

Les nanomédicaments en oncologie : nouvelles perspectives de traitement et limitations toxicologiques

Table des matières

Liste des tableaux	1
Liste des figures.....	2
Liste des abréviations	4
Introduction	7
1. Maladie cancéreuse et fréquence des cancers	7
2. Étroitesse de la fenêtre thérapeutique des traitements actuels.....	7
3. Thérapie nanoparticulaire novatrice	9
4. Objectif du travail.....	9
Partie I : Le monde des nanomédicaments en oncologie	10
1. Définition et classification des nano-objets.....	10
2. Concept et objectif de nanomédicament	13
3. Les nano-objets pour élargir la fenêtre thérapeutique.....	14
3.1. Augmentation de la biodisponibilité des principes actifs	14
3.2. Accumulation des nanoparticules à l'intérieur de la cellule tumorale	16
3.3. Distribution maîtrisée des principes actifs.....	18
3.3.1. Le ciblage passif : L'effet EPR	18
3.3.2. Les différents types de nanovecteurs	21
3.3.2.1. Les nanovecteurs de première génération : le ciblage passif.....	21
3.3.2.2. Les nanovecteurs de deuxième génération.....	23
3.3.2.3. Les nanovecteurs de troisième génération : le ciblage actif	25
3.4. Protection de la dégradation et réduction de l'élimination	28
3.5. Contournement des phénomènes de résistance.....	29
4. Enjeux pharmacocinétiques	32
4.1. Les propriétés des nanovecteurs.....	32
4.2. L'influence de l'environnement tumoral et les disparités interindividuelles	34
4.3. Les limitations de l'encapsulation.....	35
4.4. La problématique de la bioanalyse	36
5. Les apports de la nanomédecine.....	36

5.1.	Les formes sur le marché actuellement.....	36
5.2.	Les différentes formulations en développement	40
5.2.1.	Les nanomédicaments et l'immunothérapie	41
5.2.2.	La nanothéranostique	42
5.2.3.	La conception de nanoparticules avec des lipides pro-médicaments...	43
5.2.4.	Les nanomédicaments et la thérapie génique	45
5.2.5.	Les nanoparticules sensibles à un stimuli.....	48
5.2.6.	Les métaux à haute densité électronique	50
Partie II : La nanotoxicité		54
1.	Définition	54
2.	Impact des caractères physico-chimiques des nanoparticules sur les effets biologiques	54
2.1.	La taille des nanoparticules	55
2.2.	La chimie de surface des nanoparticules.....	57
2.3.	La charge des nanoparticules	57
2.4.	La forme des nanoparticules	58
2.5.	La stabilité des nanoparticules	59
2.6.	La structure cristalline et l'élasticité des nanoparticules.....	59
3.	Formation de la couronne biologique ('Corona')	60
4.	Mécanismes de toxicité des nanoparticules.....	62
4.1.	Mécanismes de toxicité moléculaire	62
4.2.	Mécanismes de toxicité cellulaire.....	63
4.3.	Toxicité tissulaire	64
5.	Premières interactions des nanoparticules avec les systèmes biologiques	65
5.1.	Le système immunitaire inné	66
5.2.	Reconnaissance par les neutrophiles	67
5.3.	Reconnaissance par les macrophages	67
5.4.	Activation des voies de signalisation et de l'inflammation	68
5.5.	Reconnaissance par les cellules dendritiques et présentation aux lymphocytes T	70
6.	Mise en jeu du système immunitaire inné lors de l'injection de nanoparticules manufacturées	71
6.1.	Les physiopathologies potentielles des réactions à la perfusion	72
6.1.1.	Hypersensibilité médiée par les IgE	72
6.1.2.	Hypersensibilité médiée par les IgG.....	73
6.1.3.	Libération massive de cytokines	73
6.1.4.	Réaction pseudo allergique dépendante de l'activation du complément	74
6.1.5.	La théorie « Double hit ».....	75
7.	Considérations méthodologiques et problèmes rencontrés pour l'évaluation de la sécurité des nanomédicaments	77

7.1. Besoin urgent d'une évaluation toxicologique adaptée et représentative...	77
7.2. Les défis rencontrés.....	79
7.3. Stratégie de conception d'un cadre de dépistage d'immunotoxicité préclinique	81
Conclusion et futures perspectives	87
Annexe 1 - Les différentes associations ligands/ cibles étudiées dans la littérature permettant un ciblage actif.....	89
Annexe 2 Les nanomédicaments en oncologie actuellement en cours d'essais cliniques	98
Bibliographie	123
Sitographie	145

Liste des tableaux

Tableau 1. Les nanoparticules thérapeutiques approuvées en oncologie.....	37
---	----

Liste des figures

Figure 1. L'échelle de la nanomédecine	11
Figure 2. Les différents types de nanoparticules.....	12
Figure 3. Le pourcentage de surface des molécules en fonction de leur diamètre.....	15
Figure 4. Les mécanismes d'internalisation des nanoparticules.....	17
Figure 5. Représentation schématique du ciblage passif conceptuel (effet EPR) de la nanomédecine.....	19
Figure 6. Les différents types de nanovecteurs.....	21
Figure 7. Comparaison de l'efficacité entre la doxorubicine sous forme libre et la doxorubicine encapsulée dans un nanovecteur.....	23
Figure 8. Schéma illustrant le ciblage passif et le ciblage actif dans les tissus tumoraux.....	26
Figure 9. Schéma représentant les différents mécanismes de la résistance « MDR » en oncologie.....	30.
Figure 10. Schéma représentant les différents types de nanomatériaux et l'importance des propriétés physico-chimiques pour étudier la délivrance de principe actif.....	33
Figure 11. Résultats des traitements par la gemcitabine libre ou squalénisée sur le volume tumoral (cellules cancéreuses leucémiques injectées par voie sous cutanée sur les souris).....	45

Figure 12. Mécanisme d'action de NBTXR3.....	52
Figure 13. La formation de la protéine corona et l'échange de protéines à travers le temps.....	61
Figure 14. Interactions entre les cellules immunitaires innées et les nanoparticules de métal.....	69
Figure 15. Mécanisme CARPA.....	76
Figure 16. Le nombre de publications publiées sur la base de données PubMed comprenant les mots-clés « nanoparticules » et « système immunitaire » par an de 2000 à 2014.....	79
Figure 17. Résumé des différentes étapes à réaliser pour évaluer l'immunotoxicité des nanoformulations.....	82

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AgNPs	Nanoparticules d'argent
AOP	« <i>Adverse Outcome Pathway</i> »
ARN	Acide Ribonucléique
ASC	Aire Sous la Courbe
ASTM	« <i>American Society for Testing Material</i> »
AuNPs	Nanoparticules d'or
BAL	Lavage Alvéolaire Bronchique
CARPA	« <i>Complement Activation Related Pseudo-Allergy</i> »
CAT	Catalase
CD	Cellule Dendritique
CHC	Carcinome Hépatocellulaire
CIPA	« <i>Complement Independent Pseudo-Allergy</i> »
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA	Cellules Présentatrices d'Antigène
DAMP	« <i>Damage Associated Molecular Pattern</i> »
ECA	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
EGF	« <i>Epidermal Growth Factor</i> »
EMA	« <i>European Medicines Agency</i> »
EPR	« <i>Enhanced Permeability and Retention</i> »
FDA	« <i>Food and Drug Administration</i> »
FR	Récepteur du Folate
HER	« <i>Human Epidermal Growth Factor Receptor</i> »
ICH	« <i>International Conference on Harmonisation</i> »
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique

ISO	« <i>International Organization for Standardization</i> »
JRC	« <i>Joint Research Centre</i> »
LDL	« <i>Low Density Lipoprotein</i> »
LH-RH	« <i>Luteinizing Hormone Releasing Hormone</i> »
LLA	Lysat d'amibocytes limuleux
LPS	Lipopolysaccharide
Ma	Macrophages
MDR	« <i>Multi Drug Resistance</i> »
MSN	« <i>Mesoporous Silica Nanoparticle</i> »
MWCNT	« <i>Multi-Walled Carbon Nanotube</i> »
NAMP	« <i>Nanoparticles Associated Molecular Mattern</i> »
NAS	Niveau d'Assurance de Stérilité
NCL	« <i>Nanotechnology Characterization Laboratory</i> »
NET	Neutrophiles
NK	Natural Killer
NLR	« <i>Nod Like Receptor</i> »
P-gp	P-glycoprotéine
PAF	Facteur d'Activation Plaquettaire
PAMP	« <i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i> »
PAMAM	« <i>Poly(amidoamine)</i> »
PB-PK	« <i>Physiologically based pharmacokinetic</i> »
PEG	Polyéthylène glycol
PLA	« <i>Poly-Lactic Acid</i> »
PNN	Polynucléaire Neutrophiles
PSMA	« <i>Prostate Specific Membrane Antigen</i> »)
QDs	« <i>Quantum dots</i> »
REACH	« <i>Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals</i> »
RGD	« <i>Arginylglycylaspartic acid</i> »
ROS	Espèces Réactives de l'oxygène : « <i>Reactive Oxygen Species</i> »
SOD	Superoxyde Dismutase
SPARC	« <i>Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine</i> »

SPIONs	« <i>SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles</i> »
SQ	Squalène
TfR	Récepteur de la Transferrine
TLR	« <i>Toll Like Receptor</i> »
TNF	« <i>Tumor Necrosis Factor</i> »
VEGF	« <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> »
VPF	« <i>Vascular Permeability Factor</i> »
WAO	« <i>World Allergy Organization</i> »

Introduction

1. Maladie cancéreuse et fréquence des cancers

Le cancer est un groupe de maladies caractérisées par la croissance incontrôlée de cellules anormales formant un nodule au sein d'un tissu, c'est-à-dire une tumeur. Depuis 2015, les cancers représentent la deuxième cause de décès dans le monde, après les maladies cardiovasculaires (Global Burden of Disease Cancer Collaboration *et al.*, 2019). Le World Cancer Report estime qu'en 2008, 12,4 millions de nouveaux cas ont été rapportés au niveau mondial avec 7 millions de décès. Pour 2030, c'est une perspective de 26,4 millions de cas incidents mondiaux (Bray *et al.*, 2018).

2. Étroitesse de la fenêtre thérapeutique des traitements actuels

Les objectifs des traitements anticancéreux sont d'au mieux guérir les patients mais également de prolonger considérablement leur durée de vie avec la meilleure qualité possible. Il existe plusieurs types de traitement anticancéreux, prescrits seuls ou en association. Le choix de ces traitements se fait en fonction de la pathologie cancéreuse, de sa sévérité ainsi que de sa localisation. Les traitements classiques dits « locaux » sont la chirurgie et la radiothérapie, les traitements « généraux », quant à eux, incluent la chimiothérapie et l'hormonothérapie. La résection de la tumeur par chirurgie reste l'un des traitements les plus efficaces, à condition que la tumeur soit opérable et que la totalité de celle-ci soit enlevée pour limiter le risque de récurrence. Plus de 60% des patients atteints de cancer reçoivent un traitement par radiothérapie à une étape de leur parcours de soin. Cependant, il existe encore d'importantes limitations pour une

utilisation en routine du fait que les rayons provoquent des lésions sur toutes les cellules qu'ils touchent, aussi bien les cellules cancéreuses que saines. La toxicité précoce (notamment la manifestation d'érythèmes cutanés et de troubles digestifs) et tardive (pouvant se manifester par une nécrose osseuse ou une fibrose) limitent donc la dose délivrée. Pour la chimiothérapie, il en est de même : l'index thérapeutique est étroit et une dose trop faible ne permettra pas d'obtenir l'effet thérapeutique escompté compte tenu des fortes toxicités entraînées par ces traitements. Les chimiothérapies sont des molécules toxiques pour la cellule cancéreuse qui ciblent très souvent les différentes phases de son cycle de réplication mais les altérations cellulaires ne sont pas spécifiques aux cellules tumorales et cela peut se répercuter sur les cellules à prolifération élevée comme celles de la muqueuse digestive et les cellules sanguines. Plus récemment, l'immunothérapie s'est développée en oncologie. Le but est de rendre les cellules cancéreuses détectables par le système immunitaire afin qu'il les reconnaisse comme « élément étranger » et provoque leur destruction. Cependant, il est estimé que seuls 15% des patients répondent à ce type de traitement. Quant à l'hormonothérapie, ce type de traitement consiste à bloquer la synthèse de certaines hormones sexuelles ou la fixation à leur récepteur afin de limiter la croissance des cellules cancéreuses. Elle s'applique donc seulement à un nombre limité de cancers ; les cancers « hormonodépendants » comme celui du sein, de l'utérus ou de la prostate dépendant de l'action de l'œstrogène, de la progestérone et de la testostérone respectivement.

Par conséquent, le challenge à relever est de développer des thérapies capables d'un ciblage sélectif des sites tumoraux sans endommager les tissus sains.

3. Thérapie nanoparticulaire novatrice

Pour pallier ces limites, diverses innovations technologiques ont émergé ces dernières années, notamment dans le domaine de la nanomédecine. Les progrès considérables des nanotechnologies permettent aujourd'hui de développer des thérapies innovantes offrant de nouvelles possibilités de traitement. L'infiniment petit devient aujourd'hui porteur de grands espoirs. La taille des nanomatériaux leur permet d'interagir à l'intérieur même des cellules et ouvre des possibilités jusqu'ici inconnues pour augmenter l'efficacité de certains traitements classiques tout en réduisant leur toxicité.

4. Objectif du travail

Dans cette revue, nous allons définir dans un premier temps le monde des nanoparticules, puis nous développerons les intérêts certains de ces technologies ainsi que les progrès récents des nanomatériaux, y compris les stratégies de ciblage et de libération de ces nanomédicaments pour une administration efficace. Dans une seconde partie, nous discuterons d'une des limites actuelles de ces thérapeutiques : la « nanotoxicité » avec une étude plus précise des interactions entre le système immunitaire inné et ces nanoparticules. Dans une dernière partie, seront évoqués les défis actuels de la nanothérapie ainsi que leurs perspectives d'avenir.

Partie I : Le monde des nanomédicaments en oncologie

1. Définition et classification des nano-objets

La dimension « nano » a investi l'industrie et nos vies quotidiennes. Les nanoparticules sont de plus en plus utilisées dans divers domaines tels que l'électronique, l'agroalimentaire ainsi que dans les domaines pharmaceutique et cosmétique. Les nanotechnologies concernent la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, dispositifs et systèmes par le contrôle de la forme et de la taille à une échelle nanométrique. Cependant, il existe dans la littérature des définitions contradictoires pour caractériser ces structures nanométriques. Par exemple, selon la norme ISO TS 80004-1(1), un nanomatériau est « un matériau dont au moins une dimension externe est à l'échelle nanométrique (environ de 1 nm à 100 nm) ou qui possède une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique » (1). D'après cette définition, le « nanomatériau » est un terme englobant aussi bien les nano-objets, qu'ils soient libres ou sous forme d'agrégat ou d'agglomérat, que les nanomatériaux contenant des nanoparticules ainsi que ceux structurés à l'échelle nanométrique.

Le Joint Research Centre (JRC) de la Commission Européenne a émis des recommandations sur la définition de « nanomatériau » qui constituent une base générale pour l'instrumentation réglementaire dans les pays de l'Union. Cette définition a été adoptée par les régulateurs des biomédecines, dispositifs médicaux mais également dans des annexes du REACH. La définition établit cette fois que le seul paramètre déterminant est une dimension extérieure à l'échelle nanométrique du

matériau, qui est solide à température et pression dites normales (298.15 K et 101.325 Pa). Le terme matériau est générique et indépendant de tout contexte réglementaire (Rauscher *et al.*, 2019).

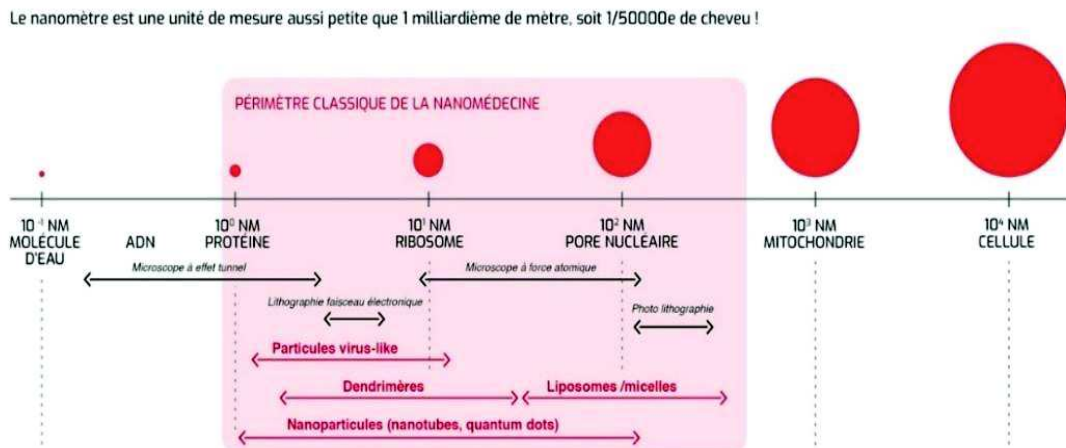


Figure 1. L'échelle de la nanomédecine

Source : www.leem.org (2)

Il existe une multitude de matériaux différents définis en fonction de leurs dimensions respectives selon la norme ISO TS 80004-2(3). Parmi les nano-objets, il est possible de distinguer les nanoplaques (1D : c-à-d 1 dimension externe à l'échelle nanométrique), les nanofibres (2D) et les nanoparticules (3D). D'autres caractéristiques comme la composition chimique des nano-objets permettent de les classifier. On retrouve notamment des nanoparticules organiques comme des liposomes, des micelles, des dendrimères et des nanoparticules polymériques, ainsi que des nanoparticules inorganiques de métal et d'oxyde métallique, pour ne citer que celles-là (Figure 2).

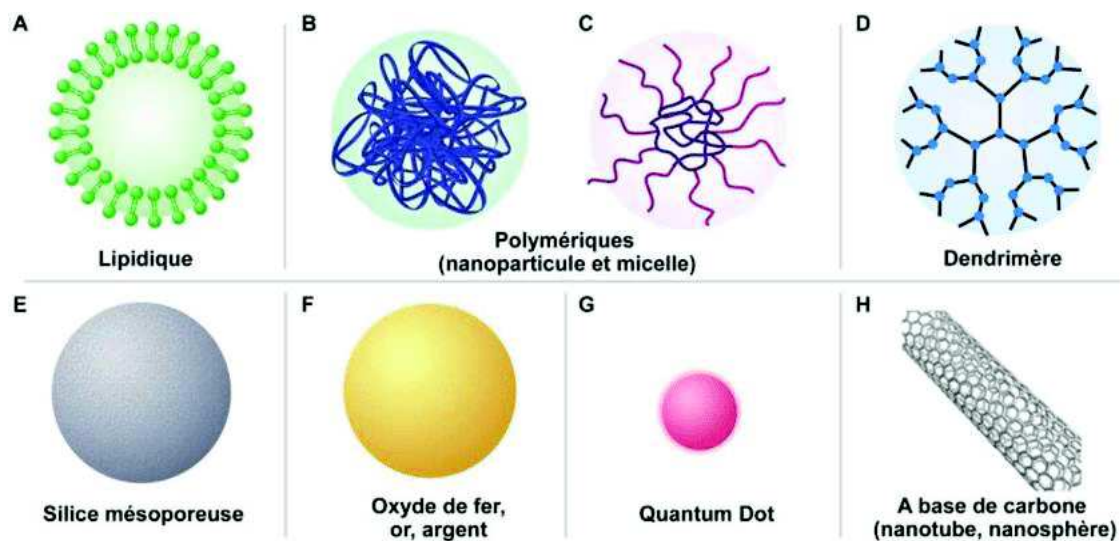


Figure 2. Les différents types de nanoparticules

Source : *Étude toxicogénomique de nanovecteurs de silice mésoporeuse : relation entre décoration et toxicité (Pisani, 2017)*

Les nanoparticules peuvent être non manufacturées, elles sont alors appelées particules ultrafines, qu'elles soient d'origine naturelle (comme les feux de forêts et les embruns marins) ou anthropique non intentionnelle (comme l'émanation de fumées de diesel, de tabac, soudage etc.). Elles peuvent aussi être manufacturées et leur origine est alors anthropique et intentionnelle.

2. Concept et objectif de nanomédicament

Au début du XX^{ème} siècle, Paul Ehrlich, fondateur allemand de la chimiothérapie et récipiendaire du Prix Nobel de médecine ou physiologie, a développé le concept de la « *Magic Bullet* » : une « balle magique » qui permettrait de cibler et de tuer spécifiquement les germes responsables de pathologies sans nuire au corps lui-même. Ces travaux ont conduit au développement et au concept de traitements ciblés et spécifiques. Par la suite, l'exploration du domaine de l'infiniment petit a inspiré de nombreux scientifiques. Le physicien Richard Feynman a notamment exposé lors d'une conférence en 1959 : « *There is plenty of room at the bottom* » (Il y a beaucoup d'espace en bas). La théorie de Mr. Ehrlich est devenue réalité grâce à la vectorisation de médicaments à l'aide des nanotechnologies (Strebhardt et Ullrich, 2008). Le principe est d'associer le principe actif à un nanovecteur (c.-à-d. liposomes, nanoparticules ou micelles de polymères, nanodispositifs métalliques, etc.) qui a pour rôle d'encapsuler et de véhiculer efficacement un principe actif vers la cible souhaitée. Les propriétés pharmacocinétiques des principes actifs peuvent être améliorées en modifiant la galénique du médicament. En 1972, les premiers liposomes ont été utilisés pour le transport de principes actifs dans le sang par G. Gregoriadis (Gregoriadis *et al.*, 1974). En 1977, Patrick Couvreur, professeur de Pharmacie Galénique à l'université Paris-Sud et expert des nanotechnologies, a développé des nanosphères à base de polymères poly(alkyl cyanoacrylate) ou PACA « intelligentes » qui pourraient aujourd'hui contribuer à diversifier notre arsenal thérapeutique (Couvreur, 2010). Les nanoparticules ont la capacité, en fonction de leur structure, de changer soit l'administration, la distribution, la métabolisation ou l'élimination du principe actif dans

l'organisme. Les objectifs des nanomédicaments sont les suivants : (i) l'amélioration des caractéristiques physico-chimiques des substances médicamenteuses, (ii) la protection de ces substances vis-à-vis des dégradations enzymatiques ainsi que (iii) le contrôle de la libération du médicament après un ciblage sélectif vers le tissu ou la cellule.

De possibles solutions thérapeutiques sont ainsi offertes face aux limites de la chimiothérapie classique énumérées en introduction. Les nanomédicaments ne visent donc pas de nouvelles cibles pharmacologiques mais permettent d'augmenter l'index thérapeutique des traitements classiques. Les bénéfices thérapeutiques reposent sur une amélioration des profils pharmacocinétiques amenant une meilleure réponse pharmacodynamique.

3. Les nano-objets pour élargir la fenêtre thérapeutique

3.1. Augmentation de la biodisponibilité des principes actifs

Plus de 40% des candidats médicaments échouent durant leur parcours de développement du fait de leur faible solubilité aqueuse et d'une biodisponibilité médiocre (Al-Kassas *et al*, 2017). La biodisponibilité se définit comme la fraction de la dose de médicament administré qui atteint la circulation générale et la vitesse à laquelle elle l'atteint. Il est connu que la surface spécifique d'une particule est inversement proportionnelle à sa taille : plus la particule est petite, plus sa surface de contact est élevée (Figure 3).

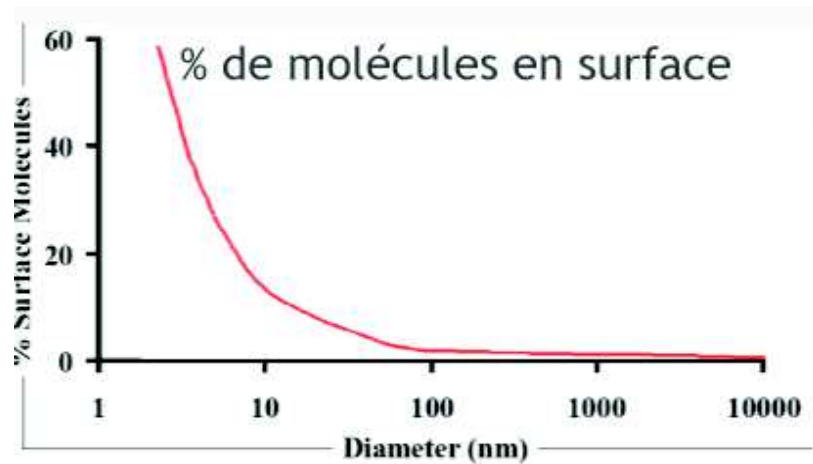


Figure 3. Le pourcentage de surface des molécules en fonction de leur diamètre

Selon la Loi de Noyes et Whitney, la formule de la vitesse de dissolution est la suivante :

$$Vd = k \times S \times (Cs - Ct)$$

où

Vd = vitesse de dissolution,

k = constante de la vitesse de dissolution (intrinsèque),

S – Surface totale des particules à dissoudre

Cs – Concentration du principe actif à saturation

C – Concentration du principe actif dans le milieu.

La diminution de la taille des particules entraîne proportionnellement une augmentation de leur vitesse de dissolution. Pour les médicaments, cela se traduit par une meilleure absorption des médicaments peu solubles ainsi qu'un meilleur passage transmembranaire. Le « nanodimensionnement » permet alors d'améliorer la biodisponibilité des principes actifs peu solubles. Les dendrimères ont notamment fait

leurs preuves pour améliorer la solubilité de certains principes actifs car ils peuvent les piéger dans leur noyau hydrophobe ou former un complexe covalent, c'est notamment le cas entre certains acides nucléiques et les dendrimères cationiques (Onoue *et al.*, 2014).

3.2. Accumulation des nanoparticules à l'intérieur de la cellule tumorale

Outre la délivrance de traitements dans le micro-environnement tumoral et les tissus tumoraux, certains traitements nécessitent d'être au sein de la cellule pour permettre l'obtention d'un effet thérapeutique au niveau des organites cellulaires. La taille nanométrique est un déterminant de la possibilité des échanges des particules avec les organites intracellulaires. À l'échelle nanométrique, les propriétés développées par la matière sont complètement différentes, et ouvrent de nouvelles perspectives. Il est admis que les nanoparticules de très faibles tailles (entre 6 et 10 nm) ne sont pas reconnues par les macrophages. En revanche, les nanoparticules de diamètre hydrodynamique inférieur à 5 nm sont rapidement excrétées par les reins. De plus, cette caractéristique leur permet de franchir les barrières épithéliales et endothéliales et ainsi de pénétrer dans les cellules à travers des mécanismes physiologiques d'internalisation inhérents aux fonctions cellulaires. Ces mécanismes de passage intracellulaire peuvent notamment impliquer la phagocytose, la macropinocytose, l'endocytose à récepteur (tels que les récepteurs de la clathrine et de la cavéole), ainsi que d'autres mécanismes non spécifiques (Kuhn *et al.*, 2014) (Figure 4).

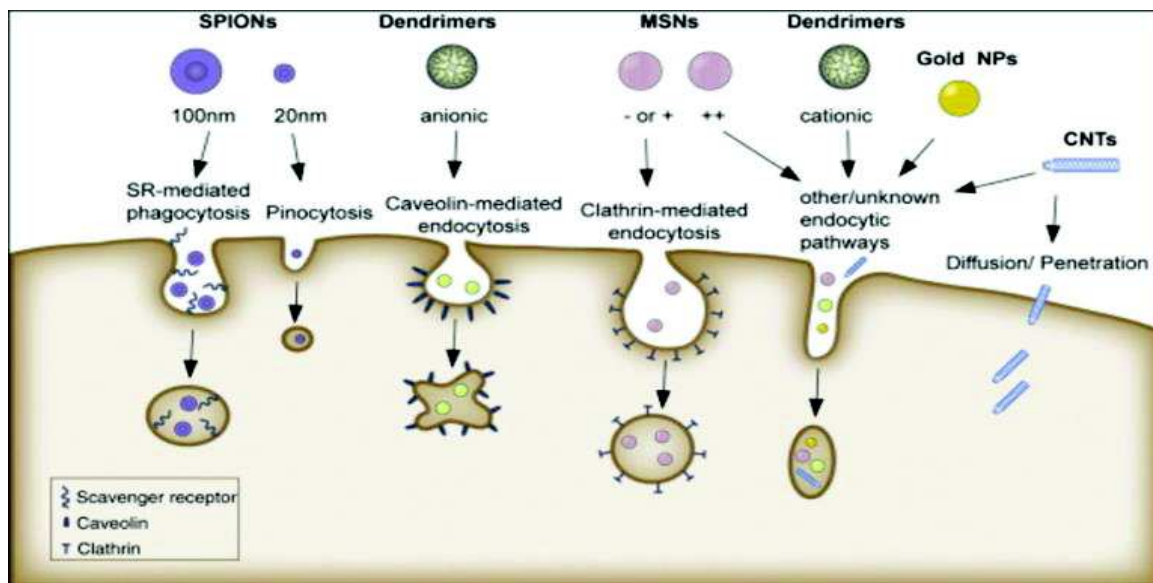


Figure 4. Les mécanismes d'internalisation des nanoparticules

Source: *Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation* (Kunzmann et al., 2011)

La quantité d'entrée cellulaire dépend de la taille du nanovecteur, et ce, dans l'ordre suivant : 50 nm > 30 nm > 110 nm > 280 nm > 170 nm d'après les recherches d'Owens *et al.* (Owens *et al.*, 2016). Non seulement la taille des nanoparticules leur permet d'accéder au cytoplasme, mais plus récemment il a été prouvé que les nanoparticules avec un diamètre inférieur à 10 nm peuvent accéder au noyau de la cellule (Huo *et al.*, 2014). Ceci est très intéressant pour la délivrance de molécules de chimiothérapie qui agissent majoritairement au sein du noyau, comme la doxorubicine qui implique des dommages oxydatifs à l'ADN, ou bien encore les thérapies géniques. Afin d'être livrées dans le compartiment nucléaire d'une cellule, les molécules actives doivent, en plus de traverser la membrane plasmique, éviter la dégradation des endosomes et lysosomes. Les nanoparticules d'or (AuNPs), d'argent (AgNPs) ainsi que les quantum dots (QDs) sont des exemples intéressants de nanoparticules utilisées pour la délivrance nucléaire

(Attia *et al.*, 2019 ; Lin *et al.*, 2010 ; Austin *et al.*, 2011). Les autres propriétés physico-chimiques telles que la charge de surface et l'hydrophobicité peuvent également affecter ces mécanismes d'internalisation. Par exemple, la charge positive de surface des nanovecteurs facilite le passage à travers les membranes chargées négativement (Sukhanova *et al.*, 2018).

3.3. Distribution maîtrisée des principes actifs

Les médicaments classiques possèdent majoritairement une distribution large et non spécifique. Ils agissent aussi bien au niveau des organes sains que des tissus tumoraux, limitant alors la dose pouvant être administrée. Les nanomédicaments, quant à eux, sont conçus pour atteindre la tumeur et libérer spécifiquement le principe actif uniquement au niveau des tissus tumoraux, ce qui limite considérablement les effets indésirables sur les organes et les tissus non ciblés.

3.3.1. Le ciblage passif : L'effet EPR

L'effet de perméation et de rétention améliorée, plus connu sous l'anagramme de l'effet « EPR : *Enhanced Permeability and Retention* », a été découvert en 1986 par Maeda *et al.* Cet effet permet aux nanoparticules de s'accumuler préférentiellement dans les tissus de tumeurs solides. En raison de plusieurs phénomènes biologiques, les tissus cancéreux développent des vaisseaux sanguins anormaux. Contrairement aux tissus sains où l'endothélium est jointif, la perméabilité vasculaire est augmentée dans ces tissus en raison de la présence de nombreux médiateurs de l'inflammation. L'écart entre les cellules endothéliales est plus important et permet le passage de ces particules de très faible taille par diffusion. De plus, le drainage lymphatique est altéré

empêchant les particules de sortir de la tumeur qui se retrouvent ainsi piégées dans le milieu interstitiel (Figure 5). Plusieurs protéines plasmatiques, supérieures à 40 kDa, ont montré une accumulation tumorale sélective. Ces résultats ont conduit à généraliser le concept de l'effet EPR et à développer des nanomédicaments pour qu'ils s'accumulent de façon ciblée dans les tissus tumoraux (Couvreur, 2010).

Une récente méta-analyse multivariée prenant en compte les récentes données précliniques publiées sur 10 ans démontre que seulement 0,7% de la dose de nanoparticules administrées atteint la tumeur solide cible (Wilhelm *et al.* 2016). Si cette médiane semble faible, elle reste tout de même supérieure aux formes conventionnelles des médicaments chimiothérapeutiques non vectorisés (Van Vlerken *et al.*, 2008 ; Rosenblum *et al.*, 2018).

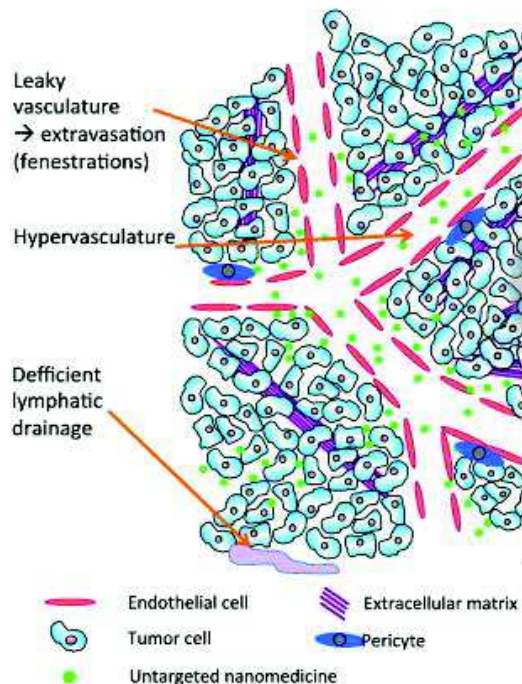


Figure 5. Représentation schématique du ciblage passif conceptuel (effet EPR) de la nanomédecine

Source: To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? (Danhier, 2016)

Cependant, malgré de nombreux résultats concluants *in vitro* et *in vivo* chez les rongeurs, cet effet porteur de nombreux espoirs n'a pas réussi à se distinguer en clinique chez l'homme. Les modèles tumoraux des rongeurs xénogreffés sont très différents des cancers humains, le taux de développement et la taille de la tumeur étant plus importants et le système vasculaire plus dense dans ces modèles. La variabilité des tissus tumoraux humains et de leur micro-environnement sont également des éléments importants à prendre en compte, l'effet EPR dépendant fortement du degré d'angiogenèse, du degré de croissance vasculaire et de la pression intratumorale (Attia *et al.*, 2019). Les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules doivent aussi être prises en compte pour un transport amélioré à travers la paroi des vaisseaux tumoraux, par exemple, les particules entre 12 à 50 nm sont plus disposées à diffuser dans les endothéliums que celles de plus grandes tailles ; les nanoparticules allongées à charge neutre sont également à privilégier par rapport aux nanoparticules sphériques (Stylianopoulos et Jain, 2015).

De nombreuses recherches sont en cours pour contourner ou moduler la variabilité de l'effet EPR chez l'homme ainsi que pour développer de nouvelles méthodes de détection ; les modèles actuels pour étudier cet effet n'étant pas suffisamment précis. Des nouvelles stratégies sont étudiées pour maximiser cet effet : (1) la normalisation des vaisseaux, (2) l'hypertension induite par l'angiotensine II ainsi que (3) la vasodilatation à base de chaleur (Danhier, 2016). Parmi les molécules modulant l'effet EPR, on retrouve notamment les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) qui permettent d'augmenter la concentration locale de bradykinine dans le tissu tumoral, les agents libérant de l'oxyde nitrique (NO), le facteur de perméabilité vasculaire (VPF), le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (de

l'anglais « *Vascular Endothelial Growth Factor* » ou VEGF) ainsi que la co-administration du peptide iRGD. D'autres approches mécaniques existent pour augmenter la perméabilité des nanovecteurs dans la tumeur tels que l'hyperthermie et le rayonnement.

3.3.2. Les différents types de nanovecteurs

Le ciblage des tumeurs reste possible grâce aux différents types de nanovecteurs, et ce, indépendamment de l'effet EPR.

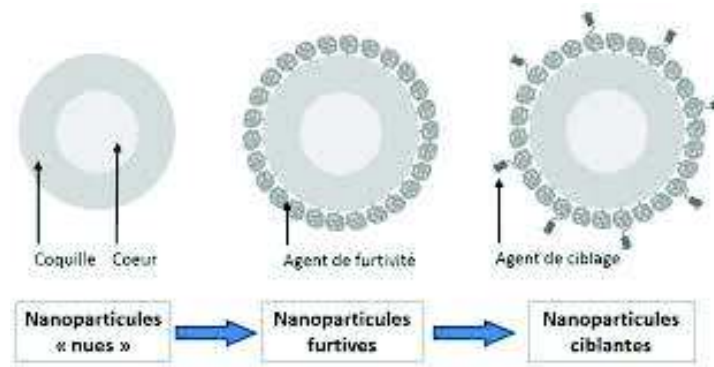


Figure 6. Les différents types de nanovecteurs

Source : Développement de nanovecteurs polymériques et lipidiques fonctionnalisés par des anticorps pour cibler des cellules cancéreuses (Wan, 2012)

3.3.2.1. Les nanovecteurs de première génération : le ciblage passif

Les nanovecteurs de première génération sont un type de vecteur à ciblage passif. En effet, lorsque l'on introduit les nanomédicaments par voie intraveineuse dans l'organisme, celui-ci va être capable de les identifier comme des éléments du « non-soi » grâce au processus d'opsonisation : des molécules qualifiées d'opsonines vont s'adsorber à leur surface indiquant par là-même au système immunitaire que ce sont

des corps étrangers. Afin de les éliminer, ces molécules sont alors transportées par les macrophages vers les tissus du système réticulo-endothélial et principalement le foie. Généralement considéré comme un inconvénient, ce tropisme hépatique peut s'avérer utile lorsque l'on souhaite traiter des tumeurs hépatiques. C'est le concept de ces vecteurs de première génération. Ils n'ont subi aucune modification de surface ou chimique, ce sont des vecteurs « nus », essentiellement de type liposome. Couvreur *et al.* ont présenté les résultats de l'une de leurs études où la doxorubicine « encapsulée » à l'intérieur d'une nanomatrice de polymères, le poly(alkylcyanoacrylate), est comparée à la doxorubicine libre *in vivo* pour le traitement des métastases hépatiques. Les résultats sont les suivants (Figure 7) : la doxorubicine sous une forme galénique traditionnelle diminue le nombre de métastases en fonction de la dose injectée, mais, à la dose de 5 mg/kg, on ne réduit que de 50 % les métastases hépatiques et à la dose de 7,5 mg/kg, les animaux meurent du fait de la toxicité de la doxorubicine. Il est bien connu que cette molécule anticancéreuse, appartenant à la famille des anthracyclines, présente une fenêtre thérapeutique très faible du fait de sa grande toxicité cardiaque. Lorsque celle-ci est encapsulée dans la nanomatrice, la concentration hépatique est plus importante et à la dose 2,5 mg/kg, le nombre de métastases hépatiques diminue de manière beaucoup plus conséquente comparé à la doxorubicine seule. De plus, pour des doses de 5 à 7,5mg/kg, il est possible d'éliminer la quasi-totalité des métastases tout en réduisant fortement la toxicité cardiaque de l'anticancéreux.

La doxorubicine encapsulée présente donc un meilleur index thérapeutique que la doxorubicine sous forme libre dans les traitements de cancers hépatiques tout en diminuant la toxicité de ce principe actif.

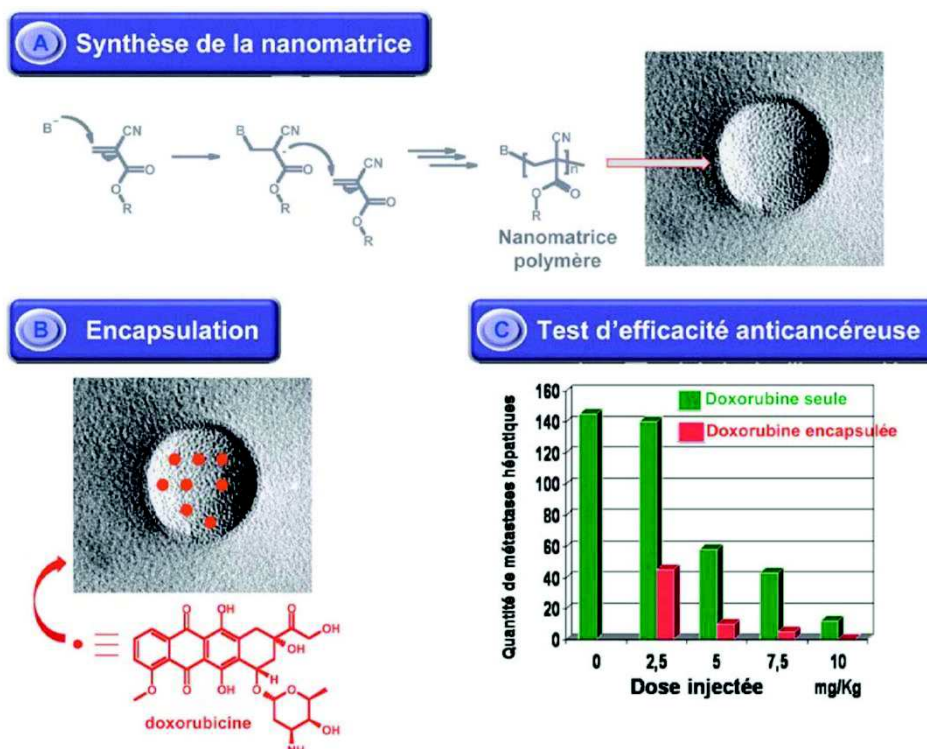


Figure 7. Comparaison de l'efficacité entre la doxorubicine sous forme libre et la doxorubicine encapsulée dans un nanovecteur

A. Nanoparticule de poly(alkylcyanoacrylate) préparée par polymérisation anionique.

B. Nanoparticule utilisée comme nanomatrice pour vectoriser la doxorubicine vers les métastases du foie. C. L'efficacité du traitement avec un tel nanovecteur (en rouge) est améliorée par rapport à un traitement à la doxorubicine seule non encapsulée (en vert).

Source : *Les nanomédicaments, une approche intelligente pour le traitement des maladies sévères* (Couvreur, 2010)

3.3.2.2. Les nanovecteurs de deuxième génération

Contrairement aux vecteurs de première génération, les nanomédicaments de deuxième génération dits « furtifs » utilisent des polymères hydrophiles afin de minimiser l'opsonisation et de prolonger leur temps de circulation dans la circulation sanguine. En effet, le revêtement de surface par adsorption ou par liaison covalente des liposomes, des dendrimères ou des nanoparticules inorganiques avec des polymères à

segments hydrophiles (tels que le polyéthylène glycol (PEG), l'oxyde de polyéthylène, et le polysorbate 80) permet de stabiliser le nanovecteur en formant une couche hydrophile protectrice à la surface de ces particules qui empêche une reconnaissance rapide des nanomédicaments par les macrophages et leur élimination par le système réticulo-endothélial (El-Readi et Althubiti, 2019). Le greffage de ces molécules hydrophiles crée un encombrement stérique à la surface des nanoparticules et évite aussi leur aggrégation. Le temps de séjour des nanoparticules dans la circulation générale est ainsi prolongé, augmentant leur chance d'atteindre le site tumoral ciblé sans une élimination rapide. Doxil®, le premier nanomédicament approuvé par la FDA en 1995, est un nanovecteur de seconde génération encapsulant la doxorubicine dans un liposome PEGylé. Gabizon *et al.* ont démontré que, comparée à la forme libre, la formulation de doxorubicine liposomale administrée par voie intraveineuse à 50 mg/kg chez l'homme atteint de sarcome de Kaposi présente un temps de circulation sanguine prolongé : la zone sous la courbe concentration-temps (ASC) de la doxorubicine plasmatique après l'administration intraveineuse (IV) de Doxil® (50 mg / m²) est environ 300 fois supérieure à celle après administration de doxorubicine seule (Gabizon *et al.*, 2003). La clairance et le volume de distribution sont également réduits d'au moins 250 et 60 fois, respectivement. Il en est de même pour NK105, une formulation de micelles PEGylées encapsulant le paclitaxel développée par Nippon Kayaku, lors de l'étude clinique de phase I chez des patients atteints de cancer gastrique et de cancer du sein. L'ASC du NK105 à la dose de 150mg/m² est 15 fois supérieure à celle de la formulation conventionnelle de paclitaxel à la dose de 210mg/m². Le volume de distribution et la clairance du NK105 sont significativement inférieurs à ceux de la formulation

conventionnelle, tandis que les toxicités hématologiques et non hématologiques du NK105 sont moindres et mieux contrôlées (Hamaguchi *et al.*, 2007 ; Kato *et al.*, 2012).

Afin d'augmenter au mieux le temps de circulation plasmatique, il est important de contrôler la taille, l'épaisseur, le poids moléculaire ainsi que la densité de la chaîne de surface du polymère PEG (Owens et Peppas, 2006 ; El-Readi et Althubiti, 2019).

3.3.2.3. Les nanovecteurs de troisième génération : le ciblage actif

Les nanomédicaments de troisième génération offrent encore plus de possibilités de traitement et sont en plein essor. Il s'agit cette fois d'un ciblage actif : à la surface des nanomédicaments sont greffés des macromolécules tels que des anticorps, des peptides ou des protéines permettant un ciblage spécifique plus prononcé que pour l'effet EPR. L'efficacité de cette génération de nanovecteurs est liée à la reconnaissance des cellules cibles plutôt qu'à une meilleure accumulation tumorale. En effet, ces ligands se lient spécifiquement aux récepteurs sélectionnés présents sur le tissu cible et peuvent alors être internalisés via l'endocytose médiée par ces récepteurs entraînant une augmentation de la concentration intracellulaire de ces médicaments (Figure 8). Ces ligands peuvent cibler divers récepteurs surexprimés dans les tissus cancéreux, que ce soit directement les cellules tumorales, l'endothélium tumoral ou bien les marqueurs de prolifération cellulaire incontrôlée.

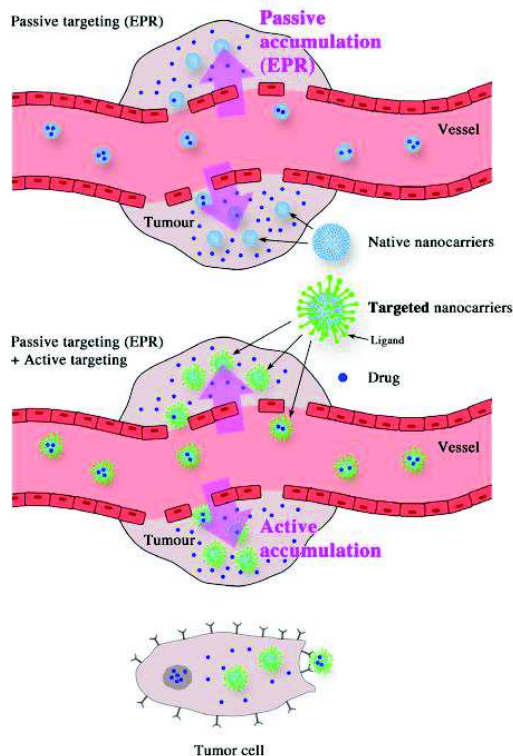


Figure 8. Schéma illustrant le ciblage passif et le ciblage actif dans les tissus tumoraux.

Source: An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites (Attia et al, 2019)

Le nab-paclitaxel, Abraxane[®], est le chef de file de ce type de vecteur et a été approuvé par la FDA en 2005 pour le traitement du cancer du sein métastatique, et en 2012 pour le traitement du carcinome pulmonaire non à petites cellules (Celgene Corporation, USA). Le paclitaxel est incorporé dans des nanoparticules d'albumine. L'albumine, connue pour faciliter la transcytose endothéliale par les cavéoles, favorise le transport du paclitaxel à travers les cellules endothéliales. Il est supposé que ce transport actif de l'albumine fasse intervenir le récepteur de l'albumine gp60/caveolines-1, et que l'accumulation de paclitaxel est augmentée dans la zone tumorale grâce à la protéine SPARC (« *Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine* ») qui se lie à l'albumine. La concentration intratumorale en paclitaxel est supérieure de plus 30% comparée au paclitaxel libre dans les cancers métastatiques et du pancréas (Desai et al., 2009).

Malgré les avantages de ce type de ciblage, Abraxane[®] est le seul nanovecteur de troisième génération à être actuellement disponible sur le marché. Diverses autres

fonctionnalisations sont étudiées dans différents essais précliniques et cliniques pour améliorer la spécificité de distribution de ces molécules médicamenteuses. On retrouve notamment les immunoliposomes impliquant le greffage d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes cibles exprimés sur les cellules cancéreuses (comme les anti-HER2). D'autres associations ligands/récepteurs sont également prometteuses et exposées dans la littérature tels que les aptamères (par exemple BIND-014 ciblant le PSMA « *Prostate Specific Membrane Antigen* »), des protéines ou des peptides (comme la transferrine) ou encore des sucres ou des petites molécules comme le folate (Annexe 1).

Il existe plusieurs paramètres cruciaux à prendre en compte lors de la conception de ces systèmes ciblés comme : (1) le choix de la cible et de son profil d'expression par les cellules tumorales, (2) les paramètres inhérents au ligand : son absorption et son affinité avec la cible ainsi que sa biocompatibilité et son potentiel immunogène, (3) la densité de ce ligand optimale pour atteindre le ciblage le plus efficace. L'hétérogénéité de l'expression tumorale des cibles et la faible transportabilité entre les modèles animaux et les tumeurs humaines rendent le développement de ces vecteurs très difficile. Une récente approche a été explorée pour pallier ces difficultés, il s'agit de fonctionnaliser le nanovecteur avec deux ligands distincts (Navya *et al.*, 2019). Bhattacharyya *et al.* ont notamment choisi deux cibles pour fonctionnaliser leurs nanoparticules d'or (AuNPs) : le récepteur de l'EGF « *Epidermal Growth Factor* » et le récepteur du folate (FR) surexprimés dans le cancer de l'ovaire. Ce double ciblage actif semble être plus efficace que le ciblage de chaque ligand séparé (Bhattacharyya *et al.*, 2011).

3.4. Protection de la dégradation et réduction de l'élimination

Certains composés sont connus pour être extrêmement instables et posséder une métabolisation très rapide, notamment les acides nucléiques. La molécule peut alors perdre la majorité, voire toutes ses propriétés pharmacologiques. Du fait de cette dégradation, il est souvent nécessaire d'administrer des doses élevées du médicament pour obtenir l'effet thérapeutique souhaité. Une clairance rénale élevée peut également nécessiter une augmentation de la dose ou du nombre de prises journalières. Dans ce cas, les nanovecteurs peuvent protéger le principe actif des attaques enzymatiques, chimiques ou immunitaires en l'encapsulant. On peut citer les dendrimères complexés à des molécules d'acide nucléique qui permettent de limiter leurs interactions avec la nucléase, et de ce fait, leur dégradation enzymatique (Palmerston Mendes *et al.*, 2017) ou bien les nanoparticules polymériques qui permettent l'encapsulation des médicaments à l'intérieur d'une matrice polymérique, les protégeant de la dégradation enzymatique et hydrolytique.

Certains transports actifs permettent de réduire le risque de subir une dégradation pour certains biomatériaux par le biais de l'absorption médiée par les récepteurs surexprimés ; cela permet notamment d'éviter la dégradation par le système endosomal et lysosomal, organites intracellulaires qui ont pour but de trier et de dégrader les particules non-fonctionnelles et étrangères à l'organisme.

3.5. Contournement des phénomènes de résistance

Outre la toxicité des molécules utilisées lors de chimiothérapie, les mécanismes de résistance à ces médicaments représentent également un obstacle important. En réponse à l'exposition de principes actifs, les cellules peuvent acquérir divers mécanismes comme l'augmentation de l'efflux médicamenteux par les pompes dépendantes de l'ATP, que ce soit par la P-glycoprotéine (P-gp; ABCB1; MDR1) ou bien par la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP; ABCG2) qui ont pour rôle de chasser les xénobiotiques de la cellule. Il est possible que ces protéines soient surexprimées par les cellules tumorales en réponse à l'exposition de molécule anticancéreuse comme mécanisme de détoxification (Robert, 2011). D'autres mécanismes peuvent être acquis par les cellules, notamment l'augmentation de la capacité de réparation d'ADN, l'augmentation de l'inactivation des médicaments par métabolisme ou la modification des cibles médicamenteuses ou de leur expression (Li *et al.*, 2018). Lorsque ces mécanismes de résistance sont communs à de nombreuses molécules anticancéreuses, il s'agit d'une résistance croisée et multiple aux médicaments, généralement appelée « MDR : *Multidrug Resistance* » (Figure 9).

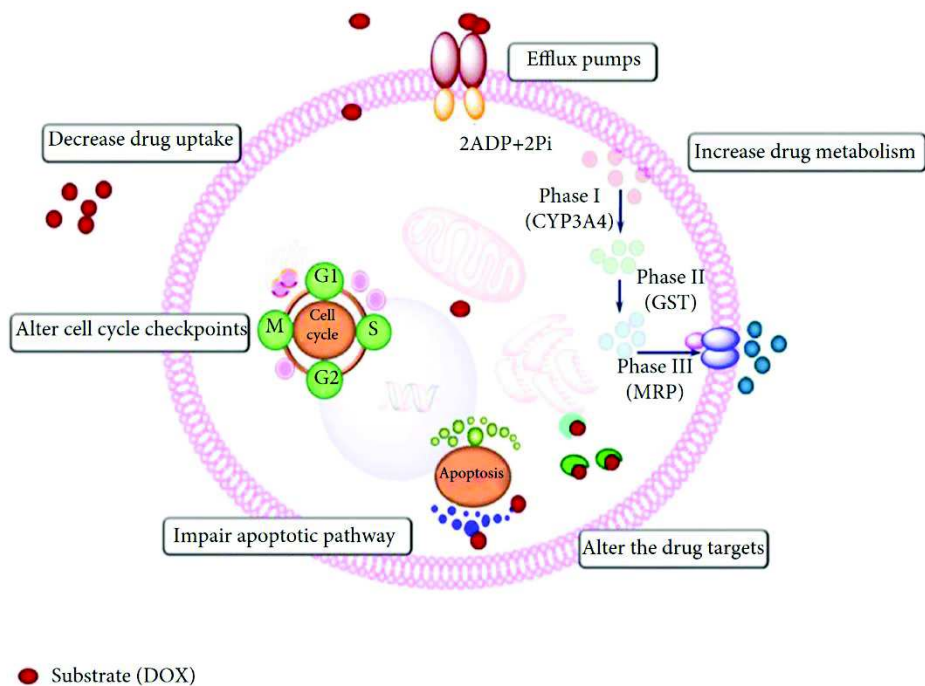


Figure 9. Schéma représentant les différents mécanismes de la résistance « MDR » en oncologie

Source: Cancer Nanomedicine: A New Era of Successful Targeted Therapy (El-Readi et Althubiti, 2019)

En encapsulant les principes actifs, les nanovecteurs les rendent « invisibles » pour certains de ces mécanismes de détoxification. C'est l'idée qu'ont choisi de développer Patrick Couvreur et la société Onxeo. Ils ont essayé de contourner le mécanisme de résistance des cellules tumorales de carcinome hépatocellulaire en encapsulant la doxorubicine dans des nanoparticules préparées à partir d'un polymère biodégradable (le polyalkylcyanoacrylate). Cette formulation, Livatag®, n'est pas identifiée par les protéines responsables de MDR y compris la p-GP, elle se diffuse de façon passive, se retrouve accumulée à l'intérieur des cellules et augmente la cytotoxicité de ces lignées

par rapport à la doxorubicine libre (Couvreur, 2010). Malgré cela, le développement de Livatag® a pris fin en 2018, et pour cause : l'amélioration de la survie des patients par rapport au groupe contrôle n'a pas été atteint lors de l'étude de phase III réalisée chez des patients adultes souffrant d'un carcinome hépatocellulaire (CHC) inopérable.

D'un autre côté, il est démontré que le ciblage actif de certains nanomédicaments permet de contourner ces phénomènes de résistance tels que les liposomes PEGylés de doxorubicine couplés au folate dans des modèles de lymphomes de souris (Shmeeda *et al.*, 2006).

En outre, la chimiothérapie combinée permet d'associer deux médicaments agissant par des mécanismes différents, cela peut être intéressant pour limiter le développement de mécanismes de résistance. Des nanoparticules d'or porteuses de deux anticancéreux, la bléomycine et la doxorubicine, ont récemment été étudiées *in vitro*, il s'avère qu'en plus d'augmenter le temps de circulation des médicaments, ces nanohybrides diminuent le risque de développer un MDR dans les cellules HeLa (Farooq *et al.*, 2018). Zheng *et al.* ont, quant à eux, choisi d'étudier l'effet de nanoparticules polymériques (MPEG-PLA) encapsulant la doxorubicine et le vérapamil, un inhibiteur de certaines protéines à l'origine des résistances à plusieurs médicaments sur des modèles de cancers des ovaires *in vitro* et *in vivo*. Cette co-administration a démontré une résistance réduite aux médicaments et, donc, des effets anticancéreux améliorés par rapport à l'administration de médicaments libres (Zheng *et al.*, 2018). Le développement de liposomes sensibles au pH encapsulant la doxorubicine et le tariquidar, inhibiteur de la p-Glycoprotéine (Xia *et al.*, 2018) et celui de nanotubes de carbone à parois multiples (MWCNT) pour la co-administration de médicaments, N-

deméthyl tamoxifène et le quercétine, un inhibiteur de la P-gP (Kumar *et al.*, 2018) sont également très prometteurs dans le traitement des tumeurs résistantes aux médicaments.

La galénique de ces nanoformulations est très importante pour contourner les phénomènes de résistance et modifier la pharmacocinétique des principes actifs, il ne s'agit pas de synthétiser de nouvelles molécules mais de réfléchir à différentes solutions pour délivrer les molécules actuelles en fonction du mécanisme de résistance établi.

4. Enjeux pharmacocinétiques

4.1. Les propriétés des nanovecteurs

Comme étudié pour l'effet EPR, les caractéristiques physico-chimiques sont primordiales pour moduler les échanges entre les nanomatériaux et les tissus tumoraux, la pénétration cellulaire de ces matériaux et, plus généralement, leur devenir dans l'organisme. Les propriétés pharmacocinétiques et l'accumulation de ces vecteurs découlent essentiellement de la taille, de la forme, de la charge et de la chimie de surface (Umapathi *et al.*, 2018). En outre, de nombreux autres facteurs peuvent avoir des conséquences sur ces échanges avec l'organisme comme la pureté des nanomatériaux, le rapport surface/volume, l'état d'agrégation et d'agglomération mais également la stabilité et la cristallinité des nanoparticules (Navya *et al.*, 2019). Il est fondamental d'étudier les propriétés physico-chimiques de chaque nanomatériau afin de concevoir au mieux ces vecteurs et de limiter les effets toxiques qui peuvent en découler (Figure 10). Très généralement, les nanomédicaments sont des systèmes colloïdaux qui peuvent être classés en trois catégories : 1) nanoparticules

biodégradables, 2) nanoparticules solubles, 3) nanoparticules insolubles ou lentement solubles. La biodégradabilité ou la solubilité est une propriété importante, déterminant l'élimination des nanomatériaux introduits dans le corps.

Les nanoparticules biodégradables présentent une meilleure biocompatibilité que les nanomatériaux insolubles ou durables ; l'utilisation de nanoparticules non biodégradables est souvent associée à des préoccupations concernant leur accumulation dans l'organisme et leur toxicité à long terme (Dobrovolskaia *et al.*, 2016).

Une étude plus détaillée de l'impact de ces propriétés est développée dans la deuxième partie : « La nanotoxicité ».

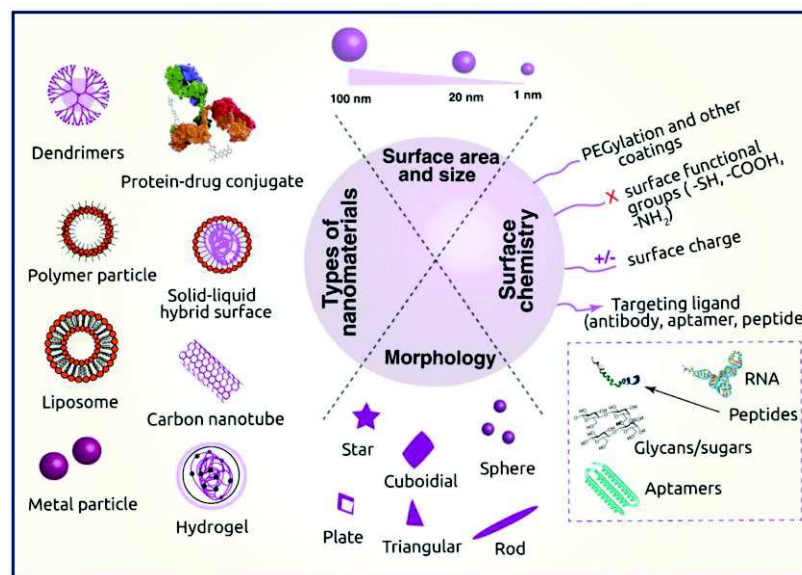


Figure 10. Schéma représentant les différents types de nanomatériaux et l'importance des propriétés physico-chimiques pour étudier la délivrance de principe actif

Source: *Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials* (Navya *et al.*, 2019)

4.2. L'influence de l'environnement tumoral et les disparités interindividuelles

Outre les propriétés inhérentes aux nanovecteurs, les propriétés de l'environnement tumoral sont également importantes. La biodistribution de ces nanomédicaments est influencée par la perfusion sanguine des vaisseaux tumoraux, les macrophages présents sur le site tumoral ou aux environs, les interactions avec les biomolécules rencontrées lors du trajet vers le site d'action ciblé ainsi que par les différentes clairances que peuvent subir ces formulations (Rosenblum *et al.*, 2018).

Un autre problème majeur est lié aux disparités interindividuelles, il est donc difficile de généraliser les effets et les interactions d'une personne à l'autre ; aussi bien l'âge, le poids, le sexe, la physiopathologie du patient et ses antécédents peuvent avoir un impact sur l'expression du système immunitaire, la clairance des nanovecteurs, la physiopathologie des maladies cancéreuses et le profil d'expression des différents marqueurs tumoraux. Il est davantage compliqué d'extrapoler les résultats des études précliniques *in vivo* aux études cliniques, comme cela l'est pour l'effet EPR ou l'étude du ciblage actif. Cependant, certains procédés comme la pegylation des formes médicamenteuses utilisent des mécanismes physiques ou chimiques communs à tous les individus pour améliorer le temps de circulation, ce qui explique le nombre plus important de ces formulations approuvées contrairement aux formes encore sous investigations étudiant les liaisons récepteur/ligand qui sont affectées par l'hétérogénéité de la maladie (Anselmo et Mitragotri., 2016). Pour compliquer davantage la conception de nanomédicament, Sykes *et al.* ont démontré que l'optimisation des propriétés physico-chimiques de ces vecteurs est spécifique à la

physiopathologie de la tumeur cible et doit être personnalisée à chaque type et stade de tumeur pour maximiser l'efficacité thérapeutique (Sykes *et al.*, 2016). Une meilleure compréhension de la physiopathologie tumorale et les nouvelles technologies de diagnostic peuvent aider à améliorer le traitement de divers cancers.

4.3. Les limitations de l'encapsulation

Malgré tous les bénéfices qu'offrent les nanovecteurs en encapsulant les principes actifs, cette alternative possède tout de même certaines limitations importantes. Les deux principales sont les suivantes : le phénomène de « *burst release* » et celui de « *drug loading* ». Lorsque l'on encapsule une molécule médicamenteuse au sein d'un nanosupport, une fraction de ce médicament est adsorbée à la surface de celui-ci et peut alors être libérée rapidement après son administration, et ce avant d'atteindre sa cible. Il s'agit du « *burst release* » ou de la « libération en rafale » pouvant entraîner l'effet inverse initialement recherché : une forte toxicité et une activité pharmacodynamique insuffisante pour le nanovecteur (Attia *et al.*, 2019). Quant au « *drug loading* », il s'agit du faible taux d'encapsulation des principes actifs. Le pouvoir d'encapsulation correspond au pourcentage en poids de principe actif transporté par rapport à celui du vecteur. Il est généralement inférieur à 5 % ; s'il est de 1%, cela signifie que pour avoir 1 mg de principe actif, il faut administrer 100 mg de matériel vecteur. En conséquence, soit la quantité de médicament administrée est insuffisante pour atteindre une concentration pharmacologiquement efficace soit la quantité de support utilisée est trop élevée avec le risque accru d'une toxicité (Attia *et al.*, 2019 ; Couvreur, 2010).

4.4. La problématique de la bioanalyse

L'étude de la pharmacocinétique des formes vectorielles est très spécifique et implique la capacité de distinguer la forme libre et la forme encapsulée au niveau systémique. Il est en effet important de savoir si l'on dose la substance active sous forme libre, sous forme encapsulée ou bien celle totale. Pour se faire, il faut utiliser des techniques spécifiques d'imagerie *in vivo* que ce soit en fluorescence, bioluminescence ou à l'aide de sondes. Il faut également avoir recours à des approches de modélisation de type PB-PK (*physiologically-based pharmacokinetics*) pour appréhender au mieux l'accumulation des nano-objets et leurs interactions avec la tumeur et en amont, la pharmacocinétique systémique.

En conclusion, une multitude de facteurs est à prendre en compte pour concevoir des nanovecteurs efficaces sur le plan thérapeutique et présentant une faible toxicité. Le challenge à relever est donc de développer de nouvelles formes médicamenteuses, biocompatibles, atoxiques avec une libération ciblée et contrôlée de la substance active.

5. Les apports de la nanomédecine

5.1. Les formes sur le marché actuellement

Actuellement, divers nanomédicaments ainsi que deux dispositifs médicaux sont approuvés dans plusieurs pays dans le traitement de divers cancers à divers stades (Tableau 1).

Tableau 1. Les nanoparticules thérapeutiques approuvées en oncologie

Catégorie	Nom	Type de nanoparticules	Indication concernée pour la mise sur le marché	Année
Médicament	Doxil Caelyx (Janssen)	Doxorubicine liposomale (PEGylée)	Cancer de l'ovaire (deuxième intention) Sarcome de Kaposi associé au VIH (première ou deuxième intention) Myélome multiple (deuxième intention)	FDA: 1995 EMA: 1996
	DaunoXome (Galen)	Daunorubicine liposomale (non-PEGylée)	Sarcome de Kaposi associé au VIH (première intention)	FDA (1996)
	Oncaspar (Enzon)	Nanoparticules polymériques PEGylées encapsulant la pégaspargase	Leucémie lymphoblastique aiguë	FDA (1994)
	Myocet (Teva UK)	Doxorubicine liposomale (non-PEGylée)	Traitement du cancer du sein métastatique (première intention)	EMA (2000)

Catégorie	Nom	Type de nanoparticules	Indication concernée pour la mise sur le marché	Année
Médicament	Abraxane (Celgene)	Paclitaxel lié aux particules d'albumine	<p>Cancer du poumon non à petites cellules avancé (lorsque la chirurgie ou la radiothérapie ne sont pas une option)</p> <p>Cancer du sein métastatique (deuxième intention)</p> <p>Cancer du pancréas métastatique (troisième intention)</p>	FDA (2005) EMA (2008)
	Genexol-PM (Samyang Biopharmaceuticals)	Nanoparticules polymériques de paclitaxel	Cancer du sein	Corée du Sud (2006)
	Eligard (Tolmar)	Nanoparticules polymériques (PLGH) encapsulant l'acétate de leuproréline (analogue de la LH-RH)	Cancer de la prostate	FDA (2002)

Catégorie	Nom	Type de nanoparticules	Indication concernée pour la mise sur le marché	Année
Médicament	Marqibo (Spectrum)	Vincristine liposomale (non-PEGylée)	Leucémie lymphoblastique aiguë à chromosome Philadelphie négative (troisième intention)	FDA (2012)
	MEPACT (Millennium)	Mifamurtide liposomal (non-PEGylé)	Traitement de l'ostéosarcome (première intention après chirurgie)	EMA (2009)
	Onivyde MM-398 (Merrimack)	Irinotécan liposomal (PEGylé)	Cancer du pancréas métastatique (deuxième intention)	FDA (2015)
	VYXEOS CPX-351 (Jazz Pharmaceuticals)	Formulation liposomale de cytarabine : daunorubicine (rapport 5 : 1M)	Leucémie myéloïde aiguë	FDA (2017) EMA (2018)
Dispositif Médical	NanoTherm (MagForceAG)	Nanoparticules d'oxyde de fer stimulées par champs magnétiques	Glioblastome	Marquage CE (2010)

Catégorie	Nom	Type de nanoparticules	Indication concernée pour la mise sur le marché	Année
Dispositif Médical	NBTXR3 Hensify (Nanobiotix)	Nanoparticules d'oxyde d'hafnium stimulées par radiothérapie	Sarcome des tissus mous localement avancé	Marquage CE (2019)

La majorité de ces médicaments sont sous forme de liposomes encapsulant une molécule anticancéreuse administrés principalement par ciblage passif malgré toutes les études poussées pour développer des formes plus complexes. En conséquence, les challenges à relever restent nombreux et de nouvelles stratégies sont nécessaires pour développer des nanomédicaments performants avec une réelle sécurité d'emploi pour le patient. Le tableau 1 résume les nanoparticules approuvées en tant que thérapies anticancéreuses mais il existe également des nanoparticules approuvées pour l'imagerie et le diagnostic en oncologie (Anselmo et Mitragotri, 2019).

5.2. Les différentes formulations en développement

Les premiers efforts étaient axés sur l'amélioration des propriétés moléculaires des agents de chimiothérapie déjà disponibles, mais plus récemment, les partisans des nanotechnologies ont tenté d'appliquer de nouvelles approches innovantes. Les objectifs restent cependant les mêmes : un ciblage spécifique et des formes biocompatibles présentant un index thérapeutique large. Un résumé des nanomédicaments en cours d'essais cliniques, issu de la littérature et catégorisés par type, est disponible en annexe 2.

5.2.1. Les nanomédicaments et l'immunothérapie

Actuellement, les recherches se concentrent notamment sur l'association des nanomédicaments et des immunothérapies. Le système immunitaire peut éliminer les cellules cancéreuses à un stade précoce, il s'agit du processus de « surveillance immunitaire ». La nanotechnologie améliore l'efficacité thérapeutique de l'immunothérapie anticancéreuse principalement par 3 paramètres : (1) la protection des antigènes tumoraux vis-à-vis de la dégradation par l'endosome; (2) l'amélioration du ciblage des cellules présentatrices d'antigène et le déclenchement de la réponse immunitaire des lymphocytes T spécifique de l'antigène tumoral; (3) le ciblage actif capable d'augmenter l'accumulation de médicaments dans l'environnement tumoral et d'augmenter l'internalisation par type de cellule immunitaire spécifique. Divers systèmes de délivrance à base de nanoparticules visant à moduler les réponses du système immunitaire ont été développés pour le traitement du cancer, et certains d'entre eux sont entrés à divers stades d'essais cliniques. En particulier, l'immunogénicité des vaccins anticancéreux à base de peptides peut être significativement potentialisée par les nanoparticules (Tornesello *et al.*, 2020). Malgré des résultats très prometteurs, les développements de L-BLP25, un liposome conjugué à un antigène transmembranaire MUC1, et de dHER2 + AS15, un liposome contenant un antigène recombinant HER2, se sont interrompus après la phase III et II respectivement. De nouveaux vaccins anticancéreux composés de nanoparticules sont étudiés en clinique, comme Aurimune, une combinaison entre l'antigène du facteur de nécrose tumorale (TNF) et des nanoparticules d'or pour le traitement des tumeurs solides de stade avancé en essai clinique de phase I (Feng *et al.*, 2019 ; El-Readi et Althubiti, 2019). Des études récentes font état de l'idée de bloquer le point de contrôle immunitaire

avec l'élaboration de nanoparticules ciblant PDL-1 ou PD-1. Il est possible de citer par exemple des nanoparticules polymériques développées pour délivrer un siARN anti-PD-1, ou bien des nanoparticules polymériques ciblant les cellules T exprimant PD-1 pour délivrer soit un inhibiteur de TGF β R1, soit un agoniste TLR7 /8, afin de restaurer la fonction ou d'augmenter la population des lymphocytes T CD8+ infiltrant les tumeurs. L'administration de cette dernière formulation a significativement diminué la croissance tumorale et prolongé la survie de souris porteuses de tumeurs colorectales en restaurant la fonction des lymphocytes T cytotoxiques (Teo *et al.*, 2015 ; Schmid *et al.*, 2017 ; Riley *et al.*, 2019).

5.2.2. La nanothéranostique

La nanothéranostique est un nouveau type de thérapie anticancéreuse en plein essor basée sur les nanoparticules. Elle consiste à combiner un agent d'imagerie ainsi qu'une substance médicamenteuse, dans le but d'augmenter la délivrance intratumorale du médicament tout en visualisant le parcours des nanoparticules afin de s'assurer qu'elles atteignent les cibles d'action souhaitées. L'administration de nanoparticules d'oxyde de fer (SPIONs) magnétiques, ciblées sur le récepteur de l'activateur du plasminogène de l'urokinase (uPAR) dans les modèles de tumeurs pancréatiques chez les souris, a augmenté l'accumulation intratumorale des agents tels que la doxorubicine ou le cisplatine ainsi que l'inhibition de la croissance tumorale comparativement aux médicaments de formulation traditionnelle. Les nanoparticules marquées de façon spécifique sont détectées par imagerie. La détection de ces signaux optiques dans les tumeurs après administration suggère de la faisabilité d'une chirurgie guidée par

l'image pour éliminer les tumeurs résiduelles ou résistantes aux médicaments (Gao *et al.*, 2017). La nanothéranostique peut donc être une technique complémentaire à la chirurgie. Par exemple, des nanoparticules d'or ont été développées pour cibler l'antigène membranaire spécifique de la prostate (PSMA-1), chargées avec un médicament de thérapie photodynamique fluorescente pour contourner les difficultés rencontrées par les chirurgiens lors d'une prostatectomie, et ainsi, pour limiter le risque de récurrence des cancers de la prostate (Mangadlao *et al.*, 2018).

5.2.3. La conception de nanoparticules avec des lipides pro-médicaments

Depuis que l'absorption endocytaire des LDLs (« *Low Density Lipoprotein* ») s'est avérée être fortement augmentée dans les cellules cancéreuses malignes à croissance rapide, un nouveau concept est en cours de développement (Firestone, 1994). Il s'agit de la squalénisation ou de l'approche « pro-médicament » qui permet de pallier les problèmes du « *drug loading* » et du « *burst release* » étudiés plus haut. Au lieu d'être encapsulé dans un nanovecteur, le principe actif est lié par une liaison covalente à un transporteur, le squalène. Le squalène est un lipide naturel biocompatible, précurseur de la biosynthèse du cholestérol. Pour être transformé en cholestérol, ce lipide doit rentrer dans la poche hydrophobe de l'oxydosqualenecyclase, cela lui offre une conformation moléculaire unique et très compacte. L'idée développée par une équipe de recherche (Couvreux, 2010) est de coupler ce lipide à certaines molécules anticancéreuses comme la gemcitabine par exemple. La gemcitabine est un analogue nucléosidique largement utilisé dans le traitement de diverses tumeurs solides, mais ce principe actif pénètre très difficilement dans la cellule et entraîne des phénomènes de

résistance. Le couple squalène-gemcitabine forme un bio-conjugué qui, après injection intraveineuse, s'autoassemble en milieux aqueux sous forme de nanoparticules aux alentours de 100 nm. Une fois "squalénisé", le vecteur peut transporter jusqu'à 50 % du médicament encapsulé vers la cible souhaitée, contre 1 à 5 % pour une nanoparticule classique. La liaison covalente entre l'acide squalénique et la fonction aminée de la gemcitabine évite le phénomène du « *burst release* ». Le ciblage des cellules cancéreuses se fait grâce à la reconnaissance des récepteurs LDLs ce qui limite fortement les phénomènes de résistance observés lors de l'administration de la gemcitabine libre. En effet, le couple SQ-Gem est capté par les lipoprotéines plasmatiques, principalement les LDLs. Ces dernières permettent le transport du lipide hydrophobe vers les récepteurs LDLs, surexprimés dans les cellules cancéreuses malignes, via leur constituant « ligand » les apoprotéines B100. Les lipoprotéines plasmatiques deviennent ainsi une sorte de transporteur endogène du bio-conjugué dans la circulation sanguine, et pourraient alors constituer de très bons vecteurs pour l'administration ciblée de divers médicaments en raison de leur nature endogène, non toxique et à longue circulation sans qu'il soit nécessaire de fonctionnaliser la surface des nanoparticules avec des ligands spécifiques. Une étude complémentaire de Sobot *et al.* (Figure 11) *in vitro* dans le sang humain et *in vivo* chez les rongeurs, a aussi démontré que l'activité anticancéreuse est augmentée par rapport à la gemcitabine libre dans les tumeurs solides greffées par voie sous-cutanée et la leucémie métastatique agressive (Sobot *et al.*, 2017).

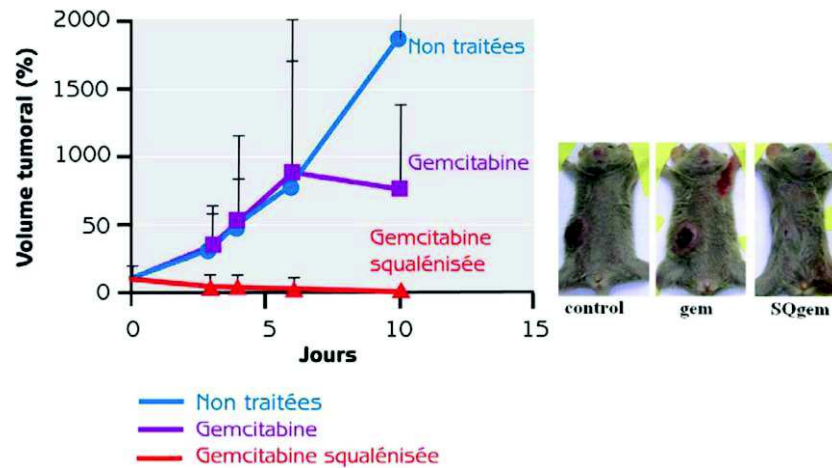


Figure 11. Résultats des traitements par la gemcitabine libre ou squalénisée sur le volume tumoral (cellules cancéreuses leucémiques injectées par voie sous cutanée sur les souris)

Source : Les nanomédicaments : une approche intelligente pour le traitement des maladies sévères (Couvreux, 2010)

La conjugaison au squalène peut également être appliquée à une variété de molécules anticancéreuses comme la doxorubicine et le paclitaxel (Maksimenko *et al.*, 2014 ; Caron *et al.*, 2013).

5.2.4. Les nanomédicaments et la thérapie génique

La thérapie génique est définie comme le transfert de matériel génétique dans les noyaux de cellules cibles d'un patient dans un but thérapeutique (Dunbar *et al.*, 2018). C'est une bonne alternative aux traitements de chimiothérapie classiques. Par exemple, les gènes suppresseurs de tumeurs peuvent être up-régulés et les oncogènes down-régulés. La thérapie génique par la mort consiste à tuer les cellules tumorales par

transfection avec de l'ADN plasmidique (ADNp) qui contient un gène produisant une protéine qui entraîne l'apoptose des cellules cancéreuses. Cependant, comme nous l'avons évoqué, les acides nucléiques sont rapidement dégradés par les nucléases sériques, il est donc nécessaire qu'ils soient véhiculés par un vecteur. Les différents systèmes de transport peuvent s'organiser en deux catégories : les vecteurs viraux et les vecteurs non viraux. Parmi cette dernière catégorie, les nanoparticules représentent une stratégie intéressante (Tarokh *et al.*, 2017). Des avancées dans ce domaine de recherche ont permis d'améliorer la stabilité des nanoparticules et le ciblage des tissus. De plus, les caractéristiques physico-chimiques peuvent être étudiées pour rendre le vecteur moins toxique et non immunogène pour la cellule contrairement aux vecteurs viraux. La grande spécificité du ciblage se fait grâce aux 3 types de ciblage existant : (1) l'effet EPR, (2) le ciblage à médiation ligand : les nanoparticules peuvent être fonctionnalisées avec des molécules spécifiques pour la reconnaissance de marqueurs moléculaires à la surface des cellules tumorales. La liaison entre la nanoparticule et la cellule tumorale induit une endocytose spécifique, évitant la toxicité dans les cellules saines ainsi que (3) le ciblage transcriptionnel. Pour se faire, les nanoparticules polymériques ou inorganiques sont les plus utilisées puisque leur charge de surface peut être facilement modifiée. Les nanovecteurs utilisés comprennent notamment des polymères naturels (tels le chitosan et le dextran), des polymères synthétiques comme ceux de polyamidoamine (PAMAM) étudiés par Li *et al.* (Li *et al.* 2018), ainsi que des nanoparticules inorganiques. L'une des caractéristiques essentielles pour la transfection génique est une charge de surface cationique. En effet, ces particules chargées positivement peuvent former des interactions électrostatiques fortes avec les acides nucléiques qui possèdent une charge négative. La charge positive augmente également

l'absorption intracellulaire. Une fois le nanovecteur internalisé dans la cellule, il est dégradé et libère sa cargaison dans le cytoplasme et le plasmide recombinant pénètre dans le noyau par les pores nucléaires. Il est reconnu par le système de transcription, générant l'ARNm du gène induit par la mort. Cet ARNm va du noyau au cytoplasme où il est traduit en protéine. Ces protéines déclenchent différentes voies cellulaires aboutissant à la mort cellulaire. Il existe de nombreux exemples de matériel génétique conjugué aux nanoparticules pour la thérapie génique du cancer. Le SGT53, par exemple, est un liposome ciblant le récepteur de la transferrine (Tfr) conjugué avec un plasmide codant pour p53 de type sauvage pour le traitement du cancer du pancréas et du glioblastome en phase II. Le PNT2258 est une nanoparticule sous forme de liposomes encapsulant de l'ADN ciblant BCL2 dans le traitement des lymphomes en phase II. D'autres exemples de thérapies géniques couplées aux nanoparticules actuellement étudiées en clinique sont exposés dans l'annexe 2. Malgré ces nouvelles perspectives pour le développement de thérapies contre le cancer, il s'avère difficile d'identifier des cibles thérapeutiques ciblant un seul gène spécifique de la pathologie concernée. C'est pour cela que les nanohybrides combinant deux technologies de livraison est une stratégie émergente dans le domaine de la distribution de médicaments et de gènes. Les dendrimères, par exemple, peuvent former un nanohybride avec d'autres nanovecteurs et agir pour la délivrance de matériel génétique (Kesharwani *et al.*, 2015 ; Liu *et al.*, 2017). Récemment, des nanohybrides composés de dendrimères (PAMAM) et de nanodiamants ont été formulés pour le transport d'un siARN suppresseur d'oncoprotéines dans le cancer du col de l'utérus. Ces nanocomplexes présentent une faible toxicité sur les cellules mais une forte capacité de suppression des oncogènes cibles *in vitro* (Lim *et al.*, 2017).

5.2.5. Les nanoparticules sensibles à un stimuli

Une autre propriété des nanomédicaments permet d'envisager de toutes nouvelles perspectives de traitement : il s'agit de la possibilité de contrôler la libération du médicament. De nombreuses études explorent cette piste et démontrent que ces nanosystèmes intelligents déclenchent la libération du médicament piégé dans le vecteur en présence de stimuli endogènes ou exogènes. La conception de nanovecteurs sensibles aux stimuli implique l'utilisation de matériaux biocompatibles pouvant subir une hydrolyse, un clivage, une protonation ou un changement conformationnel en réponse à un stimuli. Il existe deux catégories de nanosystèmes sensibles aux stimuli en fonction de leurs facteurs d'activation : ceux stimulés par des facteurs externes dits « système de contrôle en boucle ouverte » et ceux activés par des stimuli internes à proximité de la cible dits « système en boucle fermée » (Navya *et al.*, 2019). Lorsqu'ils sont sensibles au microenvironnement tumoral, cela permet un contrôle spatio-temporel de la libération thérapeutique, offrant une stratégie pour surmonter le problème de la libération en rafale des médicaments dans la circulation sanguine. Les stratégies actuelles pour ce type de vecteurs sont basées sur la chimie des nanosystèmes. Ceux-ci sont élaborés de manière à être sensibles au pH, à la température, à l'érosion de l'environnement chimique local ou basés sur la réaction réduction-oxydation (redox). Les nanoparticules sensibles au pH sont les plus développées, il est bien connu que les tissus tumoraux sont plus acides (pH 6,5–7,0) que les tissus sains (pH 7,4). Cette acidification de l'environnement extracellulaire tumoral est due au phénomène appelé « l'effet Warburg ». Dès lors, ce gradient de pH entre les cellules pathologiques et les cellules normales est exploité pour une libération contrôlée de médicaments (Deirram *et al.*, 2019). Gao *et al.* ont utilisé des liaisons benzoïque-

imine pour fixer l' α -cyclodextrine directement à des nanoparticules de silice mésoporeuse (MSN) qui sont partiellement hydrolysées dans l'espace tumoral extracellulaire et complètement hydrolysées à l'intérieur des endosomes à faible pH ~ 5 (Gao *et al.*, 2012).

Il est également possible d'activer à la demande ces substances thérapeutiques en les exposant à une source externe d'énergie tels que les champs magnétiques, électriques, la lumière et les ultra-sons. Ces stimuli peuvent être contrôlés plus précisément que ceux intrinsèques. AuroLase, une nouvelle thérapie non destructive prometteuse contre le cancer, à base de nanocoques de silice-or revêtues de PEG capables d'absorber la lumière infrarouge afin de faciliter l'ablation thermique des tumeurs solides. Cette thérapie innovante est en cours d'essais cliniques (Annexe 2).

D'autres systèmes ont été développés comme les nanohybrides pour bénéficier d'un système réactif à deux stimuli (Chuang *et al.*, 2009 ; Ghorbani et Hamishehkar, 2017) ou encore des nanovecteurs à ciblage actif et sensibles à un stimulus pour augmenter au mieux la spécificité de ciblage. Hu *et al.* ont étudié, *in vitro* et *in vivo* dans des modèles du cancer du sein, des nanoparticules polymériques encapsulant la doxorubicine et ciblant le récepteur CD44 par le biais de l'acide hyaluronique, sensibles au phénomène redox (Hu *et al.*, 2015).

5.2.6. Les métaux à haute densité électronique

L'enjeu de tout traitement par radiothérapie consiste à maximiser son effet sur la tumeur tout en limitant la dose sur les tissus sains et les organes avoisinants, appelés organes à risque. Cependant, de nombreux patients reçoivent une dose insuffisante pour la destruction tumorale au vu des toxicités engendrées. Pour répondre à ce besoin médical, il s'est développé un intérêt croissant pour l'utilisation de nanomatériaux en oncologie en tant que radio-amplificateurs (Pottier *et al.*, 2014 ; Kuncic *et al.*, 2018). Ces nano-amplificateurs permettent d'accroître l'efficacité de la radiothérapie en augmentant la dose d'énergie létale à l'intérieur de la masse tumorale sans augmenter la dose reçue par les tissus environnants, et ce, après activation des nanoparticules par la radiothérapie. Les particules radio-amplificatrices sont des nanoparticules de métal à haute densité électronique et sont basées sur un concept physique. En effet, le dépôt d'énergie dans les tissus est lié à la capacité de ces tissus à absorber les rayons X. Cette absorption dépend de l'énergie utilisée et de la densité électronique du matériau. L'eau, principal constituant des cellules, est de faible densité électronique. Ainsi, l'introduction d'un matériau à haute densité électronique sur le chemin des rayons X augmente l'absorption de ces rayons comparativement à l'eau. Du fait de leur taille infiniment petite, ces nanoparticules ont tendance à entrer dans les cellules tumorales et y restent localisées au moment de leur exposition aux radiations ionisantes (état actif avec l'effet pharmacologique recherché) (Maggiorella *et al.*, 2012 ; Pottier *et al.*, 2015). L'injection intratumorale et l'activation par le standard de soin de la radiothérapie très codifié, permettent un contrôle dans le temps et dans l'espace de l'effet thérapeutique. Ensemble, ces paramètres permettent d'augmenter la fenêtre thérapeutique avec un impact certain sur l'efficacité antitumorale sans augmenter la toxicité au niveau des

tissus sains. Les premiers travaux de recherche ont été réalisés avec des nanoparticules d'or ($Z_{Au}=79$) (Hainfeld *et al.*, 2004). Par la suite, de nombreuses publications ont démontré que ce type de nanomatériau permettait une radio-amélioration lorsqu'ils sont activés par la radiothérapie, notamment les nanoparticules d'or (Au), de platine (Pt), d'argent (Ag), etc. (Liu *et al.*, 2018 ; Rancoule *et al.*, 2016).

Cependant, certaines de ces nanoparticules se sont avérées toxiques lors de leur développement non clinique (Oberdörster, 2010). Nanobiotix, société pionnière de nanotechnologie, a développé cette approche innovante en prenant soin de choisir les caractéristiques physico-chimiques et la fonctionnalisation de ses nanoparticules. La taille, la forme et la surface des nanoparticules ont été conçues pour établir des interactions fortes avec les cellules cancéreuses et persister dans la masse tumorale pendant tout le temps de traitement de radiothérapie, et ce, en présentant une biocompatibilité optimale. Le produit NBTXR3 est composé de nanoparticules sphériques d'oxyde d'hafnium cristallisé et fonctionnalisé par des phosphates (HfO_2) de 50 nm (Bonvalot *et al.*, 2017). Les phosphates, en plus d'un profil sûr, fournissent une charge de surface négative aux nanoparticules à pH neutre en milieu aqueux qui permet d'une part, une répulsion électrostatique entre les nanoparticules en solution, et d'autre part, qui évite les interactions potentielles entre les nanoparticules et l'ADN. L'hafnium présente un bon profil de sécurité comme l'ont montré les résultats des études de Garcia-Saucedo *et al.* ainsi que celles de Field *et al.* (Garcia-Saucedo *et al.*, 2011 ; Field *et al.* ; 2011).

Le mode d'action des nanoparticules NBTXR3 est le suivant (figure 12) : Lorsqu'elles ne sont pas exposées aux radiations ionisantes, elles ne s'activent pas et présentent un

caractère « inerte » à l'intérieur du tissu tumoral. En revanche, lorsqu'elles sont activées par les rayons X, les nanoparticules absorbent ces rayons. La probabilité d'absorption d'un photon étant proportionnelle à la densité électronique du matériau, le cœur de la nanoparticule va générer les mêmes types d'effets que ceux de l'eau, mais de façon plus importante car la densité électronique des nanoparticules est largement supérieure. Les nanoparticules absorbent beaucoup plus d'énergie que l'eau et génèrent donc plus d'électrons. La suite du mécanisme d'action est le même que celui de la radiothérapie : les électrons générés par cette énergie vont traverser le milieu cellulaire et perdre leur énergie en interagissant plusieurs fois avec les molécules, créant alors des radicaux libres. Ces espèces réactives de l'oxygène aboutissent à la formation de lésions de l'ADN. Il en résultera alors un état de stress cellulaire et d'inflammation, ainsi que la formation de mutations pouvant ainsi entraîner la mort cellulaire par apoptose, nécrose ou encore un phénomène nommé la mort proliférative.

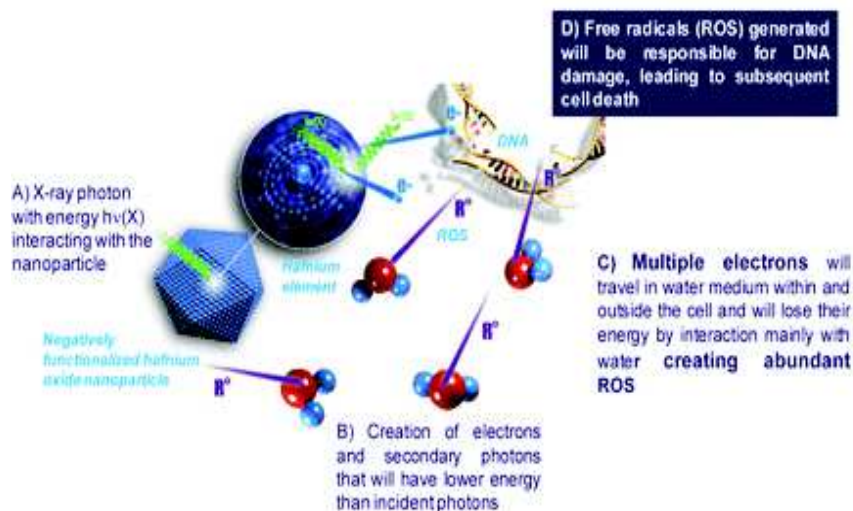


Figure 12. Mécanisme d'action de NBTXR3

Source : Pottier et al., *New use of metals as nanosized radioenhancers* (Pottier et al., 2014)

NBTXR3 a obtenu le marquage CE en 2019 pour le traitement des sarcomes des tissus mous, et, est actuellement en cours de développement clinique notamment dans les cancers de la tête et du cou, en association ou non avec l'immunothérapie (Annexe 2). La société française NH TherAGuIX propose également des nanoparticules, à base de gadolinium cette fois, pour potentialiser l'effet de la radiothérapie faisant l'objet d'une étude de phase II dans le traitement des métastases du cerveau. Ces nanoparticules, d'un diamètre inférieur à 5 nm, sont injectées par voie intraveineuse, et visibles par IRM.

Partie II : La nanotoxicité

1. Définition

La nanotechnologie crée de nouvelles opportunités pour concevoir des matériaux qui révolutionnent les approches des thérapies actuelles. Malgré les fonctions attrayantes et les perspectives d'avenir qu'ils représentent, la sécurité d'emploi des nanomédicaments est de plus en plus préoccupante. Les interactions de ces médicaments avec les systèmes biologiques peuvent déclencher des toxicités particulières du fait que la matière à cette échelle acquiert des propriétés physico-chimiques nouvelles. Les connaissances sur leurs effets toxiques potentiels sont limitées. Par conséquent, la « nanotoxicologie » est devenue un domaine de recherche essentiel, il s'agit de l'étude des effets néfastes des nanomatériaux sur la santé humaine et l'environnement. La nanotoxicologie cherche à établir et à identifier les toxicités des nanomatériaux modifiés et nécessite une approche multidisciplinaire comprenant entre autres la toxicologie, la biologie, la chimie, la physique, la pharmacocinétique et la médecine (Akçan *et al.*, 2020).

2. Impact des caractères physico-chimiques des nanoparticules sur les effets biologiques

La composition et les propriétés physico-chimiques de ces particules influencent leurs interactions avec l'organisme et les tissus tumoraux. Afin d'évaluer le devenir des nanoparticules, comprendre cette interaction est essentiel. Pour se faire, il est indispensable de caractériser de manière précise les caractéristiques physico-chimiques

de ces nanoparticules (Phogat *et al.*, 2018) afin de définir leurs rôles dans la toxicité. Outre ces caractéristiques, d'autres facteurs sont à prendre à compte tels que le temps d'exposition, le nombre d'exposition ainsi que la dose et la concentration des nanoparticules.

2.1. La taille des nanoparticules

La taille des nanoparticules leur confère une biodistribution particulière lorsqu'elles sont administrées par voie systémique ou recyclées dans les tissus, ce qui représente un risque pour la santé. A titre d'exemple, lorsque des particules pénètrent dans l'organisme par la voie respiratoire, celles-ci sont normalement détruites par les macrophages alvéolaires, première ligne de défense du système immunitaire. Les nanoparticules, elles, peuvent échapper à cette phagocytose, interagir et traverser l'épithélium alvéolaire et peuvent ainsi accéder à la circulation sanguine et lymphatique (Dukhin et Labib., 2013). Dans une étude menée sur 5 volontaires sains par Nemmar *et al.*, il a été démontré que les particules ultrafines de carbone d'un diamètre inférieur à 100 nm inhalées atteignent rapidement le torrent circulatoire et y séjournent pendant une heure environ (Nemmar *et al.*, 2002). Une fois dans la circulation sanguine, leur faculté de passer les barrières biologiques augmente leur accumulation dans les organes tels que le foie, les reins, la rate, les poumons et le cerveau. Les nanoparticules d'un diamètre inférieur à 30 nm peuvent être excrétées par les différentes voies d'élimination de l'organisme, particulièrement, les nanoparticules d'un diamètre inférieur à 5 nm sont rapidement prises en charge par la clairance rénale. Cependant, les nanoparticules de plus grandes tailles ne peuvent pas passer la filtration

glomérulaire et se retrouvent plus longtemps dans la circulation sanguine (Roacho-Perez *et al.*, 2018).

La biodistribution des nanoparticules peut également être influencée par le nombre de particules : plus elles sont nombreuses, plus elles peuvent persister dans les tissus et saturer les systèmes de clairance de l'organisme. Un autre phénomène peut affecter la biodistribution des nanoparticules, il s'agit du degré d'agrégation ou d'agglomération. En effet, ces particules ont tendance à se lier les unes aux autres par des liaisons fortes (phénomène d'agrégation) ou par des liaisons faibles (phénomène d'agglomération).

En fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, les nanoparticules peuvent également se retrouver dans le compartiment intracellulaire par différentes voies d'internalisation. Ces mécanismes sont dépendants d'énergie tels que la phagocytose, la macropinocytose et l'endocytose à récepteur tels que les récepteurs de la clathrine, de la cavéole ainsi que d'autres mécanismes non spécifiques (Kuhn *et al.*, 2014) (figure 4). De par leur taille, les nanoparticules peuvent accéder au cytoplasme, mais plus récemment il a été prouvé que les nanoparticules avec un diamètre inférieur à 6 nm peuvent accéder au noyau de la cellule (Huo *et al.*, 2014).

La taille des particules a des répercussions également sur leur toxicité potentielle. Ainsi, les nanoparticules d'argent (Ag) d'un diamètre moyen de 15 nm induisent *in vitro* plus de stress oxydant dans les macrophages alvéolaires humains que celles d'un diamètre moyen de 55 nm (Carlson *et al.*, 2008). Les particules d'oxyde de zinc (ZnO) d'une taille de l'ordre de 30 nm présentent *in vitro* une plus forte accumulation dans les cellules hépatiques que celles de ZnO d'une taille supérieure de l'ordre de 90 nm. Cette

présence intracellulaire de nanoparticules induit des anomalies structurelles dans les cellules hépatiques de souris (Kuang *et al.*, 2016).

2.2. La chimie de surface des nanoparticules

La surface spécifique d'une particule étant inversement proportionnelle à sa taille, cela offre aux nanoparticules de grandes capacités de réactivité et d'échange avec l'environnement biologique. En raison de cette grande réactivité, ces nanoparticules possèdent une forte capacité d'adsorption pour les molécules ou les ions en solution. Parmi le large choix de matériaux, les métaux ont été très développés au cours de ces dernières années ; ils présentent un grand intérêt en tant qu'éléments radio-amplificateurs. Néanmoins, les nanomatériaux de métal présentent un inconvénient majeur : une toxicité importante, notamment par la formation et le relargage d'ions métalliques toxiques tels que Ag^+ , Cd^{2+} , Fe^{2+} et Zn^{2+} (Song *et al.*, 2010). Il a été démontré dans de nombreuses études que les métaux de transition comme le fer, le nickel et le cobalt génèrent beaucoup d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).

2.3. La charge des nanoparticules

La charge de surface des nanomatériaux possède également un impact sur leur toxicité. Si la taille des nanoparticules leur permet d'accéder au noyau de la cellule, les nanoparticules chargées positivement sont alors attirées par les molécules de charge opposée, comme les groupes phosphatés de l'ADN, et bloquent la transcription selon une étude de Sukhanova *et al.* Il semblerait donc que les particules à surface de charge positive induisent des dommages à l'ADN plus importants que celles à surface négative ou neutre. De plus, la charge positive induit une phagocytose plus élevée par les macrophages et les cellules dendritiques que les nanoparticules neutres ou chargées

négativement (Sukhanova *et al.*, 2018) et facilite le passage à travers les membranes chargées négativement. Cela peut conduire à des dommages cellulaires et déclencher notamment l'hémolyse et l'activation de l'agrégation plaquettaire (Dobrovolskaia *et al.*, 2016).

Malgré leurs fonctions attrayantes, la plupart des dendrimères possèdent une activité toxique et hémolytique en raison de leur surface chargée positivement. Cependant, les dendrimères anioniques présentent une activité hémolytique diminuée. La modification de surface des dendrimères peut être utile pour modifier la charge de surface et donc améliorer leur sécurité d'emploi. Le polyéthylène glycol (PEG) est fréquemment utilisé et s'avère réduire la cytotoxicité des dendrimères (Palmerston Mendes *et al.*, 2017). Jevprasesphant *et al.* ont étudié l'influence de la modification de la surface par des chaînes de lauroyle et de PEG 2000 sur différentes générations de dendrimères cationiques PAMAM. Une diminution significative de la cytotoxicité *in vitro* a été observée avec ces dendrimères à surface modifiée (Jevprasesphant *et al.*, 2003).

Grâce à une fonctionnalisation de surface des nanoparticules, il est possible de limiter les effets toxiques liés à la nature du nanomatériau. En effet, un revêtement par des molécules organiques ou inorganiques permet de mieux contrôler les interactions entre la surface et les molécules. La fonctionnalisation peut également permettre d'améliorer la stabilité des nanoparticules notamment en milieu acide.

2.4. La forme des nanoparticules

En plus de la taille, la forme des nanoparticules a une influence sur les effets biologiques. Les nanosphères d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) ont démontré être moins toxiques sur les cellules astrocytaires de rat que les nanotubes (Dong *et al.*, 2019). Les

nanosphères possèdent également une clairance plus faible vis-à-vis du système réticulo-endothélial et une captation tumorale plus importante que les nano-objets d'une autre forme (Black *et al.*, 2014).

2.5. La stabilité des nanoparticules

La stabilité et la dégradation des nanomatériaux sont des propriétés importantes. S'ils sont sensibles aux conditions acides, et facilement dégradables par exemple, cela favorisera la libération d'ions et entrainer par la suite une cytotoxicité. En fonction de l'environnement, certains nanomatériaux sont sujets à des phénomènes d'oxydo-réduction qui peuvent affecter la charge de la nanoparticule. C'est le cas notamment des nanoparticules d'oxyde de cérium (CeO_2) avec un phénomène redox à la surface de ces particules qui engendre un stress oxydant marqué et des dommages à l'ADN sur les cellules de fibroblastes de peau humaine *in vitro* (Auffan *et al.*, 2009).

2.6. La structure cristalline et l'élasticité des nanoparticules

L'étude de Gurr *et al.* sur une lignée cellulaire d'épithélium bronchique humain, impliquant des nanoparticules de TiO_2 , a montré que la structure cristalline de type rutile provoque plus de dommages à l'ADN que celle de type anatase (Gurr *et al.* 2005). En revanche, la structure anatase de TiO_2 a une influence plus importante sur la stimulation du système immunitaire *in vitro* que la structure rutile d'après Vandebriel (Vandebriel *et al.*, 2018).

Concernant l'élasticité de ces particules, l'étude d'Anselmo *et al.* démontre que les nanoparticules d'hydrogel PEGylées molles (10 kPa) présentent *in vitro* une absorption cellulaire considérablement réduite dans les cellules immunitaires, les cellules

endothéliales et les cellules cancéreuses comparativement aux nanoparticules plus dures (3000 kPa), ainsi qu'un temps de circulation augmenté et un ciblage tumoral amélioré *in vivo* (Anselmo *et al.*, 2015).

3. Formation de la couronne biologique ('Corona')

Lorsqu'une nanoparticule entre en contact avec l'organisme, il se forme alors très rapidement une « couronne » composée de molécules organiques adsorbées sélectivement autour de la particule. Cette couronne peut affecter le profil de biodistribution des nanoparticules. En fonction du temps d'échange avec les protéines, celle-ci se présente sous deux couches : une couronne dure « *hard corona* » au plus près de la surface de la nanoparticule et une couronne « molle » dite « *soft* ». La couronne donne une toute nouvelle identité à la particule de faible taille, c'est dorénavant l'association de la nanoparticule et de sa couronne qui est reconnue par l'organisme comme une nouvelle entité et non comme la nanoparticule « nue » (Pallardy *et al.*, 2017). La nature de cette couronne biologique est dépendante de l'environnement mais également des paramètres physico-chimiques propres à la particule. Chaque nanoparticule est unique, par exemple, la fonctionnalisation de nanoparticules de silice avec trois groupements différents a une influence sur la composition finale de la couronne et la toxicité des particules (Mortensen *et al.*, 2013). En outre, il ne se produit pas les mêmes interactions pour deux espèces différentes, deux individus différents et pour un même individu dans des conditions métaboliques changeantes.

Les échanges entre les nanoparticules et les molécules biologiques est un processus dynamique et continue dans le temps (figure. 13) (Nguyen et Lee, 2017). Les interactions qui se produisent à l'interface de la nanoparticule peuvent avoir un impact sur la fonction des biomolécules, des composants cellulaires et des structures tissulaires. Cette couronne étant la première interface avec le système immunitaire, cela peut influencer la toxicité de la nanoparticule et déclencher une réponse immunitaire spécifique. La corona peut notamment : 1) faciliter la reconnaissance et l'élimination des nanoparticules par les cellules immunitaires innées, 2) masquer la surface « nue et étrangère » des nanoparticules et engendrer une mauvaise reconnaissance par les cellules immunitaires et enfin 3) l'adsorption à la surface de la nanoparticule peut altérer le repliement de certaines protéines plasmatiques qui deviennent « étrangères » et sont reconnues par les cellules immunitaires comme des signaux de danger (Boraschi *et al.*, 2020).

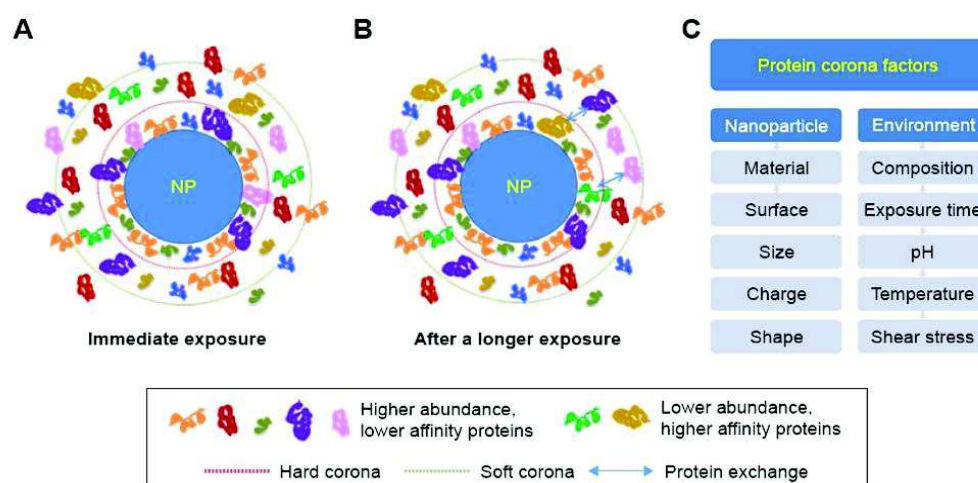


Figure 13. La formation de la protéine corona et l'échange de protéines à travers le temps

- A. Immédiatement après l'exposition.
 - B. Le déplacement des protéines après une longue exposition.
 - C. Les facteurs principaux affectant la formation de la biocorona
- Source: A new approach for nanomedicine design (Nguyen et Lee, 2017)

4. Mécanismes de toxicité des nanoparticules

Comme pour toute toxicité, il existe une séquence d'étapes clés entraînant des modifications fonctionnelles et/ou anatomiques, qui résulte en l'apparition d'un effet toxique chez l'individu appelée AOP (« *Adverse Outcome Pathway* »).

4.1. Mécanismes de toxicité moléculaire

L'adsorption des protéines à la surface des nanoparticules peut engendrer diverses modifications de conformation de protéines qui peuvent en partie expliquer la cytotoxicité des nanoparticules. En effet, de nouveaux épitopes peuvent être présentés et ne sont pas reconnus par l'organisme. Par exemple, certaines nanoparticules sont à l'origine d'un changement de conformation du fibrinogène, comme les nanoparticules de Zéolite qui lient les domaines E et D du fibrinogène par des liaisons fortes avec pour conséquence l'exposition de séquences normalement non exposées (Derakhshankhah *et al.*, 2019). Le changement de conformation du fibrinogène favorise l'interaction de la nanoparticule et du récepteur MAC-1 qui, par la suite, active la voie de signalisation de l'inflammation NF-Kb et augmente ainsi la libération des cytokines pro-inflammatoires (Deng *et al.*, 2011). Les nanoparticules amplificatrices d'or (Au) ont une surface réactive et de fortes interactions entre celle-ci et les domaines -SH de protéines peuvent survenir et engendrer également des changements de conformation de ces protéines (Nel *et al.*, 2009). Plus récemment, des chercheurs ont démontré que certaines nanoparticules peuvent entraîner des modifications de conformation et de fonction des deux enzymes antioxydantes principales : la catalase (CAT) et la superoxyde dismutase (SOD) (Hao *et al.*, 2018). Ces deux enzymes ont un rôle important pour protéger les dommages cellulaires dus à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Si leur

fonction protectrice est affectée, cela peut avoir un rôle critique et augmenter le stress cellulaire.

Les changements de conformation peuvent compromettre la fonction des protéines. Si les nouveaux épitopes découverts ne sont pas reconnus par l'organisme, cela peut activer des réponses du système immunitaire.

4.2. Mécanismes de toxicité cellulaire

Une fois à l'intérieur des cellules, les nanoparticules peuvent provoquer des effets indésirables et des dommages permanents aux cellules. Différents mécanismes peuvent être à l'origine de cette cytotoxicité. Un des principaux est dû à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les ROS sont induites par la peroxydation lipidique des membranes, le relargage d'ions toxiques lors de la dégradation des matériaux à l'intérieur de la cellule. La présence de ROS peut en outre causer des dommages à plusieurs organites, par exemple le réticulum endoplasmique, comme cela a été démontré avec des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) (Chen *et al.*, 2014).

A l'intérieur de la cellule, le lysosome a pour but de dégrader les nanoparticules non-fonctionnelles et étrangères. Pour effectuer cette digestion intracellulaire, les lysosomes maintiennent un pH entre 4,5 et 5. A ce pH acide, la solubilisation et la dégradation de certaines nanoparticules entraînent une libération intracellulaire d'ions toxiques comme Ag^+ , Cd^{2+} , Fe^{2+} importante. Ce phénomène est parfois nommé effet « Cheval de Troie renforcé par les lysosomes » (Sabella *et al.*, 2014). Cette libération d'ions toxiques peut enclencher des dommages lysosomaux, une perméabilisation et une rupture de la membrane de cet organite (Cho *et al.*, 2011). La fuite des enzymes

lysosomales, notamment la cathepsine, augmente la libération des ROS. La cellule subit un stress oxydatif, son potentiel redox et son homéostasie sont perturbés. Cela peut notamment aboutir à des dommages mitochondriaux. De plus, le taux important d'espèces réactives de l'oxygène peut provoquer des dommages indirects sur l'ADN par le biais d'une attaque radicalaire. Les interactions directes entre l'ADN et les nanoparticules sont également possibles. Certaines nanoparticules, d'une taille inférieure à 6 nm, peuvent entrer dans le noyau de la cellule et engendrer des lésions au niveau de l'ADN (Sukhanova *et al.*, 2018).

Ces divers événements peuvent entraîner des dommages cellulaires irréversibles et engendrer la mort cellulaire programmée par trois mécanismes principaux : l'apoptose (activée par la voie intrinsèque ou extrinsèque), la nécrose (Pan *et al.*, 2009) et l'autophagie (Liu *et al.*, 2018).

4.3. Toxicité tissulaire

La toxicité tissulaire est la résultante d'une combinaison des effets sur les molécules, leurs changements qui affectent la structure ou la fonction des organites et les conditions propres aux systèmes biologiques. Dans certains cas, les mécanismes et l'activation des différentes voies favorisent la libération de médiateurs pro-inflammatoires, comme les cytokines et les chimiokines. L'inflammation, que l'on étudiera par la suite, contribue en grande partie à la toxicité des nanoparticules. Si ces réponses sont persistantes et non contrôlées, elles entraînent une inflammation chronique et, donc, des lésions tissulaires souvent irréversibles.

5. Premières interactions des nanoparticules avec les systèmes biologiques

Différentes ruptures physiologiques peuvent être observées lors de l'interaction entre les nanoparticules et le système immunitaire lorsqu'elles sont administrées dans l'organisme, qu'elles soient une suppression de l'immunité, le déclenchement d'une hypersensibilité, la génération d'une immunogénicité ou d'une auto-immunité (Pallardy *et al.* 2017). La probabilité d'occurrence de chacune de ces réactions immunologiques est en partie en relation avec la chimie du nanomatériau, sa dureté, son potentiel de production d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que sa forme, sa taille, sa charge de surface et la couronne formée. Il s'agit en fait d'une combinaison de chacun de ces paramètres avec comme dénominateur commun la taille de la particule.

Wicki *et al* ont classé les nanomédicaments en trois catégories : ceux de type lipidique, ceux de type polymérique prédominant et ceux de type inorganique. Selon des études menées sur les effets immunologiques des nanoparticules chez l'animal, l'activation de l'immunité est la réaction la plus fréquente après l'administration de nanoparticules, indépendamment de la catégorie de celle-ci (Wicki *et al*, 2015 ; Halamoda-Kenzaoui et Bremer-Hoffmann, 2018). En outre, de nombreuses études soulignent que les effets immunologiques engendrés par des nanoparticules de type inorganique sont impliqués majoritairement dans l'apparition d'effets indésirables notifiés sur le système immunitaire dont principalement une augmentation du risque d'inflammation mettant en jeu le système immunitaire inné.

5.1. Le système immunitaire inné

Les réponses immunitaires correspondent aux mécanismes de défense de l'organisme qui discriminent le « soi » du « non-soi ». Le système immunitaire inné engendre une réponse non spécifique à la particule étrangère dit « antigène » (Ag), il s'agit de la première ligne de défense de l'organisme. L'immunité adaptative est quant à elle spécifique de l'antigène et constitue la deuxième ligne de défense.

La réponse immunitaire innée survient immédiatement après l'exposition de menaces potentielles pour l'organisme. Les effecteurs de cette réponse innée sont les polynucléaires neutrophiles (PNN), les macrophages (Ma), le système du complément, les cellules natural-killer (NK) ainsi que les cellules dendritiques (CD). Ces cellules expriment des récepteurs PPRs pour « *Pattern Recognition Receptor* » tels que les récepteurs de type NOD (NLR), de type toll (TLR) ou les scavenger récepteurs capables de reconnaître certains signaux de danger. Il existe différents signaux de danger : les PAMPs pour « *Pathogen Associated Molecular Pattern* » et les DAMPs « *Damage Associated Molecular Pattern* » exprimés par les cellules ayant subi un stress. Plus récemment, un nouveau signal de danger a été décrit, il s'agit des NAMPs pour « *Nanoparticle Associated Molecular Pattern* » (Pallardy *et al.*, 2017).

Ces cellules effectrices migrent vers les sites inflammatoires, reconnaissent et englobent leurs cibles. Il y a alors une dégranulation et une explosion oxydative avec libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).

5.2. Reconnaissance par les neutrophiles

Pendant l'inflammation aiguë, les cellules neutrophiles polymorphes sont les premières cellules à migrer vers le site inflammatoire. Les nanoparticules sont capturées par ces cellules, c'est le cas des nanoparticules d'or, par exemple, qui ont été trouvées dans des pièges extracellulaires (NET) des neutrophiles (Bartneck *et al.*, 2010). Elles peuvent contribuer à alerter le système immunitaire à l'aide d'un signal de danger et activer des récepteurs TLRs du type TLR9, avec pour conséquence d'attirer les autres cellules immunitaires innées et de déclencher le stress oxydant ainsi que la production de médiateurs pro-inflammatoires.

5.3. Reconnaissance par les macrophages

L'augmentation des signaux des récepteurs TLRs est liée à l'activation des réactions de l'immunité innée. Le signal de TLR-7 est augmenté dans les populations de macrophages humains lorsque ces cellules sont en contact avec les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) ou des nanoparticules de dioxyde de zirconium (ZrO₂) (Lucarelli *et al.*, 2004). Contrairement aux TLR-7 localisés sur les membranes cellulaires, les NLRs sont des récepteurs cytosoliques qui peuvent reconnaître les NAMPs ou les DAMPs présents à l'intérieur de la cellule. Les NLRs permettent la formation du complexe multiprotéique responsable de l'activation du processus inflammatoire : l'inflammasome. Il a été démontré que les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) activent l'inflammasome NLRP3 *in vitro* dans les macrophages humains (Martinon *et al.*, 2002). Ces données illustrent le fait que les macrophages sont capables de reconnaître les nanoparticules et de les prendre en charge. Par la suite, les macrophages libèrent

notamment de l'oxyde nitrique (NO), des médiateurs granulaires néoformés et des cytokines inflammatoires de la réponse innée (telles que l'IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ).

5.4. Activation des voies de signalisation et de l'inflammation

Après la reconnaissance d'un signal de danger, les TLRs recrutent un ensemble spécifique de molécules adaptatrices telle MyD88, avec pour conséquence de déclencher des événements de signalisation intracellulaire, comme l'activation du facteur de transcription NF- κ B qui mène à la sécrétion de cytokines et de chimiokines. Pour illustration, Chang *et al.* ont démontré que les nanoparticules d'argent (Ag) et d'oxyde de zinc (ZnO) induisent une réponse pro-inflammatoire par la voie de signalisation NF- κ B et augmentent ainsi les niveaux d'expression des gènes des interleukines IL-6, IL-1 β et de TNF- α dans des macrophages de souris *in vitro* et *in vivo* (Chang *et al.*, 2013 ; Luo *et al.*, 2015). Les nanoparticules de dioxyde titane (TiO₂) d'une taille de l'ordre de 14 nm induisent l'expression de l'inflammasome NLRP3 par les cellules dendritiques et les macrophages (Winter *et al.* ; 2011), ceci augmente la libération de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β ainsi que du facteur tumoral TNF - α (Scherbart *et al.*, 2011). Ces données montrent que lorsque les macrophages sont en contact avec les nanoparticules, ils synthétisent et sécrètent des médiateurs inflammatoires tels que les cytokines et chimiokines.

L'inflammation résultante de l'activation du système immunitaire inné représente une forte composante dans la toxicité des nanoparticules. Les cytokines pro-inflammatoires induites par les voies de signalisation peuvent augmenter la perméabilité vasculaire et causer le gonflement et la rougeur de la réponse inflammatoire aiguë (Luo *et al.*, 2015). En outre, la stimulation directe des TLRs par les nanoparticules peut également causer

des réactions immunitaires défavorables, certains agonistes de TLRs se sont avérés déclencher la production excessive des cytokines pro-inflammatoires, aboutissant à un choc cytokinique.

De plus en plus, il s'est développé ces dernières années des concepts de biomimétiques. Le but étant de fonctionnaliser la nanoparticule et de contrôler les échanges avec la couronne en utilisant notamment des marqueurs de cellules humaines mimant les cellules du soi pour limiter cette toxicité.

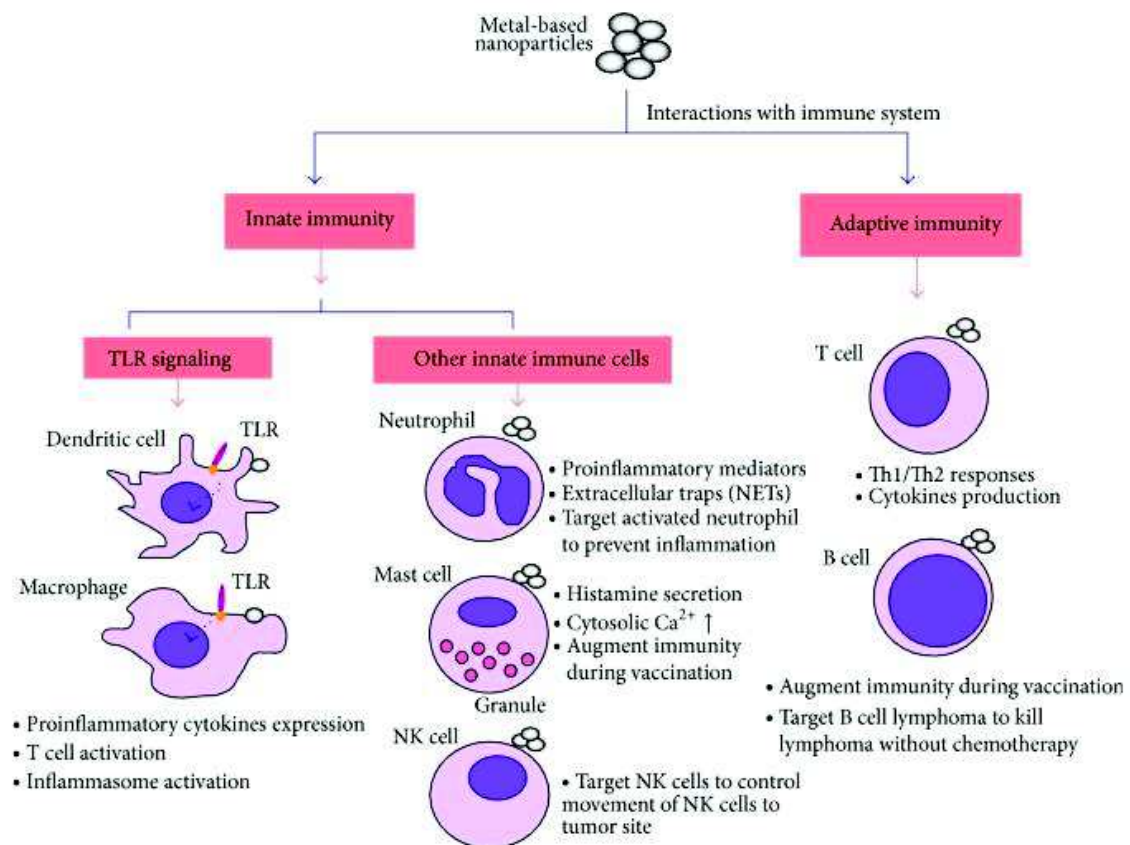


Figure 14. Interactions entre les cellules immunitaires innées et les NPs de métal

Source : *Metal-Based Nanoparticles and the Immune System: Activation, Inflammation, and Potential Applications* (Luo et al. 2015)

Par ailleurs, l'activation des cellules immunitaires innées peut enclencher l'activation du système du complément. Le système du complément est une cascade biochimique du système immunitaire qui « complète » la capacité des anticorps à éliminer les pathogènes, ou qui se fixe directement aux pathogènes pour en faciliter l'élimination par d'autres cellules du système immunitaire.

5.5. Reconnaissance par les cellules dendritiques et présentation aux lymphocytes T

Les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) telles que les cellules dendritiques (CD) et les macrophages synthétisent des molécules CMH II, dégradent en fragments peptidiques l'antigène après l'avoir capturé. Certaines nanoparticules peuvent être internalisées par plusieurs récepteurs PPRs présents au niveau de la membrane des CD immatures et favoriser alors la maturation et l'activation des CD qui seront alors capables d'exprimer des molécules de co-stimulation à leurs surfaces. L'exocytose des peptides antigéniques dégradés permet la présentation, l'activation et la polarisation des cellules T (Banchereau *et al.*, 2000, Pallardy *et al.*, 2017), à l'origine d'une réponse immunitaire adaptative.

6. Mise en jeu du système immunitaire inné lors de l'injection de nanoparticules manufacturées

Actuellement, la voie d'administration la plus usuelle pour des nanoparticules thérapeutiques est la voie parentérale. D'après la Pharmacopée Européenne, les médicaments administrés par voie parentérale sont « des préparations destinées à être injectées, perfusées ou implantées dans le corps humain ou animal ».

Cependant, il a été démontré que l'interaction entre le système immunitaire et les médicaments sous une forme liposomale injectés peut entraîner des « réactions liées à la perfusion » (Mohamed *et al.*, 2019). A la suite des premières minutes de perfusion de CAELYX® (doxorubicine liposomale PEGylée) par exemple, des réactions sérieuses engageant parfois le pronostic vital liées à la perfusion ont été rapportées. Une étude récente a d'ailleurs montré que ces réactions sont très fréquentes, avec une prévalence supérieure à 10 % chez les patients traités par certains nanomédicaments (CAELYX®, AMBISOME®) (Szebeni *et al.*, 2015).

Ces réactions à la perfusion, aussi nommées « réactions d'hypersensibilité », sont la résultante d'une activation inappropriée du système immunitaire. Elles sont caractérisées par des réactions de type allergique et anaphylactoïde et se produisent très peu de temps après l'administration du médicament.

D'après les lignes directrices de l'organisation mondiale de l'allergie (WAO), la définition la plus adaptée de l'anaphylaxie est la suivante : « une réaction d'hypersensibilité généralisée ou systémique grave mettant la vie du patient en danger » ainsi qu'« une réaction allergique grave d'apparition rapide et pouvant provoquer la mort » (Simons *et al.*, 2011). Elle est spécifique et implique le système immunitaire adaptatif. La réaction

anaphylactoïde, ou pseudo-allergique, ressemble à de l'anaphylaxie mais elle n'est pas médiée par les IgE. C'est une réponse non spécifique à l'antigène. D'autres événements peuvent également ne pas être directement liés aux réponses des anticorps tel le syndrome de libération de cytokine, et peuvent survenir lors de l'injection de certains biomédicaments.

Ces différents types de réaction englobent divers symptômes tels que le bronchospasme, bouffée de chaleur, rash urticarien, fièvre, hypertension, tachycardie, prurit, transpiration, nausées, souffle court, angioedème, frissons, douleur dorsale, oppression thoracique et de la gorge et/ou hypotension. Ce sont des réactions considérées comme une urgence médicale, pouvant mettre la vie du patient en danger selon la sévérité.

6.1. Les physiopathologies potentielles des réactions à la perfusion

6.1.1. Hypersensibilité médiée par les IgE

Cette hypersensibilité est la réaction de type 1 classique de la classification de Coombs et Gell. Il s'agit de la réaction allergique médiée par les IgE qui requiert une exposition préalable à l'antigène (Ag) et qui ne peut survenir à la première exposition, à l'exception de certaines situations rares où les patients ont des anticorps préexistants par le biais de réactions croisées. Une première phase de sensibilisation survient et elle est asymptomatique. Les allergènes sont pris en charge par les cellules présentatrices d'antigène (CPA), particulièrement les cellules dendritiques (CD) qui les présentent aux lymphocytes T. Il s'ensuit une activation des lymphocytes B qui vont produire des anticorps spécifiques de cet Ag. Ces anticorps appelés IgE sont fixés sur les récepteurs des mastocytes et des basophiles. Lors du deuxième contact, les Ag vont se fixer sur les

IgE provoquant une dégranulation massive et la libération massive de médiateurs tels que l'histamine, les leucotriènes, les prostaglandines mais également les cytokines pro-inflammatoires Th2 qui peuvent être responsables d'une inflammation locale. Cette réaction se produit très rapidement et peut toucher tous les organes. Il peut notamment se produire des symptômes cutanés tels que l'urticaire et l'œdème de Quincke, des troubles gastro-intestinaux et respiratoires ainsi qu'une réaction systémique. Il s'agit alors du choc anaphylactique.

6.1.2. Hypersensibilité médiée par les IgG

Les réactions anaphylactiques non IgE médiées constituent une voie alternative de la voie classique. Elles peuvent être médiées par les IgG impliquant la libération de PAF, le « facteur d'activation plaquettaire », par les monocytes et les neutrophiles activés par l'intermédiaire de leurs récepteurs γ Fc (Fc γ RIII) (Jönsson *et al.*, 2011). Des agents biologiques ont induit une anaphylaxie où aucune présence d'IgE n'était détectable alors que l'IgG l'était à haut niveau.

6.1.3 Libération massive de cytokines

Le syndrome de libération de cytokines est une réponse immunitaire systémique exagérée. Elle peut impliquer la libération potentielle de plus de 150 médiateurs inflammatoires, notamment des cytokines, des chimiokines, des facteurs du complément et de la coagulation. Le syndrome de libération massive de cytokines est un syndrome décrit après l'administration de nombreux anticorps monoclonaux tels que Muromonab (anti-CD3), Alemtuzumab (anti CD-52) et plus récemment TGN1412 (anti CD-28), pour ne citer que ceux-là. Ce syndrome peut résulter de l'activation soutenue d'une variété de cellules tels que les monocytes et les macrophages, les

lymphocytes T et les cellules B. Il se caractérise par une augmentation très rapide des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, TNF- α , IL-2, IL-8 mais également anti-inflammatoires telles que l'IL-10, et d'INF- γ . Dans certains cas, la libération de cytokines est massive et soudaine, aboutissant à une défaillance des organes vitaux ressemblant à ce qui est observé dans le choc septique, il s'agit d'un choc cytokinique.

6.1.4. Réaction pseudo allergique dépendante de l'activation du complément

Une autre physiopathologie potentielle de l'hypersensibilité est la pseudo-allergie liée à l'activation du complément C (CARPA). Ce sont des réactions non-IgE médiées mais causées par l'activation du système de complément. Bien que sur le plan clinique, elles ressemblent aux réactions d'anaphylaxie, certaines différences subsistent. En effet, elles peuvent survenir lors de la première exposition aux nanoparticules. Aucune sensibilisation préalable n'est nécessaire. Les symptômes diminuent ou disparaissent lors des expositions ultérieures à ces mêmes nanoparticules. Leur incidence est diminuée lorsque la vitesse de perfusion est plus lente. Les réactions CARPA ont été décrites lors de l'interaction entre le système immunitaire et les nanoparticules lipidiques. C'est le cas notamment avec la spécialité Doxil® (doxorubicine liposomale pégylée) ou la spécialité Ambisome® (Amphotéricine B sous forme de liposomes non pégylés).

Le complément comprend au moins 30 protéines et constitue un pilier de l'immunité innée. Son activation peut se faire par l'une des trois voies : classique, lectine, ou alternative. L'activation par une cascade enzymatique conduit au clivage et à la libération d'anaphylatoxines : C3a, C5a et C5b-9 et déclenche l'activation des mastocytes, basophiles et autres cellules phagocytaires, via leurs récepteurs spécifiques

C5aR1 et C3aR1 (Moghimi *et al.*, 2017) (Figure 15). Une vingtaine de médiateurs vasoactifs seront alors libérés dont l'histamine. L'activation des récepteurs H1 pourrait entraîner la contraction des cellules musculaires lisses et des fuites vasculaires, tandis que l'activation des récepteurs H2 pourrait augmenter les niveaux d'AMP cellulaire et expliquer l'augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression du pouls.

6.1.5. La théorie « Double hit »

Une autre composante de l'hypersensibilité par les nanomédicaments pourrait être expliquée par le mécanisme CIPA « *complement independant pseudo allergy* ». Ce mécanisme se réfère à l'activation des cellules effectrices par interaction directe avec ces médicaments, et ce de manière indépendante du complément. Selon cette théorie, les macrophages pourraient être activés par la liaison de ces nanomédicaments aux PRRs par le biais de réactions croisées avec les polymères présents sur la surface ou sur la couronne de protéine. En effet, l'anaphylaxie serait déclenchée chez des patients possédant des anticorps antiphospholipides préexistants, les IgG. Les nanoparticules seraient reconnues par les systèmes biologiques par le biais de ces IgG. La fixation de ces IgG aux récepteurs FcR III des macrophages induirait la phagocytose et l'opsonisation ainsi que la libération du médiateur PAF. Le PAF induirait davantage l'agrégation plaquettaire entraînant l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'initiation d'une détresse cardiopulmonaire.

La théorie du deuxième hit, récemment développée, affirme que les symptômes cliniques présents lors de ces réactions résultent de la somme de l'activation du complément (pseudo-allergie liée à l'activation du complément, effet CARPA), où les anaphylatoxines C3a, C4a et C5a induisent la libération de médiateurs par les

mastocytes, et de l'activation directe par la liaison de nanomédicaments aux récepteurs FCR des macrophages (pseudo-allergie non liée à l'activation du complément, effet CIPA) (Morilla *et al.*, 2018).

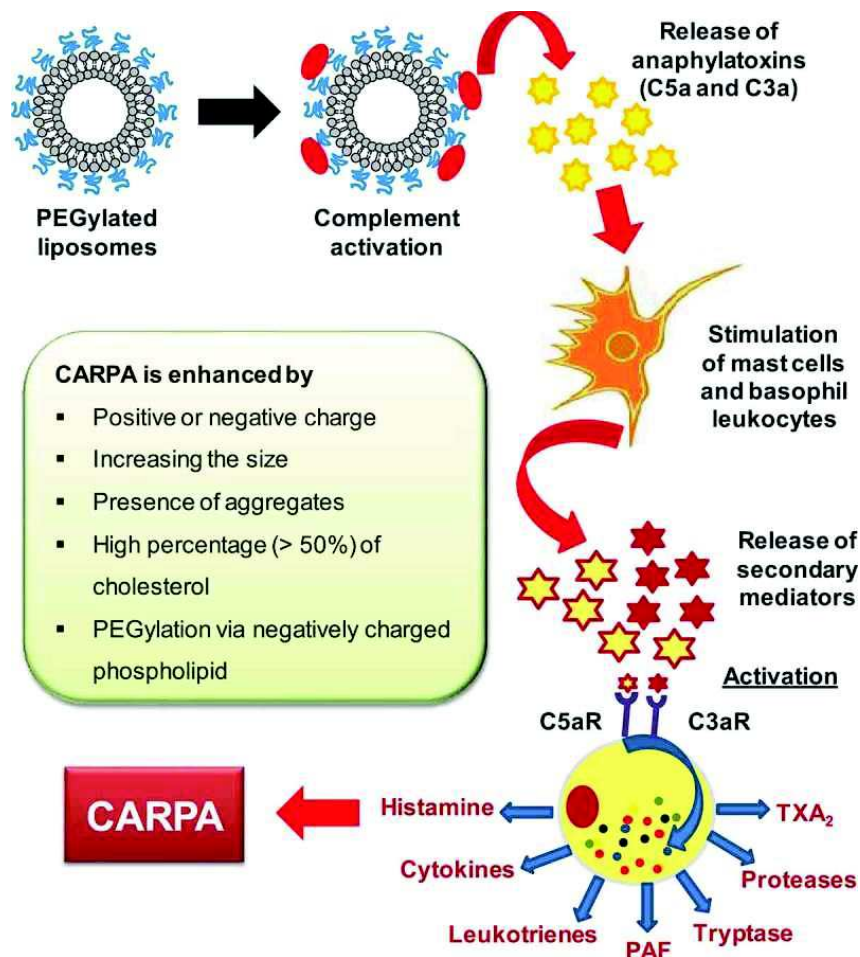


Figure 15. Mécanisme CARPA

Source : PEGylated liposomes : immunological responses, (Mohamed *et al.*, 2019)

7. Considérations méthodologiques et problèmes rencontrés pour l'évaluation de la sécurité des nanomédicaments

7.1. Besoin urgent d'une évaluation toxicologique adaptée et représentative

En plus des réactions liées à la perfusion discutées ci-dessus, il existe diverses autres interactions entre les nanoparticules et l'organisme lorsqu'elles sont introduites dans la circulation sanguine. Notamment, il peut se produire des ruptures physiologiques telles que l'immunosuppression et l'auto-immunité. Comme étudié précédemment, ces réactions sont en partie dépendantes de la chimie et de la charge de surface des nanoparticules. Par exemple, l'activation du complément (CARPA) semble être la plus grande menace pour les liposomes, tandis qu'il s'agit de l'hémolyse pour les dendrimères cationiques.

Les tests précliniques visent à identifier et interpréter les problèmes de sécurité des produits thérapeutiques avant leur utilisation en clinique. Bien que les nanomédicaments soient connus pour engendrer de telles toxicités, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de lignes directrices ou de réglementations spécifiques pour l'étude toxicologique des nanoparticules. Le même cadre réglementaire est appliqué qu'il s'agisse de macromolécules, de petites molécules ou bien de formulations nanotechnologiques ; les lignes directrices de l'ICH (« *International Conference of Harmonization* ») S8 et S6 représentent un bon référentiel pour estimer l'immunotoxicité de diverses particules. L'évaluation de la toxicité immunologique des nanoparticules est donc effectuée de la même manière qu'une évaluation toxicologique « traditionnelle ». Cela ne suffit pas à détecter ou prédire les risques de toxicités

immunologiques ; d'autres tests spécifiques sont souvent nécessaires (Dobrovolskaia, 2015). L'ICH S8 manque de lignes directrices pour l'activation du complément et l'activation de l'inflammasome par exemple.

Divers groupes de travail et comités scientifiques ont été initiés pour améliorer la compréhension et l'analyse de la sécurité des nanoparticules, notamment le US-NCL (« *Nanotechnology Characterization Laboratory* ») du National Cancer Institute et plus récemment, le Laboratoire Européen de Caractérisation de la Nanomédecine (EU-NCL) par la commission Européenne. Ces deux organisations travaillent aux côtés de la FDA et de l'EMA pour assurer une évaluation préclinique efficace des nanomédicaments anticancéreux, avec un accent particulier sur l'immunotoxicité (Hannon *et al.*, 2019), ce qui a permis d'augmenter le nombre de discussions autour de la toxicité immunologique des nanoparticules. L'étude de Dobrovolskaia *et al.* illustre la croissance rapide du nombre de publications publiées sur la plateforme PubMed, concernées par les mots-clés « nanoparticules » et « système immunitaire » de 2000 à 2015 (Figure 16).

Le comité E56 de l'ASTM (« *American society for testing material* »), le comité technique TC229 de l'ISO (« *International Organization for Standardization* ») ont aussi été créés afin de diriger le développement de différentes méthodes d'essai et de tests de toxicité normalisés pour les nanomatériaux. Malgré de nombreuses avancées (comme les guides E2524-08(2013), E2525-08(2013), E2526-08(2013), E2535-07 (2017) et la norme NF EN ISO 29701), de nombreux efforts restent encore à fournir afin d'aborder au mieux les problèmes de toxicité immunologique.

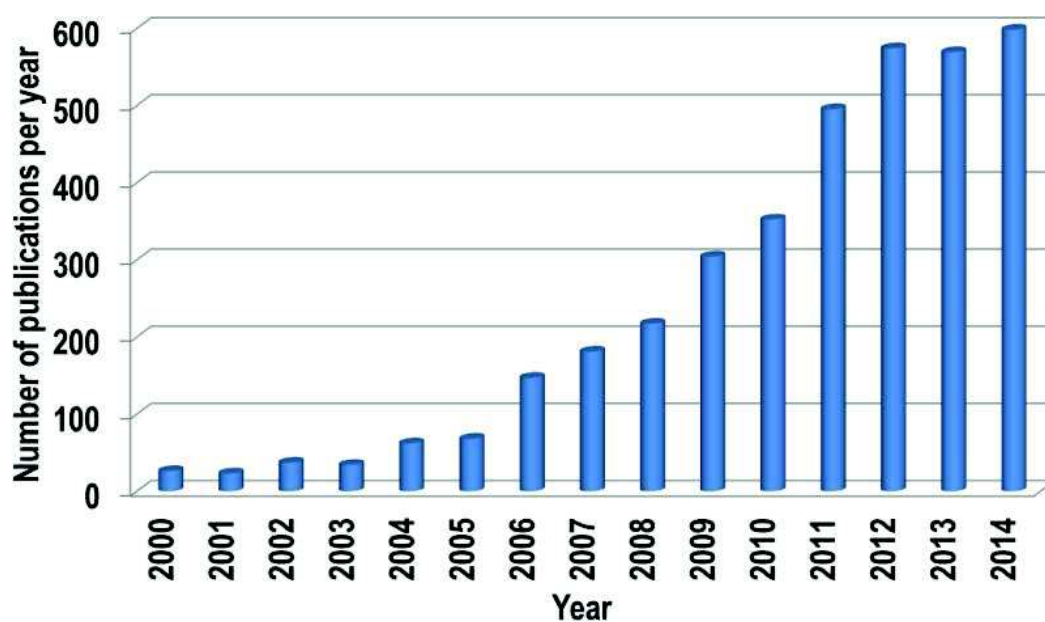


Figure 16. Le nombre de publications publiées sur la base de données PubMed comprenant les mots-clés « nanoparticules » et « système immunitaire » par an de 2000 à 2014

Source : Current understanding of interactions between nanoparticles and the immune system (Dobrovolskaia *et al.*, 2016)

7.2. Les défis rencontrés

L'étude des mécanismes de l'immunotoxicité des nanoparticules a révélé de nombreux défis, que ce soit en raison de la grande variété de nanomatériaux disponibles, de la caractérisation de leurs propriétés physico-chimiques ou bien de leur biodistribution spécifique. Comme étudié précédemment, les propriétés physico-chimiques des nanomatériaux peuvent affecter leur biodistribution, cependant les tests d'immunotoxicité *in vitro* sont effectués avec l'hypothèse que toutes les nanoparticules administrées restent soit dans la circulation sanguine, soit dans le tissu cible, ce qui ne reproduit pas ce qui se passe *in vivo*. De plus, du fait de ces propriétés physico-



chimiques uniques, les nanoparticules peuvent interagir avec les composants des tests de toxicité ou interférer avec la lecture de ces tests, les résultats se retrouvent alors biaisés. Il est nécessaire de sélectionner les tests dans lesquels les nanoformulations sont les moins susceptibles d'interférer (Hannon *et al.*, 2019).

En outre, une des grandes difficultés de l'analyse de ce type de toxicité est l'estimation de contaminants qui peuvent être immunoréactifs tels que les sous-produits de synthèse et les endotoxines bactériennes. Ces dernières sont des impuretés courantes pouvant compromettre les résultats de toxicité et d'efficacité des formulations. D'après Dobrovolskaia et McNeil, plus de 30% des nanoformulations évaluées par le US-NCL ne peuvent continuer leur développement préclinique en raison de cette contamination. Il est bien connu que ces endotoxines peuvent stimuler le système immunitaire et favoriser l'inflammation jusqu'à engendrer parfois un choc septique. Il a été également prouvé que certains nanomédicaments, bien qu'ils ne soient pas déclencheurs de l'inflammation en eux-mêmes, peuvent potentialiser l'inflammation médiée par les endotoxines (Dobrovolskaia, 2015). Pour compliquer davantage l'interprétation des études de toxicité, il a été montré que cette contamination varie entre les différents lots de mêmes nanoparticules et que la sensibilité des endotoxines varie en fonction des espèces et même des individus.

Enfin, l'absence de normes de référence ou d'une réglementation spécifique pour l'évaluation de la toxicité des nanoparticules limite la validation des instruments, des protocoles et des matériaux utilisés pour analyser leur biocompatibilité. A l'heure actuelle, aucun matériau de référence standard n'est utilisé. En l'absence de matériaux de référence pertinents, les études d'immunotoxicité sont menées à l'aide de contrôles

positifs traditionnels tel que le lipopolysaccharide pour l'induction des cytokines (Dobrovolskaia, 2015 ; Hannon *et al.*, 2019) et des contrôles négatifs.

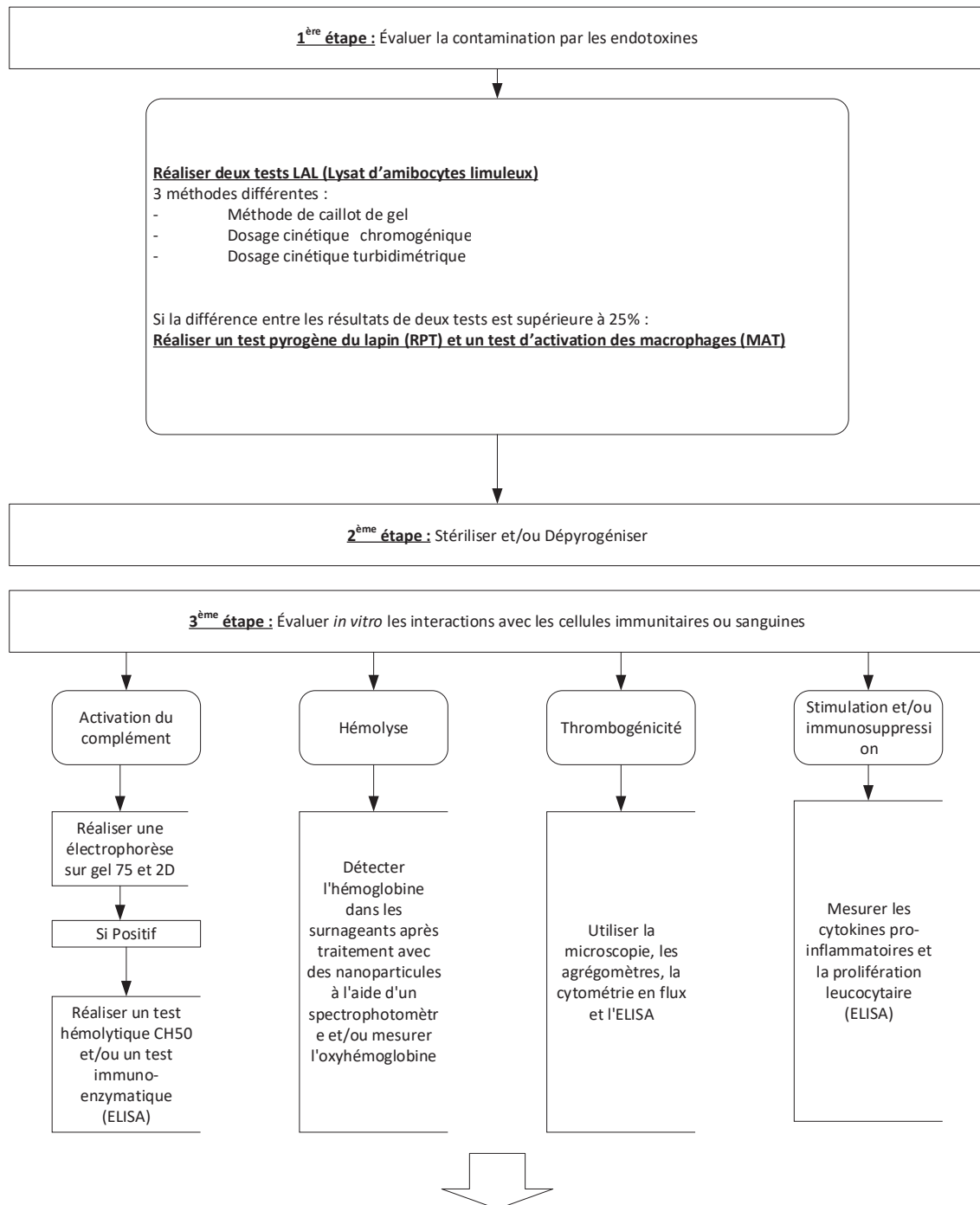
7.3. Stratégie de conception d'un cadre de dépistage d'immunotoxicité

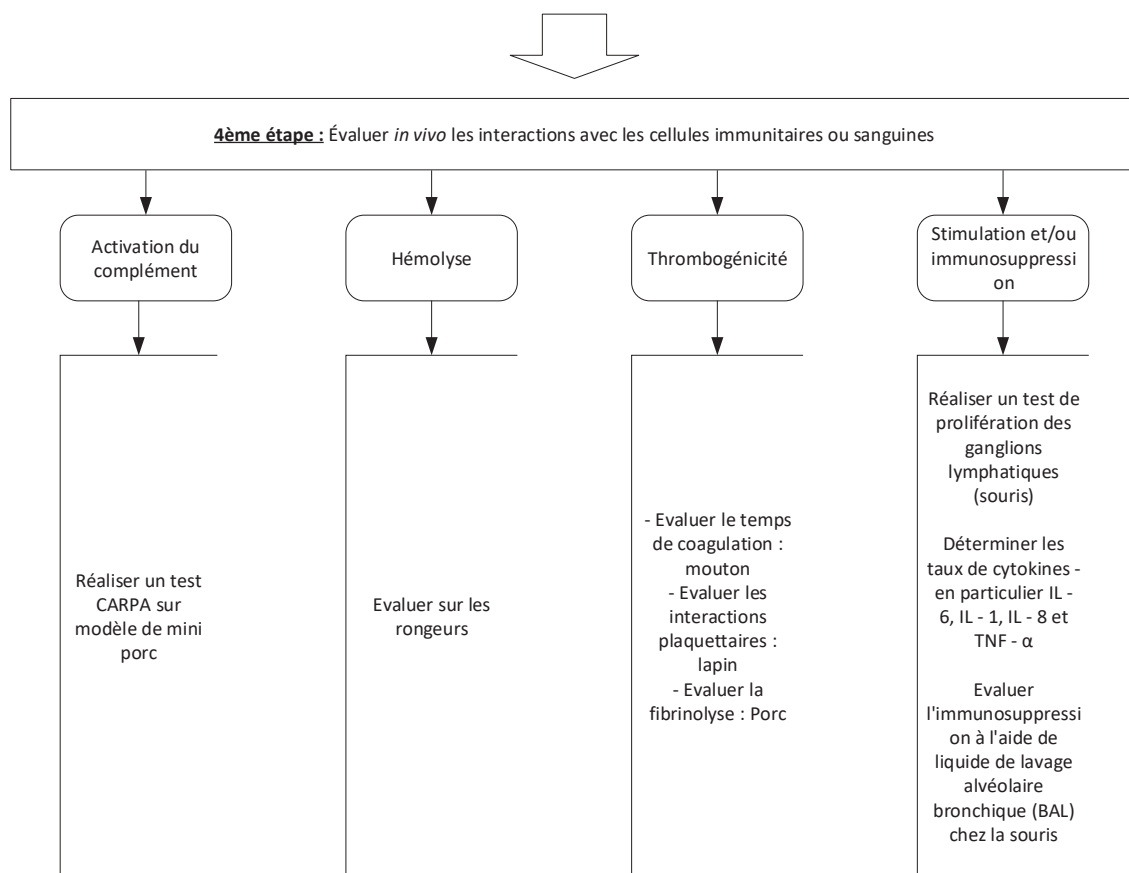
préclinique

Parmi les différents mécanismes de toxicité immunologique, les plus fréquents comprennent l'inflammation médiée par les cytokines, la tempête de cytokines, l'activation du complément ou le syndrome CARPA, l'anaphylaxie ainsi que la thrombogénicité et la pyrogénicité. Afin de concevoir des nanomédicaments ne présentant aucun risque majeur pour l'organisme, il est essentiel de dépister ces toxicités au plus tôt lors du développement préclinique. De nombreuses recherches bibliographiques orientent sur les risques encourus les plus probables en fonction des caractéristiques des nanoparticules. Par la suite, une sélection de divers tests permet d'aboutir à des résultats plus précis s'ils sont choisis en fonction des propriétés de la nanoformulation. Dobrovolskaia et Hannon *et al.* ont récemment publiés des articles énumérant les lignes directrices pour l'évaluation de l'immunotoxicité des nanoparticules (Figure 17). À chaque étape de cette évaluation, il est important de prendre en compte l'interférence du test et la pertinence du test ou du modèle animal afin de garantir des résultats précis. Au vu des résultats obtenus, la décision de passer ou non à l'étape suivante doit être évaluée.

Figure 17. Résumé des différentes étapes à réaliser pour évaluer l'immunotoxicité des nanoformulations

(Adapté de Hannon et al., 2019 : Immunotoxicity Considerations for Next Generation Cancer Nanomedicine)





La première étape essentielle est l'évaluation de la contamination aux endotoxines. La présence d'endotoxines pouvant fausser les résultats des tests de toxicité, il est nécessaire d'évaluer la contamination par les endotoxines avant toute évaluation immunologique. Cette évaluation se fait à l'aide du test LLA (Lysat d'amibocytes limuleux) selon 3 méthodes différentes. Ces méthodes présentent quelques limitations et le choix de celles-ci se fait en fonction des caractéristiques de la nanoformulation. Dobrovolskaia a présenté différents réactifs neutralisant les endotoxines et permettant de faire la distinction entre l'inflammation médiée par les endotoxines et celle de la nanoformulation tels que le petaminidine et les LPS (Dobrovolskaia, 2015). Actuellement, aucune directive n'est appliquée à ce jour pour fixer une limite

acceptable de contamination d'endotoxines pour les nanoformulations. Les limites d'endotoxines utilisées sont celles définies pour les formulations « traditionnelles ». Les nanomédicaments anticancéreux ont été approuvés à la fois comme produits pharmaceutiques et comme dispositifs médicaux. Ces deux catégories ont leurs propres environnements réglementaires établis et leurs limites d'endotoxines convenues entre la FDA et l'EMA. Par exemple, la FDA a fixé ce seuil à 5 UE/kg de poids corporel/heure pour les médicaments injectables par voie non-intrathécal et la Pharmacopée Européenne a fixé cette limite seuil à 5 UE/kg de poids corporel/heure pour les préparations injectables et à 2,5 UE/kg de poids corporels/heure pour les formulations radio-pharmaceutiques injectables. Si la contamination aux endotoxines dépasse les niveaux seuils définis par la réglementation applicable, une purification (c-à-d une élimination des toxines) ou une dépyrogénéation (c-à-d une inactivation des toxines) est nécessaire.

Les nanoformulations doivent également être stériles, il ne peut y avoir plus d'un micro-organisme viable dans un million de parties du produit final, on parle de Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS). De nombreuses méthodes de stérilisation et de dépyrogénéation sont disponibles mais certaines peuvent altérer l'intégrité des nanoparticules. D'après Vetten *et al.*, il n'existe pas de méthode unique capable de purifier toutes les nanoparticules, chaque nanoformulation doit être considérée au cas par cas (Vetten *et al.*, 2014 ; Hannon *et al.*, 2019).

La troisième étape concerne l'étude *in vitro* des interactions avec les cellules immunitaires ou sanguines. Cette analyse comprend notamment l'analyse des propriétés hémolytiques de la formulation, sa capacité à activer le complément, sa thrombogénicité, son potentiel à stimuler la production de cytokines ou la prolifération des leucocytes. De plus, si les propriétés physicochimiques de la particule lui permettent d'être isolée du plasma sans affecter son intégrité, l'évaluation des liaisons et de l'identité des protéines plasmatiques liées à la surface des nanoparticules peut être réalisée. Même si cette évaluation n'est pas essentielle, elle peut s'avérer utile pour comprendre le mécanisme d'interaction avec certains types de cellules et la toxicité. Pour évaluer davantage les effets des nanomatériaux sur le système immunitaire, des tests *in vitro* supplémentaires doivent parfois être envisagés, notamment l'analyse de l'effet des nanoparticules sur divers types de cellules immunitaires. Ces tests *in vitro* supplémentaires comprennent l'immunophénotypage et l'évaluation des marqueurs d'activation dans les échantillons de sang total, l'évaluation de la fonction phagocytaire des macrophages après l'exposition aux nanoparticules, la cytotoxicité des nanoparticules sur les cellules « *Natural Killer* » ainsi que leur effet sur la maturation des cellules dendritiques, sur la prolifération des leucocytes induite par les antigènes et sur l'activité des lymphocytes T cytotoxiques (Dobrovolskaia, 2015).

Enfin, la quatrième étape concerne l'évaluation *in vivo* des interactions avec les cellules immunitaires ou sanguines.

Bien qu'ils fournissent des informations précieuses, il existe des différences substantielles entre les systèmes immunitaires humains et animaux utilisés dans la recherche préclinique. Il est essentiel de choisir un modèle animal pertinent pour le

type de toxicité étudiée. Ce choix doit prendre en compte les avantages et inconvénients de chaque espèce notamment les infrastructures nécessaires et l'expertise des équipes scientifiques. Les physiologies des maladies concernées et la pharmacologie des médicaments en général doivent être les plus similaires possibles à celles de l'homme. Il est donc important d'approfondir les recherches actuelles afin de mieux appréhender les mécanismes d'immunotoxicité des nanoparticules dans divers modèles animaux et afin d'établir une corrélation *in vivo* chez l'homme en tenant compte des différences potentielles de sensibilité (Zamboni *et al.*, 2018).

Conclusion et futures perspectives

La nanotechnologie permet aujourd'hui de formuler des nanomédicaments innovants porteurs de grands espoirs pour la thérapie anti-cancéreuse. Malgré les nombreux avantages qu'offrent la nanomédecine pour révolutionner les traitements anti-cancéreux, seuls quelques nanomédicaments sont à ce jour disponibles sur le marché pour le traitement du cancer. À l'heure actuelle, certaines lacunes doivent encore être comblées. Les propriétés physico-chimiques des nanomatériaux jouent un rôle important dans la biocompatibilité et la toxicité engendrée sur l'organisme. Les interactions entre les nanoparticules et le système immunitaire peuvent potentiellement conduire à une immunosuppression, une hypersensibilité, une immunogénicité et une auto-immunité, impliquant à la fois des réponses immunitaires innées et adaptatives. Les risques émergents d'une toxicité à long terme liée à l'accumulation des particules dans l'organisme sont également essentiels à élucider. Par conséquent, la nanotoxicologie est devenue un domaine de recherche primordial pour l'évaluation de la sécurité de ces particules. En raison de la complexité structurelle et chimique des nanomédicaments, les outils réglementaires actuels classiques ne sont pas appropriés pour évaluer la sécurité de ces formulations. Il est indispensable d'investiguer les mécanismes de toxicité des nanoparticules et de développer des tests d'immunotoxicité standardisés avec des nanomédicaments sans contamination et des contrôles appropriés afin de comprendre et de prévenir au mieux ces toxicités. Dans l'attente de combler ces lacunes, des taux de perfusion plus lents et la co-administration d'antihistaminiques ou de corticostéroïdes peuvent être adoptés lors de

l'administration de nanomédicaments chez l'homme pour contrer ces effets indésirables d'origine immunologique.

D'autres défis non exposés jusqu'ici ne restent pas moins importants pour accélérer le développement et la commercialisation de nanomédicaments. En effet, le procédé de fabrication de nanomédicaments est également un obstacle majeur. La production à grande échelle est difficile et la reproductibilité est très faible entre chaque lot de nanoformulations. En outre, le design et les matières premières utilisées pour ce type de formulation rendent la production très coûteuse.

Nous sommes peut-être encore loin du rêve de la « Magic Bullet » de Paul Ehrlich ; cependant, les progrès de la nanomédecine permettent aujourd'hui d'allier nanomédicaments et thérapie génique ainsi qu'immunothérapie et d'utiliser certains effets immunologiques à notre avantage. En fin de compte, en rassemblant d'une part les stratégies de l'immunothérapie pour surmonter les obstacles de l'immunité tumorale et d'autre part les capacités multifonctionnelles de la nanotechnologie tout en prenant en compte les avancées des dernières années, l'intersection de ces domaines est très prometteuse pour l'avenir (Hong *et al.*, 2019). A l'aide des recherches et des progrès continus, une nouvelle génération de nanomédecine à conception intelligente pourra peut-être fournir de meilleures stratégies de gestion du cancer et des traitements personnalisés.

Annexe 1 - Les différentes associations ligands/ cibles étudiées dans la littérature permettant un ciblage actif

Cible			Ligand	Exemple de formes étudiées	Références
Cible de l'angiogenèse	VEGFR Récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire	VEGFR-2	Anticorps monoclonal anti-VEGFR2	Liposomes encapsulant le cisplatine	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Glioblastome): Shein <i>et al.</i> , 2016
				Nanoparticules de silice mésoporeuses	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Cancer de la thyroïde) : Wang <i>et al.</i> , 2020
		VEGFR-121/VEGFR KDR	Peptide K237	Nanoparticules polymériques (PEG-PLA) encapsulant le paclitaxel	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Cancer du sein) : Yu <i>et al.</i> , 2010

Cible de l'angiogenèse	Récepteur des Intégrines $\alpha v \beta 3$		cRGDyK Peptide à séquence RGD (Arginine-Glycine-Acide aspartique)	Nanoparticules d'oxyde de fer magnétiques	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Glioblastome) : Chen <i>et al.</i> , 2019
			Peptide h2009.1	Liposomes encapsulant la doxorubicine	Etude préclinique <i>in vivo</i> (Cancer du poumon non à petites cellules) : Gray <i>et al.</i> , 2013
	MMP Récepteurs matriciels des métalloprotéinases	MT1-MMP	Fab'222-18: anticorps monoclonal anti-MT1-MMP	Immunoliposomes PEGylés encapsulant la doxorubicine	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> : Hatakeyama <i>et al.</i> , 2007
		MT2-MMP	Chlorotoxine	Nanoparticules polymériques encapsulant le gène de la méltine	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Cancer de la prostate) : Tarokh <i>et al.</i> , 2017

Cible de l'angiogenèse	VCAM-1 Molécule d'adhésion des cellules vasculaires	Aptamères anti-VCAM-1	Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (SPIONs)	Etude préclinique <i>in vivo</i> (Cancer du sein) : Chinnappan <i>et al.</i> 2020
	CD13 Récepteurs de l'aminopeptidase N	Peptide NGR	Nanoparticules polymériques PEGylées (PLGA-PEG) encapsulant le docétaxel	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Tumeurs solides) : Gupta <i>et al.</i> , 2014
Cible des marqueurs de prolifération cellulaire incontrôlée	HER-2 Récepteur épidermique humain 2	Anticorps monoclonal anti-HER2 (Fab) : Trastuzumab Fab' fragments de trastuzumab	Liposomes encapsulant la doxorubicine	Etude préclinique <i>in vivo</i> : Kirpotin <i>et al.</i> , 2006 Cancer du sein Ahmed <i>et al.</i> , 2015
			MM-302 Liposomes PEGylés encapsulant la doxorubicine	Etude clinique de phase II (Cancer du sein) : NCT02213744 (abandonné)

Cible des marqueurs de prolifération cellulaire incontrôlée	EGFR Récepteur du facteur de croissance épidermique	EGF Facteur de croissance	Nanoparticules encapsulant de la gemcitabine	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Cancer du sein) : Sandoval <i>et al.</i> , 2012
		Anticorps ciblés anti-EGFR	Micelles (Quantum Dots) encapsulant l'aminoflavine	Etude préclinique <i>in vivo</i> (Cancer du sein) : Wang <i>et al.</i> , 2017
			TargomiRs : Minicellules d'anticorps bispécifiques anti - EGFR (nanoparticules dérivées de bactéries) encapsulant un microARN basé sur miR - 16	Etude clinique de Phase I (Cancer du poumon non à petites cellules, mésothéliomes) : NCT02369198
	TfR Récepteur de la transferrine	Transferrine	Nanoparticules polymériques de chitosan PEGylées encapsulant le	Etude préclinique <i>in vitro</i> (cancer du poumon) : Nag <i>et</i>

Cible des marqueurs de prolifération cellulaire incontrôlée	TfR Récepteur de la transferrine	Transferrine	paclitaxel	<i>al.</i> , 2016
			SGT-53 : Liposomes cationiques chargés avec un anticorps anti-récepteur de la transferrine encapsulant une séquence d'ADN p53 de type sauvage	Etude clinique de Phase I (Tumeurs solides) : Pirollo <i>et al.</i> , 2016)
	Nucléoline	Aptamère AS1411	Nanosphères d'or	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Cancer du sein) : Malik <i>et al.</i> , 2015
	FAR Récepteur du folate	Folate Vitamine B9	Nanoparticules d'or encapsulant la doxorubicine	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Cancer du sein) : Banu <i>et al.</i> , 2015

Cible des cellules tumorales	Tumeurs solides	Récepteur CD44	Acide hyaluronique	Micelles, hydrogels, et nanoparticules inorganiques	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Cancers) : Kim <i>et al.</i> , 2018
				Liposomes thermosensibles encapsulant le paclitaxel (HA-PTX)	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Métastases) : Lv <i>et al.</i> , 2018
	Carcinomes hépatocellulaires	ASGR Récepteur d'asialoglycoprotéine	Galactose	Nanoparticules de sélénium encapsulant la doxorubicine	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Carcinome hépatocellulaire) : Xia <i>et al.</i> , 2019
	Cancers du sein	LHRHR Récepteur de l'hormone de libération de l'hormone lutéinisante LHRH)	LHRH	Nanoparticules magnétiques PEGylées	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Cancer du sein) : Hu <i>et al.</i> , 2018

Cible des cellules tumorales	Carcinomes du sein, cancers rénaux, glioblastomes, cancers de la tête et du cou	IL-4Rα Récepteur de l'interleukine 14	Peptide AP-1	Liposomes encapsulant la doxorubicine	Etudes précliniques <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> (cancer colorectal) : Chiah-Yang <i>et al.</i> , 2015
	Cancers du poumon et de la prostate	Récepteur transmembranaire sigma-1	Anisamide	Cyclodextrines PEGylées encapsulant du siARN	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Cancer de la prostate) : Fitzgerald <i>et al.</i> , 2016
	Cancers du côlon, Cancers de la prostate, du sein et carcinomes du poumon	Récepteur PSMA Récepteur du « <i>prostate-specific membrane antigen-1</i> »	PSMA-1	Nanoparticules d'or	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (cancer de la prostate) : Mangadlao <i>et al.</i> , 2018
				Nanoparticules polymériques encapsulant le docétaxel : BIND-014	Etude clinique de Phase II (Cancer de la prostate) : Autio <i>et al.</i> , 2018

Cible des cellules tumorales	Glioblastome	Récepteur des lipoprotéines à basse densité (LRP) à la surface des cellules endothéliales capillaires cérébrales	Angiopep-2 (Capacité de transport élevé à travers la barrière hémato encéphalique)	Nanoparticules polymériques PEGylées (PEG-b-PCL)	Etude préclinique <i>in vivo</i> (Lymphome) : Shi <i>et al.</i> , 2020
		Récepteur de l'interleukine 13 : IL-13R α 2	Peptide IL-13	Nanoparticules polymériques encapsulant le docétaxel (PEG-PCL)	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Glioblastome) : Gao <i>et al.</i> , 2014
	Cancer du pancréas	Récepteur CD47	Anticorps anti-CD47	Nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer couplées à la gemcitabine	Etude préclinique <i>in vitro</i> (Cancer du pancréas) : Trabulo <i>et al.</i> , 2017
	Cancer du poumon, cancer du sein, cancer du pancréas et des ovaires	GRPR Récepteur peptidique de la libération de la gastrine (« <i>Gastrin releasing peptide Receptor</i> »)	Peptide antagoniste du GRPR (peptide bombésine)	Liposomes PEGylés	Etude préclinique <i>in vivo</i> (Cancer du poumon) : Akbar <i>et al.</i> , 2019

Cible des cellules tumoraux	Lymphomes et leucémies	Récepteur SR-B1	HDL synthétique (faible teneur en ester de cholestérol)	Nanoparticules lipidiques	Etudes précliniques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (Lymphomes) : McMahon <i>et al.</i> , 2017
-----------------------------------	---------------------------	-----------------	---	------------------------------	--

Annexe 2 Les nanomédicaments en oncologie actuellement en cours d'essais cliniques

(adapté et mis à jour à partir de « *Nanoparticles to Improve the Efficacy of Peptide-Based Cancer Vaccines* », Tornosello *et al.*, 2020; « *Immunomodulatory Nanosystems* » Feng *et al.*, 2019; « *Engineering Nanoparticles for Targeted Delivery of Nucleic Acid Therapeutics in Tumor* » Xiao *et al.*, 2019 et « *Nanoparticles in the clinic: An update* » Anselmo et Mitragotri, 2019)

Type	Nom du produit (Compagnie)	Description	Indication	Essais cliniques
Les nanoparticules encapsulées	CRLX101 (Cerulean)	Cyclodextrines polymériques encapsulant la camptothécine	Cancers des ovaires	NCT02389985 : Phase I/II NCT01652079 : Phase II (en association avec bevacizumab)
			Cancers de la prostate	NCT03531827 : Phase II (en association avec enzalutamide)

Les nanoparticules encapsulées	CRLX101 (Cerulean)	Cyclodextrines polymériques encapsulant la camptothécine	Carcinomes rénaux métastatiques	NCT01625936 : Phase I (en association avec bevacizumab) NCT02187302 : Phase II (en association avec bevacizumab)
			Cancers de l'estomac, gastro-œsophagiens ou œsophagiens avancés ou métastatiques	NCT01612546 : Phase II
			Cancers du poumon à petites cellules	NCT02769962 : Phase I/II (en association avec olaparib)
			Cancers du poumon non à petites cellules	NCT01380769 : Phase II
			Tumeurs solides	NCT00333502 : Phase I/II
			Cancers rectaux	NCT02010567 : Phase I/II (en association avec capecitabine et radiothérapie)

Les nanoparticules encapsulées	ABI-009 (Aadi avec Celgene)	Nanoparticules d'albumine liées au sirolimus	Tumeurs solides	NCT00635284 : Phase I NCT02975882 : Phase I (en association avec temozolomide et irinotecan)
			Néoplasmes malins des cellules épithélioïdes périvasculaires, Sarcomes, Cancers du poumon non à petites cellules, Cancers du poumon à petites cellules, Carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou, hépatocellulaires, cancers colo rectaux métastatiques etc.	NCT02646319 : Phase I NCT03190174 : Phase I/II (en association avec nivolumab)
			Néoplasmes malins des cellules épithélioïdes périvasculaires	NCT02494570 : Phase II
			Cancers de la vessie	NCT02009332 : Phase I/II
			Tumeurs neuroendocrines	NCT03670030 : Phase II

Les nanoparticules encapsulées	ABI-009 (Aadi avec Celgene)	Nanoparticules d'albumine liées au sirolimus	Cancers colorectaux	NCT03439462 : Phase I/II
			Glioblastomes	NCT03463265 : Phase II
			Sarcomes	NCT03660930 : Phase I/II (en association avec pazopanib hydrochloride)
	FF-10832 (Fujifilm Pharmaceuticals)	Liposomes encapsulant la gemcitabine	Tumeurs solides	NCT03440450 : Phase I
	ABI-011 / IDN5404 (NantBioScience)	Nanoparticules d'albumine liées à un analogue de la thiocolchicine	Tumeurs solides et lymphomes	NCT01163071 : Phase I

Les nanoparticules encapsulées	PROMITIL (Lipomedix Pharmaceuticals)	Liposomes PEGylés encapsulant de la mitomycine C	Tumeurs solides	NCT01705002 : Phase I (en association avec capecitabine ou bevacizumab) NCT03823989 : Phase I (en association avec la radiothérapie)
	E7389-LF (Eisai)	Liposomes encapsulant l'éribuline mesylate	Tumeurs solides	NCT01945710 : Phase I NCT04078295 : Phase I/II (en association avec nivolumab) (immunothérapie) NCT03207672 : Phase I
	Annamycine liposomale	Liposomes encapsulant l'annamycine	Cancers du sein	NCT00012129 : Phase I/II

Les nanoparticules encapsulées	Annamycine liposomale (Moleculin Biotech)	Liposomes encapsulant l'annamycine	Leucémies lymphocytaires ou myéloïdes aiguës	NCT00271063 : Phase I/II NCT03315039 : Phase I/II NCT03388749 : Phase I/II
	IMX-110 (Immix Biopharma Australia)	Micelles encapsulant NF-kB/Stat3/inhibiteur de la polytyrosine kinase curcumine et de la doxorubicine à faible dose	Tumeurs solides	NCT03382340 : Phase I
	IT-141 (Intezyne Technologies)	Micelles encapsulant SN-38	Cancers avancés	NCT03096340 : Phase I
	Lipocurc (SignPath Pharma)	Liposomes de curcumine	Tumeurs solides	NCT02138955 : Phase I/II

Les nanoparticules encapsulées	LiPlaCis (LiPlasome Pharma)	Liposomes encapsulant le cisplatine avec libération de médicament spécifique contrôlée par dégradation via la phospholipase A2 (PLA2)	Tumeurs solides et cancers du sein	NCT01861496 : Phase I/II
	AZD2811 (AstraZeneca en association avec Pfizer's)	Nanoparticules polymériques (accurine) encapsulant l'inhibiteur de la kinase aurora B	Tumeurs solides	NCT02579226 : Phase I
			Leucémies	NCT03217838 : Phase I (en association ou non avec azacitidine et venetoclax)

Les nanoparticules encapsulées	<p>Cynviloq (IG-001) (Sorrento) /</p> <p>Genexol-PM (Samyang Biopharmaceuticals)</p> <p>Genexol-TM est approuvé en Corée du Sud dans le traitement de cancer du sein et du poumon non à petites cellules</p>	Nanoparticules polymériques de paclitaxel	Cancers du sein	<p>NCT02064829 : bioéquivalence de l'IG-001 par rapport au nab-paclitaxel</p> <p>NCT00876486 : Phase III</p> <p>NCT01784120 : Phase II (en association avec Doxorubicine)</p> <p>NCT01169870 : Phase II</p> <p>NCT00912639 : Phase IV</p>
			Cancers du pancréas	<p>NCT00882973 : Phase I</p> <p>NCT02739633 : Phase II (en association avec Gemcitabine)</p>
			Carcinomes hépatocellulaire	NCT03008512 : Phase 2
			Cancers de la vessie et Cancers de l'uretère	NCT01426126 : Phase II

Les nanoparticules encapsulées	<p>Cynviloq (IG-001) (Sorrento) /</p> <p>Genexol-PM (Samyang Biopharmaceuticals)</p> <p>Genexol-TM est approuvé en Corée du Sud dans le traitement de cancer du sein et du poumon non à petites cellules</p>	Nanoparticules polymériques de paclitaxel	Cancers du poumon non à petites cellules	<p>NCT01770795 : Phase II (en association avec Gemcitabine)</p> <p>NCT01023347 : Phase II</p>
			Cancers gynécologiques et ovariens	<p>NCT02739529 : Phase I</p> <p>NCT00877253 : Phase I (en association avec carboplatine)</p> <p>NCT01276548 : Phase II (en association avec carboplatine)</p>
			Carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou localement avancé	NCT01689194 : Phase II (en association avec le cisplatine)

Les nanoparticules encapsulées	NC-6004 Nanoplatin (Nanocarrier)	Micelles de polyaminoacide PEGylées encapsulant le cisplatine	Cancers de la tête et du cou	<p>NCT03109158 : Phase I/II (en association avec cetuximab et 5-FU)</p> <p>NCT02817113 : Phase I (en association avec cetuximab et 5-FU)</p> <p>NCT03771820 : Phase II (en association avec pembrolizumab)</p>
			Tumeurs solides	NCT02240238 : Phase I/II (en association avec gemcitabine)
			Cancers du pancréas	<p>NCT00910741 : Phase I/II (en association avec gemcitabine)</p> <p>NCT02043288 : Phase III (en association avec gemcitabine)</p>

Les nanoparticules encapsulées	NC-4016 DACH-Platin micelle (Nanocarrier)	Micelles de polyaminoacide PEGylée encapsulant l'oxaliplatine	Cancers solides avancés et lymphomes	NCT03168035 : Phase I
	NK105 (Nippon Kayaku)	Micelles de paclitaxel	Cancers du sein	NCT01644890 : Phase III
	Docetaxel-PM / DOPNP201 (Samyang Biopharmaceuticals)	Micelles de docétaxel	Cancers de la tête et du cou	NCT02639858 : Phase II NCT03585673 : Phase II (en association avec oxaliplatine)
			Tumeurs solides	NCT02274610 : Phase I (en association avec taxotere)
	CriPec CPC634 (Cristal Therapeutics)	Micelles de docétaxel	Tumeurs solides	NCT02442531 : Phase I NCT03712423 : Phase I
			Cancers des ovaires	NCT03742713 : Phase II

Les nanoparticules encapsulées	C225-ILs-dox / anti-EGFR-IL-dox (Swiss group for clinical research, University hospital, Basel, Switzerland)	Immunoliposomes anti-EGFR (« <i>Epidermal Growth Factor</i> ») chargés de doxorubicine	Glioblastomes	NCT03603379 : Phase I
			Cancers du seins	NCT02833766 : Phase II
	Talidox/TLD-1 (InnoMedica)	Liposomes encapsulant la doxorubicine	Tumeurs solides	NCT03387917 : Phase I
	NC-6300 (NanoCarrier)	Micelles encapsulant l'épirubicine	Tumeurs solides et sarcomes	NCT03168061 : Phase I/II
	BIND-014 (BIND Therapeutics)	Nanoparticules de PEG-PGLA ou PLA-PEG ciblant PSMA (« <i>Prostate Specific Membrane Antigen</i> ») encapsulant le docétaxel	Cancers avancés ou métastatiques	NCT01300533 : Phase I
			Cancers de la prostate	NCT01812746 : Phase II
			Carcinomes urothéliaux avancés, cancers du col de l'utérus, cholangiocarcinomes ; carcinomes de l'arbre biliaire et carcinomes épidermoïde de la tête et du cou.	NCT02479178 : Phase II

Les nanoparticules encapsulées	BIND-014 (BIND Therapeutics)	Nanoparticules de PEG-PGLA ou PLA-PEG ciblant PSMA (« <i>Prostate Specific Membrane Antigen</i> ») encapsulant le docétaxel	Cancers du poumon non à petites cellules épidermoïdes	NCT02283320 : Phase II NCT01792479 : Phase II
Les nanoparticules associées à la thérapie génique	GPX-001 (Genprex)	Liposomes cationiques encapsulant le gène TUSC2	Carcinomes et cancers du poumon non à petites cellules	NCT04486833 : Phase I/II (en association avec osimertinib)
	TKM080301 (Arbutus Biopharma)	Liposomes encapsulant un siARN ciblant la polo-like kinase 1 (PLK1)	Cancers colorectaux / Cancers du pancréas / Cancers gastriques / Cancers du sein / Cancers de l'ovaire inopérables avec métastase hépatique	NCT01437007 : phase I
			Carcinomes hépatocellulaire	NCT02191878 : Phase I / II
			Tumeurs solides ou lymphomes puis Tumeurs neuroendocrines (TNE) et carcinomes corticosurrénalien (ACC)	NCT01262235

Les nanoparticules associées à la thérapie génique	MTL-CEBPA (MiNA Therapeutics)	Liposomes encapsulant un siARN (CEPBA-51) pour réguler la transcription du gène CEBPA	Cancers du foie	NCT02716012 : Phase I
			Tumeurs solides	NCT04105335 : Phase I (en association avec pembrolizumab)
	siARN-EphA2- DOPC	Liposomes encapsulant un siARN ciblant le récepteur 2 de l'éphrine de type A (EphA2)	Tumeurs solides	NCT01591356 : Phase I
	NU-0129 (Northwestern)	Nanoparticules d'or encapsulant un siARN ciblant l'oncogène GBM BCL2L12	Glioblastomes	NCT03020017 : Phase I
	PNT2258 (ProNAi Therapeutics)	Liposomes encapsulant de l'ADN (PNT100) ciblant BCL-2	Lymphomes	NCT01191775 : Phase I NCT02226965 : Phase II NCT01733238 : Phase 2 NCT02378038 : Phase 2

Les nanoparticules associées à la thérapie génique	BP1001 (Bio-Path Holdings)	Liposomes encapsulant un oligonucléotide antisens lié au récepteur du facteur de croissance 2 (Grb-2)	Tumeurs solides	NCT04196257 : Phase I (en association avec le paclitaxel)
			Leucémies	NCT02923986 : Phase I/II (en association avec le dasatinib)
				NCT02781883 : Phase II (en association avec ventoclax et decitabine)
				NCT01159028 : Phase I
	Atu027 (Silence Therapeutics GmbH)	Liposomes d'AtuARNi ciblant le PKN3 dans l'endothélium vasculaire	Tumeurs solides	NCT00938574 : Phase I
			Cancers du pancréas	NCT01808638 : Phase I en association avec Gemcitabine
	SGT-53 (SynerGene Therapeutics)	Liposomes cationiques chargés avec un anticorps anti-récepteur de la transferrine encapsulant une séquence d'ADN p53	Tumeurs du système nerveux central	NCT03554707 : Phase I
			Tumeurs solides	NCT00470613 : Phase I
			Tumeurs du pancréas	NCT02340117 : Phase II

Les nanoparticules associées à la thérapie génique	SGT-53 (SynerGene Therapeutics)	Liposomes cationiques chargés avec un anticorps anti-récepteur de la transferrine encapsulant une séquence d'ADN p53	Néoplasmes	NCT02354547 : Phase I
			Glioblastomes	NCT02340156 : Phase II
	SGT-94 (SynerGene Therapeutics)	Liposomes chargés avec un anticorps anti-récepteur de la transferrine encapsulant de l'ADN plasmidique RB94	Néoplasmes	NCT01517464 : Phase I
	TargomiRs (EnGeneIC)	Nanoparticules dérivées de bactéries chargées avec des anticorps bispécifiques anti - EGFR encapsulant un microARN basé sur miR - 16	Mésothéliomes pleuraux malin Cancers du poumon non à petites cellules	NCT02369198 : Phase I

Les nanoparticules associées à la thérapie génique	siG12D LODER (Silenseed Ltd)	Nanoparticules polymériques encapsulant un siARN ciblant K-RAS	Cancers du pancréas	NCT01188785 : Phase I NCT01676259 : Phase II (en association avec gemcitabine et nab-paclitaxel)
	NL CPT-11 (University of California, San Francisco)	Liposomes encapsulant l'irinotecan ciblant le gène UGT1A1*28	Gliomes	NCT00734682 : Phase I
	STMN1-LP (Gradalis)	Lipoplex encapsulant pbi-shARN STMN1 ciblant le shARN STMN1	Cancers avancés	NCT01505153 : Phase I
	EWS/FLI1 Type 1 (Gradalis)	Lipoplex encapsulant un Pbi-shRNA Ciblant shARN EWS/FL11 type 1	Sarcomes d'Ewing	NCT02736565 : Phase I

Les nanoparticules sensibles à un stimuli	ThermoDox (Celsion)	Liposomes lyso-thermosensibles encapsulant de la doxorubicine	Cancers du sein	<p>NCT00826085 : Phase I/II (en association avec la thérapie)</p> <p>NCT02850419 : Phase II (en association avec la thérapie)</p> <p>NCT00346229 : Phase I (en association avec la thérapie)</p> <p>NCT03749850 : Phase I (en association avec la thérapie et cyclophosphamide)</p>
			Cancers colorectaux métastatiques	NCT01464593 : Phase II (en association avec la thermoablation)

Les nanoparticules sensibles à un stimuli	ThermoDox (Celsion)	Liposomes lyso-thermosensibles encapsulant de la doxorubicine	Carcinomes hépatocellulaires	<p>NCT00441376 : Phase I (en association avec l'ablation par radiofréquence)</p> <p>NCT02112656 : Phase III (en association avec l'ablation par radiofréquence)</p> <p>NCT00617981 : Phase III (en association avec l'ablation par radiofréquence)</p>
			Cancers du foie	<p>NCT02181075 : Phase I (en association avec la thérapie)</p> <p>NCT00093444 : Phase I (en association avec l'ablation par radiofréquence)</p>
			Tumeurs solides pédiatriques	NCT02536183 : Phase I (en association avec des ultrasons focalisés de haute intensité par résonance magnétique)

Les nanoparticules sensibles à un stimuli	ThermoDox (Celsion)	Liposomes lyso-thermosensibles encapsulant de la doxorubicine	Métastases osseuses	NCT01640847 : Phase II (en association avec des ultrasons focalisés à haute intensité)
	AuroLase (Nanospectra Biosciences) (Dispositif Médical)	Nanocoques de silice-or revêtues de PEG pour une ablation thermique facilitée par la lumière infrarouge proche des tumeurs	Cancers de la tête et du cou	NCT00848042 : Etude pilote
			Cancers du poumon	NCT01679470 : Etude pilote
			Cancers de la prostate	NCT04240639 : Phase pilote
	NBTXR3 (Nanobiotix) / PEP503 (PharmaEngine) Dispositif Médical en Europe et Médicament aux Etats-Unis : NBTXR3 a obtenu le marquage CE pour le traitement des sarcomes des tissus mous)	Nanoparticules d'oxyde d'hafnium stimulées par un rayonnement externe pour améliorer la mort des cellules tumorales via la production d'électrons	Cancers de la tête et du cou	NCT01946867 : Phase I/II (en association avec la radiothérapie) NCT02901483 : Phase I/II (en association avec le cisplatine et la radiothérapie)
			Cancers de la tête et du cou, Cancers du poumon	NCT03589339 : Phase I (en association avec une thérapie anti-PD-1 et la radiothérapie)

Les nanoparticules sensibles à un stimuli	NBTXR3 (Nanobiotix) / PEP503 (PharmaEngine) Dispositif Médical en Europe et Médicament aux Etats-Unis : NBTXR3 a obtenu le marquage CE pour le traitement des sarcomes des tissus mous)	Nanoparticules d'oxyde d'hafnium stimulées par un rayonnement externe pour améliorer la mort des cellules tumorales via la production d'électrons	Cancers rectaux	NCT02465593 : Phase I/II (en association avec 5-FU et capecitabine et la radiothérapie)
			Cancers du foie	NCT02721056 : Phase I/II (en association avec la radiothérapie)
			Cancers de la prostate	NCT02805894 : Phase I/II (en association avec la radiothérapie)
			Cancers du poumon non à petites cellules	NCT04505267 : Phase I (en association avec la radiothérapie)
			Cancers du pancréas	NCT04484909 : Phase I (en association avec la radiothérapie)
	AGuIX (National Cancer Institute, France/ NH TherAGuIX)	Nanoparticules constituées d'une matrice de polysiloxane et de chélates de gadolinium stimulées par un rayonnement externe pour améliorer la mort des cellules tumorales via la production d'électrons	Métastases du cerveau	NCT02820454 : Phase I (en association avec la radiothérapie)
				NCT03818386 : Phase II (en association avec la radiothérapie) NCT04094077 : Phase II (en association avec la radiothérapie)

Les nanoparticules sensibles à un stimuli	AGuIX (National Cancer Institute, France/ NH TherAGuIX)	Nanoparticules constituées d'une matrice de polysiloxane et de chélates de gadolinium stimulées par un rayonnement externe pour améliorer la mort des cellules tumorales via la production d'électrons	Cancers gynécologiques	NCT03308604 : Phase I, (en association avec la radiothérapie et le cisplatine)
	Magnablate	Nanoparticules de Fer magnétiques pour une ablation thermique facilitée des tumeurs	Cancers de la prostate	NCT02033447 : Phase 0
Les nanoparticules associées à l'immunothérapie	JVRS-100	Liposomes cationiques encapsulant un complexe d'ADN plasmidique pour la stimulation du système immunitaire	Leucémies	NCT00860522 : Phase I
	CYT-6091 / Aurimmune (CytImmune Sciences)	Nanoparticules d'or colloïdales PEGylées encapsulant le facteur de nécrose tumorale (TNF)	Tumeurs solides	NCT00356980 : Phase I NCT00436410 : Phase I

Les nanoparticules associées à l'immunothérapie	Lipo-MERIT (BioNTech)	Vaccin anticancéreux tétravalent ARN-lipoplex	Mélanomes	NCT02410733 : Phase I
	DPX-Survivac (IMV)	Vaccin anticancéreux composé d'antigènes peptidiques à base de survivine et d'un adjuvant encapsulé dans des liposomes	Lymphomes	NCT03349450 : Phase II (en association avec pembrolizumab et cyclophosphamide) NCT02323230 : Phase II (en association avec cyclophosphamide)
			Cancers des ovaires, du péritoine ou des trompes de Fallope	NCT02785250 : Phase I (en association avec cyclophosphamide) NCT01416038 : Phase I (en association avec cyclophosphamide) NCT03029403 : Phase II (en association avec cyclophosphamide et epacadostat)

Les nanoparticules associées à l'immunothérapie	DPX-Survivac (IMV)	Vaccin anticancéreux composé d'antigènes peptidiques à base de survivine et d'un adjuvant encapsulé dans des liposomes	Cancers des ovaires, Carcinomes hépatocellulaires, Cancers du poumon non à petites cellules, Cancers de la vessie	NCT03836352 : Phase II (en association avec pembrolizumab et cyclophosphamide)
	Oncoquest-L (XEME Biopharma)	Liposomes encapsulant des cellules tumorales du patient combinées à l'interleukine-2 (IL-2) pour activer les cellules B et T	Lymphomes	NCT02194751 : Phase II
	CHP-NY-ESO-1 / IMF-001 (ImmunoFrontier)	Vaccin peptidique anticancéreux composé de nanoparticules de pullulane hydrophobisé au cholestéryle (CHP) et d'antigène NY-ESO-1	Cancers de l'œsophage	NCT01003808 : Phase I
			Cancers de l'œsophage, Cancers du poumon, Cancers de l'estomac, Cancers du sein, Cancers de l'ovaire	NCT00291473 : Phase I
			Tumeurs solides	NCT01234012 : Phase I
			Néoplasmes	NCT00106158 : Phase I

Les nanoparticules associées à l'immunothérapie	Lipovaxin-MM (Lipotek Pty Ltd)	Vaccin anticancéreux composé de liposomes ciblé sur les cellules dendritiques	Mélanomes	NCT01052142 : Phase I
	EGFR(V)-EDV-Dox (EnGeneIC)	Nanoparticules dérivées de bactéries encapsulant la doxorubicine	Glioblastomes	NCT02766699 : Phase I

Bibliographie

- Ahmed S., Sami A., & Xiang J. (2015). HER2-directed therapy : Current treatment options for HER2-positive breast cancer. *Breast Cancer*, 22(2), 101-116.
- Akbar M. J., Lukasewicz Ferreira P. C., Giorgetti M., Stokes L., & Morris C. J. (2019). Bombesin receptor-targeted liposomes for enhanced delivery to lung cancer cells. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 10, 2553-2562.
- Akçan R., Aydoğan H. C., Yildirim M. Ş., Taştekin B., & Sağlam N. (2020). Nanotoxicity; a challenge for future medicine. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(4), 1180-1196.
- Al-Kassas R., Bansal M., & Shaw J. (2017). Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 260, 202-212.
- Anselmo A. C., & Mitragotri S. (2016). Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 1(1), 10-29.
- Anselmo A. C., & Mitragotri S. (2019). Nanoparticles in the clinic : An update. *Bioengineering & Translational Medicine*, 4(3). e10143.
- Anselmo A. C., Zhang M., Kumar S., Vogus D. R., Menegatti S., Helgeson M. E., *et al.* (2015). Elasticity of Nanoparticles Influences Their Blood Circulation, Phagocytosis, Endocytosis, and Targeting. *ACS Nano*, 9(3), 3169-3177.
- Attia M. F., Anton N., Wallyn J., Omran Z., & Vandamme T. F. (2019). An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(8), 1185-1198.

- Auffan M., Rose J., Orsiere T., Meo M. D., Thill A., Zeyons O. *et al.* (2009). CeO₂ nanoparticles induce DNA damage towards human dermal fibroblasts in vitro. *Nanotoxicology*, 3(2), 161-171.
- Austin L. A., Kang B., Yen C.-W., & El-Sayed M. A. (2011). Nuclear Targeted Silver Nanospheres Perturb the Cancer Cell Cycle Differently than Those of Nanogold. *Bioconjugate Chemistry*, 22(11), 2324-2331.
- Autio K. A., Dreicer R., Anderson J., Garcia J. A., Alva A., Hart L. L. *et al.* (2018). Safety and Efficacy of BIND-014, a Docetaxel Nanoparticle Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen for Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer : A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncology*, 4(10), 1344-1351.
- Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y. J. *et al.*, (2000). Immunobiology of dendritic cells. *Annual Review of Immunology*, 18, 767-811.
- Banu H., Sethi D. K., Edgar A., Sheriff A., Rayees N., Renuka, N. *et al.* (2015). Doxorubicin loaded polymeric gold nanoparticles targeted to human folate receptor upon laser photothermal therapy potentiates chemotherapy in breast cancer cell lines. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 149, 116-128.
- Bartneck M., Keul H. A., Zwadlo-Klarwasser G., & Groll J. (2010). Phagocytosis independent extracellular nanoparticle clearance by human immune cells. *Nano Letters*, 10(1), 59-63.
- Bhattacharyya S., Khan J. A., Curran G. L., Robertson J. D., Bhattacharya R., & Mukherjee P. (2011). Efficient delivery of gold nanoparticles by dual receptor targeting. *Advanced materials*, 23(43), 5034-5038.

- Black K. C. L., Wang Y., Luehmann H. P., Cai X., Xing W., Pang B. *et al.* (2014). Radioactive ¹⁹⁸Au-doped nanostructures with different shapes for in vivo analyses of their biodistribution, tumor uptake, and intratumoral distribution. *ACS Nano*, 8(5), 4385-4394.
- Bonvalot S., Le Pechoux C., De Baere T., Kantor G., Buy X., Stoeckle E. *et al.* (2017). First-in-Human Study Testing a New Radioenhancer Using Nanoparticles (NBTXR3) Activated by Radiation Therapy in Patients with Locally Advanced Soft Tissue Sarcomas. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 23(4), 908-917.
- Boraschi D., Alijagic A., Auguste M., Barbero F., Ferrari E., Hernadi S., *et al.* (2020). Addressing Nanomaterial Immunosafety by Evaluating Innate Immunity across Living Species. *Small (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 16(21), e2000598.
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A., & Jemal A. (2018). Global cancer statistics 2018 : GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424.
- Carlson C., Hussain S. M., Schrand A. M., Braydich-Stolle L. K., Hess K. L., Jones R. L. *et al.* (2008). Unique cellular interaction of silver nanoparticles : Size-dependent generation of reactive oxygen species. *The Journal of Physical Chemistry. B*, 112(43), 13608-13619.
- Caron J., Maksimenko A., Wack S., Lepeltier E., Bourgaux C., Morvan E., *et al.* (2013). Improving the antitumor activity of squalenoyl-paclitaxel conjugate nanoassemblies by manipulating the linker between paclitaxel and squalene. *Advanced Healthcare Materials*, 2(1), 172-185.

- Chang H., Ho C.-C., Yang C. S., Chang W.-H., Tsai M.-H., Tsai H.-T. *et al.* (2013). Involvement of MyD88 in zinc oxide nanoparticle-induced lung inflammation. *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, 65(6), 887-896.
- Chen L., Wu Y., Wu H., Li J., Xie J., Zang F. *et al.* (2019). Magnetic targeting combined with active targeting of dual-ligand iron oxide nanoprobe to promote the penetration depth in tumors for effective magnetic resonance imaging and hyperthermia. *Acta Biomaterialia*, 96, 491-504.
- Chen R., Huo L., Shi X., Bai R., Zhang Z., Zhao Y. *et al.* (2014). Endoplasmic Reticulum Stress Induced by Zinc Oxide Nanoparticles Is an Earlier Biomarker for Nanotoxicological Evaluation. *ACS Nano*, 8(3), 2562-2574.
- Chinnappan R., Al Faraj A., Abdel Rahman A. M., Abu-Salah K. M., Mouffouk F., & Zourob M. (2020). Anti-VCAM-1 and Anti-IL4R α Aptamer-Conjugated Super Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Enhanced Breast Cancer Diagnosis and Therapy. *Molecules*, 25(15).
- Cho W.-S., Duffin R., Howie S. E. M., Scotton C. J., Wallace W. A. H., Macnee W. *et al.* (2011). Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn²⁺ dissolution inside lysosomes. *Particle and Fibre Toxicology*, 8, 27.
- Chuang C.-Y., Don T.-M., & Chiu W.-Y. (2009). Synthesis and properties of chitosan-based thermo- and pH-responsive nanoparticles and application in drug release. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(11), 2798-2810.

Couvreur, P., *Les nanomédicaments : Une approche intelligente pour le traitement des maladies sévères*, Collège de France. 2010.

Danhier F. (2016). To exploit the tumor microenvironment : Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 244(Pt A), 108-121.

Deirram N., Zhang C., Kermaniyan S. S., Johnston A. P. R., & Such G. K. (2019). PH-Responsive Polymer Nanoparticles for Drug Delivery. *Macromolecular Rapid Communications*, 40(10), e1800917.

Deng Z. J., Liang M., Monteiro M., Toth I., & Minchin R. F. (2011). Nanoparticle-induced unfolding of fibrinogen promotes Mac-1 receptor activation and inflammation. *Nature Nanotechnology*, 6(1), 39-44.

Derakhshankhah H., Hosseini A., Taghavi F., Jafari S., Lotfabadi A., Ejtehadi M. R. *et al.* (2019). Molecular interaction of fibrinogen with zeolite nanoparticles. *Scientific Reports*, 9(1), 1558.

Desai N., Trieu V., Damascelli B., & Soon-Shiong P. (2009). SPARC Expression Correlates with Tumor Response to Albumin-Bound Paclitaxel in Head and Neck Cancer Patients. *Translational Oncology*, 2(2), 59-64.

Dobrovolskaia M. A. (2015). Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs : Challenges, considerations and strategy. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 220(Pt B), 571-583.

- Dobrovolskaia M. A., & McNeil S. E. (2015). Immunological and hematological toxicities challenging clinical translation of nucleic acid-based therapeutics. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 15(7), 1023-1048.
- Dobrovolskaia M. A., Shurin M., & Shvedova A. A. (2016). Current understanding of interactions between nanoparticles and the immune system. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 299, 78-89.
- Dong L., Tang S., Deng F., Gong Y., Zhao K., Zhou J. *et al.* (2019). Shape-dependent toxicity of alumina nanoparticles in rat astrocytes. *Science of The Total Environment*, 690, 158-166.
- Dukhin S. S., & Labib M. E. (2013). Convective diffusion of nanoparticles from the epithelial barrier towards regional lymph nodes. *Advances in colloid and interface science*, 0, 23-43.
- Dunbar C. E., High K. A., Joung J. K., Kohn D. B., Ozawa K., & Sadelain M. (2018). Gene therapy comes of age. *Science*, 359(6372).
- El-Readi M. Z., & Althubiti M. A. (2019). *Cancer Nanomedicine : A New Era of Successful Targeted Therapy* ,Journal of Nanomaterials, 2019.
- Farooq M. U., Novosad V., Rozhkova E. A., Wali H., Ali A., Fateh A. A. *et al.* (2018). Gold Nanoparticles-enabled Efficient Dual Delivery of Anticancer Therapeutics to HeLa Cells. *Scientific Reports*, 8(1), 2907.
- Feng X., Xu W., Li Z., Song W., Ding J., & Chen, X. (2019). Immunomodulatory Nanosystems. *Advanced science*, 2019, 6(17), 19001101

- Field J. A., Luna-Velasco A., Boitano S. A., Shadman F., Ratner B. D., Barnes C *et al.* (2011). Cytotoxicity and physicochemical properties of hafnium oxide nanoparticles. *Chemosphere*, 84(10), 1401-1407.
- Firestone R. A. (1994). Low-Density Lipoprotein as a Vehicle for Targeting Antitumor Compounds to Cancer Cells. *Bioconjugate Chemistry*, 5(2), 105-113.
- Fitzgerald K. A., Malhotra M., Gooding M., Sallas F., Evans J. C., Darcy R. *et al.* (2016). A novel, anisamide-targeted cyclodextrin nanoformulation for siRNA delivery to prostate cancer cells expressing the sigma-1 receptor. *International Journal of Pharmaceutics*, 499(1-2), 131-145.
- Gabizon A., Shmeeda H., & Barenholz Y. (2003). Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin : Review of animal and human studies. *Clinical Pharmacokinetics*, 42(5), 419-436.
- Gao H., Zhang S., Yang Z., Cao S., Jiang X., & Pang Z. (2014). In vitro and in vivo intracellular distribution and anti-glioblastoma effects of docetaxel-loaded nanoparticles functioned with IL-13 peptide. *International Journal of Pharmaceutics*, 466(1-2), 8-17.
- Gao N., Bozeman E. N., Qian W., Wang L., Chen H., Lipowska M. *et al.* (2017). Tumor Penetrating Theranostic Nanoparticles for Enhancement of Targeted and Image-guided Drug Delivery into Peritoneal Tumors following Intraperitoneal Delivery. *Theranostics*, 7(6), 1689-1704.
- Gao Y., Yang C., Liu X., Ma R., Kong D., & Shi L. (2012). A multifunctional nanocarrier based on nanogated mesoporous silica for enhanced tumor-specific uptake and intracellular delivery. *Macromolecular Bioscience*, 12(2), 251-259.

- García-Saucedo C., Field J. A., Otero-Gonzalez L., & Sierra-Álvarez R. (2011). Low toxicity of HfO₂, SiO₂, Al₂O₃ and CeO₂ nanoparticles to the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Hazardous Materials*, 192(3), 1572-1579.
- Ghorbani M., & Hamishehkar H. (2017). Redox and pH-responsive gold nanoparticles as a new platform for simultaneous triple anti-cancer drugs targeting. *International Journal of Pharmaceutics*, 520(1-2), 126-138.
- Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C., Abate D., Abbasi N., Abbastabar H., Abd-Allah F. *et al.* (2019). Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017 : A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncology*, 5(12), 1749-1768.
- Gray B. P., McGuire M. J., & Brown K. C. (2013). A liposomal drug platform overrides peptide ligand targeting to a cancer biomarker, irrespective of ligand affinity or density. *PloS One*, 8(8), e72938.
- Gregoriadis G., Wills E. J., Swain C. P., & Tavill A. S. (1974). Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. *Lancet (London, England)*, 1(7870), 1313-1316.
- Gupta M., Chashoo G., Sharma P. R., Saxena A. K., Gupta P. N., Agrawal G. P. *et al.* (2014). Dual targeted polymeric nanoparticles based on tumor endothelium and tumor cells for enhanced antitumor drug delivery. *Molecular Pharmaceutics*, 11(3), 697-715.
- Gurr J.-R., Wang A. S. S., Chen C.-H., & Jan K.-Y. (2005). Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213(1), 66-73.

- Hainfeld J. F., Slatkin D. N., & Smilowitz H. M. (2004). The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Physics in Medicine and Biology*, 49(18), N309-315.
- Halamoda-Kenzaoui B., & Bremer-Hoffmann S. (2018). *Main trends of immune effects triggered by nanomedicines in preclinical studies*. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 5419-5431.
- Hamaguchi T., Kato K., Yasui H., Morizane C., Ikeda M., Ueno H. *et al.* (2007). A phase I and pharmacokinetic study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation. *British Journal of Cancer*, 97(2), 170-176.
- Hannon G., Lysaght J., Liptrott N. J., & Prina-Mello A. (2019). Immunotoxicity Considerations for Next Generation Cancer Nanomedicines. *Advanced Science*, 6(19), 1900133.
- Hao X., Zhang L., Zheng X., Zong W., & Liu C. (2018). Molecular mechanism of composite nanoparticles TiO₂/WO₃/GO-induced activity changes of catalase and superoxide dismutase. *Chemico-Biological Interactions*, 292, 30-36.
- Hatakeyama H., Akita H., Ishida E., Hashimoto K., Kobayashi H., Aoki T. *et al.* (2007). Tumor targeting of doxorubicin by anti-MT1-MMP antibody-modified PEG liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 342(1-2), 194-200.
- Hong E., & Dobrovolskaia M. A. (2019). Addressing barriers to effective cancer immunotherapy with nanotechnology : Achievements, challenges, and roadmap to the next generation of nanoimmunotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 141, 3-22.

- Hu J., Obayemi J. D., Malatesta K., Košmrlj A., & Soboyejo W. O. (2018). Enhanced cellular uptake of LHRH-conjugated PEG-coated magnetite nanoparticles for specific targeting of triple negative breast cancer cells. *Materials Science and Engineering: C*, 88, 32-45.
- Hu K., Zhou H., Liu Y., Liu Z., Liu J., Tang J. *et al.* (2015). Hyaluronic acid functional amphipathic and redox-responsive polymer particles for the co-delivery of doxorubicin and cyclophosphamide to eradicate breast cancer cells and cancer stem cells. *Nanoscale*, 7(18), 8607-8618.
- Huo S., Jin S., Ma X., Xue X., Yang K., Kumar A. *et al.* (2014). Ultrasmall gold nanoparticles as carriers for nucleus-based gene therapy due to size-dependent nuclear entry. *ACS Nano*, 8(6), 5852-5862.
- Jevprasesphant R., Penny J., Jalal R., Attwood D., McKeown N. B., & D'Emanuele A. (2003). The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMAM dendrimers. *International Journal of Pharmaceutics*, 252(1), 263-266.
- Jönsson F., Mancardi D. A., Kita Y., Karasuyama H., Iannascoli B., Van Rooijen N. *et al.* (2011). Mouse and human neutrophils induce anaphylaxis. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(4), 1484-1496.
- Kato K., Chin K., Yoshikawa T., Yamaguchi K., Tsuji Y., Esaki T. *et al.* (2012). Phase II study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, for previously treated advanced or recurrent gastric cancer. *Investigational New Drugs*, 30(4), 1621-1627.
- Kesharwani P., Banerjee S., Gupta U., Mohd Amin M. C. I., Padhye S., Sarkar F. H. *et al.* (2015). PAMAM dendrimers as promising nanocarriers for RNAi therapeutics. *Materials Today*, 18(10), 565-572.

- Kim J. H., Moon M. J., Kim D. Y., Heo S. H., & Jeong Y. Y. (2018). Hyaluronic Acid-Based Nanomaterials for Cancer Therapy. *Polymers*, 10(10).
- Kirpotin D. B., Drummond D. C., Shao Y., Shalaby M. R., Hong K., Nielsen U. B. *et al.* (2006). Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models. *Cancer Research*, 66(13), 6732-6740.
- Kuang H., Yang P., Yang L., Aguilar Z. P., & Xu H. (2016). Size dependent effect of ZnO nanoparticles on endoplasmic reticulum stress signaling pathway in murine liver. *Journal of Hazardous Materials*, 317, 119-126.
- Kuhn D. A., Vanhecke D., Michen B., Blank F., Gehr P., Petri-Fink A. *et al.* (2014). Different endocytotic uptake mechanisms for nanoparticles in epithelial cells and macrophages. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5(1), 1625-1636.
- Kumar M., Sharma G., Misra C., Kumar R., Singh B., Katare O. P. *et al.* (2018). N-desmethyl tamoxifen and quercetin-loaded multiwalled CNTs : A synergistic approach to overcome MDR in cancer cells. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 89, 274-282.
- Kuncic Z., & Lacombe S. (2018). Nanoparticle radio-enhancement : Principles, progress and application to cancer treatment. *Physics in Medicine and Biology*, 63(2), 02TR01.
- Kunzmann A., Andersson B., Thurnherr T., Krug H., Scheynius A., & Fadeel B. (2011). Toxicology of engineered nanomaterials : Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1810(3), 361-373.

- Li J., Liang H., Liu J., & Wang Z. (2018). Poly (amidoamine) (PAMAM) dendrimer mediated delivery of drug and pDNA/siRNA for cancer therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 546(1-2), 215-225.
- Lim D. G., Rajasekaran N., Lee D., Kim N. A., Jung H. S., Hong S. *et al.* (2017). Polyamidoamine-Decorated Nanodiamonds as a Hybrid Gene Delivery Vector and siRNA Structural Characterization at the Charged Interfaces. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(37), 31543-31556.
- Lin S.-Y., Chen N.-T., Sun S.-P., Chang J. C., Wang Y.-C., Yang C.-S. *et al.* (2010). The Protease-Mediated Nucleus Shuttles of Subnanometer Gold Quantum Dots for Real-Time Monitoring of Apoptotic Cell Death. *Journal of the American Chemical Society*, 132(24), 8309-8315.
- Liu J., Li J., Liu N., Guo N., Gao C., Hao Y. *et al.* (2017). In vitro studies of phospholipid-modified PAMAM-siMDR1 complexes for the reversal of multidrug resistance in human breast cancer cells. *International Journal of Pharmaceutics*, 530(1-2), 291-299.
- Liu Y., Yu H., Zhang X., Wang Y., Song Z., Zhao J. *et al.* (2018). The protective role of autophagy in nephrotoxicity induced by bismuth nanoparticles through AMPK/mTOR pathway. *Nanotoxicology*, 12, 586–601.
- Liu Y., Zhang P., Li F., Jin X., Li J., Chen W. *et al.* (2018). Metal-based NanoEnhancers for Future Radiotherapy: Radiosensitizing and Synergistic Effects on Tumor Cells. *Theranostics*, 8(7), 1824-1849.

- Lucarelli M., Gatti A. M., Savarino G., Quattroni P., Martinelli L., Monari E. *et al.* (2004). Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles. *European Cytokine Network*, 15(4), 339-346.
- Luo Y.-H., Chang L. W., & Lin P. (2015). Metal-Based Nanoparticles and the Immune System : Activation, Inflammation, and Potential Applications. *BioMed Research International*, 2015, 143720.
- Lv Y., Xu C., Zhao X., Lin C., Yang X., Xin X. *et al.* (2018). Nanoplatfrom Assembled from a CD44-Targeted Prodrug and Smart Liposomes for Dual Targeting of Tumor Microenvironment and Cancer Cells. *ACS Nano*, 12(2), 1519-1536.
- Maggiorella L., Barouch G., Devaux C., Pottier A., Deutsch E., Bourhis J. *et al.* (2012). Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles. *Future Oncology (London, England)*, 8(9), 1167-1181.
- Maksimenko A., Alami M., Zouhiri F., Brion J.-D., Pruvost A., Mougin J. *et al.* (2014). Therapeutic Modalities of Squalenoyl Nanocomposites in Colon Cancer : An Ongoing Search for Improved Efficacy. *ACS Nano*, 8(3), 2018-2032.
- Malik M. T., O'Toole M. G., Casson L. K., Thomas S. D., Bardi G. T., Reyes-Reyes E. M. *et al.* (2015). AS1411-conjugated gold nanospheres and their potential for breast cancer therapy. *Oncotarget*, 6(26), 22270-22281.
- Mangadlao J. D., Wang X., McCleese C., Escamilla M., Ramamurthy G., Wang Z. *et al.* (2018). Prostate-Specific Membrane Antigen Targeted Gold Nanoparticles for Theranostics of Prostate Cancer. *ACS Nano*, 12(4), 3714-3725.

- Martinon F., Burns K., & Tschopp J. (2002). The inflammasome : A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Molecular Cell*, 10(2), 417-426.
- McMahon K. M., Scielzo C., Angeloni N. L., Deiss-Yehiely E., Scarfo L., Ranghetti P. *et al.* (2017). Synthetic high-density lipoproteins as targeted monotherapy for chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*, 8(7), 11219-11227.
- Moghimi S. M., & Simberg D. (2017). Complement activation turnover on surfaces of nanoparticles. *Nano Today*, 15, 8-10.
- Mohamed M., Abu Lila A. S., Shimizu T., Alaaeldin E., Hussein A., Sarhan H. A. *et al.* (2019). PEGylated liposomes : Immunological responses. *Science and Technology of Advanced Materials*, 20(1), 710-724.
- Morilla M. J., & Romero E. L. Nanotoxicity of Lipid-Based Nanomedicines, in *Nanomaterials : Ecotoxicity, Safety, and Public Perception* (p. 133-165), M. Rai & J. K. Biswas (Éds.), Springer International Publishing, 2018.
- Mortensen N. P., Hurst G. B., Wang W., Foster C. M., Nallathamby P. D., & Retterer S. T. (2013). Dynamic development of the protein corona on silica nanoparticles : Composition and role in toxicity. *Nanoscale*, 5(14), 6372-6380.
- Nag M., Gajbhiye V., Kesharwani P., & Jain N. K. (2016). Transferrin functionalized chitosan-PEG nanoparticles for targeted delivery of paclitaxel to cancer cells. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 148, 363-370.

- Navya P. N., Kaphle A., Srinivas S. P., Bhargava S. K., Rotello V. M., & Daima H. K. (2019). Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials. *Nano Convergence*, 6(1), 23.
- Nel A. E., Mädler L., Velegol D., Xia T., Hoek E. M. V., Somasundaran P. *et al.* (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*, 8(7), 543-557.
- Nemmar A., Hoet P. H. M., Vanquickenborne B., Dinsdale D., Thomeer M., Hoylaerts M. F. *et al.* (2002). Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*, 105(4), 411-414.
- Nguyen V. H., & Lee B.-J. (2017). Protein corona : A new approach for nanomedicine design. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3137-3151.
- Oberdörster G. (2010). Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine : Concepts of nanotoxicology. *Journal of Internal Medicine*, 267(1), 89-105.
- Onoue S., Yamada S., & Chan H.-K. (2014). Nanodrugs : Pharmacokinetics and safety. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1025-1037.
- Owens D. E., & Peppas N. A. (2006). Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 307(1), 93-102.
- Owens G. J., Singh R. K., Foroutan F., Alqaysi M., Han C.-M., Mahapatra C. *et al.* (2016). Sol–gel based materials for biomedical applications. *Progress in Materials Science*, 77, 1-79.
- Pallardy M. J., Turbica I., & Biola-Vidammet A. (2017). Why the Immune System Should Be Concerned by Nanomaterials? *Frontiers in Immunology*, 8.

- Palmerston Mendes L., Pan J., & Torchilin V. P. (2017). Dendrimers as Nanocarriers for Nucleic Acid and Drug Delivery in Cancer Therapy. *Molecules*, 22(9).
- Pan Y., Leifert A., Ruau D., Neuss S., Bornemann J., Schmid G. *et al.* (2009). Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage. *Small (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 5(18), 2067-2076.
- Phogat N., Kohl M., Uddin I., & Jahan A. Chapter 11—Interaction of Nanoparticles With Biomolecules, Protein, Enzymes, and Its Applications. In *Precision Medicine* (p. 253-276), H.-P. Digner & M. Kohl (Éds.), Academic Press. 2018.
- Pirollo K. F., Nemunaitis J., Leung P. K., Nunan R., Adams J., & Chang E. H. (2016). Safety and Efficacy in Advanced Solid Tumors of a Targeted Nanocomplex Carrying the p53 Gene Used in Combination with Docetaxel : A Phase 1b Study. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 24(9), 1697-1706.
- Pisani C. Etude toxicogénomique de nanovecteurs de silice mésoporeuse : Relation entre décoration et toxicité, Thèse de doctorat, Chimie Thérapeutique, Université Montpellier, 2017.
- Pottier Agnès, Borghi E., & Levy L. (2014). New Use of Metals as Nanosized Radioenhancers. *Anticancer Research*, 34(1), 443-453.
- Pottier Agnes, Borghi E., & Levy L. (2015). The future of nanosized radiation enhancers. *The British Journal of Radiology*, 88(1054).
- Rancoule C., Magné N., Vallard A., Guy J.-B., Rodriguez-Lafrasse C., Deutsch E. *et al.* (2016). Nanoparticles in radiation oncology : From bench-side to bedside. *Cancer Letters*, 375(2), 256-262.

- Rauscher H., Roebben G., Mech A., Gibson P., Kestens V., Linsinger T. *et al.* (2019). *An overview of concepts and terms used in the European Commission's definition of nanomaterial* (JRC113469), EUR 29647 EN, European Commission, JRC, Ispra, 2019, ISBN 978-92-79-99660-3.
- Riley R. S., June C. H., Langer R., & Mitchell M. J. (2019). Delivery technologies for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(3), 175-196.
- Roacho-Perez J. A., Gallardo-Blanco H. L., Sanchez-Dominguez M., Garcia-Casillas P. E., Chapa-Gonzalez C., & Sanchez-Dominguez C. N. (2018). Nanoparticles for death-induced gene therapy in cancer (Review). *Molecular Medicine Reports*, 17(1), 1413-1420.
- Robert, J. (2011). RÉVERSION DE LA « MULTIDRUG RESISTANCE » DES CANCERS : ESPOIRS ET DÉCEPTIONS. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 1, 271.
- Rosenblum D., Joshi N., Tao W., Karp J. M., & Peer D. (2018). Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics. *Nature Communications*, 9(1), 1410.
- Sabella S., Carney R. P., Brunetti V., Malvindi M. A., Al-Juffali N., Vecchio G. *et al.* (2014). A general mechanism for intracellular toxicity of metal-containing nanoparticles. *Nanoscale*, 6(12), 7052-7061.
- Sandoval M. A., Sloat B. R., Lansakara-P D. S. P., Kumar A., Rodriguez B. L., Kiguchi K. *et al.* (2012). EGFR-targeted stearyl gemcitabine nanoparticles show enhanced anti-tumor activity. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 157(2), 287-296.
- Scherbart A. M., Langer J., Bushmelev A., van Berlo D., Haberzettl P., van Schoote, F.-J. *et al.* (2011). Contrasting macrophage activation by fine and ultrafine titanium dioxide

particles is associated with different uptake mechanisms. *Particle and Fibre Toxicology*, 8(1), 31.

Schmid D., Park C., Hartl C. A., Subedi N., Cartwright A. N., Puerto R. B. *et al.* (2017). T cell-targeting nanoparticles focus delivery of immunotherapy to improve antitumor immunity. *Nature Communications*.

Shein S. A., Kuznetsov I. I., Abakumova T. O., Chelushkin P. S., Melnikov P. A., Korchagina A. A. *et al.* (2016). VEGF- and VEGFR2-Targeted Liposomes for Cisplatin Delivery to Glioma Cells. *Molecular Pharmaceutics*, 13(11), 3712-3723.

Shi X., Miao W.-M., Pang D., Wu J., Tong Q.-S., Li J.-X. *et al.* (2020). Angiopep-2 conjugated nanoparticles loaded with doxorubicin for the treatment of primary central nervous system lymphoma. *Biomaterials science*.

Shmeeda H., Mak L., Tzemach D., Astrahan P., Tarshish M., & Gabizon A. (2006). Intracellular uptake and intracavitary targeting of folate-conjugated liposomes in a mouse lymphoma model with up-regulated folate receptors. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(4), 818-824.

Simons F. E. R., Arduoso L. R. F., Bilò M. B., El-Gamal Y. M., Ledford D. K., Ring J. *et al.* (2011). World Allergy Organization Guidelines for the Assessment and Management of Anaphylaxis. *The World Allergy Organization Journal*, 4(2), 13-37.

Sobot D., Mura S., Yesylevskyy S. O., Dalbin L., Cayre F., Bort G. *et al.* (2017). Conjugation of squalene to gemcitabine as unique approach exploiting endogenous lipoproteins for drug delivery. *Nature Communications*, 8, 15678.

- Song W., Zhang J., Guo J., Zhang J., Ding F., Li L. *et al.* (2010). Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Toxicology Letters*, 199(3), 389-397.
- Strebhardt K., & Ullrich A. (2008). Paul Ehrlich's magic bullet concept : 100 years of progress. *Nature Reviews. Cancer*, 8(6), 473-480.
- Stylianopoulos T., & Jain R. K. (2015). Design considerations for nanotherapeutics in oncology. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(8), 1893-1907.
- Sukhanova A., Bozrova S., Sokolov P., Berestovoy M., Karaulov A., & Nabiev I. (2018). Dependence of Nanoparticle Toxicity on Their Physical and Chemical Properties. *Nanoscale Research Letters*, 13.
- Sykes E. A., Dai Q., Sarsons C. D., Chen J., Rocheleau J. V., Hwang D. *et al.* (2016). Tailoring nanoparticle designs to target cancer based on tumor pathophysiology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(9), E1142-E1151.
- Szebeni J., Fishbane S., Hedenus M., Howaldt S., Locatelli F., Patni S. *et al.* (2015). Hypersensitivity to intravenous iron : Classification, terminology, mechanisms and management. *British Journal of Pharmacology*, 172(21), 5025-5036.
- Tarokh Z., Naderi-Manesh H., & Nazari M. (2017). Towards prostate cancer gene therapy : Development of a chlorotoxin-targeted nanovector for toxic (melittin) gene delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 99, 209-218.
- Teo P. Y., Yang C., Whilding L. M., Parente-Pereira A. C., Maher J., George A. J. T. *et al.* (2015). Ovarian cancer immunotherapy using PD-L1 siRNA targeted delivery from folic acid-

functionalized polyethylenimine : Strategies to enhance T cell killing. *Advanced Healthcare Materials*, 4(8), 1180-1189.

Tornesello A. L., Tagliamonte M., Tornesello M. L., Buonaguro F. M., & Buonaguro L. (2020). Nanoparticles to Improve the Efficacy of Peptide-Based Cancer Vaccines. *Cancers*, 12(4).

Trabulo S., Aires A., Aicher A., Heeschen C., & Cortajarena A. L. (2017). Multifunctionalized iron oxide nanoparticles for selective targeting of pancreatic cancer cells. *Biochimica Et Biophysica Acta. General Subjects*, 1861(6), 1597-1605.

Umapathi A., Kaphle A., Navya P. N., Jafri S. M. K., Firdose N., Jain D. *et al.* *Impact of Physicochemical Properties and Surface Chemistry of Nanomaterials on Toxicity. in Nanotoxicology: toxicity evaluation, risk assessment and management* (pp. 35–61), ed. by V. Kumar, N. Dasgupta, S. Ranjan. CRC Press, Boca Raton, 2018.

van Vlerken L. E., Duan Z., Little S. R., Seiden M. V., & Amiji M. M. (2008). Biodistribution and Pharmacokinetic Analysis of Paclitaxel and Ceramide Administered in Multifunctional Polymer-Blend Nanoparticles in Drug Resistant Breast Cancer Model. *Molecular Pharmaceutics*, 5(4), 516-526.

Vandebriel R. J., Vermeulen J. P., van Engelen L. B., de Jong B., Verhagen L. M., de la Fonteyne-Blankestijn L. J. *et al.* (2018). The crystal structure of titanium dioxide nanoparticles influences immune activity in vitro and in vivo. *Particle and Fibre Toxicology*, 15(1), 9.

Vetten M. A., Yah C. S., Singh T., & Gulumian M. (2014). Challenges facing sterilization and depyrogenation of nanoparticles : Effects on structural stability and biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 10(7), 1391-1399.

- Wan Y. Développement de nanovecteurs polymériques et lipidiques fonctionnalisés par des anticorps pour cibler des cellules cancéreuses, Thèse de doctorat, Biochimie, Bordeaux 1, 2012.
- Wang C., Zhang R., Tan J., Meng Z., Zhang Y., Li N. *et al.* (2020). Effect of mesoporous silica nanoparticles co-loading with 17-AAG and Torin2 on anaplastic thyroid carcinoma by targeting VEGFR2. *Oncology Reports*, 43(5), 1491-1502.
- Wang Y., Wang Y., Chen G., Li Y., Xu W., & Gong S. (2017). Quantum-Dot-Based Theranostic Micelles Conjugated with an Anti-EGFR Nanobody for Triple-Negative Breast Cancer Therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(36), 30297-30305.
- Wicki A., Witzigmann D., Balasubramanian V., & Huwyler J. (2015). Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 200, 138-157.
- Wilhelm S., Tavares A. J., Dai Q., Ohta S., Audet J., Dvorak H. F. *et al.* (2016). Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nature Reviews Materials*, 1(5), 16014.
- Winter M., Beer H.-D., Hornung V., Krämer U., Schins R. P. F., & Förster I. (2011). Activation of the inflammasome by amorphous silica and TiO₂ nanoparticles in murine dendritic cells. *Nanotoxicology*, 5(3), 326-340.
- Xia Y., Zhong J., Zhao M., Tang Y., Han N., Hua L. *et al.* (2019). Galactose-modified selenium nanoparticles for targeted delivery of doxorubicin to hepatocellular carcinoma. *Drug Delivery*, 26(1), 1-11.

- Xia Y., Fang M., Dong J., Xu C., Liao Z., Ning P. *et al.* (2018). PH sensitive liposomes delivering tariquidar and doxorubicin to overcome multidrug resistance of resistant ovarian cancer cells. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 170, 514-520.
- Xiao Y., Shi K., Qu Y., Chu B., & Qian Z. (2019). Engineering Nanoparticles for Targeted Delivery of Nucleic Acid Therapeutics in Tumor. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development*, 12, 1-18.
- Yang C.-Y., Liu H.-W., Tsai Y.-C., Tseng J.-Y., Liang S.-C., Chen C.-Y. *et al.* (2015). Interleukin-4 receptor-targeted liposomal doxorubicin as a model for enhancing cellular uptake and antitumor efficacy in murine colorectal cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 16(11), 1641-1650.
- Yu D.-H., Lu Q., Xie J., Fang C., & Chen H.-Z. (2010). Peptide-conjugated biodegradable nanoparticles as a carrier to target paclitaxel to tumor neovasculature. *Biomaterials*, 31(8), 2278-2292.
- Zamboni W. C., Szebeni J., Kozlov S. V., Lucas A. T., Piscitelli J. A., & Dobrovolskaia M. A. (2018). Animal models for analysis of immunological responses to nanomaterials: Challenges and considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 136-137, 82-96.
- Zheng W., Li M., Lin Y., & Zhan X. (2018). Encapsulation of verapamil and doxorubicin by MPEG-PLA to reverse drug resistance in ovarian cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 108, 565-573.

Sitographie

- (1). ISO/TS 80004-1:2015(fr), Nanotechnologies—Vocabulaire—Partie 1 : Termes « coeur ». (s. d.). à l'adresse <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-1:ed-2:v1:fr>, Consulté 29 septembre 2020.
- (2). Leem, La nanomédecine. (s. d.). à l'adresse <https://www.leem.org/la-nanomedecine>, Consulté 29 septembre 2020.
- (3). ISO/TS 80004-2:2015(fr), Nanotechnologies—Vocabulaire—Partie 2 : Nano-objets. (s. d.). à l'adresse <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-2:ed-1:v1:fr>, Consulté 29 septembre 2020.

SERMENT DE GALIEN

Je jure d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma Profession.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois méprisé de mes Confrères si je manque à mes engagements.



PEREZ Manon

Les nanomédicaments en oncologie : nouvelles perspectives de traitement et limitations toxicologiques.

Th. D. Pharm., Rouen, 2020, 162 p.

RESUME

Pour pallier les limites des traitements anticancéreux classiques, diverses innovations technologiques ont émergé ces dernières années, notamment dans le domaine de la nanomédecine. Les progrès considérables des nanotechnologies permettent aujourd'hui de développer des thérapies innovantes offrant de nouvelles perspectives de traitement. La taille des nanomatériaux leur permet d'interagir à l'intérieur même des cellules et ouvre des possibilités jusqu'ici inconnues pour augmenter l'efficacité de certains traitements classiques tout en réduisant leur toxicité.

Malgré les fonctions attrayantes et les perspectives d'avenir qu'ils représentent, seuls quelques nanomédicaments sont à ce jour disponibles sur le marché pour le traitement du cancer. En effet, l'application clinique de ces thérapies novatrices reste difficile et leur sécurité d'emploi est de plus en plus préoccupante. Les interactions de ces nanomédicaments avec le système immunitaire peuvent déclencher des toxicités particulières pas encore bien comprises de la communauté scientifique. L'évaluation approfondie de ces interactions est indispensable mais la littérature à ce sujet est vaste et complexe. Par conséquent, la nanotoxicologie est devenue un domaine de recherche essentiel. En raison de la complexité structurelle et chimique des nanomédicaments, les outils réglementaires classiques ne sont pas appropriés pour évaluer la sécurité d'emploi de ces formulations. La sélection de tests spécifiques est généralement indispensable et ne doit pas être négligée lors des évaluations précliniques afin d'anticiper les risques de toxicités immunologiques, et ainsi, permettre une meilleure traduction clinique à l'avenir.

MOTS CLES : Nanomédicaments – Cancer – Traitement – Vectorisation – Nanotoxicologie

JURY

Président : Madame SKIBA Malika, Maître des conférences en Pharmacie galénique

Membres : Madame MONTEIL Christelle, Professeur en Toxicologie

Madame PERREAU Laure, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE : 28 octobre 2020