

L'or nanométrique : un agent thérapeutique

Résumé Les propriétés exceptionnelles des nanoparticules d'or en font des nanosystèmes particulièrement prometteurs pour des applications en cancérologie. Aujourd'hui, des essais cliniques évaluent d'une part l'AuroLase® pour la photothermie, et d'autre part l'Aurimune®, des nanoparticules d'or véhiculant un agent bioactif cytotoxique. En parallèle, des recherches précliniques très actives sont conduites pour optimiser l'utilisation des nanoparticules d'or en radiothérapie anticancéreuse.

Mots-clés Or, nanoparticules, cancer, AuroLase®, photothermie, Aurimune®, radiothérapie.

Abstract Gold nanoparticles as therapeutic agent

Gold nanoparticles are emerging as promising agents for cancer therapy. Today, they are being investigated in clinical trials as photothermal agents (AuroLase®) and drug carriers (Aurimune®). Moreover, preclinical studies are conducted to optimize the use of gold nanoparticles in cancer radiotherapy.

Keywords Gold, nanoparticles, cancer, AuroLase®, phototherapy, Aurimune®, radiotherapy.

L'or colloïdal est utilisé depuis de nombreuses décennies pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. Ces premiers succès associés aux propriétés exceptionnelles des nanoparticules d'or, comparées à d'autres particules inorganiques et même organiques, ont grandement contribué au développement des nanotechnologies dans les divers domaines de la santé et des biotechnologies. Les perspectives d'utilisation des nanoparticules d'or sont particulièrement prometteuses pour les thérapies anticancéreuses, les applications diagnostiques, l'imagerie et l'ingénierie biomoléculaire. Ces nanoparticules sont notamment étudiées dans les nouvelles stratégies thérapeutiques comme nanotransporteurs dans les systèmes de délivrance de molécules anticancéreuses, comme agent photothermique ou agent radiosensibilisant. Cependant, malgré ces formidables opportunités et applications potentielles, un nombre très restreint de systèmes ont dépassé le stade préclinique. Ainsi, seuls les systèmes Aurimune®, nanoparticules d'or pour le transport et la délivrance d'anticancéreux, et AuroLase®, nanoparticules d'or pour la photothermie, sont actuellement au stade des essais cliniques, validés ou en cours.

Nanoparticules d'or au stade des essais cliniques

Le système Aurimune®

Aurimune® est une nouvelle thérapie contre le cancer employant les nanoparticules d'or comme vecteurs. Cette thérapie est basée sur le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-alpha) qui est une cytokine, une protéine recombinante (produite par génie génétique) impliquée dans l'inflammation et qui a été étudiée en clinique dans la thérapie contre le cancer. Cependant, les études du milieu des années 1980 ont révélé d'importants effets secondaires comme l'hypotension, la toxicité hépatique, le malaise et la fatigue. De plus, les résultats chez l'homme se sont révélés décevants. Sur 156 patients étudiés, seulement deux d'entre eux ont présenté une réponse totale ou partielle du fait de l'incapacité à apporter une dose thérapeutique de TNF-alpha sur le site de la maladie. Cependant, l'or colloïdal a été utilisé récemment pour la délivrance de protéines sur les sites tumoraux. Les nanoparticules d'or représentent un choix idéal car les fonctions thiol des protéines permettent une liaison covalente de la protéine à la surface des nanoparticules d'or. Ainsi le TNF-alpha a été lié

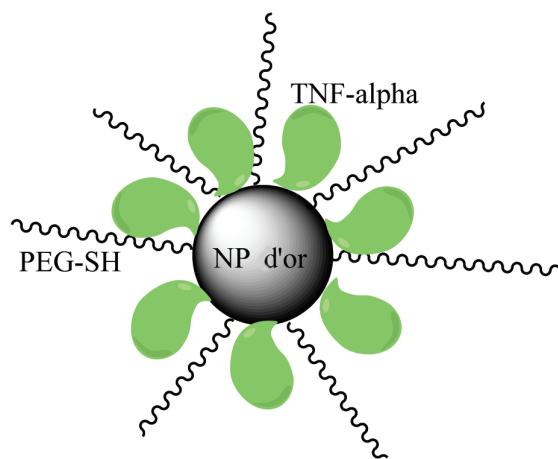


Figure 1 - Nanoparticules d'or fonctionnalisées par TNF-alpha et des molécules PEGylées.

à des nanoparticules d'or de 27 nm de diamètre et la furtivité^(a) apportée par un (poly)éthylène glycol fonctionnalisé par une fonction thiol (PEG thiol) lié de manière covalente aux nanoparticules d'or [1] (figure 1). En effet, la « PEGylation » des nanoparticules est indispensable pour éviter l'élimination rapide des nanoparticules injectées par voie intraveineuse par le système réticulo-endothélial^(b).

Ces nanoparticules ont été injectées et étudiées en phase clinique I pour différents cancers dont le mélanome. Elles s'accumulent dans la tumeur par effet EPR (« enhanced permeation and retention effect »^(c)). De plus, un mécanisme de ciblage actif par les récepteurs aux TNF-alpha surexprimés dans les néovaisseaux de la tumeur et non dans les tissus sains permet aussi l'accumulation dans la tumeur. En effet, l'analyse des biopsies des patients par microscopie électronique, 24 h après l'injection, a montré la présence des nanoparticules préférentiellement dans les tumeurs plutôt que dans les tissus sains. Les études cliniques ont aussi démontré que les nanoparticules d'or n'étaient pas immunogènes^(d) et provoquaient beaucoup moins d'effets secondaires que le TNF-alpha non lié aux nanoparticules, l'hypotension étant maîtrisée. Un jour après l'injection, les nanoparticules se concentrent dans le foie avec une élimination de 50 % 120 jours après l'injection. L'efficacité des nanoparticules d'or en combinaison avec la chimiothérapie doit maintenant être démontrée dans des études cliniques de phase II.

Nanoparticules d'or pour une thérapie photothermique

La thérapie AuroLase® est une nouvelle approche thérapeutique photothermique développée afin de traiter localement par hyperthermie des tumeurs solides tout en limitant les dommages causés aux tissus sains. Cette technologie repose sur les propriétés plasmoniques des nanoparticules d'or à l'origine de leur capacité à convertir de l'énergie lumineuse absorbée en chaleur (voir l'article de J. Burgin et O. Pluchery, p. 21). Ainsi l'ablation photothermique de tumeurs solides fait suite aux dommages irréversibles produits par l'élévation de la température au sein de la tumeur (mort cellulaire induite par hyperthermie). Les nanoparticules conçues à cet effet par la société Nanospectra sont des nanoparticules composites de type cœur-coquille (appelées Auroshell® ou « nanoshells »), constituées d'une particule diélectrique de silice recouverte d'un film métallique d'or dont l'épaisseur (10-20 nm) peut être ajustée en fonction des propriétés plasmoniques recherchées (voir l'article de J. Burgin et O. Pluchery, p. 21). La fréquence de résonance dépend essentiellement de la nature chimique du métal, de la taille, de la forme des nanoparticules et de leur environnement. Le « passage » d'une morphologie nanosphère d'or à une structure composite de type cœur de silice-coquille d'or (nanoshell d'or) s'accompagne d'un déplacement spectral bathochrome important du maximum d'absorption, du visible vers le proche infrarouge. Cet effet dépend fortement des paramètres structuraux des nano-coquilles et la position du maximum d'absorption peut ainsi être contrôlée en ajustant le rapport entre l'épaisseur de la couche métallique et le diamètre de la particule diélectrique. Typiquement des nanoparticules de 130 nm, constituées d'un cœur de silice de 110 nm de diamètre et d'une couche d'or de 8-10 nm d'épaisseur, présentent un maximum d'absorption de la lumière à 805-810 nm.

Cette région du proche infrarouge est d'un grand intérêt pour les applications biomédicales d'imagerie et de thérapie car c'est dans ce domaine spectral que l'absorption des tissus et du sang est minimale et que la pénétration du rayonnement lumineux est optimale. Lors d'études précliniques *in vitro*, il a été démontré que les nanoparticules d'or/silice recouvertes d'une couche de PEG sont efficaces pour induire la mort cellulaire de cellules carcinomateuses du sein humain incubées avec ces nanoparticules après une exposition à un rayonnement proche infrarouge (820 nm, 35 W cm⁻²) [2]. Il a par ailleurs été démontré *in vivo* l'absence de toxicité attribuable à ces mêmes nanoparticules injectées en intraveineux. De plus, au cours des 24 heures qui ont suivi l'administration par injection chez la souris, les nanoparticules ont préférentiellement été accumulées dans les tumeurs par effet

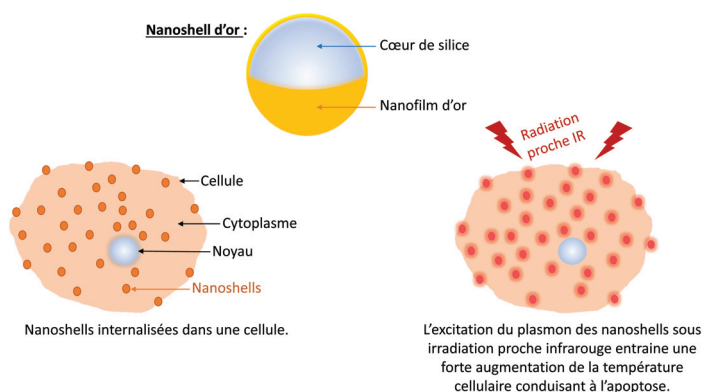


Figure 2 - Nanoparticules composites or/silice conçues pour absorber les radiations proche infrarouge.

EPR [3]. L'irradiation de ces tumeurs avec un laser proche infrarouge (820 nm, 4 W cm⁻², durée 3-6 min) a généré, 18 heures après l'injection des nanoshells, une élévation de 30 °C environ de la température des tumeurs (tumeurs solides du cancer de la prostate), tandis qu'en l'absence de nanoparticules, l'élévation de température était d'environ 10 °C. La forte élévation de température observée à la suite de l'activation laser pendant quelques minutes des nanoparticules accumulées a engendré des dommages irréversibles dans les tissus tumoraux, induisant même leur nécrose avec une ablation complète des tumeurs observée pour 93 % des spécimens [4]. Ces résultats prometteurs sont à l'origine de trois essais cliniques en cours concernant l'ablation photothermique de tumeurs solides de la tête et du cou, de la prostate et des poumons.

Les nanoparticules d'or pour la radiothérapie : les résultats précliniques

La radiothérapie consiste à délivrer des rayonnements ionisants à la tumeur, à partir d'un faisceau externe (radiothérapie externe) ou d'une source radioactive placée en interne (curiethérapie), afin de détruire les cellules cancéreuses et les empêcher de se multiplier. Les rayonnements délivrés en radiothérapie peuvent être de nature électromagnétique (photons X ou γ) ou particulaire (électrons, protons, particules alpha, ions lourds...). Le manque de sélectivité de la radiothérapie vis-à-vis du tissu tumoral oblige à limiter la dose de rayonnements administrée aux patients, pour éviter d'engendrer une toxicité inacceptable sur les tissus sains avoisinants. Ainsi dans la pratique clinique, le traitement par rayons X est appliqué de manière localisée, grâce à l'utilisation de collimateurs qui focalisent les faisceaux de photons sur la zone tumorale, et les doses d'irradiation totales maximales sont fractionnées dans le temps (plusieurs séances) et dans l'espace (multifaisceaux).

Compte tenu de leur numéro atomique élevé ($Z = 79$) et donc de leur densité électronique, les atomes d'or présentent une forte capacité d'absorption des rayons X par rapport aux atomes qui constituent la matière organique, à savoir principalement le carbone ($Z = 6$), l'hydrogène ($Z = 1$), l'oxygène ($Z = 8$) et l'azote ($Z = 7$). L'intérêt des nanoparticules d'or en radiothérapie repose initialement sur l'exploitation de ce différentiel d'absorption. En effet, les métaux lourds favorisent le transfert d'énergie (autrement appelé dépôt de dose) des radiations vers le milieu biologique, car ils augmentent la probabilité de déclencher les cascades d'ionisation des molécules intracellulaires à l'origine des dégâts cellulaires.

Les simulations de Monte Carlo sont à ce jour les approches numériques les plus pertinentes pour modéliser les interactions entre les radiations ionisantes et les nanoparticules d'or. Elles sont très utilisées pour décrire, comprendre, et *in fine* prédire, en vue d'optimiser, les paramètres influençant l'effet radiosensibilisant ; ces paramètres concernent aussi bien le rayonnement ionisant que la nanoparticule [5]. Néanmoins, les prédictions théoriques et les données expérimentales sont parfois discordantes, et pour plus de pertinence, il semble indispensable de prendre en compte dans ces simulations les structures subcellulaires ainsi que de s'appuyer sur des données quantitatives et topographiques réelles [6].

L'effet radiosensibilisant direct des nanoparticules d'or a été démontré au cours d'études utilisant de l'ADN plasmidique, modèle expérimental simplifié qui permet de mettre en évidence les dommages radio-induits au niveau moléculaire,

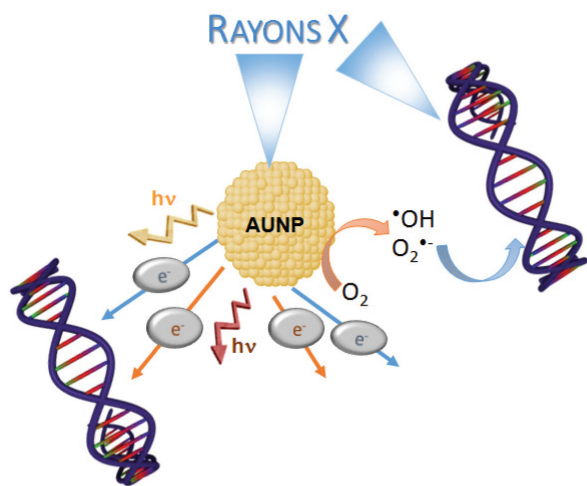


Figure 3 - Interaction des rayonnements X avec les nanoparticules d'or (AUNP). La présence de nanoparticules d'or amplifie la production d'électrons secondaires et d'espèces réactives de l'oxygène, qui à leur tour sont à l'origine de lésions radio-induites accrues au niveau de l'ADN.

en s'affranchissant de la réponse biologique globale que pourrait déclencher la cellule. Même si les électrons secondaires de haute énergie générés par les nanoparticules d'or irradiées peuvent déposer leur énergie à plusieurs micromètres de ces nanoparticules, les résultats expérimentaux sur ADN plasmidique suggèrent que les électrons secondaires de faible énergie (< 100 eV) qui déposent leur énergie localement à proximité immédiate (quelques dizaines de nanomètres) des nanoparticules sont les principaux responsables des dommages causés à l'ADN. D'après ces observations, une localisation des nanoparticules d'or directement dans le noyau de la cellule devrait être favorisée pour atteindre un effet radiosensibilisant maximal [7].

En réalité, les expérimentations *in vitro* sur cultures cellulaires ont montré que les nanoparticules d'or ne se localisent quasiment jamais au niveau du noyau cellulaire, et malgré tout, elles potentialisent les effets létaux de l'irradiation. Dans ce cas, l'action radiosensibilisante des nanoparticules d'or résulterait de leur capacité à amplifier la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les nanoparticules d'or seraient capables de catalyser des réactions telles que le transfert d'électrons depuis l'électron hydraté e_{aq}^- vers l'oxygène moléculaire (O_2), pour générer des radicaux superoxyde ($O_2 + e_{aq}^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$) (figure 3). Ceci pourrait expliquer que, même en l'absence d'irradiation, les nanoparticules d'or induisent une augmentation de la production de ERO dans des modèles de cultures cellulaires *in vitro*.

D'après la plupart des études menées, ce sont les nanoparticules d'or de plus petite taille qui engendrent la plus grande production de ERO, parce qu'elles offrent le plus grand rapport surface/volume ainsi qu'une plus grande proportion de sites de basse coordination (voir l'article de H. Guesmi et C. Louis, p. 17). Les espèces oxydantes peuvent induire des dommages cellulaires, directement en altérant les macromolécules intracellulaires, ou indirectement *via* le déclenchement d'un stress oxydant. Même si ces mécanismes ne sont pas encore complètement élucidés, le stress oxydant engendré par les nanoparticules d'or conduirait à la mort cellulaire par nécrose ou apoptose^(e), semble-t-il, suite à l'altération des fonctions mitochondriales (les mitochondries étant les organites intracellulaires qui fournissent aux cellules l'énergie dont elles ont besoin pour assurer leur survie et leurs fonctions [8]). Même si les arguments en faveur de l'action radiosensibilisante des nanoparticules d'or s'accumulent, les études n'ont pas dépassé le stade des études précliniques. L'entrée

en phase clinique de ces nano-objets ne pourra se faire qu'à la condition de remplir un certain nombre de prérequis spécifiques :

- D'une part, assurer l'accumulation sélective des nanoparticules d'or dans la tumeur. En effet, les tissus tumoraux à traiter par radiothérapie et les tissus normaux avoisinants qu'il faut épargner présentent des compositions chimiques similaires. Il est donc indispensable d'accumuler sélectivement les nanoparticules d'or dans le tissu tumoral afin d'accroître significativement l'énergie déposée dans le tissu tumoral, et de concentrer la dose d'irradiation au niveau de ce site cible.
- D'autre part, atteindre un temps de résidence dans la tumeur suffisamment long. La dose totale de rayonnements nécessaire pour traiter les tumeurs est généralement délivrée de façon fractionnée, à raison de 2 Gy par séance et de cinq séances par semaine pendant plusieurs semaines. De fait, comme les nanoparticules d'or présentent un temps de résidence prolongé dans la tumeur (plusieurs jours), elles sont plus avantageuses puisqu'elles peuvent exercer leur action radiosensibilisante à chaque séance d'irradiation, sans réinjection systématique.

En conclusion, les nanoparticules d'or offrent de multiples possibilités thérapeutiques en raison de leurs propriétés intrinsèques. L'effet EPR combiné avec la fonctionnalisation et le ciblage, les propriétés radiosensibilisantes ou plasmoniques de l'or permettraient ainsi un traitement plus précis et plus efficace des cancers en évitant les effets secondaires.

Pour en savoir plus

- Belloni J., Mostafavi M., Douki T., Spothem-Maurizot M., Dossier « La chimie sous rayonnement : des aspects fondamentaux aux applications dans les sciences des matériaux et les sciences de la vie », *L'Act. Chim.*, **2008**, 316, p. 1).

- (a) La furtivité est l'absence de reconnaissance par le système immunitaire.
- (b) Le système réticulo-endothélial est l'ensemble des cellules jouant le rôle d'épuration de l'organisme.
- (c) La vascularisation des néovaisseaux des tumeurs est plus poreuse que pour les tissus sains, ce qui permet aux nanoparticules de s'accumuler préférentiellement dans la tumeur.
- (d) Un système immunogène ne déclenche pas de réaction immunitaire.
- (e) L'apoptose est un processus physiologique, intrinsèquement programmé, d'autodestruction de la cellule en réponse à un signal interne ou externe. Elle aboutit à un processus de condensation et de fragmentation cellulaire.
- [1] Libutti S.K. *et al.*, Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine, *Clin. Cancer Res.*, **2010**, 24, p. 6139.
- [2] Link S., El-Sayed M.A., Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. B*, **1999**, 103, p. 4212.
- [3] Hirsch L. *et al.*, Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance, *PNAS*, **2003**, 100, p. 13549.
- [4] Stern J.M., Stanfield J., Kabbani W., Hsieh J.T., Cadeddu J.A., Selective prostate cancer thermal ablation with laser activated gold nanoshells, *J. Urol.*, **2008**, 179, p. 748.
- [5] Retif P. *et al.*, Monte Carlo simulations guided by imaging to predict the in vitro ranking of radiosensitizing nanoparticles, *Int. J. Nanomedicine*, **2016**, 11, p. 6169.
- [6] Retif P. *et al.*, Nanoparticles for radiation therapy enhancement: the key parameters, *Theranostics*, **2015**, 5, p. 1030.
- [7] Her S., Jaffray D.A., Allen C., Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: mechanisms and recent advancements, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2017**, 109, p. 84.
- [8] Taggart L., McMahon S., Currell F., Prise K., Butterworth K., The role of mitochondrial function in gold nanoparticle mediated radiosensitisation, *Cancer Nanotechnol.*, **2014**, 5, p. 5.

Sophie PINEL¹,

maître de conférences de l'Université de Lorraine, Centre de Recherche en Automatique de Nancy.

Clarence CHARNAY²,

maître de conférences de l'Université de Montpellier, Institut Charles Gerhardt.

Jean-Olivier DURAND³,

directeur de recherche au CNRS, Institut Charles Gerhardt de Montpellier.

¹ sophie.pinel@univ-lorraine.fr

² clarence.charnay@umontpellier.fr

³ durand@univ-montp2.fr