

Médicaments de haute technologie en oncologie

High-technology drugs in oncology

Atelier du GPCO, Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique – Unicancer
Vendredi 22 novembre 2013 – Nice

M.-C. Etienne-Grimaldi · P. Couvreur · J.-P. Benoit · R. Fanciullino · J.-A. Sergent · E. van Miert · B. Pourroy · P. Meshaka · A. Brescianini · N. Corvaia · J.-F. Haeuw · L. Goetsch · A. Beck

Reçu le 16 décembre 2013 ; accepté le 17 juin 2014
© Springer-Verlag France 2014

Éditorial

Editorial

M.-C. Etienne-Grimaldi

Ce dossier réunit les communications de l'atelier du Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO) d'Unicancer (Nice, 22 novembre 2013), consacré aux innovations

M.-C. Etienne-Grimaldi (✉)
Laboratoire d'oncopharmacologie,
EA 3836, centre Antoine-Lacassagne, 33, avenue de Valombrose,
F-06189 Nice cedex 02, France
e-mail : marie-christine.etienne@nice.unicancer.fr

P. Couvreur
Institut Galien, UMR CNRS 8612, université Paris-Sud, France

J.-P. Benoit
Inserm U1066, IBS-CHU, Angers, France

R. Fanciullino
Laboratoire de pharmacocinétique, UMR S911,
CRO2, Marseille, France

J.-A. Sergent · E. van Miert
Toxicological and Environmental Risk Assessment Unit,
Solvay SA, Brussels, Belgium

B. Pourroy
Pôle pharmacie–unité oncopharma, CHU Timone,
264, rue Saint-Pierre, F-13005 Marseille, France

P. Meshaka · A. Brescianini
AMGEN, 62, boulevard Victor-Hugo,
F-92200 Neuilly-sur-Seine, France

N. Corvaia · J.-F. Haeuw · L. Goetsch · A. Beck
Centre d'immunologie Pierre-Fabre, 5, avenue Napoléon-III,
BP 497, F-74164 Saint-Julien-en-Genevois, France

technologiques visant à améliorer le rapport bénéfice/risque des médicaments anticancéreux en augmentant leur biodistribution dans le tissu tumoral tout en limitant l'exposition des tissus sains. Paul Erlich, prix Nobel en 1908, rêvait déjà d'une *magic bullet* qui pourrait transporter et libérer le médicament spécifiquement sur sa cible. Les progrès, particulièrement dans le domaine des nanotechnologies, permettent désormais de concrétiser ce concept de vectorisation du médicament, qui trouve en cancérologie une de ses applications les plus essentielles.

Deux approches de vectorisation ont été exposées : d'une part les nanomédicaments dans lesquels les molécules actives sont transportées dans des nanovecteurs (liposomes, nanocapsules, nanosphères...) d'une centaine de nanomètres de diamètre, d'autre part les anticorps monoclonaux qui permettent de cibler spécifiquement les cellules tumorales.

Les nanomédicaments sont caractérisés par des propriétés physicochimiques particulières liées à leur petite taille qui permettent à la fois une protection vis-à-vis des mécanismes de dégradation et un ciblage plus précis de la cellule tumorale. Le ciblage de la cellule tumorale est avant tout passif, lié à la plus grande porosité de la microvascularisation tumorale. Il peut également être actif, puisqu'il est possible de greffer à la surface de ces nanomédicaments des ligands reconnaissant spécifiquement la cellule tumorale. De plus, les nanomédicaments peuvent contourner les mécanismes de résistance liés aux protéines d'efflux de la famille ABC. Cependant, certains nanomatériaux présentent une toxicité propre, et les recherches actuelles sont axées sur le développement de nanomédicaments totalement biodégradables et non toxiques, comme les nanomédicaments squalénisés développés par l'équipe du Pr Couvreur, ou encore de nanomédicaments biomimétiques comme ceux développés par l'équipe du Pr Benoit. Ces innovations galéniques, au carrefour de la physicochimie et de la biologie cellulaire et

moléculaire, ouvrent des perspectives nouvelles, notamment pour les cytotoxiques ayant déjà fait la preuve de leur efficacité. En raison de contraintes technologiques, logistiques, toxicologiques et financières, très peu de nanomédicaments sont actuellement commercialisés. Plusieurs formes liposomales d'anthracyclines, moins cardiotoxiques que leur forme conventionnelle, sont disponibles depuis une quinzaine d'années. Plus récemment, le nab-paclitaxel (paclitaxel lié à des nanoparticules d'albumine) a obtenu l'AMM dans le cancer du sein métastatique, et un essai de phase III vient de montrer son intérêt dans le cancer avancé du pancréas.

Deux approches de ciblage faisant appel aux anticorps monoclonaux ont été présentées. Les ADC (*antibody-drug conjugate*), dans lesquels un cytotoxique est conjugué à un anticorps thérapeutique exerçant une double fonction de ciblage puis de destruction de la cellule tumorale. Deux ADC viennent d'obtenir une AMM, le T-DM1 (trastuzumab conjugué à l'emtansine) dans le cancer du sein métastatique HER2+ et le brentuximab conjugué à la vedotin dans certains types de lymphomes. Une autre approche prometteuse est de construire des anticorps bispécifiques permettant de mettre en contact la cellule tumorale avec des lymphocytes T qui déclencheront spécifiquement la lyse des cellules tumorales.

Cet atelier a donc permis de souligner le changement de paradigme qui se fait jour en oncopharmacologie, puisqu'il ne s'agit plus seulement de développer de nouvelles molécules cytotoxiques, mais aussi de rechercher les moyens techniques d'optimiser leur profil pharmacocinétique, permettant ainsi de les libérer spécifiquement au contact des cellules tumorales.

Nanomédicaments et formes vectorielles : où en est-on ?

Nanomedication and Vector Forms: What Stage Are we at?

P. Couvreur

De nombreux médicaments ou candidats médicaments présentent des caractéristiques physicochimiques peu favorables au passage des barrières biologiques qui séparent le site d'administration du médicament de son site d'action. Ces barrières mécaniques, physicochimiques ou enzymatiques rendent l'obtention de concentrations efficaces au niveau du site d'action très difficile et provoquent des déperditions importantes de molécules actives vers d'autres tissus générant ainsi des effets toxiques parfois rédhitoires pour le traitement. Par ailleurs, les biomédicaments (acides nucléiques, peptides, protéines, etc.) sont le plus souvent des macromolécules fragiles, très rapidement dégradées après

leur administration. Ces problèmes peuvent être résolus par l'utilisation de nano-objets, d'une taille de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres, capables d'encapsuler les molécules pharmacologiquement actives.

C'est pour toutes ces raisons que le développement de nanomédicaments a pris un essor considérable au cours des dernières années. S'appuyant sur de nouveaux concepts physicochimiques et sur le développement de nouveaux matériaux (synthèse de nouveaux polymères ou assemblages supramoléculaires de lipides), la recherche galénique a permis d'imaginer des systèmes submicroniques d'administration capables :

- de protéger la molécule active de la dégradation ;
- d'en contrôler la libération dans le temps et dans l'espace.

En associant un principe actif à un nanovecteur, le franchissement de certaines barrières peut aussi être facilité, le métabolisme et l'élimination du médicament freinés et sa distribution modifiée pour l'amener à son site d'action. Les progrès réalisés dans le domaine de la conception de matériaux « intelligents » permettent enfin de préparer des nano-systèmes capables de libérer le principe actif en réponse à un stimulus externe : modification de pH, de force ionique, variation de température ou application d'un champ magnétique extracorporel. Il est également possible de concevoir des nanomédicaments dotés d'une double fonctionnalité : thérapeutique et diagnostique (imagerie), par exemple, en rajoutant dans le cœur du nanovecteur un agent d'imagerie (gadolinium, particules ultrafines d'oxyde de fer, etc.). Ces « nanothéragnostiques » ouvrent des perspectives nouvelles dans le domaine de la médecine personnalisée [1]. Enfin, l'utilisation de réactions de couplage, comme la *click chemistry* [2], permet de décorer la surface des nano-objets à l'aide de ligands spécifiques capables de reconnaître les marqueurs moléculaires des cellules cibles.

Quelques exemples montreront que ces nouveaux systèmes d'administration peuvent avoir un rôle considérable dans la découverte de nouveaux médicaments. Par exemple, des approches biomimétiques permettent maintenant de tirer profit de la conformation moléculaire de lipides naturels (cas du squalène) pour les coupler à des petites molécules à activité anticancéreuse ou antivirale et de développer ainsi des nanomédicaments plus efficaces susceptibles de contourner certains mécanismes de résistance [3]. L'utilisation de matériaux hybrides nanoporeux est un autre exemple de l'apport des matériaux dans le domaine de la vectorisation des médicaments [4].

Références

1. Arias JL, Harivardhan Reddy L, Othman M, et al. (2011) ACS Nano 22: 1513–21

2. Le Droumaguet B, Nicolas J, Brambilla D, et al. (2012) *ACS Nano* 6: 5866–79
3. Couvreur P, Stella B, Harivardhan Reddy L, et al. (2006) *Nano Letters* 6: 2544–8 4
4. Horcajada P, Chalati T, Serre C, et al. (2010) *Nature Mater* 9: 172–78

Enjeux et défis dans le développement des formes vectorielles

Issues and Challenges in the Development of Vector Forms

J.-P. Benoit

Le marché des médicaments anticancéreux est le troisième plus important derrière les marchés du cardiovasculaire et du système nerveux central, et est actuellement en pleine expansion avec un chiffre d'affaires d'environ 85 milliards de dollars en 2010. Malgré ces chiffres, ce marché est loin d'être mature. L'efficacité des anticancéreux qui reste souvent optimisable et l'impact sociétal du cancer font que de nombreuses sociétés pharmaceutiques voient ce marché comme une source de revenus importants.

C'est dans ce contexte que l'on a vu apparaître de nombreuses innovations pharmaceutiques (galéniques) pour l'administration des médicaments cytotoxiques. Le formulateur a conçu de nouveaux implants, des microsphères, des gels *in situ*, etc., mais une grande majorité des innovations vient des nanotechnologies pour constituer ce que l'on appelle maintenant les nanomédecines. Les buts recherchés par rapport aux présentations galéniques conventionnelles sont multiples : amener un confort pour le malade, assurer une meilleure observance, prévenir une dégradation prématurée d'un principe actif, améliorer une efficacité thérapeutique en jouant soit sur une cinétique de libération du principe actif concerné, soit sur sa biodistribution, soit sur ces deux volets en même temps.

Les nanocapsules lipidiques développées au sein de mon laboratoire représentent une technologie majeure pour la vectorisation de molécules actives. Afin de répondre à des critères de biocompatibilité et de diffusion intratissulaire optimales, mon équipe a cherché à reproduire synthétiquement la structure des lipoprotéines naturelles en formulant des nanocapsules lipidiques. Ces objets présentent une structure de capsule à cœur lipophile liquide constitué de triglycérides dans laquelle les principes actifs hydrophobes seront incorporés. Celle-ci est délimitée par une membrane lipidique solide composée de lécithine et d'un agent tensioactif pegylé jouant le rôle d'apoprotéines, excipients autorisés en pharmacie (Fig. 1), [1]. Ce système permettant d'encapsuler de manière efficace des principes actifs insolubles ou très

peu solubles dans l'eau répond à un besoin actuel immense de l'industrie pharmaceutique dont de très nombreuses molécules ne peuvent pas être solubilisées et transportées à leur site d'action.

Les nanocapsules sont uniformes en taille dans une gamme pouvant aller de 20 à 100 nm de diamètre. De plus, ces nanocapsules, de par la présence d'un tensioactif à leur surface, possèdent d'autres propriétés intéressantes :

- elles possèdent une certaine furtivité (temps de circulation sanguine prolongé et possibilité de ciblage passif) ;
- leur surface peut être modifiée chimiquement pour greffer des ligands d'intérêt ;
- elles sont capables d'inhiber la glycoprotéine P mise en cause dans les phénomènes de résistance multidrogue.

Le développement de ces nanocapsules a fait l'objet de nombreuses études précliniques [2,3,4,5].

L'innovation technologique des nanocapsules lipidiques ne réside pas seulement en leurs propriétés et caractéristiques, mais aussi dans leur mode de fabrication. En effet, bien que des systèmes nanoparticulaires injectables tels que des liposomes ou des micelles polymériques aient été utilisés avec succès dans un certain nombre de produits pharmaceutiques et cosmétiques, les techniques classiques de préparation de ces produits nécessitent l'utilisation de solvants organiques.

Or, le contrôle de ces produits demande un dosage minutieux des solvants résiduels dont la présence peut provoquer des effets secondaires nuisibles pour les patients. De plus, les agences réglementaires imposent des normes de plus en plus strictes afin d'éviter la contamination de l'environnement avec les solvants organiques. La mise en place de ces normes conduit à une augmentation notable des coûts de production. Ainsi, un avantage important des nanocapsules lipidiques réside dans le fait que leurs procédés de fabrication et d'encapsulation de principes actifs ne nécessitent pas l'utilisation de solvants organiques [1]. De plus, ce procédé est facilement transposable à une production à grande échelle étant basée sur une simple inversion de phase d'émulsions induite par des changements de température. Initialement conçues pour véhiculer des substances actives, pas ou peu solubles dans l'eau, une variante de ces particules contenant des micelles inverses ou des gouttes d'émulsions eau/huile dans leur cœur hydrophobe permet d'encapsuler des principes actifs hydrophiles.

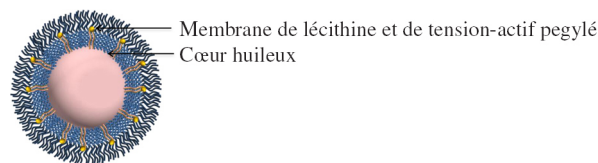


Fig. 1 Structure d'une nanocapsule lipidique

Références

1. Heurtault B., Saulnier P., Pech B., et al. (2002) *Pharm Res* 19: 875–80
2. Allard E., Passirani C., Garcion E., et al. (2008) *J Contr Rel* 130: 146–53
3. Morille M., Passirani C. Dufort S., et al. (2011) *Biomaterials* 32: 2327–33
4. Hureauux J., Lagarce F., Gagnadoux F., et al. (2010) *Pharm Res* 27: 421–30
5. Vanpouille-Box C., Lacoeyille F., Belloche C., et al. (2011) *Biomaterials* 32: 6781–90

Nanomédicaments : enjeux pharmacocinétiques

Nanomedication: the Pharmacokinetic Issues

R. Fanciullino

C'est en oncologie expérimentale et clinique que le développement de formes vectorielles médicamenteuses trouve ses applications les plus prometteuses. La balance efficacité/toxicité parfois complexe à gérer sur le plan clinique, l'étroitesse des marges thérapeutiques de la majorité des cytotoxiques classiques et la problématique de la faible diffusion intratumorale des produits de biotechnologies actuellement disponibles font de la nanomédecine un réel espoir dans le développement et la mise à disposition de formes vectorisées présentant une efficacité accrue tout en limitant les effets secondaires usuels de la chimiothérapie [1]. Il est à noter toutefois que les nanotechnologies en oncologie ne visent pas à identifier ou toucher de nouvelles cibles pharmacologiques, cellulaires ou moléculaires pour augmenter l'efficacité des thérapeutiques anticancéreuses. Les nanotechnologies, représentées par des formes vectorielles diverses (liposomes, dendrimères, capsules) ou le recours à des techniques de conjugaison (ADC, *nano-albumin-drugs*), visent à améliorer le profil pharmacocinétique des agents thérapeutiques déjà existants. L'objectif est toujours d'améliorer la spécificité dans la phase de distribution de la molécule active au profit de l'atteinte du tissu tumoral, tout en limitant l'exposition des tissus sains afin de réduire l'incidence des effets secondaires [2]. C'est donc via un meilleur ciblage tumoral, plus que par des mécanismes pharmacodynamiques intrinsèquement nouveaux, que les formes vectorielles présentent un bénéfice thérapeutique en oncologie. Cette spécificité anticancéreuse peut s'exercer de façon passive via les phénomènes d'effet EPR pour *enhancing permeation retention* [3]. Les tumeurs solides sont en effet caractérisées par un réseau vasculaire important et fenestré ainsi qu'un drainage lymphatique faible. Ces

caractéristiques induisent au niveau tumoral ce phénomène d'effet EPR qui correspond à une augmentation de la perméation liée aux fenestrations de l'endothélium vasculaire ainsi qu'à une augmentation de la rétention en raison du faible drainage lymphatique. Les nanoparticules sont alors capables de traverser les fenestrations de néo-vaisseaux pour s'accumuler massivement dans les tissus tumoraux. Une plus grande spécificité antitumorale peut également être atteinte grâce à des approches plus sophistiquées d'adressage des vecteurs envers une cible membranaire exprimée dans la tumeur (ADC, immunoliposomes) ou dans la matrice extracellulaire (*nano-albumin drugs*). Dans ce dernier cas, les formes vectorisées peuvent présenter un mécanisme d'action original en agissant sur l'environnement microtumoral, en addition d'un effet cytotoxique direct. Appréhender la pharmacocinétique des formes vectorielles représente donc un enjeu capital dans le développement de ces technologies et leur application en pratique clinique. Au-delà du ciblage tumoral, ces formes revêtent des caractéristiques qui les distinguent des molécules conventionnelles. La faible taille des nanoparticules usuellement développées et le recours fréquent à des techniques de masquage via la pégylation de surface permettent ainsi de réduire la reconnaissance par les macrophages et le système réticuloendothélial, tout en réduisant le captage hépatique et en limitant donc les phases de biotransformation métabolique. De la même façon, des nanoparticules pourraient du fait de leur composition limiter l'impact de la MDR, améliorant ainsi l'atteinte des tissus cibles. On attend ainsi des particules obtenues un profil pharmacocinétique optimisé se traduisant, au-delà de la meilleure spécificité dans la phase de biodistribution, par une clairance réduite avec un allongement de la demi-vie d'élimination plasmatique. Au-delà des anthracyclines liposomales et du nab-paclitaxel largement étudiés et dont la PK/PD met en exergue le bénéfice clinique tiré d'une amélioration de la pharmacocinétique comparative aux molécules libres, divers projets en développement non clinique ou clinique illustrent les particularités et enjeux de la pharmacocinétique des formes vectorielles en oncologie. L'étude de la pharmacocinétique des formes vectorielles implique une série de particularités spécifiques : la capacité de distinguer forme libre et forme encapsulée au niveau systémique, le recours à des techniques d'imagerie *in vivo* dédiées en fluorescence, en bioluminescence, en sondes radiomarquées afin d'objectiver l'accumulation intratumorale et de préciser les mécanismes de pénétration cellulaire [4]. Des approches de modélisation originale et sophistiquées de type PB-PK paraissent par ailleurs nécessaires pour appréhender les phénomènes d'accumulation et de sidération des nano-objets et d'en sécuriser l'utilisation lors des études First-In-Man (Fig. 2).

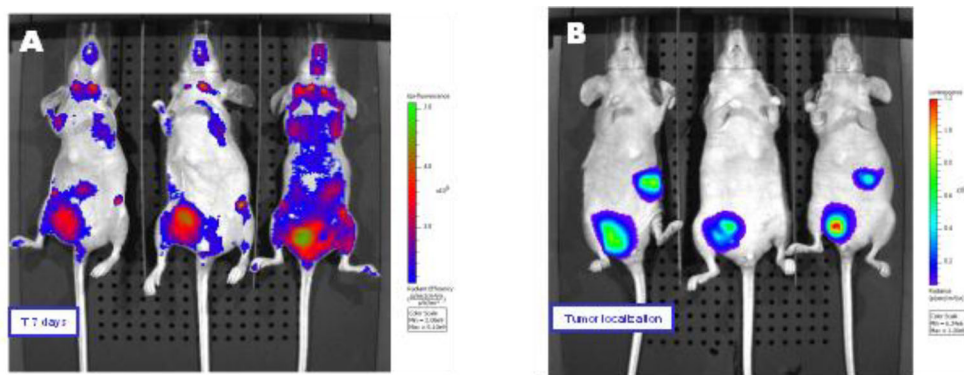


Fig. 2 Suivi de biodistribution d'une forme liposomale furtive marquée en fluorescence (A) et localisation des masses tumorales et métastatiques en imagerie par bioluminescence chez l'animal porteur de tumeur mammaire (B). On note une accumulation de particules au voisinage tumoral (Source : Dr R. Fanciullino, S911)

Références

1. Deshpande PP, Biswas S, Torchilin VP (2013) Current trends in the use of liposomes for tumor targeting. *Nanomedicine (Lond)* 8: 1323–42. doi: 10.2217/nnm.13.118
2. Perche F, Torchilin VP (2013) Recent trends in multifunctional liposomal nanocarriers for enhanced tumor targeting. *J Drug Deliv* 2013: 705265. doi: 10.1155/2013/705265. Epub 2013 Mar 7
3. Prabhakar U, Maeda H, Jain RK, et al. (2013) Challenges and key considerations of the enhanced permeability and retention effect for nanomedicine drug delivery in oncology. *Cancer Res* 73: 2412–7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4561. Epub 2013 Feb 19
4. Hirsjärvi S, Dufort S, Gravier J, et al. (2013) Influence of size, surface coating and fine chemical composition on the in vitro reactivity and in vivo biodistribution of lipid nanocapsules versus lipid nanoemulsions in cancer models. *Nanomedicine* 9: 375–87. doi: 10.1016/j.nano.2012.08.005. Epub 2012 Sep 6

Sécurité et évaluation toxicologique des nanoparticules

The Safety and Toxicological Assessment of Nanoparticles

J.-A. Sergent, E. Van Miert

Le recours aux nanoparticules, et de façon plus générale aux matériaux nanostructurés, présente un essor important ces dernières années dans de nombreux domaines industriels (électronique, ingénierie biomédicale...), mais également dans des domaines émergents comme la nanomédecine.

L'utilisation de ces mêmes nanoparticules, dans certains domaines, n'est pas récente, mais la mise en œuvre de nou-

veaux textes réglementaires présente certains produits chimiques connus comme des innovations nanotechnologiques. Ainsi, les Romains au IV^e siècle utilisaient des nanoparticules d'or afin de teinter le verre (coupe de Lycurgus). L'évaluation des nanoparticules et des matériaux nanostructurés connaît cependant depuis une dizaine d'années un grand dynamisme au sein de la communauté des toxicologues et plus récemment des écotoxicologues. Provenant d'une communauté de toxicologues spécialisés dans les particules ultrafines (PUFs), cette discipline émergente, la nanotoxicologie, se fédère actuellement au niveau international. Il faut cependant se poser la question de la spécificité de cette discipline ainsi que des méthodes utilisées [1]. Faut-il ainsi considérer les nanoparticules comme de nouvelles espèces chimiques à part entière et/ou faut-il créer et valider de nouvelles méthodes d'évaluation ?

En matière d'évaluation réglementaire au niveau européen, les nanoparticules, comme toute autre forme de produit chimique, dépendent de la réglementation REACH à partir d'une tonne produite par an via une caractérisation physicochimique et une évaluation toxicologique et environnementale. Une certaine complexité réglementaire existe cependant du fait de multiples définitions dans différents secteurs d'activité comme les biocides (EC528/2012) ou les cosmétiques (EC1223/2009) ainsi que de la mise à jour en cours de ces définitions. Les guides d'évaluation actuels sont considérés comme applicables aux nanoparticules et aux nanomatériaux. Une consultation publique a actuellement lieu visant à modifier le mode d'évaluation des nanoparticules avec différentes options possibles, la plupart préconisant une meilleure caractérisation des matériaux testés.

Plus de 10 000 articles scientifiques référencés ont été publiés autour de la nanotoxicologie (humaine et/ou environnementale). Des groupes tentent de lier des méthodes conventionnelles en toxicologie avec des méthodes plus innovantes [2,3]. Cependant, rares sont les consensus dans ces nombreuses publications, en raison de la caractérisation

insuffisante des matériaux, d'utilisation de méthodes présentant des artefacts (propriétés optiques spécifiques aux nano-formes testées) ou un manque de précision (le dioxyde de titane peut ainsi exister sous différentes formes cristallines, anatase, rutil et brookite pour les principales, qui auront des propriétés chimiques et toxicologiques différentes). Les publications sont ainsi parfois difficilement répétables, car les conditions de départ de l'expérimentation sont difficilement reproductibles. De nombreux projets de grande envergure sont initiés depuis quelques années sous l'égide de l'Europe (7th Framework Programme FP7). Ainsi, il est possible de retenir quelques projets : *Nanomile* et *Nanosolutions* visent à obtenir une classification des nanoparticules par famille en fonction des effets biologiques qu'elles produisent, le projet *NanoReg* vise à fournir un certain nombre d'outils aux industriels et législateurs afin d'évaluer l'impact des nanoparticules, le projet *Nanodevice* vise enfin à la mise au point de méthodes de détection des nanoparticules dans l'air.

Dans le domaine de la santé au travail, de nombreuses méthodes reposant sur le concept du *control banding* ont été développées afin de gérer les nanoparticules en fonction de leur danger potentiel (*hazard banding*) et de l'exposition (*exposure profile*). Une publication récente d'un groupe de TNO [4] montre ainsi une comparaison de plusieurs méthodes différentes parmi lesquelles *StoffenmanagerNano*, *NanoTool* ou encore un outil développé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES).

Il apparaît donc clairement que des développements de nouvelles méthodes et de nouvelles métriques de présentation des résultats sont liés à cette discipline émergente qui nécessite une caractérisation plus fine des matériaux évalués afin de comprendre les moteurs physicochimiques des phénomènes toxicologiques observés expérimentalement. La rigueur et la standardisation de ces méthodes physicochimiques apparaissent dès lors comme des pierres angulaires de cette discipline. Récemment, Donaldson et Poland posaient la question de la singularité de la nanotoxicologie dans une publication ayant pour titre « *Nanotoxicity: challenging the myth of nano-specific toxicity* » [5]. La nanotoxicologie pourrait-elle être la toxicologie des surfaces et de leur réactivité nécessitant une caractérisation fine de ces paramètres ?

Références

1. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J (2005) Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 113: 823
2. Nel AE (2013) Implementation of alternative test strategies for the safety assessment of engineered nanomaterials. *J Intern Med* 274(6): 561-577
3. Paget V, Sergent JA, Chevillard S (2011) Nano-silicon dioxide toxicological characterization on two human kidney cell lines. *J Phys: Conference Series* 304: 012080
4. Brouwer DH (2012) Control banding approaches for nanomaterials. *Ann Occup Hyg* 56: 506-14
5. Donaldson K, Poland CA (2013) Nanotoxicity: challenging the myth of nano-specific toxicity. *Curr Opin Biotechnol* 24(4): 724-734

Nano-albumine bound drugs : un nouveau paradigme ? Exemple du nab-paclitaxel

Nano-Albumine Bound Drugs: A New Paradigm? Example of Nab-paclitaxel

B. Pourroy

Le paclitaxel est un agent anticancéreux largement utilisé depuis de nombreuses années dans un grand nombre de tumeurs solides, notamment le sein, associé à des cytotoxiques classiques ou à des thérapies ciblées. Son haut poids moléculaire lui confère une faible hydrosolubilité qui a conduit les galénistes à mettre au point une formulation spécifique associant l'huile de ricin polyoxyéthylénée (cremophor EL) et l'éthanol. Ces excipients, s'ils permettent la solubilisation du paclitaxel et donc son administration intraveineuse, présentent différents inconvénients et notamment un risque allergique dû au cremophor. Cette formulation impacte également la pharmacocinétique du paclitaxel, car le cremophor séquestre le paclitaxel au sein du flux sanguin sous forme de micelles, diminuant d'autant les quantités de paclitaxel libre circulant [1,2].

Le *nano-albumine bound* paclitaxel (nab-paclitaxel) est obtenu par homogénéisation haute pression. Cette technique permet d'associer de façon non covalente le paclitaxel à de l'albumine d'origine humaine. Ce processus conduit à la formation de vésicules d'environ 130 nm de diamètre associant à la fois du paclitaxel libre et des nanoparticules d'albumine chargées de paclitaxel [1]. Lors de la solubilisation et de la dilution (pour administration), ces vésicules de 130 nm se dissocient et libèrent à la fois du paclitaxel libre et des nanoparticules d'albumine chargées en paclitaxel, d'environ 7 nm de diamètre. Cela confère au nab-paclitaxel une pharmacocinétique tout à fait spécifique [2]. En effet, la quantité de paclitaxel libre est plus que doublée, et la pharmacocinétique du nab-paclitaxel est linéaire alors que celle du paclitaxel-cremophor ne l'est pas. Par ailleurs, il semblerait également que l'aire sous la courbe obtenue après administration de nab-paclitaxel soit plus importante que celle obtenue avec le paclitaxel-cremophor. Au-delà de ces spécificités pharmacocinétiques, il apparaît également que le nab-paclitaxel présente un profil de distribution très spécifique conduisant à

une accumulation intratumorale plus importante de celui-ci comparativement au paclitaxel-cremophor [2]. Cette accumulation serait liée à trois phénomènes : l'*enhanced permeability and retention effect* (ou effet EPR) et la liaison de l'albumine humaine à deux protéines de transport spécifiques, la glycoprotéine 60 (gp60) et la SPARC. L'effet EPR se caractérise par une fenestration de l'endothélium vasculaire au sein des tumeurs et permet la concentration des nanovecteurs au sein du tissu tumoral. La gp60 est une protéine présente à la surface des cellules endothéliales qui est capable de se lier spécifiquement à l'albumine afin de permettre la transcytose de celle-ci et son passage du milieu intravasculaire au milieu extravasculaire. L'albumine des particules de nab-paclitaxel serait donc capable d'être reconnue par la gp60 pour passer dans la barrière vasculaire. Enfin, la protéine SPARC, très souvent surexprimée au sein du stroma tumoral, est elle aussi une protéine capable de reconnaître l'albumine et de l'internaliser. Elle participerait au métabolisme tumoral en permettant des apports importants en albumine permettant la croissance tumorale et serait donc également capable de reconnaître le nab-paclitaxel, conduisant à sa concentration au sein du tissu tumoral.

D'un point de vue clinique, le nab-paclitaxel est indiqué en monothérapie dans le traitement du cancer du sein métastatique, chez les patients adultes en échec du traitement de première ligne du cancer métastatique, et pour qui le traitement standard incluant une anthracycline n'est pas indiqué. Il s'utilise à une posologie supérieure à celle du paclitaxel cremophor (260 mg/m² toutes les trois semaines vs 175 mg/m² toutes les trois semaines). L'étude de phase III ayant conduit à l'AMM [3] montre que cette surexposition au paclitaxel permet de gagner en efficacité (temps jusqu'à progression et survie globale). Le nab-paclitaxel vient par ailleurs d'obtenir un avis positif du CHMP dans le cancer du pancréas en association à la gemcitabine. Il s'utilise alors à la posologie de 125 mg/m² toutes les semaines, trois semaines sur quatre. Même si les résultats de l'étude de phase III [4] dans cette pathologie de pronostic très sombre restent modestes, ils constituent incontestablement une avancée dans la prise en charge de ces patients (médiane de survie globale de 8,5 contre 6,7 mois pour la gemcitabine seule).

Sur le plan de la tolérance, le nab-paclitaxel présente un profil spécifique comparativement au paclitaxel-cremophor [3]. En effet, les neuropathies périphériques sont plus fréquentes et de grade plus élevé, et les toxicités digestives apparaissent plus fréquentes avec le nab-paclitaxel. En revanche, les neutropénies sont, elles, moins fréquentes et de grade plus faible tandis qu'aucun effet indésirable à type d'allergies, rencontrées classiquement avec le cremophor, ne se rencontre avec le nab-paclitaxel, bien que celui-ci soit administré sans aucune prémédication antiallergique.

D'un point de vue pharmacoéconomique, quelques études tendent à montrer que, malgré un coût d'achat près

de 30 fois supérieur à un paclitaxel-cremophor générique d'usage courant (à quantité égale de paclitaxel), l'utilisation du nab-paclitaxel reste coût-efficace [5].

Pour conclure, même si le nab-paclitaxel a été développé initialement sur le plan clinique comme une simple reformulation galénique du paclitaxel-cremophor en vue d'éviter les toxicités associées, il constitue en réalité un médicament à part. Son profil de tolérance, son activité clinique et son profil de biodistribution plaident en ce sens, et il semble nécessaire de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le mécanisme d'action des *nab-drugs* en vue d'optimiser leur utilisation et de les positionner convenablement dans l'arsenal thérapeutique déjà existant.

Références

1. Cucinotto I, Fiorillo L, Gualtieri S, et al. (2013) Nanoparticle albumin bound paclitaxel in the treatment of human cancer: nanodelivery reaches prime-time? *J Drug Deliv* 2013: 905091
2. Yardley DA (2013) Nab-paclitaxel mechanisms of action and delivery. *J Control Release* 170: 365–72
3. Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, et al. (2005) Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 23: 7794–803
4. Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, et al. (2013) Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 369: 1691–703
5. Alba E, Ciruelos E, López R, et al. (2013) Cost-utility analysis of nanoparticle albumin-bound paclitaxel versus paclitaxel in monotherapy in pretreated metastatic breast cancer in Spain. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res* 13: 381–91

« BiTE[®] » : Stratégies de stimulation des lymphocytes T

“BiTE[®]”: T Lymphocyte Stimulation Strategies

P. Meshaka, A. Brescianini

Le traitement du cancer est devenu un défi clinique qui reflète la complexité de la maladie et son étiologie, la mortalité étant due à la résistance et aux rechutes. La tentative d'exploiter le système immunitaire d'un patient dans le traitement du cancer est en train d'établir de nouvelles voies. La modulation de l'immunité innée et adaptative offre une opportunité thérapeutique pour les patients avec l'arrivée de thérapies ciblant CTLA4 et PD-1/PDL-1 [1].

En parallèle émerge un autre mécanisme pour exploiter les cellules immunitaires du patient de façon dirigée : les

anticorps BiTE[®] (*bi-specific T cell engager*). La technologie BiTE incorpore une nouvelle molécule possédant trois composants majeurs consistant en fragments de reconnaissance du récepteur des lymphocytes T (CD3 epsilon) et de reconnaissance de l'antigène spécifique à la tumeur liés par une configuration de liaison optimale. Les molécules BiTE forment une synapse cytolytique entre les cellules tumorales et les lymphocytes T, ce qui les met en étroite proximité. L'activation des lymphocytes T qui en résulte induit une réponse cytolytique en mettant en jeu une machinerie de lyse de la cellule cible hautement efficace [2]. Cet engagement direct des lymphocytes T et des cellules tumorales en présence d'une molécule BiTE peut être modulé par la délivrance d'une dose thérapeutique et l'arrêt du médicament. Pour utiliser ce nouveau mécanisme d'engagement des lymphocytes T et des cellules tumorales, certains critères de sélection de la cible et des lymphocytes T spécifiques sont importants, en plus de la région de liaison optimisée.

Reconnaissance des lymphocytes T par les anticorps BiTE[®]

La possibilité de reconnaissance directe des lymphocytes T par les molécules BiTE est conférée par les fragments scFv (*single chain variable fragment*) qui reconnaissent CD3ε, le composant invariable de la signalisation du complexe du récepteur des lymphocytes T. Ce mécanisme exploite la capacité à activer des populations polyclonales de lymphocytes T (CD8+, CD4+, y compris les lymphocytes T régulateurs [Treg]) et ne dépend pas du CMH de classe I pour la présentation de l'antigène [3]. La liaison monovalente des molécules BiTE au CD3 n'active pas le TCR, sauf si la liaison de la cellule cible est engagée. Une costimulation des lymphocytes T ne semble pas nécessaire [4]. L'engagement par l'anticorps BiTE[®] des cellules cibles entraîne l'activation et la prolifération consécutive des lymphocytes T, ce qui contribue à une plus grande efficacité. De plus, les lymphocytes T activés par l'anticorps BiTE[®] contribuent à la lyse en série, ce qui augmente encore l'efficacité [5]. Ce mécanisme d'action concorde avec le fait que les molécules BiTE sont des inducteurs très puissants de la lyse redirigée des cellules cibles. Du fait de la grande puissance et de l'efficacité améliorée démontrée des molécules BiTE, les données semblent indiquer qu'un traitement à dose faible devrait induire une réponse efficace.

Critères de sélection de la cible pour la stratégie BiTE

L'expression d'une cible différentielle dans la tumeur par rapport au tissu sain apporte un avantage pour sélectionner les cibles des molécules BiTE. Cela permet une fenêtre thérapeutique plus large, car il est probable que les antigènes fortement surexprimés sur les tumeurs présenteront une

meilleure reconnaissance par les molécules BiTE, contrairement au tissu sain dans lequel ils ne sont que peu ou pas exprimés. EGFRviii (un récepteur du facteur de croissance épidermique muté) et PSMA (*prostate-specific membrane antigen*) sont des exemples de ces cibles exprimées de façon différentielle, et des programmes représentatifs sont actuellement en développement clinique.

L'expression des cibles dans les tissus tumoraux et sains ayant des capacités régénératives ou non essentielles est une autre opportunité d'exploration et d'application de la technologie BiTE. Par exemple, le CD19 est exprimé sur les lymphocytes B tumoraux et normaux. Dans les études cliniques menées dans la LAL, l'anticorps thérapeutique BiTE[®] blinatumomab se révèle efficace dans les hémopathies malignes à cellules B tandis que l'élimination des lymphocytes B exprimant CD19 normaux est tolérée [6].

Il faut noter que le mécanisme BiTE est indépendant de l'internalisation de la cible, car l'activité cytotoxique est induite par l'engagement des lymphocytes T sur la surface de la cellule et non par un mécanisme d'internalisation et de libération de l'agent cytotoxique comme dans les stratégies d'anticorps armés (ADC). Globalement, la technologie BiTE[®] apporte certains avantages distincts contre les cibles exprimées à la surface des cellules tumorales comme il est décrit ici. Il faut souligner l'activité cytolytique très efficace des lymphocytes T qui entraîne l'efficacité. L'équilibre entre l'efficacité améliorée et la toxicité est évalué actuellement dans des études cliniques en cours. Bien que les toxicités observées dans les programmes cliniques avancés soient gérables, les études en cours et futures approfondiront nos connaissances sur la fenêtre thérapeutique avec cette nouvelle stratégie d'engagement des lymphocytes T. L'exploration de la plateforme BiTE offre des perspectives d'avenir pour l'utilisation en monothérapie et en association avec des inhibiteurs de la signalisation et d'autres agents d'immunothérapie qui n'induisent pas de réponses durables. La possibilité de combattre la nature éventuelle polyclonale, polygénique et hétérogène du cancer avec les molécules BiTE pour surmonter la résistance et les rechutes est réellement une perspective passionnante.

Références

1. Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, Allison JP (2011) Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nat Rev Cancer* 11: 805–12
2. Mack M, Riethmuller G, Kufer P (1995) A small bispecific antibody construct expressed as a functional single-chain molecule with high tumor cell cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 7021–5
3. Offner S, Hofmeister R, Romaniuk A, et al. (2006) Induction of regular cytolytic T cell synapses by bispecific single-chain antibody constructs on MHC class I-negative tumor cells. *Mol Immunol* 43: 763–71

4. Dreier T, Lorenczewski G, Brandl C, et al. (2002) Extremely potent, rapid and costimulation-independent cytotoxic T-cell response against lymphoma cells catalyzed by a single-chain bispecific antibody. *Int J cancer* 100: 690–7
5. Hoffmann P, Hofmeister R, Brischwein K, et al. (2005) Serial killing of tumor cells by cytotoxic T cells redirected with a CD19-/CD3-bispecific single-chain antibody construct. *Int J Cancer* 115: 98–104
6. Nagorsen D, Kufer P, Baeuerle PA, Bargou R (2012) Blinatumomab: a historical perspective. *Pharmacol Therapeut* 136: 334–42

Nouvelles stratégies de développement des anticorps monoclonaux

New Strategies in the Development of Monoclonal Antibodies

N. Corvaia, J.-F. Haeuw, L. Goetsch, A. Beck

Les anticorps monoclonaux sont devenus en l'espace d'une quinzaine d'années une classe moléculaire de référence en oncologie. À ce jour, 11 anticorps « nus » ont été approuvés, ciblant soit des récepteurs à tyrosine-kinase, soit des facteurs solubles impliqués dans l'angiogenèse ou des clusters de différenciation (CD) tels que CD20 ou CD52 [1]. Cependant, à ce jour, le nombre de cibles cliniquement validées reste faible, et des voies d'innovation pourraient venir de molécules dirigées contre des cibles nouvelles permettant de proposer des avancées thérapeutiques *first in class* dans ce domaine, telles que les anticorps contre des tétraspanines [2] ou contre des protéines à sept domaines transmembranaires (GPCR) par exemple [3]. Les GPCR sont des récepteurs dont la partie extracellulaire est limitée et la conformation très importante. Par ailleurs, les sources de GPCR purifiées et fonctionnelles sont très limitées, voire absentes, ce qui rend l'identification d'anticorps ayant une fonction biologique plus difficile que pour les récepteurs à tyrosine-kinase. Bien que certains anticorps aient été développés contre ce type de molécule en oncologie, ces cibles dans la famille des GPCR restent une source d'innovation.

Plus récemment, des anticorps couplés à des substances cytotoxiques (ADC pour *antibody drug conjugates*) ont fait leur apparition sur le marché. Ces ADC revisitent des cibles déjà travaillées avec des anticorps nus ou avec des ADC de première génération qui étaient très toxiques comme Mylotarg (gemtuzumab ozogamicine anticorps anti-CD33 couplé à la calichéamicine). De nombreux ADC sont dirigés contre des cibles nouvelles. Ces molécules combinent la spécificité de l'anticorps et la puissance d'un cytotoxique permettant de réduire les effets secondaires de ces derniers tout en permettant d'augmenter le pouvoir cytotoxique total de la molécule.

Plusieurs cytotoxiques, linkers et chimie de couplage ont été utilisés. Depuis Mylotarg, enregistré en 2000 aux États-Unis, deux nouveaux ADC viennent d'être approuvés par la FDA et l'EMA, ouvrant ainsi la voie à cette nouvelle classe de dérivés d'anticorps [4]. Il va être très intéressant de voir les avancées cliniques de ces ADC, car les fenêtres thérapeutiques risquent d'être plus étroites que pour des anticorps nus.

Plus récemment encore, une voie très prometteuse impliquant des anticorps modulant le système immunitaire en interagissant avec des récepteurs impliqués dans le contrôle de l'immunité a émergé [5]. Des anticorps tels que l'ipilimumab, anti-CTLA4, approuvé l'an dernier pour des patients atteints de mélanome métastatique ou les anticorps anti-PD1 ou PD1L en phases cliniques avancées ont ouvert de nouvelles voies thérapeutiques [6]. Bien que ces immunomodulateurs ne soient pas dénués de toxicité, ils ont ouvert la voie à une série nouvelle d'anticorps contre de nouvelles cibles thérapeutiques telles que TIM-3, LAG-3 (Riether Carsten). Ces molécules sont testées seules ou en combinaison avec les anticorps anti-PD1 ou anti-CTLA4. Associées à une présélection des patients en amont, elles représentent une avancée majeure pour les traitements dans les cancers immunosensibles.

Clairement, la combinaison de l'ensemble de ces nouvelles thérapies associée à une bonne gestion des effets secondaires offre de nouveaux espoirs pour les patients atteints de cancers.

Références

1. Sliwkowski SM, Mellma I (2013) Antibody therapeutics in cancer. *Science* 341: 1192–8
2. Haeuw JF, Goetsch L, Bailly C, Corvaia N (2011) Tetraspanin CD151 as a target for antibody-based cancer immunotherapy. *Biochem Soc Trans* 39: 553–8
3. Garland SL (2013) Are GPCRs still a source of new targets? *J Biomol Screen* 18: 947–66
4. Mullard A (2013) Maturing antibody-drug conjugate pipeline hits 30. *Nat Rev Drug Discov* 12: 329–32. doi: 10.1038/nrd4009
5. Pardoll DM (2012) *Nat Rev Cancer* 12: 252–64
6. Merelli B, Massi D, Cattaneo L, Mandalà M (2014) Targeting the PD1/PD-L1 axis in melanoma: Biological rationale, clinical challenges and opportunities. *Crit Rev Oncol Hematol* 89(1):140-65

Liens d'intérêts : M.-C. Etienne-Grimaldi, J.-P. Benoit, R. Fanciullino, B. Pourroy déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts. P. Couvreur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article. J.-A. Sergent, E. van Miert déclarent être salariés d'une entreprise du secteur chimique produisant des nanomatériaux. P. Meshaka, A. Brescianini déclarent être employés Amgen. N. Corvaia, J.-F. Haeuw, L. Goetsch, A. Beck déclarent être salariés de l'Institut de Recherche Pierre Fabre.