharmacodynamie et les effets sur le système immunitaire de l'IL-12 injectée en intratumoral, suite aux résultats de la phase I. L'essai fut donc construit avec 1 injection par semaine pendant 2 à 3 semaines, avec un maximum de 4 injections. L'essai précédent ayant mis en avant un effet immunitaire maximal durant les 24h suivant l'injection, une tumorectomie était programmée dans ce laps de temps après la 3<sup>e</sup> injection. 2 bras de traitements furent dessinés avec un bras contrôle et un bras de

traitement comprenant 2 niveaux de doses. 10 patients furent inclus dans le bras recevant la dose de 100 ng/kg pour les 5 premiers, puis la dose de 300 ng/kg. Ces deux niveaux de doses étant les mêmes que ceux explorés lors de la phase I, suite aux réponses observées chez 1 patient à chaque niveau de dose. Un patient présenta une élévation de transaminases de grade 3 après sa troisième injection. La dose de 300 ng/kg fut administrée chez 4 patients. Deux d'entre eux présentèrent une toxicité de grade 3 au niveau hépatique, ainsi qu'une fatigue du même grade. Le troisième patient reçu 3 injections à 300 ng/kg et présenta une acidose métabolique de grade 3. Ces 3 événements de grade 3 furent synonymes de DLT pour cette dose. La dose fut donc diminuée à 100 ng/kg pour le 10<sup>e</sup> patient (Figure 41). Malgré l'apparition de cette DLT non anticipée, aucune opération ne fut annulée ou décalée pour l'ensemble des patients de ce groupe. Une des explications potentielle de cette toxicité est le fait que contrairement à la population ayant participé à la phase antérieure, aucun des patients ici n'a reçu de traitements par IO précédemment.

|                                    | 100 ng/kg ( <i>n</i> = 6) |         | 300 ng/kg ( <i>n</i> = 4) |         |
|------------------------------------|---------------------------|---------|---------------------------|---------|
|                                    | Grade 3                   | Grade 2 | Grade 3                   | Grade 2 |
| Elevation of ALT <sup>a</sup> /AST | 1                         |         | 1                         | 1       |
| Fatigue                            |                           |         | 1                         | 1       |
| Metabolic acidosis <sup>b</sup>    |                           |         | 1                         |         |
| Vomiting                           |                           | 1       |                           |         |
| Nausea                             |                           | 1       |                           | 1       |
| Myalgia                            |                           | 2       |                           |         |
| Fever                              |                           | 3       |                           | 2       |
| Lymphopenia                        | 1                         | 4       | 3                         | 1       |

<sup>a</sup> ALT, amino alanine transferase; AST, aspartate amino tranferase.

<sup>b</sup> Possibly related.

Figure 41 : Toxicités de grade 2 et 3 présentées par les 10 patients inclus dans le bras de traitement.

Mis à part les résultats décevants dus à la forte toxicité observée, les analyses de PK/PD réalisées ont permis de confirmer les observations de l'essai précédent. En effet, on retrouve un pic d'INF- $\gamma$  et d'IL-10 24h post-injection avec une relation dose/effet ; les taux se révèlent être plus élevés chez les patients ayant reçu la dose de 300 ng/kg vs 100 ng/kg (Figure 42).

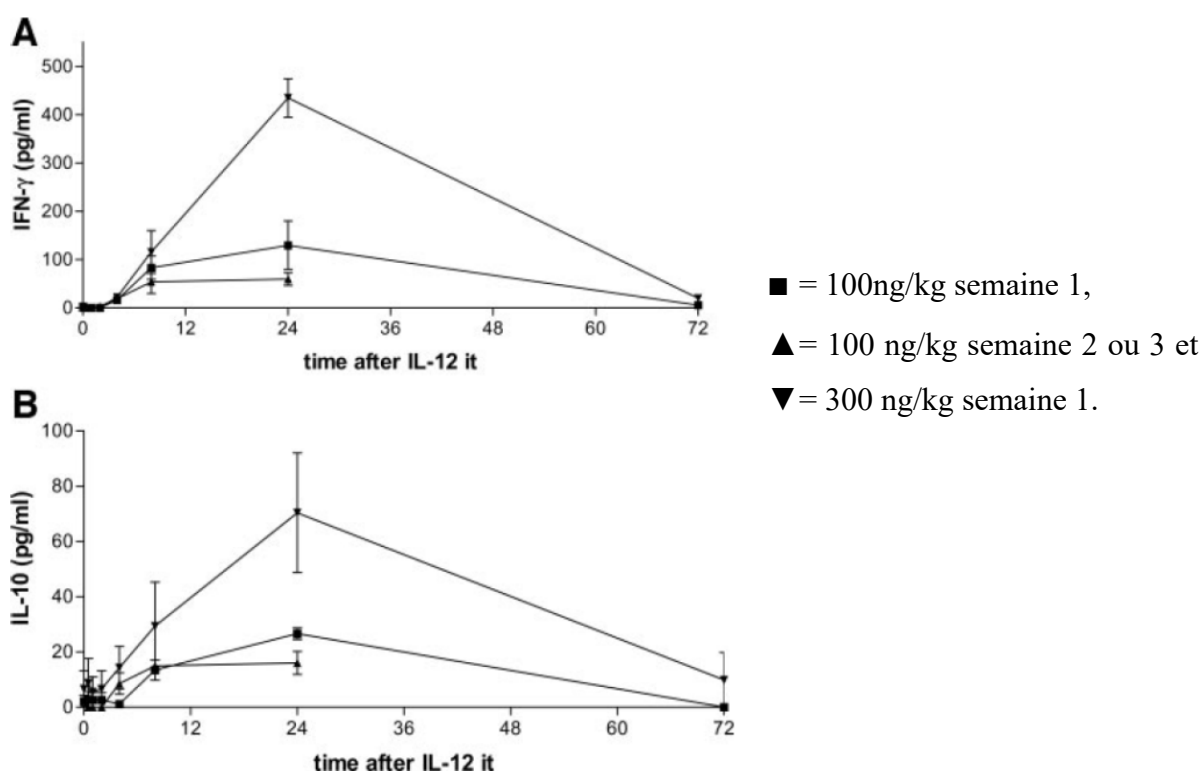


Figure 42 : Effets sur les taux de cytokines plasmatiques : taux d'INF- $\gamma$  et d'IL-10 suite aux injections d'IL-12 IT.

Les taux constatés sont supérieurs après les premières injections de la dose de 300 ng/kg.

A noter que les taux d'INF- $\gamma$  et d'IL-10 furent inférieurs lors des injections suivantes.

Un recrutement des lymphocytes périphériques vers les ganglions lymphatiques fut également observé, venant appuyer les données récupérées lors de la phase I. Les taux de cellules NK furent plus élevés dans les ganglions périphériques chez les patients injectés avec l'IL-12, par rapport au groupe contrôle. Même constat avec les lymphocytes Th qui furent en sous nombre chez les sujets injectés. Les résultats d'efficacité sont contrastés mais semblent orienter vers une légère plus-value pour le groupe traité, avec un OS médian non atteint et un PFS médian non atteint lors de la publication des résultats. L'OS et le PFS médians furent quant à eux atteints pour le groupe contrôle, avec 2,3 ans et 2,9 ans respectivement. De plus, 5 patients sur 10 ont progressé dans le groupe IL-12, contre 15 sur 20 dans le groupe contrôle.

Malgré de bons résultats au niveau de la pharmacodynamie, la mise en évidence de toxicités et le nombre trop faible de patients n'a pas permis, à ce jour, de continuer le développement de cette stratégie néo-adjuvante (115).

### 2.3.2. Mélanomes

Suite aux résultats des essais de phase I obtenus, 2 virus oncolytiques ont été identifiés pour la réalisation d'études de phase II chez des patients atteints de mélanomes. Le premier concerne le T-VEC, le virus HSV-1 modifié pour améliorer la réponse immunitaire antitumorale. Cet agent fut également combiné et comparé à l'ipilimumab IV ou au pembrolizumab, dans d'autres essais. Deux Cocksackievirus furent également utilisés dans ces phases de développement.

L'efficacité du T-Vec fut explorée dans 3 essais de Phase II, dont 1 est actuellement en cours. Le premier date de 2009 et fait suite à l'essai de Phase I décrit précédemment. La dose retenue était la RP2D obtenue lors de la phase précédente, soit  $1 \times 10^8$  pfu et administrée en IT à 2 semaines d'intervalle. Pour cette étude, afin de limiter les AEs lors de la 1<sup>ère</sup> injection, la première dose était réduite à  $1 \times 10^6$  pfu. La même dose et la même stratégie furent réitérées en 2017, lors de la combinaison avec l'ipilimumab. Cinquante patients furent inclus dans le premier essai, tandis que le second en a réuni 198. Suite aux résultats d'un essai antérieur de Phase III, qui sera détaillé en suivant, une stratification fut réalisée en fonction du stade de la maladie des patients : IIIB, IIIC, IVM1a, IVM1b vs. IVM1c et le statut BRAF muté ou non ; ceci dans le but d'affiner l'éventuelle efficacité de l'IP par rapport au stade de développement du mélanome. Les objectifs principaux de ces 2 essais, en plus de l'efficacité, furent l'évaluation de la survie et de la safety.

Les données issues de l'essai de 2009 rapportent un ORR de 26%, en se basant sur les critères RECIST, avec 8 CR et 5 PR. Dix patients supplémentaires ont également présentés une SD portant le DCR à 46% pour cet essai (Figure 43). La combinaison avec l'ipilimumab permit d'élever l'ORR à 39%, avec 38 patients parmi les 98 présents dans ce bras. Dix-neuf patients présentèrent une SD en plus, portant le DCR à 58%. En comparaison, le bras n'impliquant que l'ipilimumab a obtenu des nombres moins élevés avec un ORR de 18% et un DCR de 42%, soit 18 et 42 patients respectivement (Figure 44).

| Variable | Overall No.<br>of Patients<br>(N = 50) | No. of Patients per<br>Response Group |               |                     | % of Patients With<br>CR + PR<br>(n = 26) |
|----------|----------------------------------------|---------------------------------------|---------------|---------------------|-------------------------------------------|
|          |                                        | PR<br>(n = 5)                         | CR<br>(n = 8) | CR + PR<br>(n = 13) |                                           |
| Stage    |                                        |                                       |               |                     |                                           |
| IIIc     | 10                                     | 2                                     | 2             | 4                   | 40                                        |
| IV M1a   | 16                                     | 1                                     | 4             | 5                   | 31                                        |
| IV M1b   | 4                                      | 0                                     | 1             | 1                   | 25                                        |
| IV M1c   | 20                                     | 2                                     | 1             | 3                   | 15                                        |

Figure 43 : ORR corrélé au stade du mélanome des patients de l'essai de 2009.

| Variable                 | Talimogene Laherparepvec<br>Plus Ipilimumab (n = 98) | Ipilimumab<br>(n = 100) |
|--------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|
| Objective response       |                                                      |                         |
| Best overall response*   |                                                      |                         |
| Complete response        | 13 (13)                                              | 7 (7)                   |
| Partial response         | 25 (26)                                              | 11 (11)                 |
| Stable disease           | 19 (19)                                              | 24 (24)                 |
| Progressive disease      | 31 (32)                                              | 33 (33)                 |
| Unevaluable†             | 4 (4)                                                | 17 (17)                 |
| Not done‡                | 6 (6)                                                | 8 (8)                   |
| Objective response rate  | 38 (39)                                              | 18 (18)                 |
| Rate difference (95% CI) |                                                      | 20.8% (7.5% to 33.2%)   |
| $\chi^2$ Pvalue          |                                                      | .002                    |
| Odds ratio (95% CI)      |                                                      | 2.9 (1.5 to 5.5)        |
| Disease control          |                                                      |                         |
| Disease control rate     | 57 (58)                                              | 42 (42)                 |
| Rate difference (95% CI) |                                                      | 16.2% (1.5% to 29.9%)   |
| $\chi^2$ Pvalue§         |                                                      | .033                    |
| Odds ratio (95% CI)      |                                                      | 1.9 (1.1 to 3.4)        |

Figure 44 : ORR corrélé au stade du mélanome des patients de l'essai comparant la combinaison T-Vec + ipilimumab vs. ipilimumab seul dans l'essai de 2017.

En parallèle de l'efficacité, la survie des patients fut également analysée. Pour les 50 patients de la première étude, l'estimation de Kaplan-Meier donne plus de 16 mois pour la survie globale et un taux de survie à 1 an de 58% tous patients confondus, idem pour les stades IV. Pour les patients ayant présenté une réponse au traitement, il atteint 93%. Les patients de la seconde étude ont présenté un PFS médian de 8,2 mois pour le bras ayant reçu la combinaison, contre 6,4 mois pour le bras ipilimumab (Figure 45).

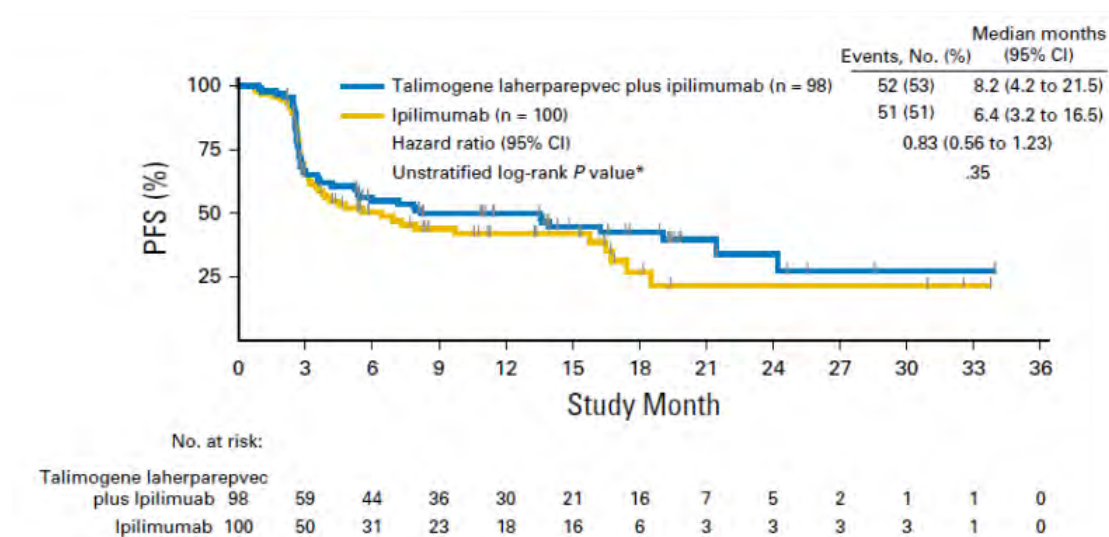


Figure 45 : Estimation de Kaplan-Meier du PFS des 2 bras à l'étude.

Ces données d'efficacité, de survie et de toxicité récoltées sur le T-Vec en monothérapie ont permis d'initier un essai de Phase III randomisé chez des patients atteints de mélanomes de stades avancés. En effet, les données issues d'une méta-analyse réalisée sur la période de 1975 à 2005 publiait un taux de survie à 1 an de 25% chez 2100 patients atteints de mélanome de stade IV pour 40% ici (116).

Pour la combinaison avec l'ipilimumab, l'ORR se révèle être supérieur à celui du T-Vec seul : 39% contre 26% et également supérieur à celui de l'ipilimumab seul compris entre 11 et 19%, selon les études. Cependant, en parallèle se déroulait l'étude MASTERKEY-265 étudiant la combinaison T-Vec + Pembrolizumab, qui sera décrite ultérieurement et dont les premiers résultats permirent l'inclusion de patients dans la Phase III.

Un 3<sup>e</sup> essai utilisant le T-Vec explore la combinaison avec le pembrolizumab (NCT02965716), mais chez des patients ayant déjà reçu et progressé sous un anti-PD-1 ou PD-L1, seuls ou en combinaison. Le recrutement étant terminé, la publication des résultats devrait avoir lieu dans les prochains mois (95,117).

Toujours pour le mélanome et suite aux résultats de la Phase I en monothérapie, l'essai nommé CALM fut mené chez 57 patients présentant des mélanomes de stade IIIC-IVM1c. Le CVA21 (CAVATAK) était administré 5 fois lors du premier cycle, aux jours 1, 3, 5, 8 et 22, puis toutes les 3 semaines. La dose était fixée à  $3 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub> en intratumoral. Son objectif principal était d'obtenir un irPFS chez au moins 9 patients, parmi 54 évaluable, le second

incluait, entre autres, la survie à 1 an et l'efficacité du traitement. Le primary endpoint fut atteint avec 21 patients présentant un irPFS sur les 57 évaluable. Au niveau de l'efficacité, l'ORR était de 28,1% et le taux de survie à 1 an de 75,4%. Les investigateurs ont cependant noté la présence d'infiltrats de LT CD8+ et de cellules exprimant PD-L1.

Devant ces résultats encourageants et la constitution d'infiltrats intratumoraux immuns, la stratégie de développement du CVA21 fut orientée vers sa combinaison avec des anti-PD1 ou des anti-CTLA-4, dans des essais de Phase Ib décrits précédemment (118,119).

On peut également mentionner l'essai « IGNYTE », utilisant le RP1 en combinaison avec le nivolumab, dont les résultats finaux des Phases I/II sont en attente de publication. Un abstract présenté à l'ASCO 2020 montre des résultats préliminaires encourageants dans les cohortes de patients atteints de cancers de la peau. Trente-neuf patients ont été inclus ; 30 mélanomes, 6 carcinomes squameux, 1 carcinome basal, 1 carcinome de Merkel et 1 angiosarcome. Huit réponses objectives ont été rapportées. Trois au sein de la population de mélanomes réfractaires aux anti-PD-1 et 5 au sein de la population des carcinomes squameux, dont 3 CR. Les AEs ne sont pas détaillés mais il y est fait mention de grades 1 et 2 reliés au RP1, ainsi qu'une absence d'exacerbation des AEs induits par le nivolumab (120–122).

### **2.3.3. Carcinomes hépatocellulaires**

Pour les carcinomes hépatocellulaires, suite aux essais présentés précédemment, la stratégie utilisant le JX-594 (Pexa-Vec) en monothérapie fut explorée dans un essai de Phase II randomisé. Au départ, 49 patients furent screenés, 19 ne furent pas éligibles. Les 30 patients restant furent randomisés en 1 pour 1 au sein de 2 bras de traitements : 16 dans le bras « low-dose » ( $1 \times 10^8$  pfu) et 14 dans le bras « high-dose » ( $1 \times 10^9$  pfu). Cette répartition n'entraîna pas de différence statistiquement significative au niveau des 2 groupes, qu'il s'agisse de leurs caractéristiques ou de leurs pronostics par rapport à leur maladie. Le design de l'étude comprenait une injection aux jours 1, 15 et 29 à une des deux doses réparties dans maximum 5 lésions intra-hépatiques. Le volume injecté était proportionnel au volume tumoral et représentait jusqu'à 25% de ce volume. Parmi les 30 patients traités, 29 furent considérés pour l'étude de la survie, et 27 pour l'évaluation par imagerie (Figure 46).

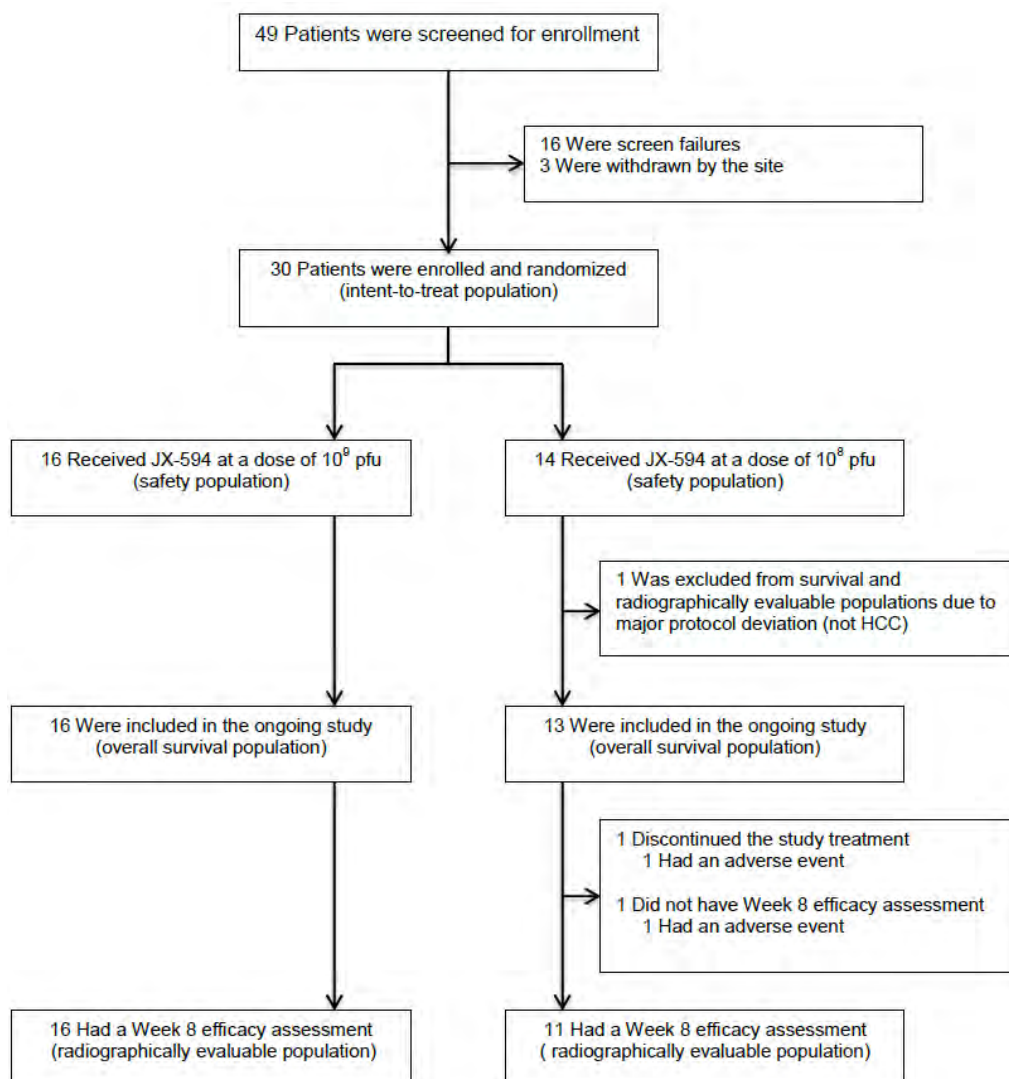


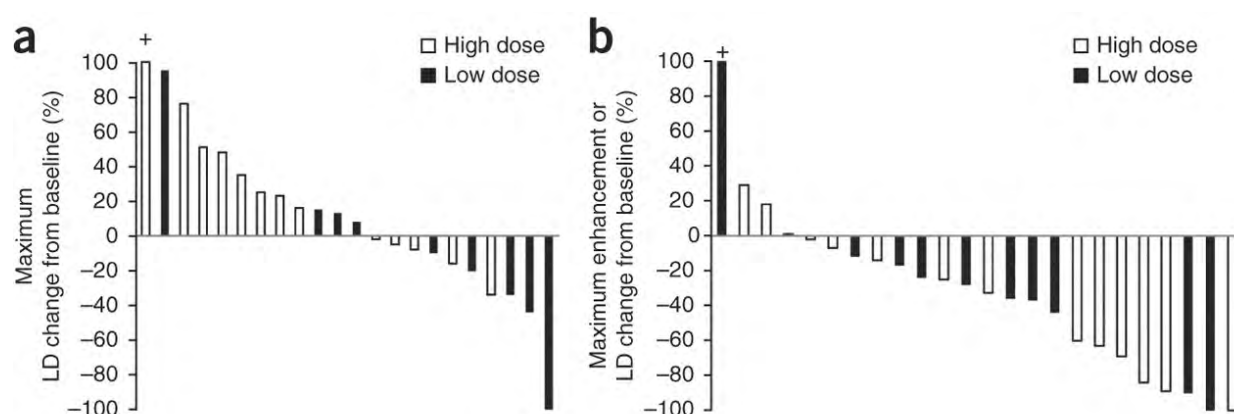
Figure 46 : détails du recrutement, de la randomisation, du traitement et de l'évaluation des patients.

La tolérance du JX-594 fut similaire aux éléments rapportés dans les essais FIH et de Phase I, avec des symptômes pseudo-grippaux (fièvre, rigueurs, nausées et vomissements) de grade 1 à 2 se manifestant dans les premières 24h. Bien que les symptômes soient les mêmes entre les groupes, l'intensité de ceux observés fut majorée dans le groupe « high-dose », avec des nausées et vomissements de grade 3 nécessitant un prolongement de l'hospitalisation chez 1 patient. Une température supérieure lors des épisodes de fièvre, ainsi qu'une incidence supérieure de 30% de survenue d'anorexie (grade 1 à 2) furent également observés dans ce groupe. Enfin 1 patient, toujours de ce groupe, présenta des pustules cutanées au niveau des extrémités, du torse et du front dans les 4 jours suivant la première injection. Celles-ci furent de résolution spontanée sans cicatrices au bout de 6 semaines. Au niveau des effets

indésirables communs aux 2 groupes, une augmentation des transaminases fut rapportée chez 2 patients du groupe « high-dose » et 4 du groupe « low-dose ».

Le premier examen d'imagerie avait lieu la 8<sup>e</sup> semaine suivant la première injection IT puis en fonction de l'évolution clinique des patients suivis. Les méthodes mRECIST et Modified Choi Criteria (123) furent utilisées.

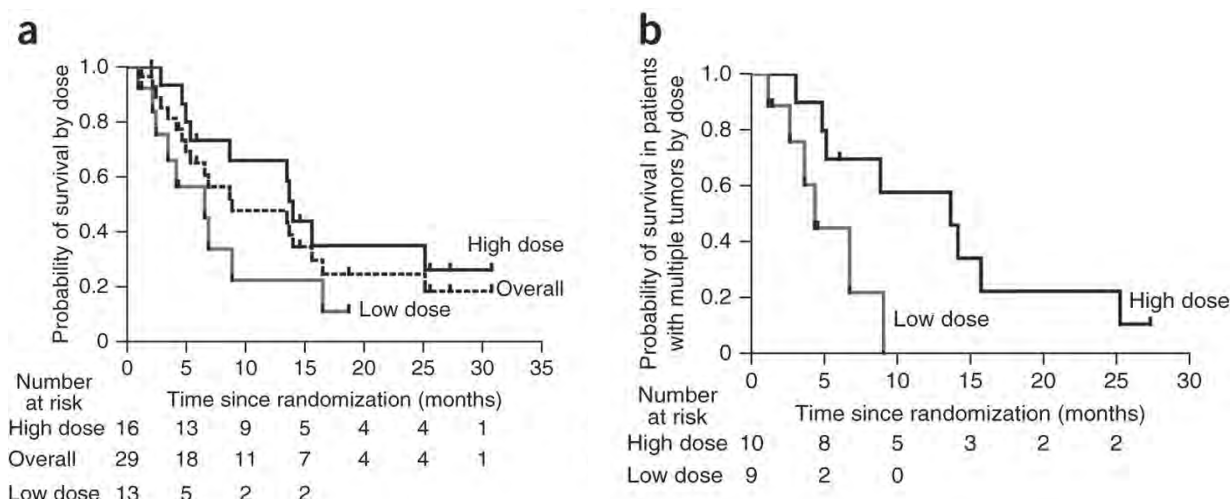
Le modified Choi criteria associe, en plus de l'évolution de la taille des lésions cibles, leur perfusion sanguine et ainsi, l'évolution de leur nécrose. Conformément aux résultats mis en avant lors de la Phase I, l'activité antitumorale fut bien présente avec un DCR de 46% à la semaine 8 : 1 CR, 3 PR et 10 SD per mRECIST répartis équitablement dans les 2 groupes. Avec en moyenne une augmentation de 23,8% pour le groupe low-dose et -8,8% pour le groupe high-dose pour le diamètre tumoral le plus long (LD). D'après les investigateurs, ces chiffres peuvent être le reflet des œdèmes consécutifs aux injections IT. L'analyse des mêmes lésions avec le modified Choi criteria donne les chiffres suivants : -28,8% et -35,6% pour les groupes low-dose et high-dose respectivement (Figure 47 a et b).



**Figure 47 :** (a) Evolution du diamètre long des lésions cibles à la semaine 8 selon mRECIST (n=22). (b) Evolution du diamètre long ou de l'amélioration du contraste des lésions cibles à la semaine 8 selon modified Choi criteria (n=22).

Au niveau des données de survie plusieurs paramètres ont été explorés, la survie globale, la probabilité associée à la dose reçue (high ou low), ainsi que celle associée au nombre de lésions tumorale chez le patient au moment de l'inclusion dans l'essai. La survie globale médiane rapportée diffère entre les 2 groupes de dose avec 6,7 mois pour le groupe low-dose et 14,1 mois pour le groupe high-dose, portant la survie globale médiane à 9,0 mois pour l'essai. L'estimation de Kaplan-Meier projette une survie de 66% versus 23% pour les

groupes high-dose et low-dose respectivement et de 35% versus 11% à 18 mois (Figure 48 a). La supériorité statistique du groupe high-dose est également mise en avant lorsque l'on compare la probabilité de survie associée à la présence de tumeurs multiples à la baseline (Figure 48 b). En plus de l'impact de la dose sur la survie, un second paramètre s'est avéré être corrélé à la survie. Il s'agit de la concentration sanguine maximale en JX-594 atteinte suite aux injections. Celle-ci fut supérieure chez les patients du groupe high-dose, soulignant une meilleure distribution systémique.



**Figure 48 :** Analyse de Kaplan-Meier de la survie globale. (a) OS des 29 patients de l'étude par groupe de dose et globale (en pointillés). (b) OS de 19 patients présentant des tumeurs multiples à la baseline par groupe.

Le taux de répllication du JX-594 ainsi que l'expression du hGM-CSF furent également analysés. Les résultats mis en avant par les investigateurs montrent la présence d'une répllication virale au sein des cellules tumorales injectées de par les taux d'expression de  $\beta$ -galactosidase chez les patients. Les anticorps anti- $\beta$ -galactosidase étaient présents chez 75% des patients du groupe high-dose et 62% parmi ceux du groupe low-dose. L'expression de hGM-CSF fut évaluée par le taux plasmatique présent chez les patients. Celui-ci fut respectivement de 69% et 46% au jour 5 chez les patients du groupe high-dose et low-dose. Sachant que ces taux étaient de 0% à la baseline pour l'intégralité des patients de l'étude, cela a permis d'attester que le hGM-CSF fut bien exprimé des suites des injections IT du PX-594 (124,125).

La corrélation de l'amélioration de la survie dose dépendante du groupe high-dose ainsi que l'efficacité un DCR de près de 50% sur un groupe de 30 patients randomisés a permis de lancer un essai de Phase IIb, randomisé, chez 129 HCC n'ayant pas répondu au traitement par

Sorafenib. Le but de cet essai était d'évaluer le potentiel bénéfique d'ajouter le Pexa-Vec au BSC versus BSC seul, à la différence de l'essai précédent où la population n'avait pas été exposée au Sorafenib. L'essai avait pour objectif principal l'évaluation de l'OS.

Le JX-594 fut administré par voie IV dans un premier temps (1 injection) puis par voie IT avec un maximum de 5 injections. Les patients furent randomisés dans 2 bras (2:1) Pexa-Vec + BSC versus BSC seul. Quarante-sept patients furent inclus dans le bras comprenant le Pexa-Vec contre 46 dans le second. Bien que la tolérance fut bonne avec seulement 7% d'AEs de grade 3-4 reliés aux injections IT et les AEs attendus : fièvre, frissons, nausée, perte d'appétit, hypotension et rash cutané, les résultats de l'OS s'avérèrent décevants avec seulement 4,2 mois de survie médiane pour le bras Pexa-Vec + BSC, contre 4,4 pour le bras BSC seul (Figure 49).

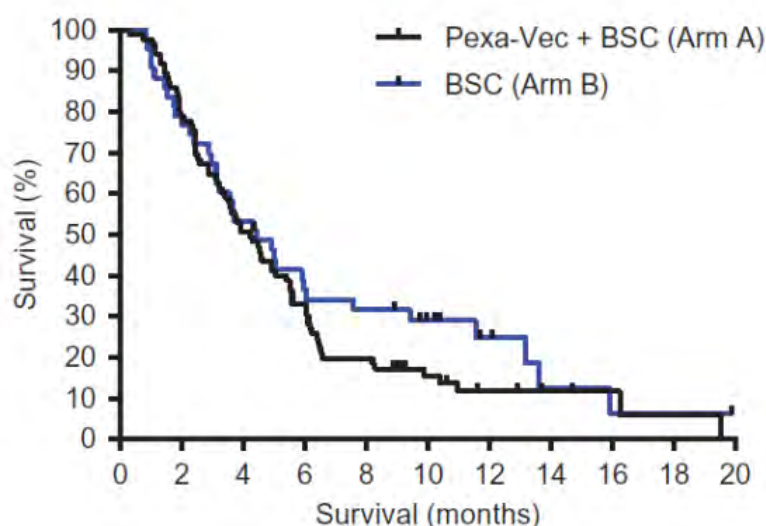


Figure 49 : Analyse de Kaplan-Meier de la survie globale entre les bras A (noir) et B (bleu).

Les réponses aux traitements furent également en-deçà des attentes, avec un DCR de 13% pour le bras Pexa-Vec + BSC et 18% pour le bras BSC. Le délai jusqu'à la progression fut également inférieur avec 1,8 mois en médiane, contre 2,8 pour le groupe BSC seul. Il est important de spécifier qu'un nombre significatif de patients ont quitté l'essai (63% le bras BSC et 24% dans le bras Pexa-Vec) et furent donc non-évaluables. Les investigateurs s'orientent vers une diminution du bénéfice d'une thérapie utilisant le Pexa-Vec chez des patients réfractaires aux traitements standards et ayant un grand nombre de lignes de traitements précédentes (126).

## 2.4. Essais de Phase III

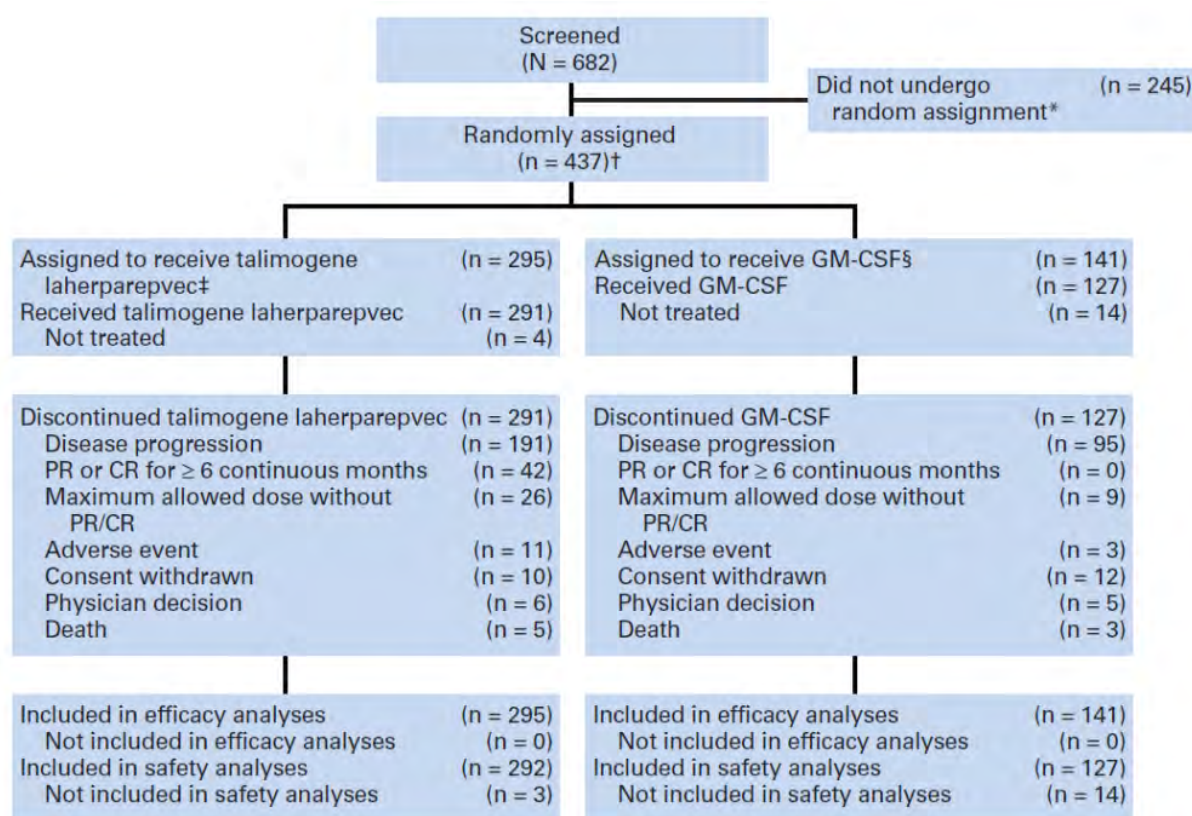
Suite aux différents résultats obtenus dans les essais de Phase II présentés ci-dessus, 3 stratégies avancèrent pour la phase de développement suivante, comparant les IPs aux standards de traitements en vigueur lors de leur période de recherche. Ainsi 3 essais de Phase III impliquant le T-Vec, seul ou en combinaison avec le pembrolizumab dans le mélanome et les cancers de la tête et du cou furent réalisés.

### L'étude OPTiM :

Le T-Vec fut donc comparé au GM-CSF dans l'essai appelé OPTiM (NCT00769704) chez une population composée de patients présentant un mélanome non-résécable de stade IIIB à IVM1c. Le GM-CSF fut choisi comme traitement comparateur pour cette étude, suite aux premières évidences de son bénéfice chez cette population de patients comme traitement adjuvant. Ses propriétés immuno-médiée et sa bonne tolérance contribuèrent également à cette décision (127). L'objectif principal de cette étude fut le DRR (Durable Response Rate) défini comme le taux de CR et de PR de plus de 6 mois, survenant dans les 6 premiers mois de l'étude. Les objectifs secondaires comprenaient l'OS, le TTF (Time to Treatment Failure), durée de la réponse observée et meilleure réponse observée.

Ce fut donc 436 patients au total qui furent inclus, répartis dans 64 centres à travers le monde entre 2009 et 2011. Les premiers résultats furent présentés en 2015 et en 2019 pour les résultats finaux. Les patients furent randomisés avec un ratio 2:1, soit dans le bras comprenant le T-Vec en intratumoral, soit le GM-CSF en sous-cutané. Le bras expérimental regroupa 291 patients contre 127. Parmi les 436 randomisés, 4 ne furent pas traités dans le premier bras et 14 dans le second (Figure 50). Au niveau des critères d'inclusion notables, ils devaient présenter à minima 1 lésion accessible pour injection. Egalement, on peut noter l'absence de métastases osseuses, cérébrales et une limitation à 3 métastases viscérales. Ces lésions pouvaient être cutanées, sous-cutanées ou ganglionnaires. Au niveau des lignes précédentes, les patients avaient reçu au moins 1 ligne de traitement précédente. Cependant, 47% n'avaient reçu aucune ligne de traitement depuis le diagnostic de maladie métastatique. Les critères de mesures par imagerie retenus furent les critères WHO modifiés (128) qui définissent les différentes réponses observées, par rapport à l'examen de baseline, comme suit : CR, disparition de toutes les lésions connues sur 2 observations séparées de 4 semaines. PR, diminution de la taille globale des lésions de 50% ou plus, sur 2 observations séparées de 4 semaines. NC (no change), impossibilité d'établir une diminution de 50% ou une

augmentation de 25% de la taille totale des lésions sur au moins 1 observation. PD, une augmentation de 25% minimum de la taille globale des lésions, ou l'apparition de nouvelle(s) lésion(s). Comme pour la Phase II, la dose de T-Vec fut de  $1 \times 10^6$  pfu pour la première injection puis, 3 semaines plus tard, de  $1 \times 10^8$  pfu, espacée de 2 semaines pour les suivantes. Toutes les lésions n'étaient pas injectées et la possibilité de changer de lésion entre 2 doses fut donnée aux investigateurs. Le GM-CSF lui fut administré en sous-cutanée tous les jours pendant 14 jours sur des cycles de 28 jours à la dose de  $125 \mu\text{g}/\text{m}^2$ . La durée totale du traitement était de minimum 24 semaines avec une évaluation par imagerie à 12 et 24 semaines, alors que le suivi clinique se déroulait lors de chaque début de cycle.



**Figure 50** : Répartition des patients entre le bras expérimentale et le bras contrôle de l'étude OPTiM.

Lors de la publication des derniers résultats en 2019, la durée médiane du traitement était de 23,1 semaines. Les chiffres illustrant l'efficacité pour la population incluse montrent une supériorité du T-Vec, avec un DRR plus élevé dans le bras expérimental et une réponse durable chez 57 patients contre 2 dans le bras contrôle (Figure 51). Une réponse complète

(CR) fut observée chez 50 patients ayant reçu du T-Vec, contre 1 après l'administration de GM-CSF. Le nombre de réponses partielles (PR) fut également supérieur, avec 43 observations contre 8. Le DCR fut également plus important avec 76,3% des patients présentant un contrôle de leur maladie versus 56,7%.

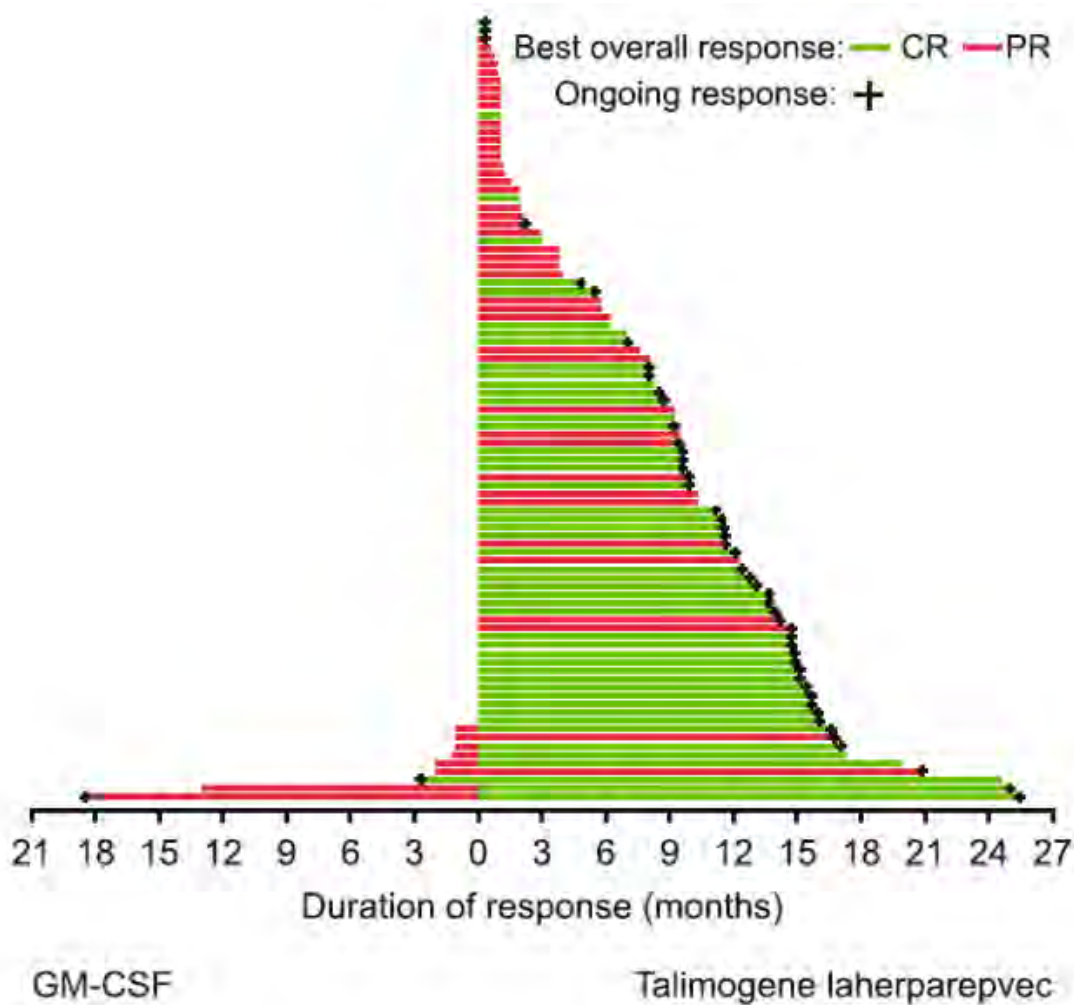


Figure 51 : Durée et type de réponse observée chez la population à l'étude en fonction du traitement reçu : GM-CSF à gauche et T-Vec à droite.

Un des critères-clés présent dans les objectifs secondaires était l'OS. Celui-ci se révéla être en faveur des patients du bras expérimental, avec 4,4 mois supplémentaires (Figure 52).

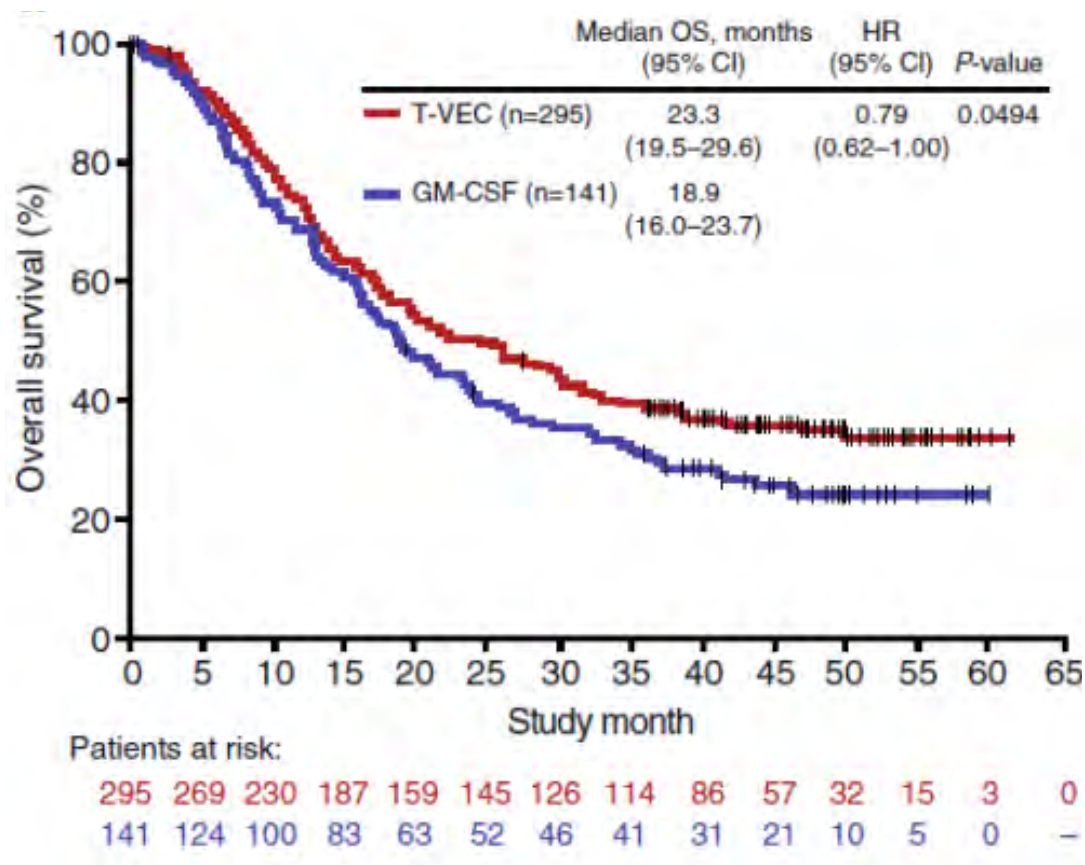
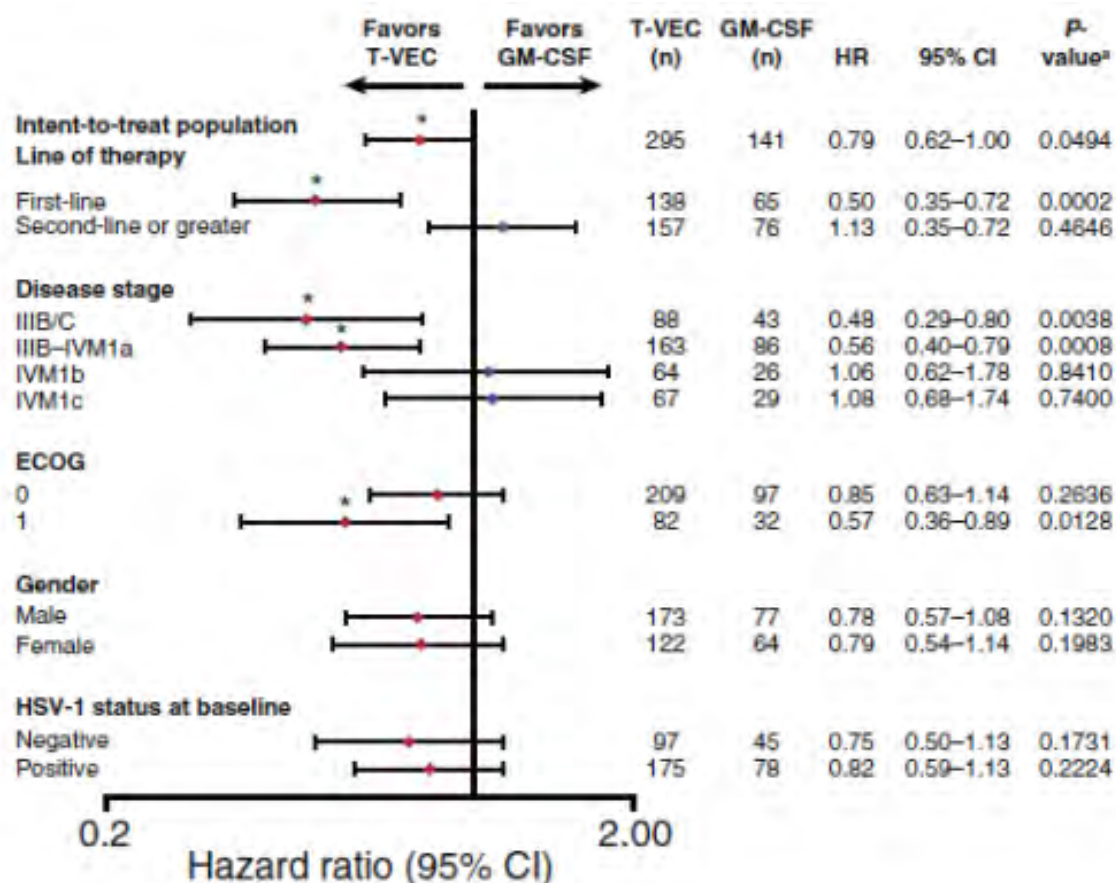


Figure 52 : OS de l'ensemble de la population traitée dans l'essai OPTiM.

Enfin, un des autres éléments notables parmi les résultats de cette étude fut le bénéfice observé chez un sous-groupe de patients. En effet, la population à l'étude comprenait des mélanomes de stades métastatiques précoces (IIIB, IIIC, IVM1a) et avancés (IVM1b, IVM1c). L'utilisation du T-Vec dans les stades métastatiques précoces favoriserait une meilleure réponse et une meilleure survie (Figure 53).



**Figure 53** : Exploration de l'OS dans différents sous-groupes : nombre de lignes précédentes, stade de la maladie, Indice de performance, genre, statut HSV-1 à l'inclusion.

Cette étude démontre la plus-value du T-Vec par rapport au GM-CSF dans le mélanome non-résécable, et particulièrement dans les stades métastatiques précoces. Le taux de survie à long terme est significativement amélioré, ainsi que la qualité de réponse. De plus, sa très bonne tolérance avec très peu d'effets indésirables de grades 3/4 : 11,3%, soit 33 patients (129–131). Ce taux fut comparé à ceux retrouvés avec les traitements par anti-PD-1/PD-L1 dans la même population : 13% pour le lambrolizumab (132), 10,1% à 19,9% pour le pembrolizumab (133,134) et 5% pour le nivolumab (135,136) et s'avéra être similaire, voire inférieur. Cet argument fut utilisé, en plus des résultats présentés ci-dessus et de sa complémentarité d'action avec l'immunothérapie systémique, pour réaliser des essais cliniques en combinaison avec des CPIs. Deux combinaisons ont été décrites précédemment et implique l'ipilimumab et le pembrolizumab en Phase I ou II.

L'essai MASTERKEY-265 (NCT02263508), combinant le T-Vec et le Pembrolizumab versus Pembrolizumab seul, a d'ailleurs vu sa Phase III démarrer en 2014 et l'inclusion des patients est terminée depuis novembre 2020, avec un total de 713 patients. Les résultats sont en attente de publication (137).

La même combinaison fut également testée pour une population différente atteinte de cancers de la tête et du cou réfractaires ou métastatiques dans l'essai MASTERKEY- 232. La Phase III fut cependant abandonnée en 2020 en raison d'une efficacité similaire au pembrolizumab seul après les résultats observés chez les 36 premiers patients inclus (94).

Il est également à noter qu'un essai de Phase III impliquant le tilsotolimod en combinaison avec l'ipilimumab est toujours en cours suite, aux résultats mis en avant dans les phases précédentes.

### **3. Discussion**

#### **3.1. Résultats des essais analysés**

Ces 41 essais, toutes Phases confondues, illustrent le large panel de stratégies envisagées pour les administrations intratumorales. La plus grande diversité d'agent se retrouve au niveau des phases précoces avec 26 agents répartis dans 7 catégories. On peut noter l'intérêt que suscite les virus oncolytiques ainsi que les agonistes du TLR9 qui sont les plus étudiés. L'étude de ces agents a permis de mettre en avant la faisabilité de leur utilisation ainsi que leur toxicité et leur efficacité (Annexes 2).

##### **3.1.1. Faisabilité**

L'ensemble des essais décrits précédemment concluent positivement à la faisabilité de l'injection des 26 agents étudiés. Il est cependant important de noter qu'un nouveau critère d'inclusion a été ajouté pour déterminer l'éligibilité des patients de ces essais : la mention de « lésions accessibles ». Ce type de lésions doivent être superficielles : lésions cutanées, sous-cutanées, ganglionnaires, ou plus profondes : hépatiques, pulmonaire, ganglionnaire par exemple. Cette accessibilité peut nécessiter l'utilisation d'appareils d'imagerie pour guider l'injection tels que le scanner ou l'échographe, pour les lésions plus profondes notamment. La présence de ce type de lésions oriente donc vers certains cancers pour la sélection des patients. On va donc retrouver les mélanomes, les SCCHN, les HCC, les cancers du pancréas et les CSCC, majoritairement.

##### **3.1.2. Toxicités**

###### DLTs :

Parmi des 26 agents, 8 ont présentés des DLTs. Sept au cours des phases précoces et une, inattendue, lors d'une phase II. Elles se sont manifestées au niveau gastro-intestinal avec des élévations de lipases (BC-819), une hyper bilirubinémie (JX-594), des douleurs abdominales (JX-594, ADC-1013), des vomissements (MK-1454) et une cholécystite (ADC-1013). Au niveau local, elles se sont présentées sous la forme d'une gangrène gazeuse et une

fracture (spores du clostridium novyi-NT), ou des réactions au niveau du site d'injection (MK-1454). Enfin sur un niveau plus général, on retrouve une obstruction des voies aériennes supérieures (EBC-46) et une septicémie (spores du clostridium novyi-NT). Aucune de ces DLTs ne s'est avérée limitante pour continuer le développement de ces agents. Les plus importantes ont été constatées suite à l'administration des spores du C. novyi-NT mais sont restées contrôlables. Une DLT de cette liste fut cependant de grade 5 ; une hémorragie artérielle suite à l'injection de T-Vec fut rapportée chez un patient présentant un HNSCC dans un essai de phase I.

La DLT inattendue est reliée à l'administration de rhIL-12 dans un essai de phase plus avancée. La RP2D définit lors de la Phase précédente a entraîné des toxicités de grade 3, qualifiées de DLTs, chez 3 des 4 patients inclus à ce niveau de dose, entraînant ainsi une diminution de la dose pour les patients suivants.

#### AEs Grade 3/4 :

Au niveau des AEs les plus sévères, de grade 3 ou 4 mais non-considérés comme des DLTs, la fièvre va être le plus observé. Elle est retrouvée chez plusieurs catégories d'agents comme les virus oncolytiques, notamment le T-Vec et le Pexa-Vec, ainsi que chez les agonistes des PRRs, comme les activateurs du RIG-1 (MK-4621) ou les agonistes STING (MK-1454). On peut également mentionner, au niveau du site d'injection, l'expérience de douleurs et de réaction par les patients. Ces AEs ont été majoritairement observés chez les agonistes des PRRs et les virus oncolytiques. Les syndromes pseudo-grippaux ont également été observés très fréquemment chez les patients ayant reçu le T-Vec et le Pexa-Vec. Des perturbations de la NFS de grades élevés furent constatées après l'administration de vecteurs ou recombinants de l'interleukine-12, avec des lymphopénies prolongées ou des thrombocytopénies. Enfin, l'induction d'hypotension de grade 3, suite à l'administration d'ADC-1013 ou de T-Vec, peut être mentionnée parmi les AEs sévères.

Ces toxicités significatives constituent un paramètre clé, tant pour la poursuite des essais cliniques que pour la sécurité des patients. Leur faible nombre, ainsi que leur finalité résolutive, sauf dans un des cas, peuvent souligner la sûreté de la stratégie intratumorale qui constituait le postulat initial d'exploration de cette voie d'administration.

### AEs les plus fréquents :

A des grades inférieurs, les AEs les plus représentés vont être, pour une partie, similaires à ceux décrits précédemment ; fièvre, douleurs/réactions au site d'injection, syndromes pseudo-grippaux, perturbation de la NFS et hypotension. La seconde portion, va comprendre la fatigue, les nausées, les frissons et les vomissements. Ces effets indésirables vont être observés très fréquemment : jusqu'à 62% des patients pour la fatigue chez les patients ayant reçu du T-Vec par exemple.

Un des paramètres à prendre en compte concernant ces données de toxicité, réside également dans le fait que pour certains agents la dose injectée en local est supérieure à celle administrée en systémique. Par exemple pour l'ADC-1013, suite à l'essai FIH réalisé, la RP2D retenue était de 200µg/kg pour la voie intratumorale et de 75µg/kg pour la voie systémique.

Bien que déclenchant des effets indésirables systémiques en plus des AEs locaux, la stratégie d'administration intratumorale semble présenter un profil avantageux, par rapport à l'IV, tant pour limiter les toxicités que pour atteindre des doses plus élevées.

### **3.1.3. Réponses observées**

L'analyse des réponses obtenues constitue un des objectif principaux des essais de Phase II, c'est donc là que les taux de réponses sont les plus détaillés. Cependant, ce facteur est néanmoins présent dans les résultats des essais de phases précoces.

#### Monothérapie :

Parmi les essais précoces, l'ADC-1013, les CART Cells en sénologie, les spores du *Clostridium novyi*-NT, les Canarypox Viruses Expressing B7.1 and Interleukin 12, le Respiratory Entericorphan et l'Adv.RSV-tk ont présenté des résultats orientant vers des réponses pharmacologiques chez les patients. Une poursuite de l'exploration de leur efficacité pourrait être envisageable. D'autres agents, comme l'EGFR AS, le DT01, le BC-819, les CCL21 Gene-Modified DC, l'EBC-46, l'α-gal et le MK-4621 ont prouvé au stade précoce des réponses intéressantes, avec notamment des CR au sein de la population à l'étude, et seraient prétendants à l'initiation d'essais de Phase II notamment en combinaison avec des PD-1/PD-L1. Cependant, à l'exemple du cDNA IL-12, l'Ad.IL-12, l'effet antitumoral s'est avéré limité, comme par exemple un effet circonscrit aux seules lésions injectées pour le cDNA IL-12, et la

poursuite des investigations fut interrompue. Enfin, le PX-594, le rhIL-12, le Coxsackievirus A21 et le T-Vec ont vu leur développement atteindre la Phase II en monothérapie.

En phase II, le CVA21 a montré des résultats intéressants, notamment au niveau de la levée de résistance à l'immunothérapie chez des patients réfractaires en premier lieu, ce qui a dirigé la poursuite de son développement en combinaison avec un CPI. Le rhIL-12 quant à lui, malgré de bons résultats, a mis en évidence des toxicités, et le nombre trop faible de patients n'a pas permis à ce jour de continuer son développement. Le PX-594 a aussi présenté des résultats en-deçà des attentes pour sa Phase II et la recherche s'est orientée vers une combinaison avec un CPI. Enfin, le T-Vec a atteint la Phase III et démontré une supériorité, tant au niveau de la survie, que de la réponse obtenue par rapport au GM-CSF.

#### Combinaison avec les CPIs :

Suite aux différents résultats des Phases II en monothérapie, l'émergence d'une combinaison entre l'administration IT et des CPIs a vu le jour pour approfondir cette synergie. Ainsi l'ipilimumab a été combiné au CVA21, au T-Vec et à l'IMO-2125, au sein de population présentant un mélanome. Grâce à cette combinaison, le CVA21 a permis l'obtention d'un ORR de 73% versus 28% en monothérapie et les seules toxicités majeures ont été reliées à l'ipilimumab. Un essai de Phase II devrait voir le jour bientôt. Les résultats du T-Vec avec la même combinaison ont vu l'ORR passé de 26% à 39%. L'étude ayant été complétée en mars 2021, une Phase III pourrait commencer sous peu. Il en est de même pour l'IMO-2125 dont les résultats de la seconde Phase, notamment la présence de réponse chez les patients précédemment résistants ainsi qu'un effet sur les lésions non-injectées, ont permis le lancement d'un essai de Phase III (NCT03445533).

Le pembrolizumab s'est également avéré être un choix de combinaison pour 5 agents ; le T-Vec, le SD-101, le CMP-001, le cavrotolimod et le MK-1454.

Le MK-1454 dont la Phase I est toujours en cours (NCT03010176), démontre une efficacité supérieure en combinaison avec un DCR de 48%, avec 6 PR contre 20% et 0 PR en monothérapie chez des patients présentant des tumeurs solides de stade avancé. L'étude du cavrotolimod en combinaison a obtenu sa RP2D (32mg), et la Phase II est actuellement en cours (NCT03684785), avec notamment, 3 des 4 répondeurs ayant progressé sous anti PD-1, suite à la présentation des résultats préliminaires en 2020. Là encore, une levée de la résistance à l'immunothérapie systémique initiale a été constatée, suite à l'infiltration de LT cytotoxiques. Les résultats préliminaires de l'essai comparant le CMP-001 en combinaison versus monothérapie soulignent également la supériorité du duo IT + IV, avec un ORR

supérieur par 10,4 points. La publication des résultats définitifs est toujours en attente mais devraient ouvrir la voie à un essai de Phase III.

Le SD-101 affiche également des résultats prometteurs, suite à son étude en Phase précoces. En effet, 2 patients ont présenté une PR et une SD pendant plus de 10 mois, lors de cet essai, alors qu'ils avaient précédemment progressé sous thérapie anti-PD-1/PD-L1. Une Phase II pourrait être initiée. La dernière combinaison avec le pembrolizumab est celle du T-Vec. Elle fait suite aux résultats de la monothérapie, qui avaient suggéré une augmentation des taux de LT CD8+ activés chez les patients répondeurs. Les résultats de la 3<sup>e</sup> Phase sont actuellement en attente.

Une 3<sup>e</sup> combinaison explorée est celle avec le nivolumab. A ce jour, 2 virus oncolytiques y ont été associés, l'HF-10, et le RP1. L'HF-10 fut testé dans un essai de Phase II (NCT03259425) prévoyant l'inclusion de patients atteints de mélanomes de stades avancés avec une injection d'HF-10 toutes les semaines et de nivolumab en IV tous les 14 jours. Cependant, celui-ci fut interrompu en raison du nombre très faible de patients inclus : 7 en l'espace de 2 ans. Un nombre élevé d'effets indésirables graves, 10 chez 3 patients, peut également y avoir contribué (47). Concernant le RP1, seuls les résultats préliminaires ont été communiqués à l'ASCO 2021 et montrent des résultats encourageants, tant au niveau de la tolérance, avec seulement des AEs de grades ½, qu'au niveau de l'absence d'exacerbation de la toxicité du nivolumab.

Après avoir prouvé sa faisabilité et sa relativement faible toxicité, l'utilisation de l'immunothérapie par la voie intratumorale montre des signaux d'efficacité. En témoignent les CR observées chez les patients des essais utilisant, en monothérapie, des modulateurs immunométaboliques (DT-01, EBC-46), des cellules du système immunitaire (CCL21 DC,  $\alpha$ -gal), des séquences codantes d'acides nucléiques (EGFR AS, BC-819). On peut également mentionner l'agoniste des PRRs le MK-4621. Les résultats des essais impliquant les virus oncolytiques tels que le PX-594 et le CVA21 ont orienté vers une combinaison avec des CPIs. Il en est de même avec le rhIL-12. La seule exception à ce jour reste celle du T-Vec qui a atteint la Phase III en monothérapie et en combinaison.

Deux catégories d'agents, les virus oncolytiques et les PRRs agonistes, ont été combinés avec les CPIs pour explorer une potentielle synergie, suite à la stimulation de la population immunitaire du microenvironnement tumoral constatée après une administration locale. Le premier effet constaté de ces associations fut la levée de la résistance à l'immunothérapie chez

des patients en rechute après traitement par CPIs IV. Cet effet fut observé avec le tilsotolimod chez des patients atteints de mélanomes ayant précédemment progressés sous immunothérapie, ainsi qu'avec le MK-1454 et le cavrotolimod chez des patients présentant des tumeurs solides de stades avancés. Le second fut l'amélioration de l'ORR observée avec ces combinaisons, entraînant l'initiation d'une étude de Phase III utilisant le tilsotolimod et l'ipilimumab, et la recommandation de la poursuite du développement du T-Vec avec cette même combinaison. Il en est de même avec le CMP-001 combiné au pembrolizumab.

### **3.2. Essais en cours avec des résultats en attente**

Au-delà des essais précédemment décrits, certains sont actuellement en cours, et leurs résultats en attente de publication. Les combinaisons sont testées avec le nivolumab, avec le cemiplimab ou encore avec l'injection d'ipilimumab en intratumoral, et non en IV, avec le JX-594.

On retrouve ainsi le JX-594 en combinaison avec le nivolumab dans un essai de Phase II (NCT03071094) ayant recruté 30 patients atteints de carcinomes hépatocellulaires, fut complété fin 2020.

On peut également mentionner la combinaison du RP1 et du cemiplimab, un autre inhibiteur de la voie PD-1/PD-L1 non testé à ce jour. L'essai de Phase II (NCT04050436) est toujours en cours de recrutement et souhaite atteindre 180 patients présentant un CSCC. Il est composé de deux bras de traitement, l'un comprenant le RP1 en monothérapie et l'autre explorant la combinaison avec le cemiplimab. La date d'achèvement de l'essai est prévue pour mars 2025 et l'obtention des résultats préliminaires pour octobre 2022.

L'utilisation d'un STING agoniste l'ADU-S100 dans 2 essais est également en attente de publication de données. Le premier, de Phase I (NCT02675439), étudie sa combinaison avec l'ipilimumab et prévoit 47 patients atteints de tumeurs solides avancées. La date de fin estimée de l'étude étant février 2021, ses résultats devraient être disponibles sous peu. Le second continue d'explorer son utilisation en monothérapie dans une Phase II (NCT03937141), en combinaison avec le pembrolizumab chez des patients atteints de cancers de la tête et du cou. L'analyse des données obtenues sur les 16 patients est prévue pour décembre 2022.

Enfin, la publication de 2 derniers essais est très attendue, car la combinaison à l'étude diffère de celles mentionnées jusqu'ici ; il s'agit de l'essai ISI-JX (NCT02977156) et de l'essai

PRIMO (NCT04270864). L'essai ISI-JX, débuté en janvier 2017 est à l'initiative du Centre Léon Bérard de Lyon et l'essai PRIMO, initié en avril 2020, émane de Gustave Roussy à Villejuif. Ceux-ci utilisent l'ipilimumab ou le nivolumab et l'ipilimumab en combinaison directement en intratumoral avec l'agent à l'étude (Pexa-Vec et Tilsotolimod respectivement), à l'instar des autres essais où ils étaient administrés par voie systémique. C'est donc une exploration de combinaisons au niveau local qui est en cours chez des patients présentant des tumeurs solides de stades avancés. L'essai ISI-JX, combinant donc le JX-594 et l'ipilimumab, prévoit 66 patients et la présentation de données en mars 2022. L'essai PRIMO quant à lui, prévoit 72 participants recevant de l'ipilimumab, du nivolumab et du tilsotolimod, et une complétion en février 2026.

### **3.3. Autorisations des autorités compétentes**

L'ensemble de ces travaux sur la voie intratumorale ont permis d'aboutir à l'approbation du Talimogene Laherparepvec (T-Vec) par la FDA et le Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), suite à l'essai OPTiM (NCT00769704) décrit précédemment et ayant regroupé 436 patients. Le CHMP a délivré son autorisation le 23 octobre 2015 (138) au niveau européen, suivi par la FDA le 27 octobre de la même année pour les Etats-Unis. Cette approbation fait suite aux résultats démontrant une amélioration de la survie à long terme et de la durée de réponse dans les stades métastatiques précoces. Elle permet au T-Vec d'être la première thérapie employant un virus oncolytique génétiquement modifiée pour un traitement par voie locale. Commercialisé sous le nom d'Imlygic™, il est désormais possible de l'utiliser pour le traitement des lésions cutanées, sous-cutanées et ganglionnaires non résecable des patients atteints de mélanomes récidivants après une première chirurgie (3,129,139–141).

Enfin, en mai 2020, la sous commission appelée Paediatric Investigation Plan (PIP) de l'EMA a accepté l'utilisation en pédiatrie de l'Imlygic™ chez des patients présentant des tumeurs solides à l'exception de celle du système nerveux central (142).

### **3.4. Perspectives**

L'approbation en 2015 du T-Vec constitue l'achèvement des nombreuses recherches initiées sur l'administration intratumorale, laquelle suscite un intérêt croissant depuis plusieurs années. Dans une optique d'harmonisation, un panel d'experts académiques, de l'industrie pharmaceutique et de cliniciens se sont réunis lors de l'ESMO, en mars 2018.

#### **3.4.1. HIT-IT guidelines**

L'objectif de cette rencontre fut d'uniformiser les termes et la méthodologie utilisés pour la récupération et l'interprétation des données obtenues dans les essais cliniques utilisant l'immunothérapie intratumorale (18).

Parmi les définitions proposées, on peut mettre en avant une nouvelle terminologie pour supplanter l'utilisation du terme « effet abscopal ». Proposé en 1953, ce terme composé du préfixe « ab »-loin de, et « scopus »-cible, fait référence à l'effet ionisant constaté à distance de la zone irradié (143). Il est depuis utilisé pour décrire les effets biologiques et anatomiques observés sur les lésions tumorales non-irradiées, lors de réponses à l'imagerie. De part son utilisation historique faisant référence à l'imagerie et dans le but de pouvoir différencier les lésions injectées et non-injectées, un consensus fut trouvé pour l'utilisation du mot « enestic » dérivé du mot « énesi » qui signifie injection en grecque et de son opposé « anenestic » pour qualifier les lésions non-injectées.

Au-delà des définitions, neuf points-clés furent abordés : le design de l'essai, les modalités d'escalade de dose, la détermination de la dose, les modalités d'injection, les critères d'exclusion des patients, l'évaluation de la toxicité, l'évaluation de l'efficacité, l'évaluation pharmacocinétique et pharmacodynamique (Figure 54).

Pour la conception de l'essai clinique, le panel suggère le recrutement d'une population de patients soigneusement sélectionnés, afin de pouvoir détecter des signes clairs d'activité. Cela se traduit par des patients capables de subir des biopsies et présentant des lésions tumorales cibles injectables et mesurables. Egalement, ces experts suggèrent également la conduite d'études parallèles afin de faciliter une meilleure compréhension du mécanisme d'action et potentiellement d'identifier des biomarqueurs d'activité.

Concernant l'escalade de dose et la détermination de la dose, vu les faibles toxicités constatées dans la plupart des essais cliniques, une dose élevée peut rapidement être atteinte et ce, sans apparition de DLT, ce qui rend la détermination de la RP2D difficile. Ici, ils suggèrent de déterminer une dose bioactive optimale pour chaque agent, afin de ne plus effectuer d'escalade de dose mais une « escalade de drogue », orientant ainsi le développement vers l'utilisation d'agents à des doses bioactives déterminées, associés au fur et à mesure de l'exploration des toxicités.

Pour les modalités d'injections, les investigateurs doivent sélectionner des lésions cibles dont la taille doit être  $\geq 1$  cm de diamètre et  $\geq 1,5$  cm de diamètre pour les ganglions lymphatiques. D'un point de vue pratique, ils recommandent une anesthésie locale 30 minutes avant, ainsi que l'utilisation d'une aiguille de diamètre le plus faible possible afin d'éviter toute morbidité et fuite lors de ponctions multiples. Pour les injections guidées par l'image, l'échographie est préférable pour l'injection des lésions tumorales superficielles, afin d'assurer le bon positionnement de l'aiguille. Pour les lésions plus profondes (hépatiques par exemple), un guidage par ultrasons ou alternativement par tomodensitométrie (scanner) est recommandé. Enfin, l'échographie Doppler doit être utilisée pour s'assurer qu'aucun gros vaisseau n'est injecté par erreur, évitant ainsi l'administration systémique accidentelle.

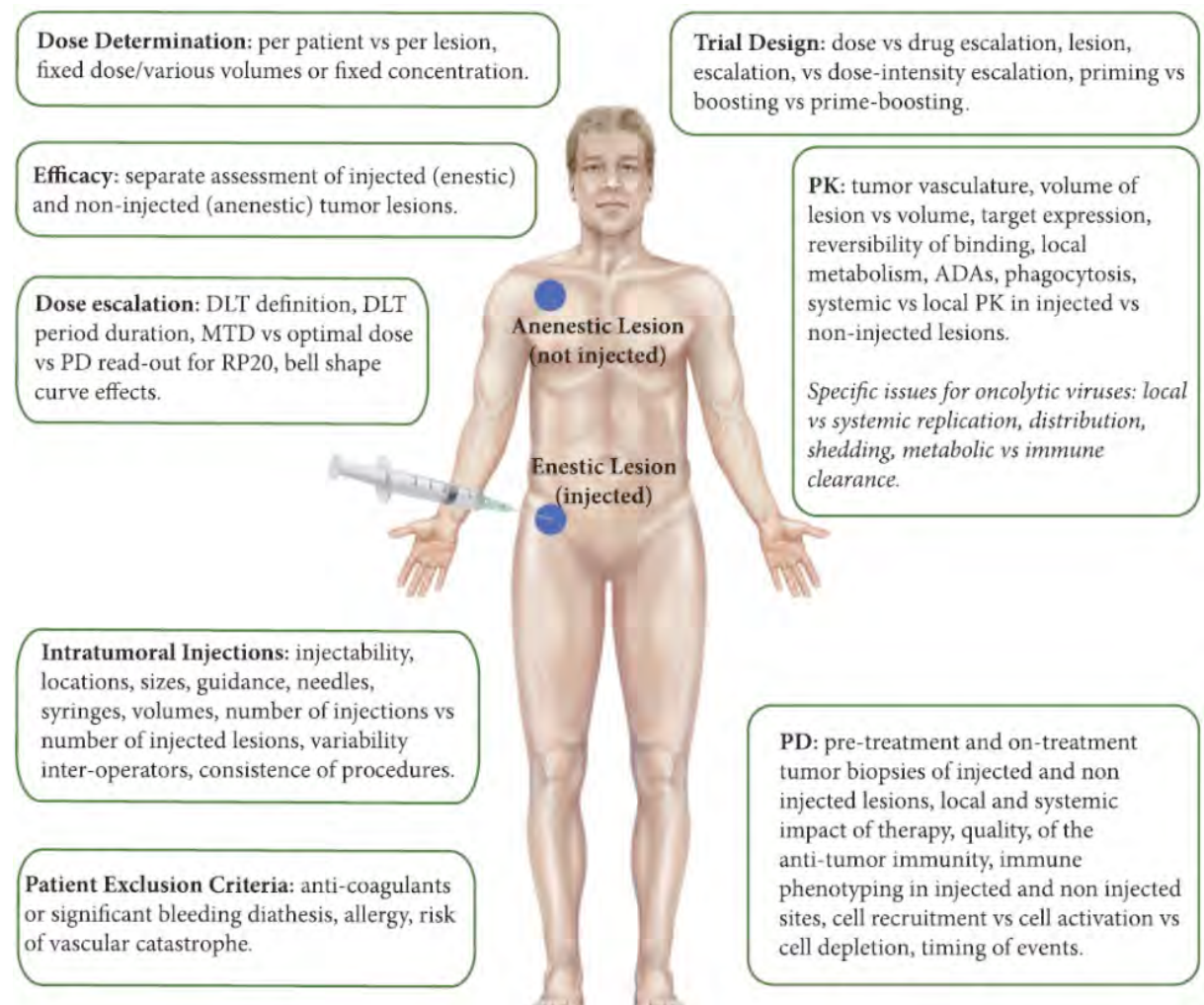
La sélection des patients doit exclure ceux présentant une coagulopathie et une revue au cas par cas doit être effectuée pour les patients sous aspirine ou clopidogrel. Les patients sous anticoagulants doivent être exclus de toutes biopsies ou injections profondes, et un taux de plaquettes de 50 000/mm<sup>3</sup> doit être considéré comme le taux minimal acceptable en vu d'une injection profonde.

La détermination de la DLT, habituellement fixée à 3 à 4 semaines après la première administration chez le patient, doit ici comprendre un suivi de certaines toxicités au-delà de cette fenêtre de temps, comme la cicatrisation des lésions injectées qui peut prendre plusieurs mois.

La mesure systématique des lésions cibles (injectées et non injectées) lors de chaque injections permet l'évaluation de la croissance ou de la réponse observée. La mesure de l'efficacité des traitements par immunothérapie est actuellement réalisée par iRECIST (144), les experts soulignent ici qu'il est adapté à une utilisation pour l'immunothérapie par voie systémique et qu'une version plus adaptée devrait être utilisée. Lors de l'ASCO 2020, Goldmacher et ses collaborateurs ont présenté une version dédiée aux essais intratumoraux baptisée ItRECIST. Ce dernier permet l'évaluation de la réponse globale et de la réponse séparée des lésions injectées et non-injectées, ainsi que des guidelines pour une adaptation

thérapeutique lors de la progression initiale de la maladie. Lors de la baseline, les lésions sont classées en 4 catégories : lésion cible injectée, cible non-injectée, non-cible injectée et non-cible non-injectée. Les lésions cibles et non-cibles ne changent plus mais des lésions précédemment non-injectées peuvent le devenir et vis versa. La réponse globale est ainsi déterminée lors de chaque évaluation à l'imagerie, en se basant sur la réponse des lésions cibles (injectées ou non), la réponse des lésions non-cibles et la présence/absence de nouvelles lésions. La réponse des lésions cibles se fait en comparant le pourcentage d'évolution de leur diamètre cumulé. Celle des non-injectées en évaluant l'évolution de la charge tumorale (tumor burden) par rapport à la baseline. Les auteurs corroborent ainsi cette volonté d'uniformiser les données issues de ces essais spécifiques (145).

Le dernier point soulevé fut celui de l'évaluation pharmacocinétique et pharmacodynamique. Pour l'aspect cinétique, les experts suggèrent l'obtention d'échantillons le plus proche possible de l'injection IT, ainsi que lors des heures et jours suivants, afin de déterminer l'exposition sur le long terme. Le prélèvement de tissus via des biopsies fait également partie de leurs recommandations, afin de déterminer si l'exposition des tumeurs anenestic n'est pas le résultat d'une exposition systémique significative de l'agent à l'étude. Pour l'aspect dynamique, ils soulèvent une série de paramètres indispensables au développement clinique des agents testés ainsi que dans la détermination de biomarqueurs. On retrouve l'évaluation de la population immunitaire telle que les Treg, les LT cytotoxiques et les CPAs (3,18).



**Figure 54 :** éléments à prendre en compte lors du design d'un essai clinique utilisant l'immunothérapie intratumorale.

Ces guidelines sont le reflet de la promesse que constitue l'immunothérapie intratumorale car, devant les résultats affichés et le nombre d'essais toujours en expansion, une uniformisation des pratiques s'est révélée indispensable.

### 3.4.2. Autres combinaisons

L'utilisation de l'immunothérapie directement au sein des lésions tumorales ne représente qu'un des aspects de la stratégie intratumorale, pour laquelle bien évidemment d'autres types d'agents ont été utilisés, soit en monothérapie, soit en combinaison, ou encore avec la radiothérapie.

Ainsi on retrouve 12 essais en cours avec différentes combinaisons comme la chimiothérapie, la cryothérapie et la radiothérapie (RT). On peut également mentionner une technique développée dans le but d'optimiser la distribution locale des agents, appelée l'électroporation. Parmi les essais explorant la combinaison IT, IV et RT, on retrouve l'EFGR AS en combinaison avec le cemiplimab et la radiothérapie (146), l'administration de cellules dendritiques en néo-adjuvant avec la radiothérapie, en vue d'une résection complète chez des patients atteints de sarcomes (NCT00365872) et l'administration de DC associées au cyclophosphamide après cryothérapie (NCT00753220).

Pour la combinaison seule avec la radiothérapie on peut citer des agonistes du TLR9 comme le CPG 7909 (NCT00226993), le PF-3512676 (NCT00880581) et le SD-101 (147). Un agoniste du TLR8 fut également testé le VTX-2337 chez des patients atteints de lymphomes à cellules B (NCT01289210). L'injection de cellules dendritiques fut également testée chez des patients présentant un sarcome (148). Pour finir l'ipilimumab fut testé avec la même combinaison chez des patients atteints de tumeurs solides (NCT01769222).

Une dernière série d'essais emploie une technique alternative pour optimiser la diffusion intratumorale suite à l'injection, il s'agit de l'électroporation. Cette technique consiste en l'utilisation d'impulsions électriques brèves, afin de créer des pores transitoires dans la membrane cellulaire, pour permettre l'entrée d'acides nucléiques dans la cellule (149). L'emploi de cette technique est appliqué dans 3 essais pour optimiser la diffusion d'un plasmide codant pour l'IL12, appelé Tavo. Le premier concerne 15 patients atteints de carcinome cellulaire de Merkel (150) dans une Phase I, le second est un essai de Phase II et a inclus 29 patients présentant un mélanome cutané (151). Le dernier essai est un essai de Phase II qui combine le Tavo au pembrolizumab chez 22 patients atteints de mélanome également (152). Ces 3 essais ont présenté des résultats encourageant la poursuite du développement de cette technique.

La diversité de ce portfolio stratégique illustre la volonté d'explorer la multitude d'options qu'a générés cette nouvelle voie d'administration chez le patient en cancérologie.

## Conclusion

Au cours des vingt-cinq dernières années, de nombreux essais ont été entrepris pour évaluer la faisabilité, la toxicité, l'efficacité et enfin la supériorité des différents agents administrés par voie intratumorale. Utilisés seuls dans un premier temps, ils ont conduit à améliorer la survie et les réponses observées chez les patients présentant un mélanome de stade avancé, permettant au Talimogene Laherparepvec de devenir le premier virus oncolytique génétiquement modifié à obtenir une autorisation d'utilisation européenne et américaine. En parallèle, les résultats de ces essais ont permis, grâce la compréhension des effets induits dans le microenvironnement tumoral, de suggérer une synergie d'action en les associant avec des stimulateurs du système immunitaire par voie systémique. Les avancées de l'immunothérapie, avec les autorisations d'utilisation de l'ipilimumab, nivolumab et pembrolizumab, ont donné un second souffle à ces recherches en réalisant des combinaisons entre ces agents d'immunothérapie et les agents intratumoraux. Au-delà de cette dualité locale et systémique, la faisabilité d'association de plusieurs agents immunostimulants administrés directement au sein de la tumeur est en cours. Ces combinaisons sont à ce jour à l'aune de la publication de leurs résultats, issus de phases de développement avancées. Ces résultats pourraient s'avérer décisifs pour la poursuite de l'exploration du potentiel de cette approche de prise en charge thérapeutique du cancer.

## Références

1. Cancers – Santé publique France [Internet]. [cité 22 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers>
2. Unis pour lutter contre les cancers ! [Internet]. elysee.fr. 2021 [cité 22 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.elysee.fr/emmanuel-macron/2021/02/04/unis-pour-lutter-contre-les-cancers>
3. Hamid O, Ismail R, Puzanov I. Intratumoral Immunotherapy—Update 2019. *Oncologist*. mars 2020;25(3):e423-38.
4. Hirschey MD, DeBerardinis RJ, Diehl AME, Drew JE, Frezza C, Green MF, et al. Dysregulated metabolism contributes to oncogenesis. *Semin Cancer Biol*. déc 2015;35 Suppl:S129-50.
5. Teixeira MR, Heim S. Cytogenetic analysis of tumor clonality. *Adv Cancer Res*. 2011;112:127-49.
6. Parsons BL. Many different tumor types have polyclonal tumor origin: evidence and implications. *Mutat Res*. oct 2008;659(3):232-47.
7. Balani S, Nguyen LV, Eaves CJ. Modeling the process of human tumorigenesis. *Nat Commun*. 25 mai 2017;8:15422.
8. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 7 janv 2000;100(1):57-70.
9. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 4 mars 2011;144(5):646-74.
10. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors: The first theories. *Oncotarget*. 18 oct 2016;8(4):7175-80.
11. Corthay A. Does the immune system naturally protect against cancer? *Front Immunol*. 2014;5:197.
12. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Reviews Immunology*. oct 2006;6(10):715-27.
13. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*. nov 2002;3(11):991-8.
14. Marabelle A, Kohrt H, Caux C, Levy R. Intratumoral Immunization: A New Paradigm for Cancer Therapy. *Clin Cancer Res*. 1 avr 2014;20(7):1747-56.
15. Marabelle A, Tselikas L, de Baere T, Houot R. Intratumoral immunotherapy: using the tumor as the remedy. *Ann Oncol*. 1 déc 2017;28(suppl\_12):xii33-43.
16. Kremer KM. Immune Checkpoint Blockade: A New Paradigm in Treating Advanced Cancer. *J Adv Pract Oncol*. déc 2014;5(6):418-31.

17. Wei SC, Levine JH, Cogdill AP, Zhao Y, Anang N-AAS, Andrews MC, et al. Distinct Cellular Mechanisms Underlie Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade. *Cell*. 7 sept 2017;170(6):1120-1133.e17.
18. Marabelle A, Andtbacka R, Harrington K, Melero I, Leidner R, de Baere T, et al. Starting the fight in the tumor: expert recommendations for the development of human intratumoral immunotherapy (HIT-IT). *Ann Oncol*. 1 nov 2018;29(11):2163-74.
19. van den Boorn JG, Hartmann G. Turning tumors into vaccines: co-opting the innate immune system. *Immunity*. 25 juill 2013;39(1):27-37.
20. Singh M, Overwijk WW. Intratumoral immunotherapy for melanoma. *Cancer Immunol Immunother*. juill 2015;64(7):911-21.
21. Brody JD, Ai WZ, Czerwinski DK, Torchia JA, Levy M, Advani RH, et al. In situ vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression: a phase I/II study. *J Clin Oncol*. 1 oct 2010;28(28):4324-32.
22. Aznar MA, Tinari N, Rullán AJ, Sánchez-Paulete AR, Rodríguez-Ruiz ME, Melero I. Intratumoral Delivery of Immunotherapy-Act Locally, Think Globally. *J Immunol*. 1 janv 2017;198(1):31-9.
23. Shekarian T, Valsesia-Wittmann S, Brody J, Michallet MC, Depil S, Caux C, et al. Pattern recognition receptors: immune targets to enhance cancer immunotherapy. *Ann Oncol*. 1 août 2017;28(8):1756-66.
24. Cottalorda A, Mercier BC, Mbitikon-Kobo FM, Arpin C, Teoh DYL, McMichael A, et al. TLR2 engagement on memory CD8(+) T cells improves their cytokine-mediated proliferation and IFN-gamma secretion in the absence of Ag. *Eur J Immunol*. oct 2009;39(10):2673-81.
25. Suttmüller RPM, den Brok MHMGM, Kramer M, Bennink EJ, Toonen LWJ, Kullberg B-J, et al. Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J Clin Invest*. févr 2006;116(2):485-94.
26. Huang B, Zhao J, Unkeless JC, Feng ZH, Xiong H. TLR signaling by tumor and immune cells: a double-edged sword. *Oncogene*. janv 2008;27(2):218-24.
27. Sato Y, Goto Y, Narita N, Hoon DSB. Cancer Cells Expressing Toll-like Receptors and the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron*. sept 2009;2 Suppl 1:205-14.
28. Haymaker C, Uemura M, Murthy R, James M, Wang D, Brevard J, et al. Abstract 5652: Translational evidence of reactivated innate and adaptive immunity with intratumoral IMO-2125 in combination with systemic checkpoint inhibitors from a Phase I/II study in patients with anti-PD-1 refractory metastatic melanoma. *Cancer Res*. 1 juill 2017;77(13 Supplement):5652-5652.
29. Ribas A, Medina T, Kummar S, Amin A, Kalbasi A, Drabick JJ, et al. SD-101 in Combination with Pembrolizumab in Advanced Melanoma: Results of a Phase Ib, Multicenter Study. *Cancer Discov*. oct 2018;8(10):1250-7.
30. O'Day S, Perez C, Wise-Draper T, Hanna G, Bhatia S, Kelly C, et al. 423 Safety and preliminary efficacy of intratumoral cavitinolmod (AST-008), a spherical nucleic acid TLR9 agonist, in combination with pembrolizumab in patients with advanced solid tumors. *J Immunother Cancer* [Internet]. 1 nov 2020 [cité 30 mai 2021];8(Suppl 3). Disponible sur: [https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl\\_3/A257.2](https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl_3/A257.2)

31. Lemke-Miltner CD, Blackwell SE, Yin C, Krug AE, Morris AJ, Krieg AM, et al. Antibody Opsonization of a TLR9 Agonist-Containing Virus-like Particle Enhances In Situ Immunization. *J Immunol.* 1 mars 2020;204(5):1386-94.
32. Besch R, Poeck H, Hohenauer T, Senft D, Häcker G, Berking C, et al. Proapoptotic signaling induced by RIG-I and MDA-5 results in type I interferon-independent apoptosis in human melanoma cells. *J Clin Invest.* août 2009;119(8):2399-411.
33. Middleton MR, Wermke M, Calvo E, Chartash E, Zhou H, Zhao X, et al. Phase I/II, multicenter, open-label study of intratumoral/intralesional administration of the retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) activator MK-4621 in patients with advanced or recurrent tumors. *Annals of Oncology.* 1 oct 2018;29:viii712.
34. Janku F, Zhang HH, Pezeshki A, Goel S, Murthy R, Wang-Gillam A, et al. Intratumoral Injection of Clostridium novyi-NT Spores in Patients with Treatment-refractory Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 1 janv 2021;27(1):96-106.
35. Flood BA, Higgs EF, Li S, Luke JJ, Gajewski TF. STING pathway agonism as a cancer therapeutic. *Immunol Rev.* juill 2019;290(1):24-38.
36. Fu J, Kanne DB, Leong M, Glickman LH, McWhirter SM, Lemmens E, et al. STING agonist formulated cancer vaccines can cure established tumors resistant to PD-1 blockade. *Sci Transl Med.* 15 avr 2015;7(283):283ra52.
37. Chin EN, Yu C, Vartabedian VF, Jia Y, Kumar M, Gamo AM, et al. Antitumor activity of a systemic STING-activating non-nucleotide cGAMP mimetic. *Science.* 21 août 2020;369(6506):993-9.
38. Gogoi H, Mansouri S, Jin L. The Age of Cyclic Dinucleotide Vaccine Adjuvants. *Vaccines (Basel).* 13 août 2020;8(3).
39. Harrington KJ, Brody J, Ingham M, Strauss J, Cemerski S, Wang M, et al. Preliminary results of the first-in-human (FIH) study of MK-1454, an agonist of stimulator of interferon genes (STING), as monotherapy or in combination with pembrolizumab (pembro) in patients with advanced solid tumors or lymphomas. *Annals of Oncology.* 1 oct 2018;29:viii712.
40. Molecular definitions of autophagy and related processes | The EMBO Journal [Internet]. [cité 30 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/emboj.201796697>
41. Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov.* sept 2015;14(9):642-62.
42. Russell SJ, Barber GN. Oncolytic Viruses as Antigen-Agnostic Cancer Vaccines. *Cancer Cell.* 9 avr 2018;33(4):599-605.
43. Macedo N, Miller DM, Haq R, Kaufman HL. Clinical landscape of oncolytic virus research in 2020. *J Immunother Cancer.* oct 2020;8(2).
44. Twumasi-Boateng K, Pettigrew JL, Kwok YYE, Bell JC, Nelson BH. Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* juill 2018;18(7):419-32.
45. Puzanov I, Milhem MM, Minor D, Hamid O, Li A, Chen L, et al. Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab in Previously Untreated, Unresectable Stage IIIB-IV Melanoma. *JCO.* 13 juin 2016;34(22):2619-26.

46. Johnson DB, Puzanov I, Kelley MC. Talimogene laherparepvec (T-VEC) for the treatment of advanced melanoma. *Immunotherapy*. 22 juin 2015;7(6):611-9.
47. Essais cliniques sur Mélanome: Nivolumab, HF10 - Registre des essais cliniques - ICH GCP [Internet]. [cité 30 mai 2021]. Disponible sur: <https://ichgcp.net/fr/clinical-trials-registry/NCT03259425>
48. Malissen N, Macagno N, Granjeaud S, Granier C, Moutardier V, Gaudy-Marqueste C, et al. HVEM has a broader expression than PD-L1 and constitutes a negative prognostic marker and potential treatment target for melanoma. *Oncol Immunology*. 2 déc 2019;8(12):e1665976.
49. Lang FF, Conrad C, Gomez-Manzano C, Yung WKA, Sawaya R, Weinberg JS, et al. Phase I Study of DNX-2401 (Delta-24-RGD) Oncolytic Adenovirus: Replication and Immunotherapeutic Effects in Recurrent Malignant Glioma. *J Clin Oncol*. 10 mai 2018;36(14):1419-27.
50. Zhang Y, Bergelson JM. Adenovirus Receptors. *J Virol*. oct 2005;79(19):12125-31.
51. Tugues S, Burkhard SH, Ohs I, Vrohligs M, Nussbaum K, Vom Berg J, et al. New insights into IL-12-mediated tumor suppression. *Cell Death Differ*. févr 2015;22(2):237-46.
52. Sung MW, Yeh H-C, Thung SN, Schwartz ME, Mandeli JP, Chen S-H, et al. Intratumoral Adenovirus-Mediated Suicide Gene Transfer for Hepatic Metastases from Colorectal Adenocarcinoma: Results of a Phase I Clinical Trial. *Molecular Therapy*. 1 sept 2001;4(3):182-91.
53. Moolten FL. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes: paradigm for a prospective cancer control strategy. *Cancer Res*. oct 1986;46(10):5276-81.
54. Cripe TP, Ngo MC, Geller JI, Louis CU, Currier MA, Racadio JM, et al. Phase 1 study of intratumoral Pexa-Vec (JX-594), an oncolytic and immunotherapeutic vaccinia virus, in pediatric cancer patients. *Mol Ther*. mars 2015;23(3):602-8.
55. Triozzi PL, Allen KO, Carlisle RR, Craig M, LoBuglio AF, Conry RM. Phase I study of the intratumoral administration of recombinant canarypox viruses expressing B7.1 and interleukin 12 in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*. 1 juin 2005;11(11):4168-75.
56. Bhatia S, Edidin M, Almo SC, Nathenson SG. B7-1 and B7-2: similar costimulatory ligands with different biochemical, oligomeric and signaling properties. *Immunol Lett*. 15 avr 2006;104(1-2):70-5.
57. Strong JE, Coffey MC, Tang D, Sabinin P, Lee PWK. The molecular basis of viral oncolysis: usurpation of the Ras signaling pathway by reovirus. *The EMBO Journal*. 15 juin 1998;17(12):3351-62.
58. Wilcox ME, Yang W, Senger D, Rewcastle NB, Morris DG, Brasher PMA, et al. Reovirus as an Oncolytic Agent Against Experimental Human Malignant Gliomas. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 20 juin 2001;93(12):903-12.
59. Curti B, Richards J, Faries M, Andtbacka RHI, Grose M, Karpathy R, et al. The MITCI (phase 1b) study: a novel immunotherapy combination of coxsackievirus A21 and ipilimumab in patients with advanced melanoma. *Annals of Oncology*. 1 oct 2016;27:vi360.
60. Bradley S, Jakes AD, Harrington K, Pandha H, Melcher A, Errington-Mais F. Applications of coxsackievirus A21 in oncology. *Oncolytic Virother*. 2014;3:47-55.

61. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res.* 2020;10(3):727-42.
62. Moran AE, Kovacsics-Bankowski M, Weinberg AD. The TNFRs OX40, 4-1BB, and CD40 as targets for cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol.* avr 2013;25(2):230-7.
63. Irenaeus SMM, Nielsen D, Ellmark P, Yachnin J, Deronic A, Nilsson A, et al. First-in-human study with intratumoral administration of a CD40 agonistic antibody, ADC-1013, in advanced solid malignancies. *International Journal of Cancer.* 2019;145(5):1189-99.
64. Beatty GL, Chiorean EG, Fishman MP, Saboury B, Teitelbaum UR, Sun W, et al. CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. *Science.* 25 mars 2011;331(6024):1612-6.
65. Khong A, Nelson DJ, Nowak AK, Lake RA, Robinson BWS. The use of agonistic anti-CD40 therapy in treatments for cancer. *Int Rev Immunol.* août 2012;31(4):246-66.
66. Vonderheide RH, Glennie MJ. Agonistic CD40 Antibodies and Cancer Therapy. *Clin Cancer Res.* 1 mars 2013;19(5):1035-43.
67. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 25 août 2011;365(8):725-33.
68. Ma S, Li X, Wang X, Cheng L, Li Z, Zhang C, et al. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors. *Int J Biol Sci.* 2019;15(12):2548-60.
69. Tchou J, Zhao Y, Levine BL, Zhang PJ, Davis MM, Melenhorst JJ, et al. Safety and Efficacy of Intratumoral Injections of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in Metastatic Breast Cancer. *Cancer Immunol Res.* déc 2017;5(12):1152-61.
70. Lee JM, Lee M-H, Garon E, Goldman JW, Salehi-Rad R, Baratelli FE, et al. Phase I Trial of Intratumoral Injection of CCL21 Gene-Modified Dendritic Cells in Lung Cancer Elicits Tumor-Specific Immune Responses and CD8+ T-cell Infiltration. *Clin Cancer Res.* 15 août 2017;23(16):4556-68.
71. Sharma S, Kadam P, Dubinett S. CCL21 Programs Immune Activity in Tumor Microenvironment. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1231:67-78.
72. Albertini MR, Ranheim E, Zuleger C, Sondel PM, Hank JA, Bridges A, et al. Phase I study to evaluate toxicity and feasibility of intratumoral injection of alpha-gal glycolipids in patients with advanced melanoma. *JCO.* 20 mai 2014;32(15\_suppl):3088-3088.
73. Galili U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogenesis and clinical benefits. *Immunology.* sept 2013;140(1):1-11.
74. Waldmann TA. Cytokines in Cancer Immunotherapy. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3 déc 2018;10(12).
75. Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie ANJ. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science.* 22 mai 2015;348(6237):aaa6566.
76. Van Herpen CM, Huijbens R, Looman M, De Vries J, Marres H, Van De Ven J, et al. Pharmacokinetics and immunological aspects of a phase Ib study with intratumoral

administration of recombinant human interleukin-12 in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a decrease of T-bet in peripheral blood mononuclear cells. *Clin Cancer Res.* 1 août 2003;9(8):2950-6.

77. Le Tourneau C, Dreno B, Kirova Y, Grob JJ, Jouary T, Dutriaux C, et al. First-in-human phase I study of the DNA-repair inhibitor DT01 in combination with radiotherapy in patients with skin metastases from melanoma. *British Journal of Cancer.* mai 2016;114(11):1199-205.
78. Hengel SR, Spies MA, Spies M. Small-Molecule Inhibitors Targeting DNA Repair and DNA Repair Deficiency in Research and Cancer Therapy. *Cell Chem Biol.* 21 sept 2017;24(9):1101-19.
79. Radford IR. The level of induced DNA double-strand breakage correlates with cell killing after X-irradiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* juill 1985;48(1):45-54.
80. Olivares-Urbano MA, Griñán-Lisón C, Marchal JA, Núñez MI. CSC Radioresistance: A Therapeutic Challenge to Improve Radiotherapy Effectiveness in Cancer. *Cells.* 9 juill 2020;9(7).
81. Panizza BJ, de Souza P, Cooper A, Roohullah A, Karapetis CS, Lickliter JD. Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46). *EBioMedicine.* 1 déc 2019;50:433-41.
82. Newton AC, Brognard J. Reversing the Paradigm: Protein Kinase C as a Tumor Suppressor. *Trends Pharmacol Sci.* mai 2017;38(5):438-47.
83. Mahvi DM, Henry MB, Albertini MR, Weber S, Meredith K, Schalch H, et al. Intratumoral injection of IL-12 plasmid DNA--results of a phase I/IB clinical trial. *Cancer Gene Ther.* août 2007;14(8):717-23.
84. Hanna N, Ohana P, Konikoff FM, Leichtmann G, Hubert A, Appelbaum L, et al. Phase 1/2a, dose-escalation, safety, pharmacokinetic and preliminary efficacy study of intratumoral administration of BC-819 in patients with unresectable pancreatic cancer. *Cancer Gene Therapy.* juin 2012;19(6):374-81.
85. Ariel I, Ayesh S, Perlman EJ, Pizov G, Tanos V, Schneider T, et al. The product of the imprinted H19 gene is an oncofetal RNA. *Mol Pathol.* févr 1997;50(1):34-44.
86. Ohana P, Bibi O, Matouk I, Levy C, Birman T, Ariel I, et al. Use of H19 regulatory sequences for targeted gene therapy in cancer. *Int J Cancer.* 10 avr 2002;98(5):645-50.
87. Ohana P, Schachter P, Ayesh B, Mizrahi A, Birman T, Schneider T, et al. Regulatory sequences of H19 and IGF2 genes in DNA-based therapy of colorectal rat liver metastases. *The Journal of Gene Medicine.* 2005;7(3):366-74.
88. Esparís-Ogando A, Montero JC, Arribas J, Ocaña A, Pandiella A. Targeting the EGF/HER Ligand-Receptor System in Cancer. *Curr Pharm Des.* 2016;22(39):5887-98.
89. Chong CR, Jänne PA. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer. *Nat Med.* nov 2013;19(11):1389-400.
90. Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med.* 13 mars 2008;358(11):1160-74.

91. Baselga J, Arteaga CL. Critical update and emerging trends in epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *J Clin Oncol*. 10 avr 2005;23(11):2445-59.
92. Lai SY, Koppikar P, Thomas SM, Childs EE, Egloff AM, Seethala RR, et al. Intratumoral Epidermal Growth Factor Receptor Antisense DNA Therapy in Head and Neck Cancer: First Human Application and Potential Antitumor Mechanisms. *JCO*. 9 févr 2009;27(8):1235-42.
93. Guo ZS, Liu Z, Kowalsky S, Feist M, Kalinski P, Lu B, et al. Oncolytic Immunotherapy: Conceptual Evolution, Current Strategies, and Future Perspectives. *Front Immunol*. 2017;8:555.
94. Harrington KJ, Kong A, Mach N, Chesney JA, Fernandez BC, Rischin D, et al. Talimogene Laherparepvec and Pembrolizumab in Recurrent or Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck (MASTERKEY-232): A Multicenter, Phase 1b Study. *Clin Cancer Res*. 1 oct 2020;26(19):5153-61.
95. Chesney J, Puzanov I, Collichio F, Singh P, Milhem MM, Glaspy J, et al. Randomized, Open-Label Phase II Study Evaluating the Efficacy and Safety of Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab Versus Ipilimumab Alone in Patients With Advanced, Unresectable Melanoma. *JCO*. 5 oct 2017;36(17):1658-67.
96. Shen J, Swift B, Mamelok R, Pine S, Sinclair J, Attar M. Design and Conduct Considerations for First-in-Human Trials. *Clinical and Translational Science*. janv 2019;12(1):6.
97. Mastrangelo MJ, Maguire HC, Eisenlohr LC, Laughlin CE, Monken CE, McCue PA, et al. Intratumoral recombinant GM-CSF-encoding virus as gene therapy in patients with cutaneous melanoma. *Cancer Gene Ther*. oct 1999;6(5):409-22.
98. Sangro B, Mazzolini G, Ruiz J, Herraiz M, Quiroga J, Herrero I, et al. Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol*. 15 avr 2004;22(8):1389-97.
99. Chinot OL, Macdonald DR, Abrey LE, Zahlmann G, Kerloëguen Y, Cloughesy TF. Response Assessment Criteria for Glioblastoma: Practical Adaptation and Implementation in Clinical Trials of Antiangiogenic Therapy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 26 mars 2013;13(5):347.
100. Park B-H, Hwang T, Liu T-C, Sze DY, Kim J-S, Kwon H-C, et al. Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial. *The Lancet Oncology*. 1 juin 2008;9(6):533-42.
101. Mehta AM, Sonabend AM, Bruce JN. Convection-Enhanced Delivery. *Neurotherapeutics*. avr 2017;14(2):358-71.
102. Kicieliński KP, Chiocca EA, Yu JS, Gill GM, Coffey M, Markert JM. Phase 1 Clinical Trial of Intratumoral Reovirus Infusion for the Treatment of Recurrent Malignant Gliomas in Adults. *Mol Ther*. mai 2014;22(5):1056-62.
103. Shafren D, Smithers BM, Formby M. A phase I, open-label, cohort study of two doses of coxsackievirus A21 given intratumorally in stage IV melanoma. *JCO*. 20 mai 2011;29(15\_suppl):8573-8573.
104. Phase 1/2, Multicenter, Open-Label Study of Intratumoral/Intralesional Administration of the Retinoic Acid–Inducible Gene I (RIG-I) Activator MK-46... | *OncologyPRO* [Internet]. [cité 30 mai 2021]. Disponible sur: <https://oncologypro.esmo.org/meeting-resources/esmo-2018->

congress/Phase-1-2-Multicenter-Open-Label-Study-of-Intratumoral-Intralesional-Administration-of-the-Retinoic-Acid-Inducible-Gene-1-RIG-I-Activator-MK-4621-in-Patients-With-Advanced-or-Recurrent-Tumors

105. Long GV, Dummer R, Ribas A, Puzanov I, VanderWalde A, Andtbacka RHI, et al. Efficacy analysis of MASTERKEY-265 phase 1b study of talimogene laherparepvec (T-VEC) and pembrolizumab (pembro) for unresectable stage IIIB-IV melanoma. JCO. 20 mai 2016;34(15\_suppl):9568-9568.
106. Ribas A, Dummer R, Puzanov I, VanderWalde A, Andtbacka RHI, Michielin O, et al. Oncolytic Virotherapy Promotes Intratumoral T Cell Infiltration and Improves Anti-PD-1 Immunotherapy. Cell. 7 sept 2017;170(6):1109-1119.e10.
107. Curti BD, Richards JM, Hallmeyer S, Faries MB, Andtbacka RHI, Daniels GA, et al. Activity of a novel immunotherapy combination of intralesional Cocksackievirus A21 and systemic ipilimumab in advanced melanoma patients previously treated with anti-PD1 blockade therapy. JCO. 20 mai 2017;35(15\_suppl):3014-3014.
108. Curti B, Richards J, Hallmeyer S, Faries M, Andtbacka R, Daniels G, et al. Abstract CT114: The MITCI (Phase 1b) study: A novel immunotherapy combination of intralesional Cocksackievirus A21 and systemic ipilimumab in advanced melanoma patients with or without previous immune checkpoint therapy treatment. Cancer Res. 1 juill 2017;77(13 Supplement):CT114-CT114.
109. Silk AW, Kaufman H, Gabrail N, Mehnert J, Bryan J, Norrell J, et al. Abstract CT026: Phase 1b study of intratumoral Cocksackievirus A21 (CVA21) and systemic pembrolizumab in advanced melanoma patients: Interim results of the CAPRA clinical trial. Cancer Res. 1 juill 2017;77(13 Supplement):CT026-CT026.
110. Milhem M, Gonzales R, Medina T, Kirkwood JM, Buchbinder E, Mehmi I, et al. Abstract CT144: Intratumoral toll-like receptor 9 (TLR9) agonist, CMP-001, in combination with pembrolizumab can reverse resistance to PD-1 inhibition in a phase 1b trial in subjects with advanced melanoma. Cancer Res. 1 juill 2018;78(13 Supplement):CT144-CT144.
111. Milhem M, Zakharia Y, Davar D, Buchbinder E, Medina T, Daud A, et al. O85 Durable responses in anti-PD-1 refractory melanoma following intratumoral injection of a toll-like receptor 9 (TLR9) agonist, CMP-001, in combination with pembrolizumab. J Immunother Cancer [Internet]. 1 avr 2020 [cité 10 avr 2021];8(Suppl 1). Disponible sur: [https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl\\_1/A2.2](https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl_1/A2.2)
112. TLR9 Agent Triggers Durable Response in Metastatic Melanoma [Internet]. Targeted Oncology. [cité 30 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.targetedonc.com/view/tlr9-agent-triggers-durable-response-in-metastatic-melanoma>
113. Diab A, Haymaker C, Bernatchez C, Andtbacka RHI, Shaheen M, Johnson D, et al. 1245PD - Intratumoral (IT) Injection of the TLR9 agonist tilsonolimod (IMO-2125) in combination with ipilimumab (ipi) triggers durable responses in PD-1 inhibitor refractory metastatic melanoma (rMM): Results from a multicenter, phase I/II study. Annals of Oncology. 1 oct 2018;29:viii442.
114. Tranchand B. Méthodologie des essais cliniques en cancérologie - Design of clinical trials in oncology. 2008;22:13.
115. van Herpen CM, Looman M, Zonneveld M, Scharenborg N, de Wilde PC, van de Locht L, et al. Intratumoral administration of recombinant human interleukin 12 in head and neck squamous

cell carcinoma patients elicits a T-helper 1 profile in the locoregional lymph nodes. *Clin Cancer Res.* 15 avr 2004;10(8):2626-35.

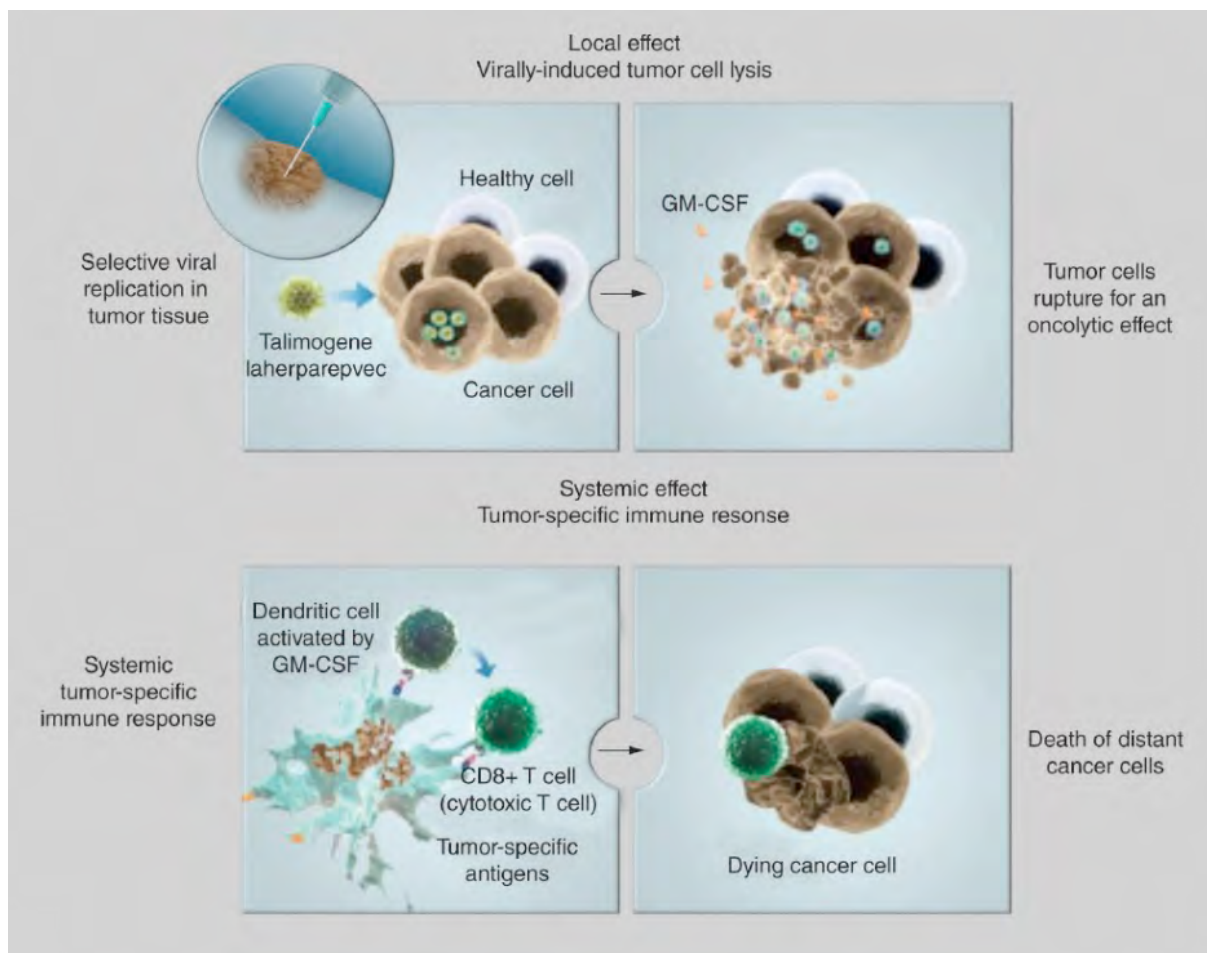
116. Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T, Nemunaitis M, Reid T, Daniels G, et al. Phase II Clinical Trial of a Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor–Encoding, Second-Generation Oncolytic Herpesvirus in Patients With Unresectable Metastatic Melanoma. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. 2 nov 2009 [cité 3 mai 2021]; Disponible sur: <https://ascopubs.org/doi/pdf/10.1200/JCO.2009.24.3675>
117. Chesney J, Puzanov I, Collichio F, Milhem MM, Hauschild A, Chen L, et al. Patterns of response with talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab or ipilimumab alone in metastatic unresectable melanoma. *British Journal of Cancer.* août 2019;121(5):417-20.
118. Andtbacka RHI, Kaufman H, Daniels GA, Spitler LE, Lutzky J, Hallmeyer S, et al. CALM study: A phase II study of intratumoral coxsackievirus A21 in patients with stage IIIC and stage IV malignant melanoma. *JCO.* 20 mai 2013;31(15\_suppl):TPS3128-TPS3128.
119. Andtbacka R, Curti B, Hallmeyer S, Feng Z, Paustian C, Bifulco C, et al. Phase II calm extension study: Coxsackievirus A21 delivered intratumorally to patients with advanced melanoma induces immune-cell infiltration in the tumor microenvironment. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer.* 1 nov 2015;3:P343.
120. Middleton MR, Sacco JJ, Merchan JR, Curti BD, Vanderwalde AM, Olsson-Brown AC, et al. An open label, multicenter, phase I/II study of RP1 as a single agent and in combination with PD1 blockade in patients with solid tumors. *JCO.* 20 mai 2019;37(15\_suppl):TPS2671-TPS2671.
121. Middleton MR, Aroldi F, Sacco J, Milhem MM, Curti BD, Vanderwalde AM, et al. An open-label, single-arm, phase II clinical trial of RP1, an enhanced potency oncolytic herpes virus, combined with nivolumab in four solid tumor types: Initial results from the skin cancer cohorts. *JCO.* 20 mai 2020;38(15\_suppl):e22050-e22050.
122. Middleton M, Aroldi F, Sacco J, Milhem M, Curti B, MBioeth AV, et al. 422 An open-label, multicenter, phase 1/2 clinical trial of RP1, an enhanced potency oncolytic HSV, combined with nivolumab: updated results from the skin cancer cohorts. *J Immunother Cancer* [Internet]. 1 nov 2020 [cité 30 mars 2021];8(Suppl 3). Disponible sur: [https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl\\_3/A257.1](https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl_3/A257.1)
123. Choi H, Charnsangavej C, Faria SC, Macapinlac HA, Burgess MA, Patel SR, et al. Correlation of computed tomography and positron emission tomography in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new computed tomography response criteria. *J Clin Oncol.* 1 mai 2007;25(13):1753-9.
124. Heo J, Reid T, Ruo L, Breitbach CJ, Rose S, Bloomston M, et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med.* mars 2013;19(3):329-36.
125. Breitbach CJ, Arulanandam R, Silva ND, Thorne SH, Patt R, Daneshmand M, et al. Oncolytic Vaccinia Virus Disrupts Tumor-Associated Vasculature in Humans. *Cancer Res.* 15 févr 2013;73(4):1265-75.
126. Moehler M, Heo J, Lee HC, Tak WY, Chao Y, Paik SW, et al. Vaccinia-based oncolytic immunotherapy Pexastimogene Devacirepvec in patients with advanced hepatocellular

- carcinoma after sorafenib failure: a randomized multicenter Phase IIb trial (TRAVERSE). *Oncolimmunology*. 3 août 2019;8(8):1615817.
127. Kaufman HL, Ruby CE, Hughes T, Slingluff CL. Current status of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the immunotherapy of melanoma. *J Immunother Cancer*. 2014;2:11.
  128. Palmer MK. WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. *Br J Cancer*. mars 1982;45(3):484-5.
  129. Andtbacka RHI, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol*. 1 sept 2015;33(25):2780-8.
  130. Harrington KJ, Andtbacka RH, Collichio F, Downey G, Chen L, Szabo Z, et al. Efficacy and safety of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with stage IIIB/C and IVM1a melanoma: subanalysis of the Phase III OPTiM trial. *Onco Targets Ther*. 2016;9:7081-93.
  131. Andtbacka RHI, Collichio F, Harrington KJ, Middleton MR, Downey G, Öhrling K, et al. Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III-IV melanoma. *J Immunother Cancer*. 6 juin 2019;7(1):145.
  132. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu W-J, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 11 juill 2013;369(2):134-44.
  133. Ribas A, Puzanov I, Dummer R, Schadendorf D, Hamid O, Robert C, et al. Pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for ipilimumab-refractory melanoma (KEYNOTE-002): a randomised, controlled, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 1 août 2015;16(8):908-18.
  134. Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 25 juin 2015;372(26):2521-32.
  135. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. avr 2015;16(4):375-84.
  136. Naidoo J, Page DB, Li BT, Connell LC, Schindler K, Lacouture ME, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann Oncol*. déc 2015;26(12):2375-91.
  137. Long G, Dummer R, Johnson D, Michielin O, Martin-Algarra S, Treichel S, et al. 429 Long-term analysis of MASTERKEY-265 phase 1b trial of talimogene laherparepvec (T-VEC) plus pembrolizumab in patients with unresectable stage IIIB-IVM1c melanoma. *J Immunother Cancer* [Internet]. 1 nov 2020 [cité 30 mai 2021];8(Suppl 3). Disponible sur: [https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl\\_3/A261.1](https://jitc.bmj.com/content/8/Suppl_3/A261.1)
  138. Anonymous. Imlygic [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 20 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/imlygic>
  139. Greig SL. Talimogene Laherparepvec: First Global Approval. *Drugs*. janv 2016;76(1):147-54.

140. FDA Approves T-VEC to Treat Metastatic Melanoma - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cité 20 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2015/t-vec-melanoma>
141. Oncolytic Virus Therapy Shows Benefit in Patients with Melanoma - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cité 20 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2015/oncolyticvirus-melanoma>
142. Anonymous. EMEA-001251-PIP01-11-M04 [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 20 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/paediatric-investigation-plans/emea-001251-pip01-11-m04>
143. Mole RH. Whole body irradiation; radiobiology or medicine? *Br J Radiol.* mai 1953;26(305):234-41.
144. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol.* mars 2017;18(3):e143-52.
145. Goldmacher GV, Khilnani AD, Andtbacka RHI, Luke JJ, Hodi FS, Marabelle A, et al. Response criteria for intratumoral immunotherapy in solid tumors: ItRECIST. *JCO.* 20 mai 2020;38(15\_suppl):3141-3141.
146. Bauman JE, Duvvuri U, Thomas S, Gooding WE, Clump DA, Karlovits B, et al. Phase 1 study of EGFR-antisense DNA, cetuximab, and radiotherapy in head and neck cancer with preclinical correlatives. *Cancer.* 1 oct 2018;124(19):3881-9.
147. Frank MJ, Reagan PM, Bartlett NL, Gordon LI, Friedberg JW, Czerwinski DK, et al. In Situ Vaccination with a TLR9 Agonist and Local Low-Dose Radiation Induces Systemic Responses in Untreated Indolent Lymphoma. *Cancer Discov.* 1 oct 2018;8(10):1258-69.
148. Finkelstein SE, Iclozan C, Bui MM, Cotter MJ, Ramakrishnan R, Ahmed J, et al. Combination of external beam radiotherapy (EBRT) with intratumoral injection of dendritic cells as neo-adjuvant treatment of high-risk soft tissue sarcoma patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 févr 2012;82(2):924-32.
149. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Electroporation. *Cold Spring Harb Protoc.* 1 juill 2019;2019(7).
150. Bhatia S, Longino NV, Miller NJ, Kulikauskas R, Iyer JG, Ibrani D, et al. Intratumoral Delivery of Plasmid IL12 Via Electroporation Leads to Regression of Injected and Noninjected Tumors in Merkel Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 1 févr 2020;26(3):598-607.
151. Greaney SK, Algazi AP, Tsai KK, Takamura KT, Chen L, Twitty CG, et al. Intratumoral Plasmid IL12 Electroporation Therapy in Patients with Advanced Melanoma Induces Systemic and Intratumoral T-cell Responses. *Cancer Immunol Res.* 1 févr 2020;8(2):246-54.
152. Algazi AP, Twitty CG, Tsai KK, Le M, Pierce R, Browning E, et al. Phase II Trial of IL-12 Plasmid Transfection and PD-1 Blockade in Immunologically Quiescent Melanoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 6 mai 2020 [cité 20 juin 2021]; Disponible sur: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/early/2020/04/23/1078-0432.CCR-19-2217>

153. Curti B, Richards J, Faries M, Grose M, Karpathy R, Shafren DR. Abstract CT021: Phase Ib study of a novel immunotherapy combination therapy of intralesional coxsackievirus A21 and systemic ipilimumab in patients with advanced melanoma. *Cancer Res.* 15 juill 2016;76(14 Supplement):CT021.
154. Haymaker C, Johnson DH, Murthy R, Bentebibel S-E, Uemura MI, Hudgens CW, et al. Tilsotolimod with ipilimumab drives tumor responses in anti-PD-1 refractory melanoma. *Cancer Discov.* 11 mars 2021;candisc.1546.2020.
155. Kaufman HL, Andtbacka RHI, Collichio FA, Wolf M, Zhao Z, Shilkrut M, et al. Durable response rate as an endpoint in cancer immunotherapy: insights from oncolytic virus clinical trials. *J Immunother Cancer.* 19 sept 2017;5(1):72.
156. Dummer R, Hoeller C, Gruter IP, Michielin O. Combining talimogene laherparepvec with immunotherapies in melanoma and other solid tumors. *Cancer Immunol Immunother.* 1 juin 2017;66(6):683-95.

## Annexe 1



Mécanisme d'action du Talimogene Laherparepvec. GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

## Annexe 2

|   | Agent Intratumoral                    | Nom / Type                                                              | Combinaison | Population                                   | Phase | Réponse observée                                        | Toxicité(s) observée(s)                                                                                                                                                                                                | Réf. |
|---|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|-------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 | Encoding nucleic acid sequences       | EGFR AS (Epidermal growth factor antisens)                              |             | 17 patients : SCCHN                          | FIH   | 2 CR<br>3 PR<br>2 SD                                    | Pas de DLT<br>Grade 1 : douleurs au site d'injection, œdème local                                                                                                                                                      | (92) |
| 2 | Encoding nucleic acid sequences       | DT01 (Inhibiteur de la réparation de l'ADN)                             |             | 23 patients : mélanome à métastases cutanées | FIH   | ORR de 67% : 5% de CR, 62% de PR.                       | Pas de DLT<br>Grade 1/2 : douleur au site d'injection et érythèmes cutanés                                                                                                                                             | (77) |
| 3 | Immune checkpoint-targeted antibodies | ADC-1013 (CD40 agonistic antibody)                                      |             | 24 patients : Stage IV solid tumors          | FIH   | 2 SD<br>Dose supérieure tolérée : 200µg/kg vs IV : 75µg | 2 DLT : cholécystite, douleur abdominale (grade 3)<br>Grade 3 : hypotension, tremblements<br>Grade 1/2 : frissons, syndrome pseudo-grippal, vomissements, nausées, tachycardie, et hypotension (Injections hépatiques) | (63) |
| 4 | Immune system cells                   | CAR T Cells (Chimeric Antigen Receptor T Cells)                         |             | 6 patients :<br>4 TNBC<br>2 ER+Her2          | FIH   | 1 SD                                                    | Grade 3 : douleur au point d'injection, nausées, vomissement, anémie                                                                                                                                                   | (69) |
| 5 | Oncolytic viruses and peptides        | JX-594 (Pexa-Vec) (Thymidine Kinase-deleted Vaccinia Virus Plus GM-CSF) |             | 7 patients : Cutaneous Melanoma              | FIH   | 1 CR<br>1 PR<br>3 Mixed Response                        | Grade 1 : Syndromes pseudo-grippaux dans 12% des injections                                                                                                                                                            | (97) |

|    |                                       |                                                                                                     |  |                                                                                                                                                                                       |     |                                               |                                                                                                                   |      |
|----|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 6  | Pattern recognition receptor agonists | Clostridium novyi-NT spores                                                                         |  | 24 patients : Stage IV solid tumors                                                                                                                                                   | FIH | 19 SD<br>SD des lésions non-injectées         | 3 DLT : septicémie, gangrène gazeuse (grade 4), fracture (grade 3)                                                | (34) |
| 7  | Immune system cells                   | CCL21 Gene-Modified DC (Cellules dendritiques autologues exprimant le gène CCL21 via un adénovirus) |  | 17 patients : NSCLC                                                                                                                                                                   | I   | 4 SD                                          | Grade 1 : expectorations contenant du sang suivant l'injection, syndromes grippaux, fatigue, nausées              | (70) |
| 8  | Immunometabolic modulators            | EBC-46 (Activateur des PKC)                                                                         |  | 22 patients :<br>10 SCC,<br>3 mélanomes,<br>2 carcinomes basale cellulaire, 2 adénocar. sein,<br>1 fibroxanthome, 1 fibrosarcome,<br>1 carcinome adénoïde cystique,<br>1 angiosarcome | I   | 1 CR<br>3 PR<br>10 SD                         | 1 DLT : obstruction des voies aériennes supérieures (grade 4)<br>Grade 3 : douleurs abdominales, stridor          | (81) |
| 9  | Oncolytic viruses and peptides        | $\alpha$ -gal glycolipids (Autologous tumor vaccine)                                                |  | 9 patients : Metastatic Melanoma                                                                                                                                                      | I   | Nécrose au niveau des métastases lymphatiques | Toxicité tolérable au niveau du site d'injection<br>Absence de toxicité systémique                                | (72) |
| 10 | Oncolytic viruses and peptides        | Ad.IL-12 (vecteur à adénovirus des gènes de l'interleukine-12)                                      |  | 21 patients :<br>9 HCC, 5 CCR et 7 pancreatic cancer                                                                                                                                  | I   | 10 SD                                         | Grade 3 : lymphopénie, douleurs au site d'injections, épanchement pleural, œdème intestinal des muqueuses, nausée | (98) |
| 11 | Oncolytic viruses and peptides        | Canarypox Viruses Expressing B7.1 and Interleukin 12                                                |  | 14 patients : Metastatic Melanoma                                                                                                                                                     | I   | 2 SD                                          | Pas de DLT<br>Pas de toxicité                                                                                     | (55) |

|    |                                                             |                                                                         |  |                                                                          |      |                                                           |                                                                                                                                                                                                  |       |
|----|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 12 | Oncolytic viruses and peptides                              | DNX-2401 (Adénovirus oncolytique)                                       |  | 37 patients :<br>33 GBM,<br>2 gliosarcomes<br>2 astrocytomes anaplasique | I    | 5 PR                                                      | Pas de DLT<br>Grade 1/2 : maux de tête, nausée, confusion, vomissement, fièvre                                                                                                                   | (49)  |
| 13 | Oncolytic viruses and peptides lactoferrin-derived peptides | JX-594 (Pexa-Vec) (Thymidine Kinase-deleted Vaccinia Virus Plus GM-CSF) |  | 7 patients :<br>3 HCC,<br>2 neuroblastomes<br>1 sarcome de Ewing         | I    | 4 SD                                                      | Grade 3 : fièvre<br>Le second effet indésirable notable est le développement de lésions pustuleuses chez les 3 patients                                                                          | (54)  |
| 14 | Oncolytic viruses and peptides                              | Respiratory Entericorphan (Reovirus)                                    |  | 15 patients :<br>12 GBM,<br>3 astrocytomes anaplasiques                  | I    | 1 CR (12 mois après l'injection)<br>PFS médian = 61 jours | Pas de DLT<br>Pas de toxicité                                                                                                                                                                    | (102) |
| 15 | Oncolytic viruses and peptides                              | Adv.RSV-tk (Adenovirus-Mediated Suicide Gene Transfer)                  |  | 16 patients :<br>CRC                                                     | I    | 11 SD                                                     | Grade 1 : élévation des transaminases, thrombopénie<br>Grade 1/2 : leucopénie neutrophile<br>Grade 1 à 4 : fièvre                                                                                | (52)  |
| 16 | Oncolytic viruses and peptides                              | JX-594 (Pexa-Vec) (Thymidine Kinase-deleted Vaccinia Virus Plus GM-CSF) |  | 14 patients :<br>HCC                                                     | I    | 3 PR, 6 SD                                                | 2 DLT : hyper bilirubinémie, anorexie et douleur abdominale (grade 3)<br>Syndromes pseudo-grippaux chez 100% des patients (grades 1 à 3)<br>Thrombocytopénie chez 28% des patients (grade 1 à 3) | (100) |
| 17 | Oncolytic viruses and peptides                              | Coxsackievirus A21 (CVA21)                                              |  | 9 Patients :<br>Stage IV Melanoma                                        | I    | No objective responses<br>2 SD                            | Pas de DLT<br>MTD non atteinte                                                                                                                                                                   | (103) |
| 18 | Encoding nucleic acid sequences                             | cDNA IL-12                                                              |  | 12 patients :<br>Melanoma                                                | I/Ib | 5 PR et 3 SD                                              | Grade 1 : érythème                                                                                                                                                                               | (83)  |

|    |                                             |                                                            |               |                                                                             |    |                                                                                                   |                                                                                                                                                                                         |                        |
|----|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 19 | Cytokines                                   | rhIL-12<br>(Recombinant<br>humain de<br>l'interleukine-12) |               | 6 patients : HNSCC                                                          | Ib | 2 SD                                                                                              | Grade 3/4 : Lymphopénie<br>Grade 2 : Fièvre                                                                                                                                             | (76)                   |
| 20 | Oncolytic viruses<br>and peptides           | Talimogene<br>Laherparepvec T-<br>VEC                      | Ipilimumab    | 19 patients : Melanoma                                                      | Ib | ORR de 50% : 4<br>CR, 5 PR, 4 SD                                                                  | Pas de DLT<br>Grade 3 : fièvre, fatigue,<br>diarrhée, nausée, syndrome<br>pseudo-grippal déshydratation<br>et vomissement                                                               | (45)                   |
| 21 | Oncolytic viruses<br>and peptides           | Coxsackievirus<br>A21 (CVA21)                              | Ipilimumab    | 26 patients :<br>unresectable Stage IIIB/C-<br>IVM1c melanoma               | Ib | DCR (CR+PR+SD)<br>: 88%<br>ORR : 38%                                                              | Ipilimumab :<br>Grade 3 : fatigue, toxicité<br>hépatique<br>CVA21 :<br>Pas de toxicité                                                                                                  | (59)<br>(153)<br>(107) |
| 22 | Pattern<br>recognition<br>receptor agonists | CMP-001<br>(Agoniste du<br>TLR9)                           | pembrolizumab | 144 patients : Melanoma                                                     | Ib | Combinaison :<br>ORR : 25,8%<br><br>Monothérapie :<br>ORR : 15,4%                                 | Combinaison :<br>Grade 3 : 33% des patients<br><br>Monothérapie :<br>Grade 3 : 22% des patients                                                                                         | (110)<br>(111)         |
| 23 | Oncolytic viruses<br>and peptides           | Coxsackievirus<br>A21 (CVA21)                              | Pembrolizumab | 11 patients :<br>mélanome de stade avancé<br>précédemment traités ou<br>non | Ib | DCR (CR+PR+SD)<br>: 91%                                                                           | CVA21 :<br>Grade 3 : Aucun<br><br>Pembrolizumab :<br>Conforme à ceux attendus par<br>le RCP                                                                                             | (109)                  |
| 24 | Pattern<br>recognition<br>receptor agonists | SD-101<br>(Immunostimulator<br>yCpG / TLR-9<br>Agonist)    | pembrolizumab | 22 patients : melanoma                                                      | Ib | 2 CR, 7 PR, 5 SD                                                                                  | Pas de DLT<br>Grade 3/4 : frissons, myalgie,<br>douleur au site d'injection                                                                                                             | (29)                   |
| 25 | Oncolytic viruses<br>and peptides           | Talimogene<br>Laherparepvec T-<br>VEC                      | Pembrolizumab | 19 patients : Melanoma                                                      | Ib | ORR de 61,9% : 7<br>CR, 6 PR et 3 SD.<br>PFS d'environ 70%<br>à 18 mois<br>OS de 90% à 20<br>mois | Pembrolizumab :<br>Grade 1/2 : fatigue (62%), le<br>rash (33%), arthralgie (33%)<br>(incidence)<br>T-Vec :<br>Grade 1/2 : fatigue (62%),<br>frissons (48%), fièvre (43%)<br>(incidence) | (105)<br>(106)         |

|    |                                       |                                                            |               |                                              |       |                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |       |
|----|---------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 26 | Pattern recognition receptor agonists | cavrotolimod (AST-008) (Agoniste du TLR-9)                 | pembrolizumab | 20 patients : solid tumors                   | Ib/II | ORR 21%                                                                                          | Combinaison : Grade 3 : Agitation, réaction au site d'injection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | (30)  |
| 27 | Pattern recognition receptor agonists | MK-1454 (STING agoniste)                                   | Pembrolizumab | 60 patients : solid tumors                   | I/II  | <p>Arm 1 :<br/>0 CR/PR<br/>DCR : 20%</p> <p>Arm 2 (+ pembrolizumab) :<br/>6 PR<br/>DCR : 48%</p> | <p>Arm 1 :<br/>1 DLT : vomissement<br/>Grade <math>\geq 3</math> : chez 9% des patients<br/>AEs chez <math>\geq 10\%</math> des patients : fièvre, frissons, fatigue, douleur au site d'injection, nausée.</p> <p>Arm 2 (+ pembrolizumab) :<br/>2 DLTs: réaction au niveau du site d'injection<br/>Grade <math>\geq 3</math> : chez 14% des patients<br/>AEs chez <math>\geq 10\%</math> des patients : fièvre, frissons, fatigue, douleur au site d'injection, nausée, démangeaisons.</p> | (39)  |
| 28 | Pattern recognition receptor agonists | MK-4621 (Retinoic Acid–Inducible Gene I (RIG-I) Activator) |               | 15 patients : advanced/refractory tumors     | I/II  | 4 SD                                                                                             | <p>Pas de DLT</p> <p>Grade 3 : Fièvre, douleurs, anxiété</p> <p>Grade 1/2 : Fièvre, fatigue</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | (33)  |
| 29 | Pattern recognition receptor agonists | IMO-2125 (Agoniste du TLR9)                                | Ipilimumab    | 24 patients : refractory metastatic melanoma | I/II  | ORR de 38%<br>DCR de 71% : 2 CR, 6 PR et 7 SD                                                    | Grade 1/2 : syndromes pseudo-grippaux                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | (113) |

|    |                                       |                                                                                      |            |                                                                                                                   |       |                                                             |                                                                                                                                                                                             |                |
|----|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 30 | Encoding nucleic acid sequences       | BC-819 (DNA plasmid expressing diphtheria-toxin gene under H19 regulatory sequences) |            | 9 patients : Pancreatic cancer                                                                                    | I/IIa | 5 SD                                                        | 1 DLT : Elévation des lipases (grade 3)<br>Grade 2 : Elévation de l'amylase<br>Grade 1 : Anémie, Diarrhée                                                                                   | (84)           |
| 31 | Pattern recognition receptor agonists | IMO-2125 (Agoniste du TLR9)                                                          | Ipilimumab | 49 patients : Melanoma                                                                                            | II    | ORR : 22,4%<br>DCR : 71,4%                                  | Grade 3 : réaction au site d'injection, agitation<br>Grade 3/4 chez 48,4% des patients<br>Fréquence AEs : fatigue (51.6%), nausée (40.3%), anémie (38.7%), diarrhée (37.1%), fièvre (35.5%) | (154)          |
| 32 | Cytokines                             | rhIL-12 (Recombinant humain de l'interleukine-12)                                    |            | 10 patients : SCCHN                                                                                               | II    | L'OS : 2,3 ans<br>PFS médian : 2,9 ans                      | DLT (unexpected) : Toxicité hépatique, fatigue (Grade 3)                                                                                                                                    | (115)          |
| 33 | Oncolytic viruses and peptides        | RP1 (HSV amélioré)                                                                   | Nivolumab  | 39 patients :<br>30 mélanomes, 6 carcinomes squameux, 1 carcinome basal, 1 carcinome de Merkel et 1 angiosarcome. | II    | 3 CR parmi 8 réponses objectives                            | RP 1 :<br>AEs de grade 1/2<br><br>Nivolumab :<br>Pas d'exacerbation des AEs attendus                                                                                                        | (121)          |
| 34 | Oncolytic viruses and peptides        | Coxsackievirus A21 (CVA21)                                                           |            | 13 patients : Melanoma                                                                                            | II    | irPFS : 37%<br>ORR : 28,1%<br>1 year survival rate : 75,4%. | Grade 3/4 : aucun                                                                                                                                                                           | (118)<br>(119) |

|    |                                |                                                                         |               |                                                                                         |        |                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                    |                       |
|----|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 35 | Oncolytic viruses and peptides | Talimogene Laherparepvec T-VEC                                          | Ipilimumab    | 198 patients : Melanoma                                                                 | II     | Combinaison :<br>ORR = 39%<br>Visceral lesion decreases in 52% of the patients<br><br>Monothérapie :<br>ORR = 18%<br>Visceral lesion decreases in 23% of the patients | Combinaison :<br>Fatigue (59%), frissons (53%), diarrhée (42%)<br>AEs de grade $\geq 3$ : 45%<br><br>Monothérapie :<br>Fatigue (42%), frissons (3%), diarrhée (35%)<br>AEs de grade $\geq 3$ : 35% | (95)<br><br><br>(117) |
| 36 | Oncolytic viruses and peptides | Talimogene Laherparepvec T-VEC                                          |               | 50 patients : Melanoma                                                                  | II     | 1 year Overall Survival Rate = 40%<br>ORR = 26%<br>DCR = 46%                                                                                                          | Effets indésirables principalement limités à des syndromes pseudo-grippaux transitoires                                                                                                            | (116)                 |
| 37 | Oncolytic viruses and peptides | JX-594 (Pexa-Vec) (Thymidine Kinase-deleted Vaccinia Virus Plus GM-CSF) |               | 30 patients : HCC                                                                       | IIa    | 1 PR, 1 CR                                                                                                                                                            | Grade 1/2 : syndromes pseudo-grippaux, inflammation au point d'injection                                                                                                                           | (124)                 |
| 38 | Oncolytic viruses and peptides | JX-594 (Pexa-Vec) (Thymidine Kinase-deleted Vaccinia Virus Plus GM-CSF) | BSC           | 129 patients : HCC                                                                      | IIb    | OS médian (combinaison) : 4,2 mois<br>OS médian (contrôle) : 4,4 mois                                                                                                 | Combinaison :<br>Grade 3 : Fièvre, Hypotension                                                                                                                                                     | (126)                 |
| 39 | Oncolytic viruses and peptides | Talimogene Laherparepvec T-VEC                                          | Pembrolizumab | 36 patients : R/M HNSCC (recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma) | Ib/III | T-Vec :<br>OS et PFS médian : 3.0 mois<br><br>Pembro :<br>OS et PFS médian : 5.8 mois                                                                                 | 1 DLT : hémorragie artérielle (grade 5)<br><br>T-Vec :<br>AEs chez 55.6% des patients<br><br>Pembrolizumab :<br>AEs ches 58.3% des patients                                                        | (94)                  |

|    |                                |                                |               |                                                                                                               |     |                                                                                                                                |                                |                                  |
|----|--------------------------------|--------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 40 | Oncolytic viruses and peptides | Talimogene Laherparepvec T-VEC |               | 436 patients :<br>treatment-naïve and previously treated patients with unresectable stage IIIB–IVM1c melanoma | III | OS médian (combinaison) : 23,3 mois<br>OS médian (contrôle) : 18,9 mois<br>DCR (combinaison) : 76,3%<br>DCR (contrôle) : 56,7% | Meilleure tolérance versus BSC | (129)<br>(131)<br>(155)<br>(156) |
| 41 | Oncolytic viruses and peptides | Talimogene Laherparepvec T-VEC | Pembrolizumab | 713 patients : Melanoma                                                                                       | III | Résultats en attente                                                                                                           | Résultats en attente           | (137)                            |

## **INTRATUMORAL IMMUNOTHERAPY IN ONCOLOGY : CONCEPT, RESULTS AND PERSPECTIVES**

Cancer is the second leading cause of death in the world with approximately 10 million deaths, making it responsible of one in six deaths, each year. Epidemiology data reported by Santé Publique France indicate an incidence of 382,000 cases in 2018 in France, of which 54% in adult men. The year 2003 marked the start of the first clinical trial using a new administration technique: the intratumoral route. This approach involves the injection of an agent causing tumor lysis and triggering an immune response within the tumor microenvironment. Numerous trials have evaluated the feasibility, toxicity, efficacy and finally the therapeutic superiority of the various agents administered by this route. These results allowed Talimogene Laherparepvec to become the first genetically modified oncolytic virus to obtain European and American authorization for use in 2015. In parallel, the advent of systemic immunotherapy since 2011 has made it possible to explore the synergy between intratumoral agents and immunotherapy agents. The results of the use of these combinations, currently in advanced stages of development, may prove decisive for the further exploration of the potential of this approach to the therapeutic management of cancer.

**AUTEUR : DUPIS EDOUARD**

**TITRE : L'IMMUNOTHERAPIE INTRATUMORALE EN ONCOLOGIE :  
CONCEPT, RESULTATS ET PERSPECTIVES**

**DIRECTEUR DE THESE : GAIRIN JEAN-EDOUARD, PROFESSEUR EMERITE**

**LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : TOULOUSE, LE 9 JUILLET 2021**

## **Résumé en français**

Le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde avec environ 10 millions de morts, soit approximativement un décès sur six, chaque année. Les données d'épidémiologie rapportées par Santé Publique France indiquent une incidence de 382 000 cas en 2018 en France dont 54% chez l'homme adulte. L'année 2003 marquait le début du premier essai clinique utilisant une nouvelle technique d'administration : la voie intratumorale. Cette approche consiste en l'injection, d'un agent provoquant une lyse tumorale et déclenchant une réponse immunitaire au sein du microenvironnement tumoral. De nombreux essais cliniques ont évalué la faisabilité, la toxicité, l'efficacité et enfin la supériorité thérapeutique, des différents agents administrés par cette voie. Ces résultats ont ainsi permis au Talimogene Laherparepvec de devenir le premier virus oncolytique génétiquement modifié à obtenir une autorisation d'utilisation européenne et américaine en 2015. En parallèle, l'avènement de l'immunothérapie systémique depuis 2011 a permis d'explorer la synergie entre les agents intratumoraux et d'immunothérapie. Les résultats de l'utilisation de ces combinaisons, actuellement à des phases de développement avancées, pourraient s'avérer décisifs pour la poursuite de l'exploration du potentiel de cette approche de prise en charge thérapeutique du cancer.

**MOTS-CLES : Oncologie, Immunothérapie intratumorale, Virus oncolytique**