

## L'immunoTEP, l'imagerie médicale du futur ?

**Résumé** L'immunoTEP vit actuellement un tournant technologique avec le développement de nouveaux outils issus de la chimie bioorthogonale. Les outils chimiques tels que des réactions de ligations rapides, efficaces et utilisables *in vivo* ont permis de développer des approches novatrices qui visent à améliorer l'imagerie TEP en termes de qualité du diagnostic mais aussi de dosimétrie pour le patient.

**Mots-clés** Imagerie médicale, immunoTEP, chimie bioorthogonale, agent de clairance, agent de masquage, pré-ciblage.

**Abstract** ImmunoPET, medical imaging of the future?

ImmunoPET is currently at a technological turning point with the development of new tools based on bioorthogonal chemistry. Chemical tools such as ligation reactions that are fast, efficient and that can be used *in vivo* have enabled the development of innovative approaches that will significantly improve PET imaging in terms of both diagnostic quality and patient dosimetry.

**Keywords** Medical imaging, immunoPET, bioorthogonal chemistry, clearing agent, masking agent, pre-targeting.

La tomographie par émission de positons (TEP) est une technique d'imagerie médicale non invasive et dynamique. Elle permet de visualiser en trois dimensions un récepteur ou une activité métabolique d'un tissu grâce à l'utilisation d'un radiotracer. Le radiotracer se compose d'un vecteur moléculaire qui a un ciblage spécifique *in vivo* (petite molécule, peptide, protéine, anticorps...) et du radioisotope émetteur de positons (carbone-11, fluor-18, zirconium-89, gallium-68...). Au cours de la désintégration, les positons émis rencontrent un électron du milieu provoquant « l'annihilation » de ces particules et l'émission d'énergie sous forme de deux rayons gamma (photons d'énergie 511 keV) émis à 180° l'un de l'autre, détectés par la couronne des détecteurs des caméras placée autour du patient. C'est la combinaison des trajectoires parcourues par ces photons qui permet de localiser leur émission et de calculer la concentration en radiotracer en chaque point. On obtient par contraste une image faisant apparaître les variations de concentrations du radiotracer dans l'organisme permettant de faire un diagnostic du patient (figure 1).

L'un des radiotraceurs les plus couramment utilisés est le 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose (<sup>18</sup>F-FDG). Le <sup>18</sup>F-FDG est un analogue du glucose rendu radioactif par l'introduction d'un atome de fluor-18 ( $T_{1/2} = 109,8$  min).

En oncologie, le <sup>18</sup>F-FDG a révolutionné le diagnostic, la stratification et le suivi thérapeutique des patients. Ce radiotracer permet de visualiser l'activité cellulaire, et notamment le fonctionnement anormal du métabolisme énergétique (figure 1).

Ainsi les cellules cancéreuses, qui ont une consommation en glucose supérieure à celle des cellules saines, accumuleront davantage de <sup>18</sup>F-FDG et pourront être visualisées sur les images. L'un des avantages d'utiliser le fluor-18 en imagerie TEP est lié à sa période radioactive (ou temps de demi-vie), c'est-à-dire le temps nécessaire pour que la moitié des atomes se désintègrent naturellement. La période du fluor étant de 109,8 minutes, cela permet au patient ayant réalisé une imagerie TEP avec du <sup>18</sup>F-FDG de sortir de son examen avec un taux de radioactivité faible.

Bien que l'utilité du <sup>18</sup>F-FDG en oncologie soit incontestée, ce radiotracer reste limité par le manque de spécificité de l'information obtenue. En effet, si l'image TEP permet de

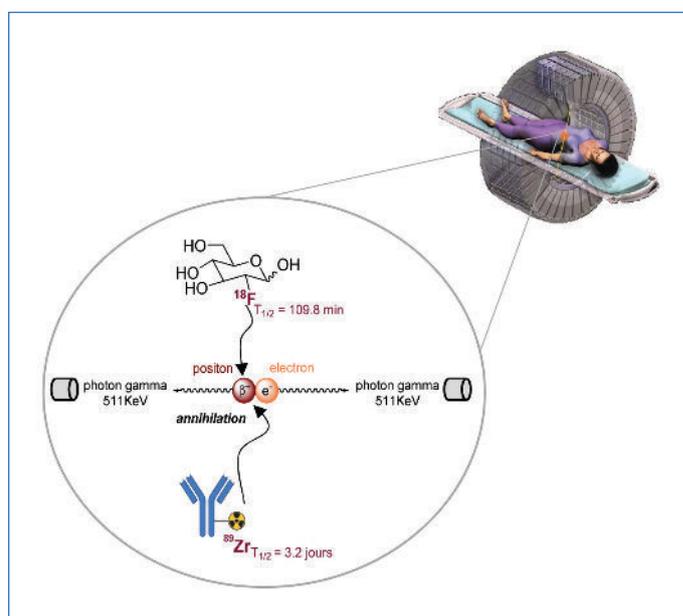


Figure 1 - Principe de la tomographie par émission de positons (TEP) illustré avec le <sup>18</sup>F-FDG et un anticorps marqué au zirconium-89 (<sup>89</sup>Zr).

visualiser un métabolisme anormal du glucose, elle ne permet pas de caractériser des biomarqueurs spécifiques. Dans un contexte émergent de médecine de précision, s'est alors développée l'immunoTEP.

### L'immunoTEP, une nouvelle stratégie de radiomarquage

L'immunoTEP consiste à utiliser des anticorps radiomarqués comme vecteur moléculaire ciblant spécifiquement des récepteurs des cellules tumorales, afin d'identifier des signatures moléculaires spécifiques. Cette technique d'imagerie devient un outil pivot pour comprendre le contexte immunitaire d'une tumeur et pour sélectionner les options thérapeutiques les plus appropriées pour chaque patient. Cependant, en raison d'un ciblage imparfait et d'une pharmacocinétique non optimale des anticorps, son potentiel pour un diagnostic de précision du cancer n'a pas encore atteint son optimum.

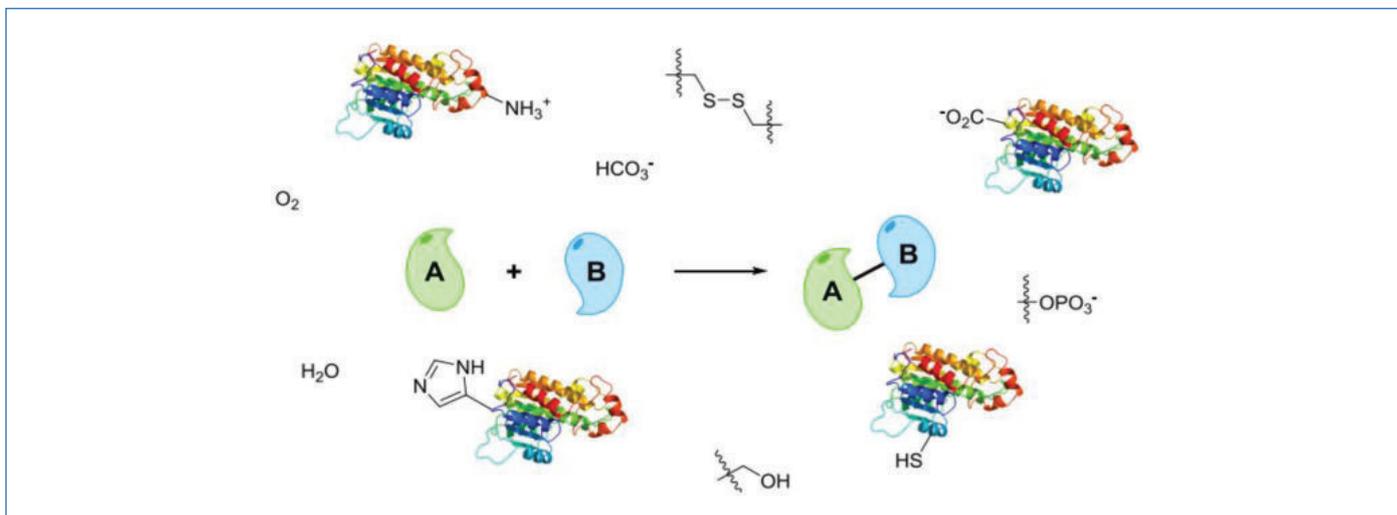


Figure 2 - Illustration d'une réaction bioorthogonale entre deux partenaires A et B.

En effet, seul un pourcentage limité de la dose injectée (généralement < 10 %) atteint sa cible après plusieurs jours du fait de la demi-vie biologique intrinsèquement longue des anticorps dans l'organisme. Ceci est à l'origine d'un bruit de fond persistant en imagerie TEP et rend l'utilisation des anticorps en imagerie incompatible avec la demi-vie du fluor-18.

Pour pallier le problème de la courte demi-vie du fluor-18, le marquage au zirconium-89 ( $^{89}\text{Zr}$ ) est utilisé comme alternative, ce dernier ayant une demi-vie de 3,2 jours. Cependant, l'utilisation du zirconium pose des problèmes de dosimétrie pour le patient et rend l'organisation clinique des examens compliquée puisque les patients doivent réaliser deux visites dans le service de médecine nucléaire, la première pour l'injection de l'anticorps radiomarqué au  $^{89}\text{Zr}$  et la seconde, trois à cinq jours plus tard pour l'imagerie.

Pour se diriger vers une médecine personnalisée, propre à chaque cancer et donc à chaque patient, plusieurs stratégies sont mises en œuvre afin d'améliorer l'immunoTEP. Parmi celles-ci, la chimie click et la chimie bioorthogonale, qui ont valu le prix Nobel 2022 à C. Bertozzi, M. Meldal et B. Sharpless, offrent de nombreux espoirs [1]. Ces réactions permettent en effet d'envisager de lier des molécules ou biomolécules *in vivo*, ce qui peut potentiellement trouver des applications importantes dans le domaine de l'immunoTEP.

### Les principales réactions bioorthogonales utilisables en immunoTEP

Dans le cas de l'immunoTEP, seules quelques réactions bioorthogonales compatibles avec l'utilisation d'anticorps et applicables *in vivo* ont fait leurs preuves. Dans le cadre de cet article, nous allons nous concentrer sur les réactions de ligations (ou de « click »). La chimie click regroupe l'ensemble des réactions rapides et spécifiques permettant d'assembler des entités pour obtenir des structures plus ou moins complexes. Les prérequis définis par Sharpless [2] pour le développement d'une réaction de ligation sont les suivants : une réaction stéréospécifique, modulable permettant d'accéder à un large spectre de molécules avec des rendements élevés, ne produisant que des sous-produits inoffensifs pouvant être éliminés sans l'utilisation de colonne chromatographique. Le processus de chimie click, quant à lui, doit répondre aux critères suivants : des conditions de réaction simple utilisant des

matières premières et réactifs accessibles, ne nécessitant pas de solvant ou un solvant biocompatible tel que l'eau facile à éliminer. Sur les préceptes de la chimie click se sont greffés ceux de la chimie bioorthogonale.

La chimie bioorthogonale, introduite par C. Bertozzi en 2003 [1], fait référence à l'ensemble des réactions compatibles avec les milieux biologiques (pouvant être faites à pH et température physiologiques), ayant lieu de façon sélective entre deux partenaires réactionnels qui ont la particularité d'être inertes vis-à-vis des nombreuses fonctions chimiques présentes dans ces milieux (figure 2).

La vitesse de réaction est un critère important et une constante cinétique élevée est nécessaire pour permettre de travailler à de faibles concentrations, ce qui est généralement une des contraintes des études *in vivo*. D'autre part, une vitesse considérable permet de favoriser la réaction vis-à-vis d'autres phénomènes pouvant survenir en milieu complexe (métabolisation, élimination rapide, réactions parasites).

Les deux réactions bioorthogonales ayant montré des résultats intéressants dans le domaine de l'immunoTEP sont la réaction de Diels-Alder à demande inverse d'électrons (iEDDA, « inverse-electron-demand Diels-Alder ») et la SPSAC (« strain-promoted sydnone-alkyne cycloaddition », découverte de façon concomitante par le groupe de Chin [3] et notre équipe [4] (figure 3).

Parmi les stratégies visant à améliorer le diagnostic en immunoTEP, un focus sur trois approches est présenté dans cet article : le pré-ciblage (« pre-targeting ») des cellules tumorales ; le masquage, destiné à rendre le vecteur moléculaire furtif avant l'étape de radiomarquage bioorthogonal *in vivo* ; et la clairance, visant à favoriser l'élimination du radio-traceur.

#### Focus 1 : pré-ciblage

La stratégie de pré-ciblage (figure 4), déjà étudiée depuis une trentaine d'années, a pris un nouveau tournant avec les récentes découvertes en chimie bioorthogonale. Le pré-ciblage en immunoTEP consiste à injecter des anticorps ciblant un biomarqueur tumoral (ou de l'environnement immunitaire) ayant été préalablement dérivatisé par une fonction chimique bioorthogonale. L'anticorps n'étant pas radiomarqué, il est possible d'attendre le temps nécessaire pour une bioaccumulation maximale de ce dernier sur le site tumoral. Puis dans un second temps, une molécule radiomarquée (aussi appelée

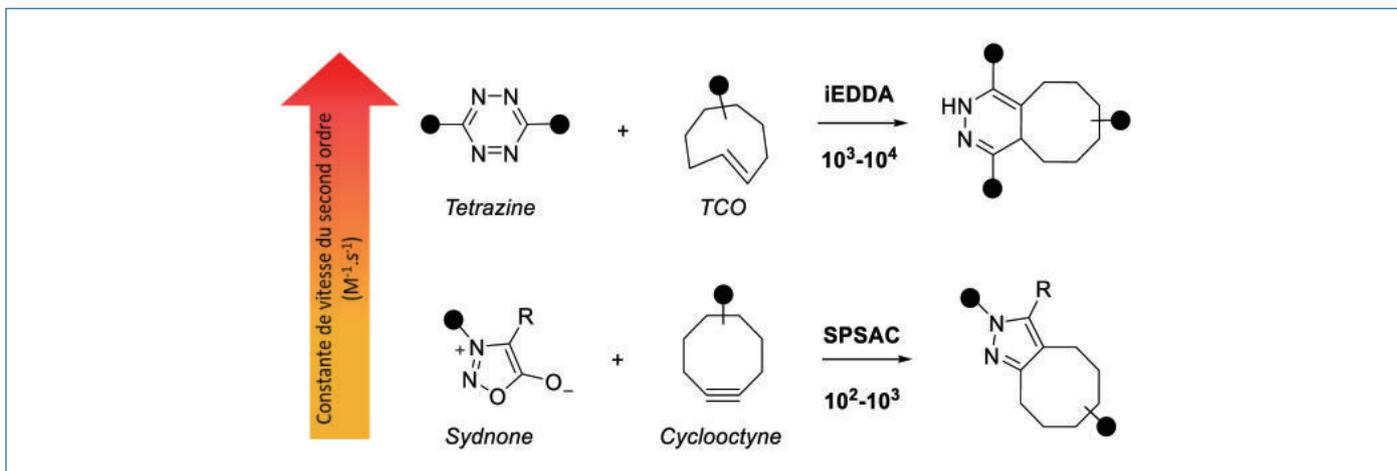


Figure 3 - Réactions de chimie click bioorthogonales utilisées dans le cadre de l'immunoTEP et leurs constantes de vitesse.

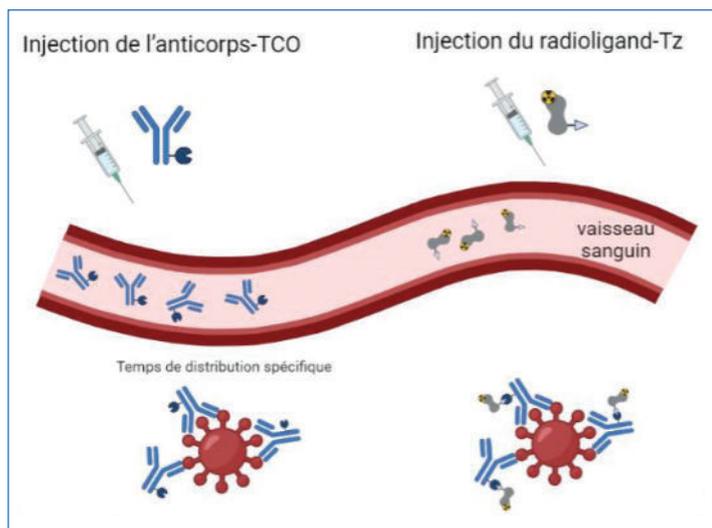


Figure 4 - Illustration de la stratégie de pré-ciblage par la réaction iEDDA. TCO : trans-cyclooctène ; Tz : tétrazine.

effecteur radioactif)<sup>(1)</sup> possédant la fonction bioorthogonale complémentaire sera injectée et se liera irréversiblement à l'anticorps de façon spécifique. Cette approche en deux séquences est compatible avec la demi-vie du fluor-18 et permet en outre de réduire l'irradiation interne du patient.

#### • Résultats avec l'iEDDA

La majorité des travaux de pré-ciblage s'articulent autour de l'utilisation de la chimie click. La réaction de ligation la plus efficace *in vivo* est sans aucun doute la réaction iEDDA entre un alcène contraint et une tétrazine déficiente en électron (figure 3), en raison de sa très grande vitesse. Cette réaction possède une cinétique extrêmement rapide, avec des constantes de vitesse de l'ordre de  $10^3-10^4 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ , et une grande efficacité, ce qui explique pourquoi elle est devenue au fil des dix dernières années un outil essentiel pour les chercheurs en immunoTEP.

Les travaux du groupe de Jason Lewis illustrent bien la stratégie de pré-ciblage utilisant une tétrazine portant l'élément radioactif (figure 5, composé 3) et l'anticorps 5B1 sélectif de l'antigène CA19.9 [5-6]. Ils ont notamment comparé la biodistribution et la dosimétrie de l'anticorps 5B1 radiomarqué au  $^{89}\text{Zr}$  (méthode classique, figure 5, composé 1) et une approche de pré-ciblage utilisant l'iEDDA (figure 5, anticorps 5B1-TCO (composé 2) et  $^{64}\text{Cu}$ -tétrazine (composé 3)) dans un modèle

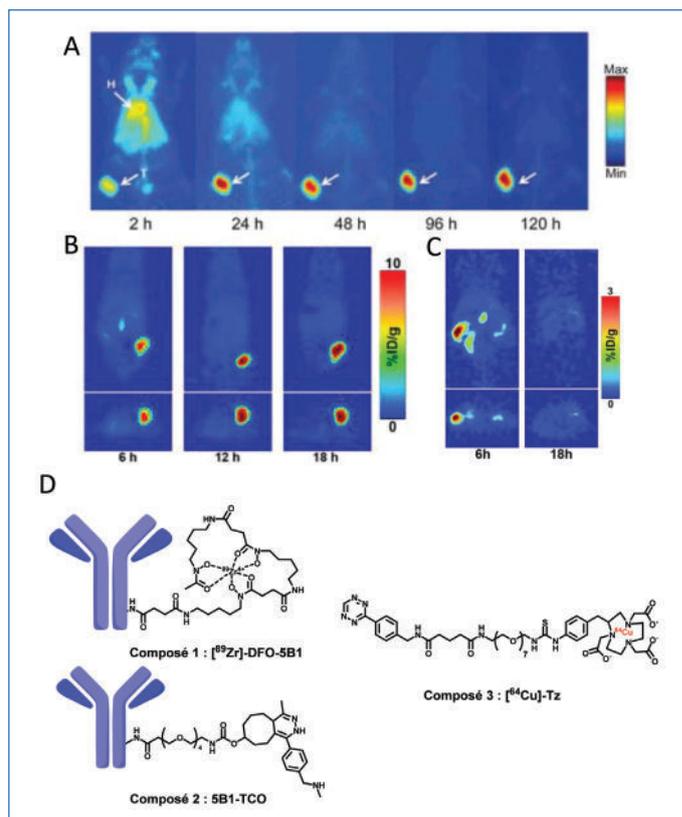


Figure 5 - Images TEP de l'anticorps 5b1 dans un modèle de xénogreffe de cellules BxPC3 chez la souris par approche directe et pré-ciblage. (A) : biodistribution de l'anticorps [89Zr]-DFO-5B1 radiomarqué au  $^{89}\text{Zr}$  à 2, 24, 48, 96 et 120 h après injection. (B) : imagerie par pré-ciblage de l'anticorps 5B1-TCO à 6, 12 et 18 h après injection de la  $^{64}\text{Cu}$ -Tz, 72 h après administration de 5B1-TCO. (C) : contrôle, injection d'une IgG-TCO ne reconnaissant pas l'antigène CA19.9 puis injection 72 h après de la  $^{64}\text{Cu}$ -Tz. (D) : structures chimiques des composés étudiés.

de xénogreffes de cellules BxPC3 (adénocarcinome pancréatique).

Dans le cas de l'imagerie TEP par approche classique (figure 5A), la tumeur est visible dès 2 h après injection, mais avec un bruit de fond important au niveau du cœur (noté H, figure 5A) et de l'ensemble du système vasculaire. Ce bruit de fond persiste encore à 24 et 48 h (zones bleu ciel) et le contraste entre la tumeur et les organes non ciblés est optimal aux alentours de 96 h post-injection. Dans le cas des images réalisées par l'approche de pré-ciblage (figure 5B), la tumeur est visible avec un excellent contraste dès 6 h après injection de la tétrazine radiomarquée au  $^{64}\text{Cu}$  (composé 3). Une image

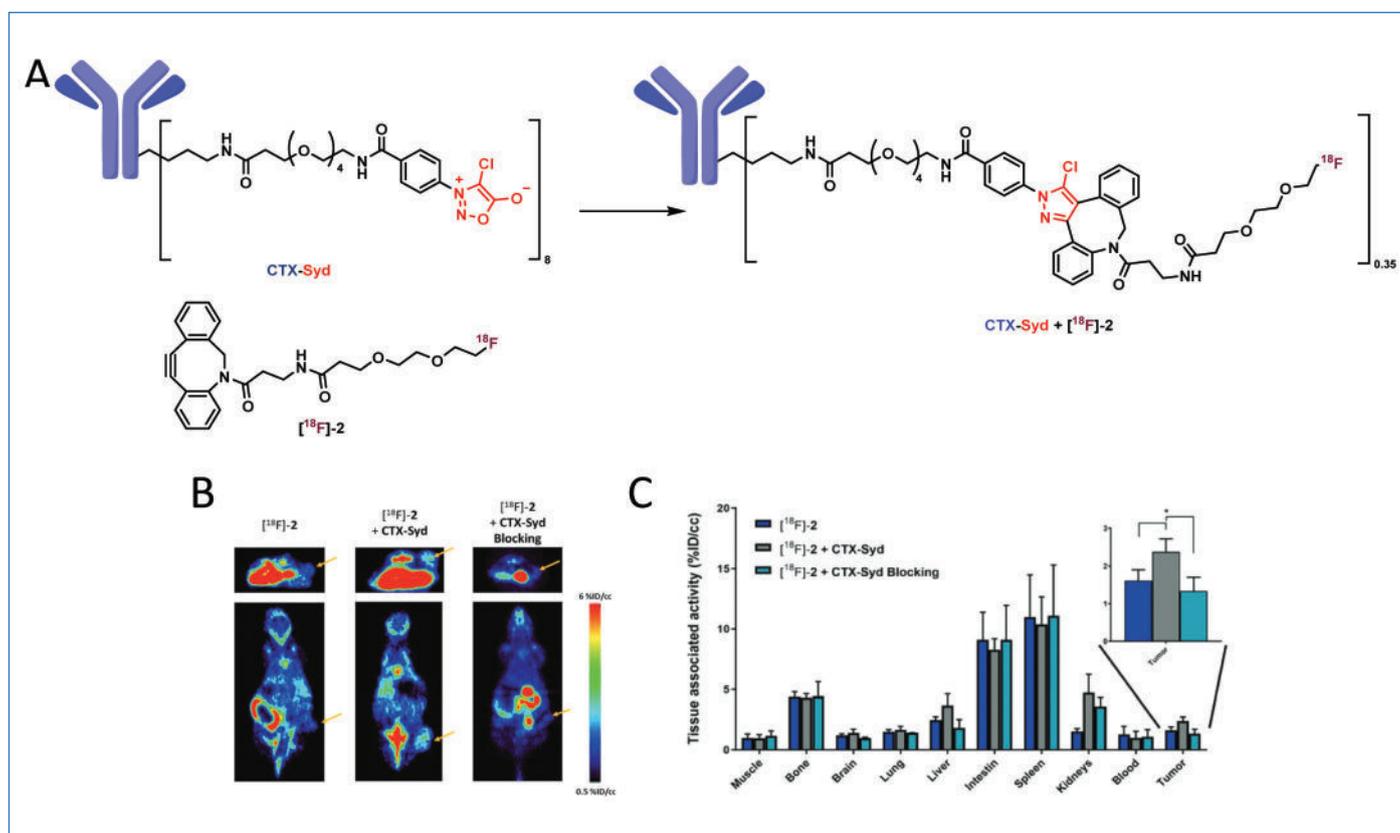


Figure 6 - A) Réaction entre l'anticorps-sydone (CTX-Syd) et le DBCO-18F. B) Imagerie TEP obtenue avec  $[^{18}\text{F}]-2$  seul, CTX-Syd +  $[^{18}\text{F}]-2$ , et  $[^{18}\text{F}]-2$  bloqué par un excès de CTX- chez des souris. La flèche orange indique la localisation de la tumeur. C) Biodistribution en % de dose injectée par  $\text{cm}^3$  (%DI/cc) 4 h après injection.

contrôle (figure 5C) utilisant un anticorps IgG-TCO ne ciblant pas l'antigène CA19.9 a été réalisée. L'absence de signal au niveau de la tumeur démontre le ciblage spécifique de l'anticorps 5B1. Ces images montrent clairement le gain en termes de contraste, mais l'analyse quantitative a permis de démontrer également un gain dosimétrique important dans l'approche de pré-ciblage. En effet, la dose reçue corps entier est réduite d'un facteur 25 et même localement d'un facteur 50 pour des organes tels que les poumons ou le foie [6].

Pour optimiser le contraste des images et la détection de la tumeur dans l'approche de pré-ciblage, les auteurs ont également comparé dans cette étude deux délais d'attente (48 et 72 h) entre l'injection de l'anticorps 5B1-TCO (composé 2) et l'injection de la tétrazine radiomarquée (composé 3). Il apparaît que la concentration de radioactivité (%DI/g) est supérieure dans la tumeur après une attente de 72 h (8,2 %DI/g) comparée à 48 h (3,2 %DI/g)<sup>(2)</sup>.

Au-delà de la réaction click utilisée et des temps d'injections adaptés, on peut noter que la nature chimique et la pharmacocinétique de la tétrazine utilisée ont une grande importance dans la réaction iEDDA. En effet, une étude exhaustive menée avec plus de 40 tétrazines différentes [7] a permis de déterminer quel paramètre influençait le plus l'efficacité de l'approche de pré-ciblage. À l'issue de ces travaux, les auteurs concluent que pour avoir une réaction click *in vivo* efficace, la constante de vitesse doit être supérieure à  $50\,000\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$ . Un autre paramètre mis en évidence dans ces mêmes travaux est l'hydrophobicité des réactifs, ici des tétrazines. Les auteurs notent en effet que la diminution de l'hydrophobicité de la tétrazine joue un rôle décisif dans l'efficacité du pré-ciblage, les tétrazines ayant des  $\log D_{7,4}$ <sup>(3)</sup> inférieurs à 3 étant favorables à la réaction click *in vivo*. Ce dernier paramètre est

cohérent, car il est connu que pour avoir une bonne solubilité et perméabilité *in vivo*, le logD doit se situer entre 0 et 3.

#### • Résultats avec sydnones

Les travaux menés au sein de notre laboratoire ont permis d'évaluer l'utilisation de la réaction SPSAC dans le cadre des approches de pré-ciblage [8]. Cette réaction entre une sydone et un cyclooctyne possède une constante de réaction de l'ordre de  $10^2\text{-}10^3\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$ . Bien que cette réaction possède des constantes de vitesse plus faibles que la réaction iEDDA, elle présente l'avantage d'utiliser des partenaires de réaction stables et faciles d'accès. Dans une démarche de preuve de concept, notre groupe a fonctionnalisé un anticorps thérapeutique, le cétuximab (CTX), spécifique des récepteurs EGFR, par des sydnones. De façon parallèle, le laboratoire a synthétisé un alcyne cyclique, le dibenzocyclooctyne (DBCO) radiomarqué au fluor-18.

L'expérience de pré-ciblage consiste alors à injecter l'anticorps-sydone (CTX-Syd) à une souris porteuse d'une tumeur surexprimant les récepteurs EGFR puis trois jours plus tard, temps nécessaire pour que l'anticorps s'accumule sur le site tumoral, le DBCO marqué au fluor-18 est injecté par voie intraveineuse (figure 6A). Afin de comparer les résultats obtenus avec l'approche de pré-ciblage, différents contrôles sont réalisés. D'une part, le  $[^{18}\text{F}]\text{DBCO-}^{18}\text{F}$  ( $[^{18}\text{F}]-2$ ) est administré seul, et d'autre part une expérience de blocage par injection d'un excès de CTX non dérivatisé est réalisée. Le premier contrôle (figure 6c,  $[^{18}\text{F}]-2$ ) a pour but de déterminer la biodistribution du cyclooctyne et l'absorption tumorale non spécifique, et permet ainsi de comparer cette dernière à l'absorption tumorale spécifique observée dans l'expérience de pré-ciblage (figure 6c, CTX-Syd +  $[^{18}\text{F}]-2$ ). On observe dans les deux cas que la biodistribution du cyclooctyne se fait

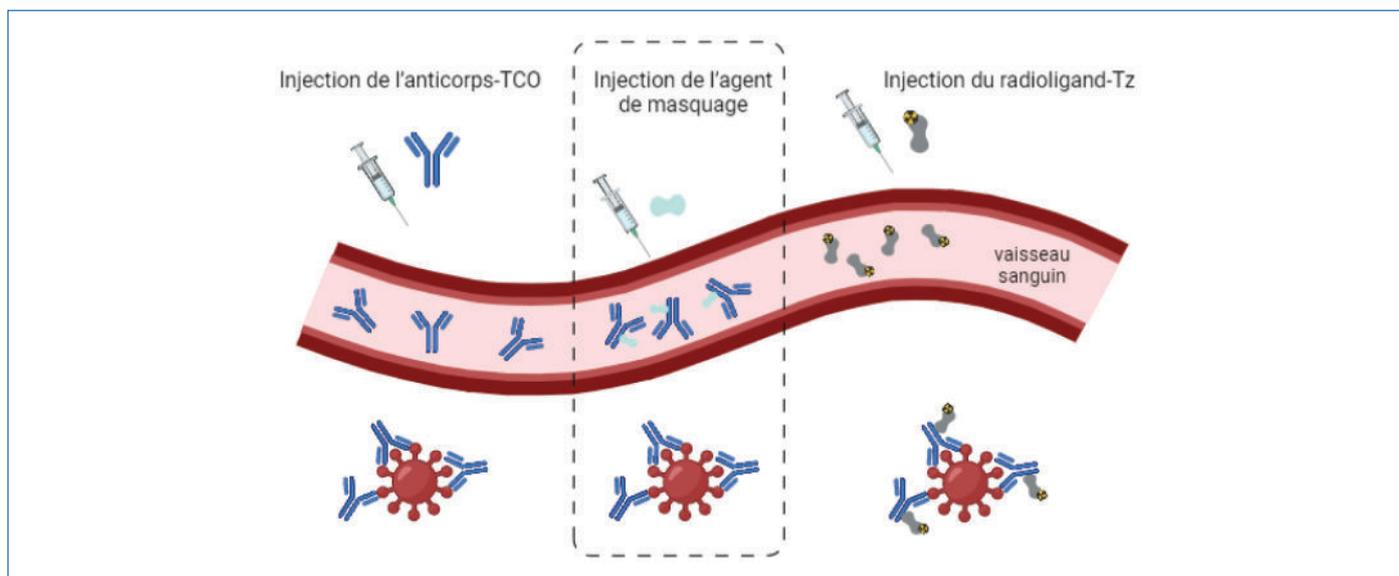


Figure 7 - Stratégie de l'agent de masquage en immunoTEP.

majoritairement au niveau de l'intestin et de la rate. Ces résultats suggèrent qu'indépendamment de la présence de l'anticorps, l'élimination est hépatobiliaire.

L'image obtenue à l'issue de l'expérience de pré-ciblage (CTX-Syd puis [ $^{18}\text{F}$ ]-**2**) permet de mettre en évidence la tumeur (indiquée par la flèche, *figure 6B*) et d'augmenter de façon significative le signal radioactif du fluor-18 au niveau du site tumoral, même si celui-ci reste faible. Il est intéressant de comparer ce dernier résultat avec le deuxième contrôle, lorsque l'anticorps sans la sydnone est injecté en excès par rapport à l'anticorps-sydnone ( $[^{18}\text{F}]$ -**2** + CTX blocking) ; on observe un signal radioactif du fluor-18 significativement plus faible que dans le test de pré-ciblage (*figure 6B*). (Ceci permet de mettre en évidence le marquage spécifique de l'anticorps au niveau du site tumoral et de démontrer que la réaction de ligation SPSAC a bien eu lieu sur le site tumoral. Ces travaux sont donc une preuve de concept pour l'utilisation de la réaction SPSAC dans le cadre d'une approche de pré-ciblage en imagerie TEP.

L'approche de pré-ciblage permet en effet de pallier certaines problématiques rencontrées, notamment en augmentant le contraste de marquage au niveau de la tumeur comparé aux autres tissus périphériques. Mais cette dernière ne permet pas de répondre efficacement aux problèmes de bruit de fond toujours présents en raison d'un ciblage imparfait des anticorps et de leur circulation dans les organes périphériques. Un autre paramètre à prendre en compte est le temps que le patient passe à faire son examen. En effet dans cette approche, il se retrouve être soumis à des temps d'attente de plusieurs jours entre l'injection d'anticorps et de l'agent de marquage. C'est pour cela qu'une nouvelle approche est envisagée permettant la diminution du bruit de fond et de la dosimétrie pour le patient. Il s'agit de développer un agent de clairance ou un agent de masquage.

### Focus 2 : masquage

Une deuxième approche, regroupant les notions de pré-ciblage et d'agents de clairance est également au centre d'intenses recherches. Il s'agit de l'utilisation d'un agent de masquage, qui consiste à injecter en amont l'anticorps non marqué capable de se lier par réaction click avec l'effecteur radioactif, puis d'injecter l'agent de masquage supposé se

fixer aux anticorps circulants et ainsi rendre le site de réaction click indisponible, et enfin d'injecter l'effecteur radioactif porteur du motif complémentaire à l'anticorps afin de mettre en évidence uniquement le site tumoral (*figure 7*).

Les travaux de Brian M. Zeglis permettent d'illustrer cette approche [9]. Les auteurs de cette étude ont injecté d'abord un anticorps possédant plusieurs motifs TCO, puis après avoir attendu quelques heures pour favoriser la distribution de l'anticorps dans l'organisme, l'agent de masquage porteur du motif tétrazine (Tz-DP) est injecté. Celui-ci permet alors de neutraliser les motifs TCO des anticorps circulants grâce à la réaction click entre la tétrazine (Tz-DP) et l'anticorps-TCO. Enfin 30 minutes après l'injection de l'agent de masquage, les auteurs administrent l'effecteur radioactif lui aussi porteur du motif tétrazine, permettant la mise en évidence de la zone tumorale.

Le dextran est couramment utilisé dans ce type d'approche du fait de sa biocompatibilité et de sa pharmacocinétique avantageuse [10].

De plus, une redistribution vers les poumons est également observée. En définitive, ces données suggèrent que les agents de masquage pourraient être utilisés pour améliorer la dosimétrie en immunoTEP, mais qu'il reste de nombreux paramètres pharmacocinétiques à optimiser pour augmenter le signal radioactif au niveau du site tumoral.

### Focus 3 : clairance

#### • Principe

L'objectif de cette méthode est d'être capable d'améliorer l'imagerie TEP en permettant l'élimination « sur commande chimique » du radioélément grâce à des agents de clairance bioorthogonaux. En effet, un anticorps, même s'il est très spécifique d'une cible, a une biodistribution imparfaite et sera donc également présent sur des tissus sains, de manière non spécifique, ce qui rendra l'imagerie des lésions cancéreuses plus difficiles. L'agent de clairance aura alors pour rôle de réagir *in vivo* sur l'anticorps radiomarqué circulant ou présent dans des tissus sains dans le but d'éliminer le signal radioactif non spécifique (*figure 8*). Pour rendre cette méthode performante, il faut que l'agent de clairance soit circulant afin d'aller réagir sur les anticorps non fixés au site tumoral, tout en étant

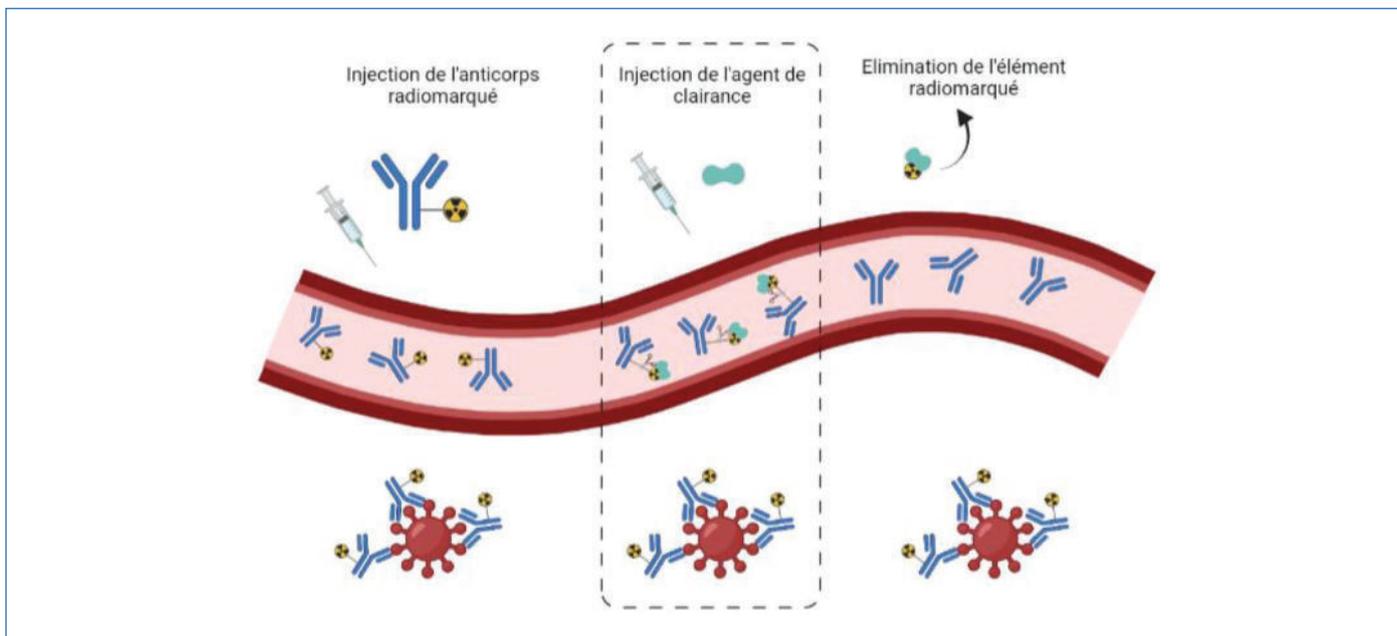


Figure 8 - Principe de la stratégie immunoTET avec un agent de clairance.

non-internalisant pour ne pas réagir avec les anticorps présents sur le site tumoral, et éliminable sur une période relativement courte afin de faire l'acquisition de l'image peu de temps après. C'est l'ensemble de ces critères qui permettront d'améliorer la qualité de l'imagerie immunoTET tout en diminuant la dosimétrie pour le patient.

#### • Principaux agents de clairance et résultats

Parmi les exemples de la littérature, nous pouvons citer une étude du groupe de D. Sehlin s'inscrivant dans le dépistage de la maladie d'Alzheimer, plus précisément dans l'imagerie des fibres de  $\beta$ -amyloïdes, dont l'agrégation est liée au développement de la maladie. Ces fibres ne sont pas détectées par le radiotracer  $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$  classiquement utilisé (méthode développée par l'Université de Pittsburgh [11]), lorsqu'elles sont sous formes solubles ou diffuses [12]. En revanche, l'anticorps RmAb158, un anticorps bispécifique capable de franchir la barrière hématoencéphalique et de se lier spécifiquement aux formes solubles de fibres  $\beta$ -amyloïdes, pourrait être une alternative très intéressante dans le cadre du diagnostic de cette maladie. Cependant, la biodistribution très lente de cet anticorps entraîne un bruit de fond et une dosimétrie interne défavorables. C'est pour cela qu'une stratégie utilisant un agent de clairance a été envisagée par le groupe de D. Sehlin afin de répondre à ces problématiques.

Les auteurs ont développé un agent de clairance macromoléculaire dérivé de l'albumine fonctionnalisée par de nombreux motifs galactose et par des tétrazines (Tz) utilisées comme groupement bioorthogonal (figure 9A). Le choix de l'albumine s'explique par le fait que c'est une protéine très soluble, abondante du plasma sanguin humain, sa fonctionnalisation par de nombreux résidus galactose favorisant de plus son excrétion [10]. Les travaux précédents du même groupe avaient démontré que la présence d'un sucre permettait une élimination plus rapide de la radioactivité dans le cadre d'une approche de pré-ciblage [13].

Les images TEMP<sup>(4)</sup> (figure 9B) montrent que 2 h après l'injection de l'agent de clairance, l'anticorps radiomarqué se retrouve dans le foie (zone verte/rouge figure 9B-II), et 24 h après l'injection, on observe une disparition du signal dans le

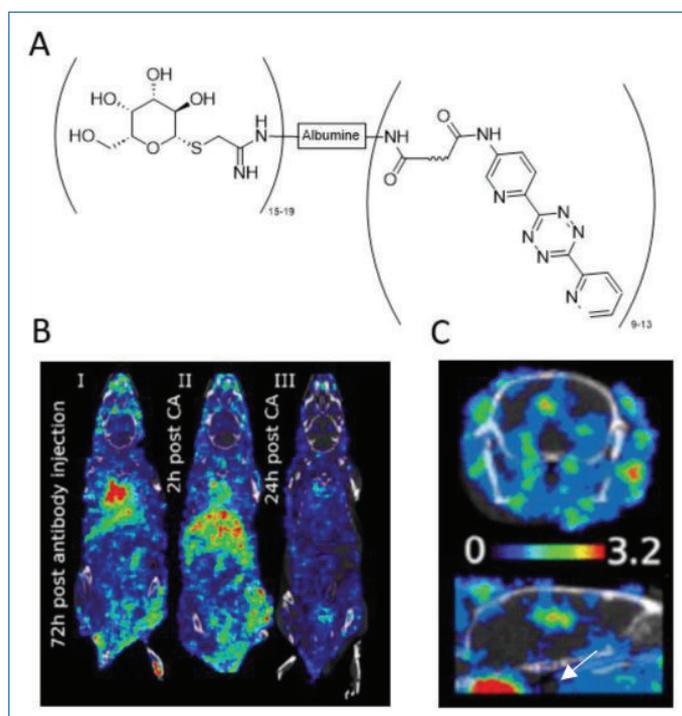


Figure 9 - A) Structure de l'agent de clairance. B) Imagerie TEMP chez la souris obtenue I) 72 h après l'injection de l'anticorps marqué à l'iode-125, II) 2 h après l'administration de l'agent de clairance (CA), III) 24 h après l'administration de l'agent de clairance (CA). C) Imagerie des anticorps dans le cerveau 24 h après l'injection de l'agent de clairance, ; la flèche blanche montre la rétention des anticorps fixés aux fibres  $\beta$ -amyloïdes.

corps de la souris (figure 9B-III). La réaction click entre l'agent de clairance et l'anticorps radiomarqué permet de former un produit de réaction qui se retrouve éliminé très largement dans le foie. Ceci s'explique par la présence du galactose, connu pour cibler les récepteurs d'Ashwell-Morell (AMR) des hépatocytes, principales cellules du foie.

Les auteurs ont répondu à la problématique mettant en évidence les fibres- $\beta$ -amyloïdes dans le cerveau (indiqué par la flèche blanche, figure 9C). La visualisation des fibres est possible grâce à l'élimination du bruit de fond lié aux anticorps circulants par l'agent de clairance.

À l'issue de ces travaux, on note que l'utilisation de cet agent de clairance a permis d'éliminer en grande partie les anticorps radiomarqués circulants et de faciliter leur élimination par le foie.

Nous avons pu voir qu'indépendamment de la réaction click choisie, le choix de la nature chimique de l'agent de clairance est important. Le motif galactose a permis ici de diriger l'élimination de l'anticorps radiomarqué vers le foie, organe clé dans les processus d'élimination de notre organisme. D'autres structures faisant intervenir des motifs polyéthylène glycol, polymères de dextran ou des structures dendritiques permettant de répondre aux besoins d'un agent de clairance ont été répertoriées afin d'être spécifiques, éliminables rapidement tout en étant circulants dans l'organisme.

## Mieux visualiser pour mieux traiter le cancer

Différentes approches basées sur la chimie bioorthogonale *in vivo* permettent d'envisager de répondre à certaines problématiques rencontrées en immunoTEP. Le pré-ciblage aujourd'hui largement étudié permet de pallier quelques limitations de l'immunoTEP, excepté la suppression totale du bruit de fond et les temps longs entre les injections. Il est probable que cette stratégie fasse l'objet de nombreux travaux dans les années à venir en raison de l'impact important qu'ils pourraient avoir en imagerie médicale. On notera que le premier essai clinique utilisant le pré-ciblage en imagerie est en cours aux États-Unis [14]. L'utilisation d'agents de masquage est une stratégie intéressante mais comportant de nombreux obstacles ; elle devra être grandement optimisée afin d'améliorer l'imagerie résultant de cette méthode.

Une autre approche, à ce jour la moins développée, concerne l'utilisation d'un agent de clairance. Nous avons vu que cette approche permet largement de diminuer le bruit de fond et de favoriser l'élimination de l'anticorps circulant et ainsi de réduire la dosimétrie pour le patient. Cette stratégie représente un réel enjeu mais nécessite elle aussi de nombreux travaux de recherche et d'optimisation. Cette approche est prometteuse car une fois mise au point, elle permettra d'améliorer grandement le diagnostic avec une imagerie plus précise et plus sûre pour le patient. Une suite possible en cas de succès de cette approche sera de l'appliquer en radioimmunothérapie avec un isotope adapté pour la radiothérapie, ce qui permettrait d'aller vers une technologie théranostique, c'est-à-dire le développement simultané des aspects diagnostiques et thérapeutiques en médecine nucléaire. L'objectif est de visualiser pour mieux traiter le cancer en associant un diagnostic, qui étudie l'activité tumorale d'un patient de manière très individualisée, et une thérapie ciblée la mieux adaptée au type de cancer.

(1) Effecteur radioactif : molécule radiomarquée portant la fonction chimique bioorthogonale complémentaire de celle portée par l'anticorps.

(2) %ID/g : rapport entre le pourcentage de dose de radioactivité injectée et le poids corporel, déterminant quantité d'éléments radioactifs présents dans un compartiment type et permettant ainsi de visualiser sa biodistribution. Il est parfois exprimé en pourcentage de dose injectée par millilitre de tissus (%ID/mL).

(3)  $\log D_{7,4}$  : mesure le coefficient de partage d'un composé en une phase aqueuse à pH 7,4 et une phase organique (classiquement du *n*-octanol). Ce coefficient permet d'apprécier le caractère hydrophile ( $\log D_{7,4} < 0$ ) ou hydrophobe ( $\log D_{7,4} > 0$ ) d'un composé.

(4) TEMP : tomographie d'émission monophotonique : technique d'imagerie nucléaire qui utilise un radiotracer radiomarqué avec un émetteur de simples photons.

[1] H.C. Hang, C. Yu, D.L. Kato, C. Bertozzi, A metabolic labeling approach toward proteomic analysis of mucin-type o-linked glycosylation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2003**, *100*(25), p. 14846-851.

[2] H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, Click chemistry: diverse chemical reaction from a few good functions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*(11), p. 2004-21.

[3] S. Wallace, J.W. Chin, Strain-promoted sydnone bicyclo-[6.1.0]-nonyne cycloaddition, *Chem. Sci.*, **2014**, *5*(5), p. 1742-44.

[4] L. Plougastel *et al.*, 4-halogeno-sydnone for fast strain promoted cycloaddition with bicyclo-[6.1.0]-nonyne, *Chem. Commun.*, **2014**, *50*(66), p. 9376-78.

[5] N.T. Viola-Villegas *et al.*, Applying PET to broaden the diagnostic utility of the clinically validated CA19.9 serum biomarker for oncology, *J. Nucl. Med.*, **2013**, *54*(11), p. 1876-82.

[6] J.L. Houghton *et al.*, Pretargeted immuno-PET of pancreatic cancer: overcoming circulating antigen and internalized antibody to reduce radiation doses, *J. Nucl. Med.*, **2016**, *57*(3), p. 453-459.

[7] E.J.L. Stéen *et al.*, Lipophilicity and click reactivity determine the performance of bioorthogonal tetrazine tools in pretargeted *in vivo* chemistry, *ACS Pharmacol. Transl. Sci.*, **2021**, *4*(2), p. 824-833.

[8] M. Richard *et al.*, New fluorine-18 pretargeting PET imaging by bioorthogonal chlorosydnone-cycloalkyne click reaction, *Chem. Commun.*, **2019**, *55*(70), p. 10400-403.

[9] R. Membreno *et al.*, Toward the optimization of click-mediated pretargeted radioimmunotherapy, *Mol. Pharm.*, **2019**, *16*(5), p. 2259-63.

[10] M. Staudt, M.M. Herth, Clearing and masking agents in pretargeting strategies, *Pharmaceuticals*, **2023**, *16*, 497.

[11] W.E. Klunk *et al.*, Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh compound-B, *Ann. Neurol.*, **2004**, *55*(3), p. 306-319.

[12] E. Schlein *et al.*, Functionalization of radiolabeled antibodies to enhance peripheral clearance for high contrast brain imaging, *Mol. Pharm.*, **2022**, *19*(11), p. 4111-22.

[13] R. Rossin, T. Lappchen, S.M. van den Bosch, R. Laforest, M.S. Robillard, Diels-Alder reaction for tumor pretargeting: *in vivo* chemistry can boost tumor radiation dose compared with directly labeled antibody, *J. Nucl. Med.*, **2013**, *54*(11), p. 1989-95.

[14] Memorial Sloan Kettering Cancer Center, A phase I study of pretargeted PET imaging using <sup>64</sup>Cu-Tz-SarAr and a trans-cyclooctene-modified humanized 5B1 immunoconjugate (Hu5B1-TCO) in patients with CA19-9-positive pancreatic cancer, *Clinical trial registration NCT05737615*, **2023** (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT05737615> - consulté le 21/07/2023).

**Apolline DOMINIC**<sup>1</sup>, doctorante, **Bertrand KUHNAST**\*<sup>2</sup>, ingénieur-chercheur, et **Frédéric TARAN**<sup>1</sup>, directeur de recherche, CEA.

<sup>1</sup> Université Paris Saclay, CEA, INRAE, Département Médicaments et technologies pour la santé (DMTS), SCBM, Gif-sur-Yvette.

<sup>2</sup> UMR 1023 IMIV, Service hospitalier Frédéric Joliot (SHFJ), CEA, Inserm, Université Paris Sud, CNRS, Université Paris-Saclay, Orsay.

\* [bertrand.kuhnast@cea.fr](mailto:bertrand.kuhnast@cea.fr)



Toute l'actualité de la  
Société Chimique de France

et bien plus...

**societechimiquedefrance.fr**