



Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone



Bilan et Perspectives en Hadronbiologie

Claire Rodriguez-Lafrasse



Laboratoire de Radiobiologie Cellulaire et Moléculaire

EA3738 – Faculté de Médecine Lyon-Sud



Hôpitaux de Lyon



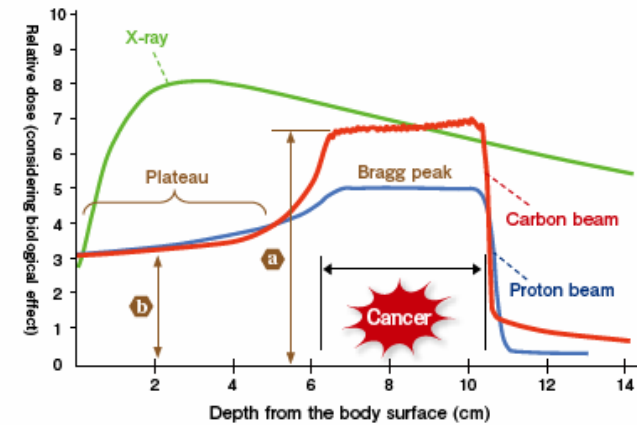
Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Avantage majeur des ions carbone :

- Précision spatiale de la distribution de dose
- Efficacité Biologique Relative élevée

Problématique



“Hadrons”

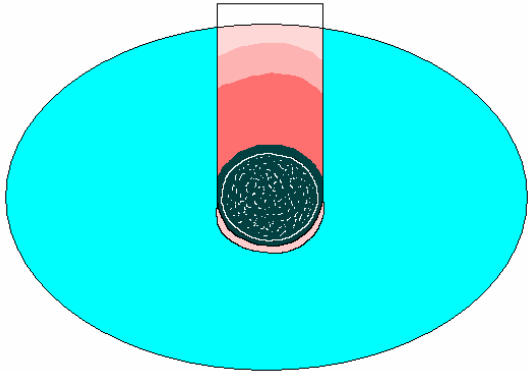
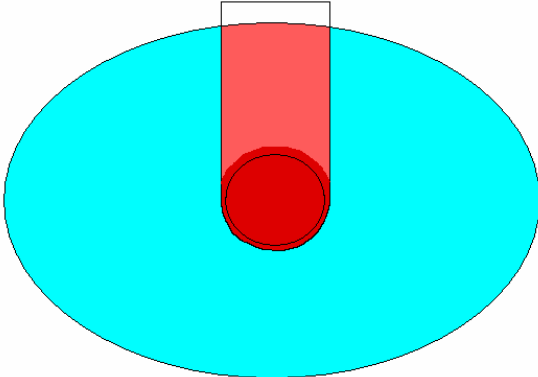
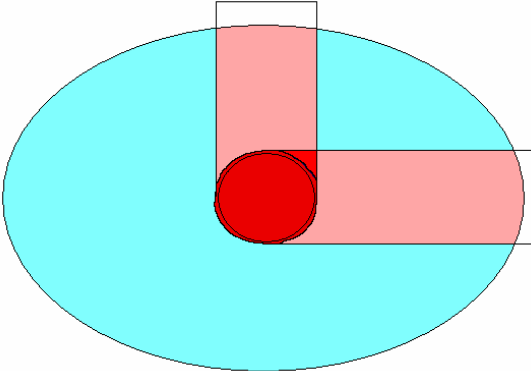
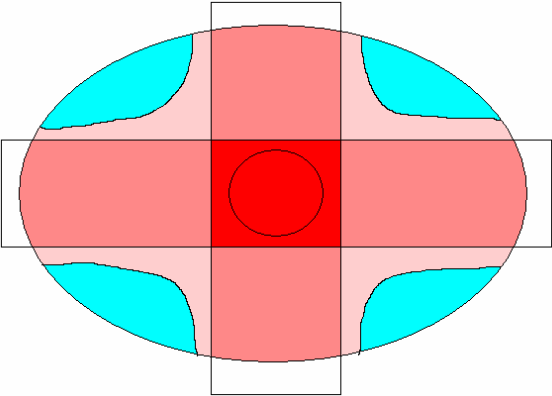
Photons X

Protons

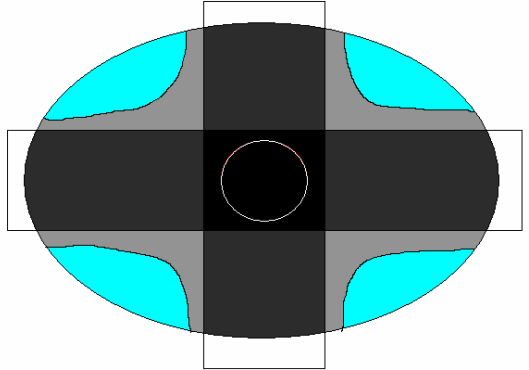
Carbone

Efficacité biologique relative EBR ≈ 1

EBR $\gg 1$

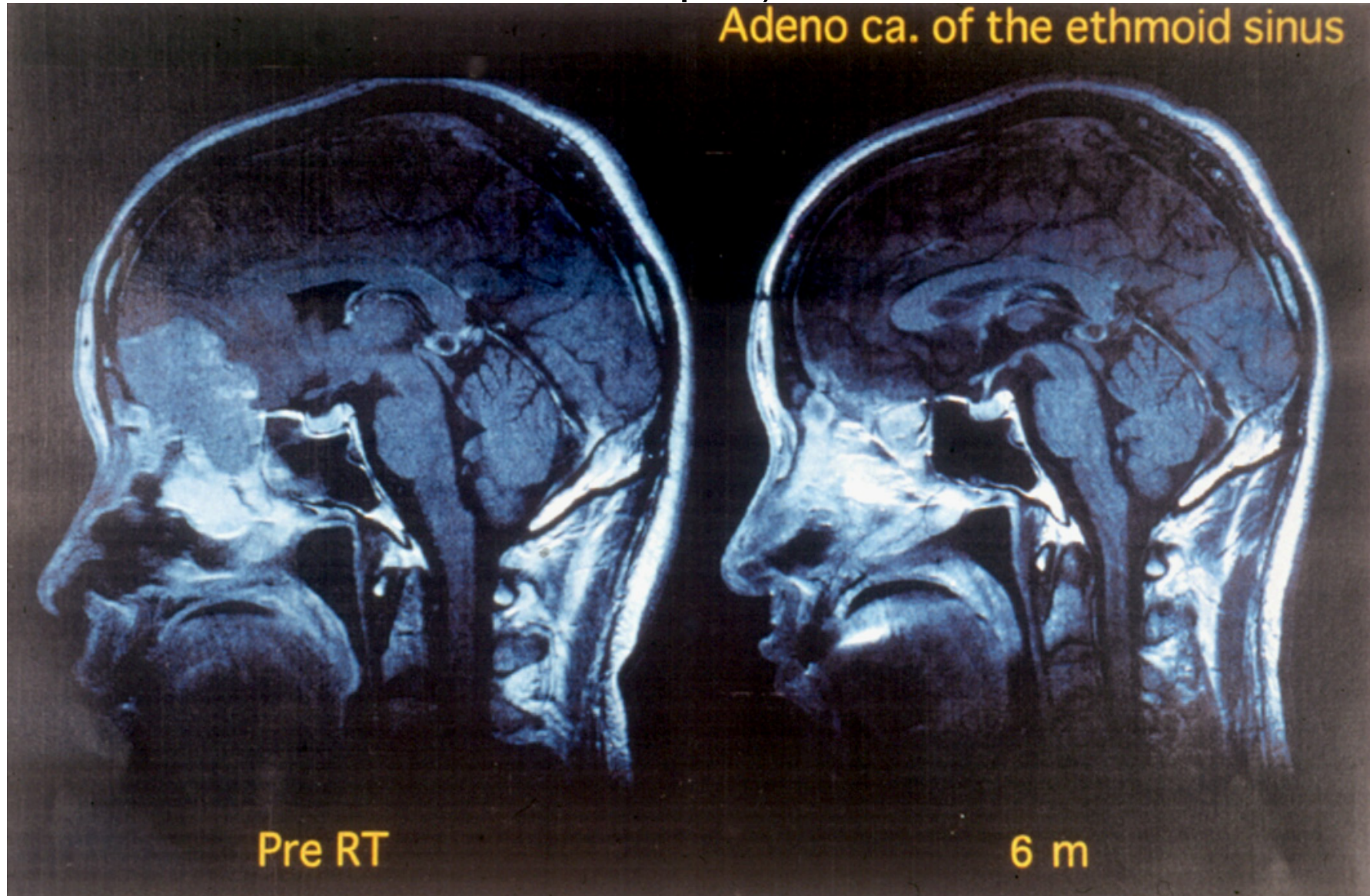


Neutrons



Adénocarcinome de l'ethmoïde (NIRS Japon)

Adeno ca. of the ethmoid sinus



9602-13

Centre ETUILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Malignant melanoma 57.6GyE/16fx



Before RT



48 months after RT

Malignant Melanoma



5 years
after RT



15 months
after RT





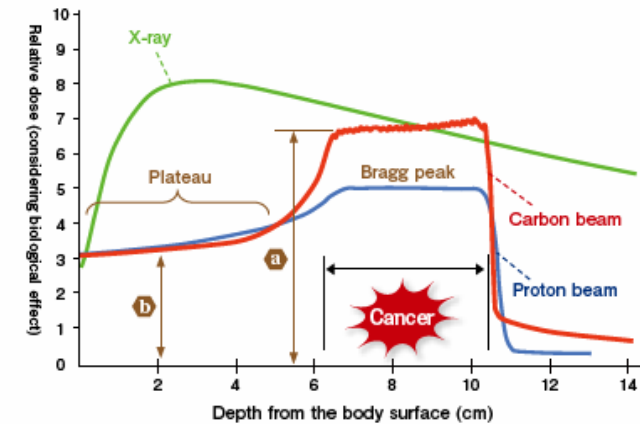
Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Problématique

Avantage majeur des ions carbone :

- Précision spatiale de la distribution de dose
- Efficacité Biologique Relative élevée



Par rapport au rayonnement de référence (photons X ou γ) :

- Efficacité curative ?
 - Effets sur tissus sains ?
 - Risque cancérogène ?





Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Thèmes majeurs de l'Hadronbiologie

1. Réponse moléculaire aux ions carbone (par rapport aux photons) : **COMPRENDRE**
2. Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt : **OPTIMISER**
3. Marqueurs biologiques de la réponse tumorale vs tissus sains : **PREDIRE**





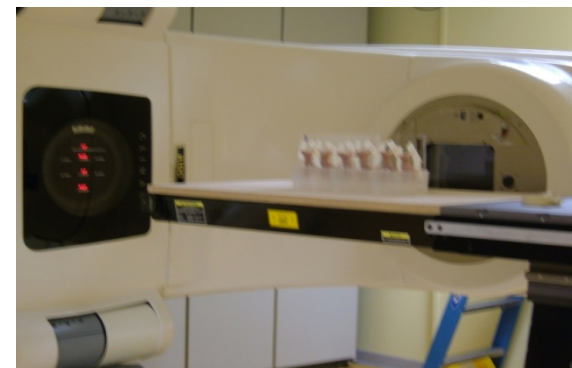
Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Quels modèles choisir ?

3 modèles complémentaires

- **Lignées cellulaires : Facile**
 - Tumorales humaines, résistantes à la RT conventionnelle (et hadronthérapie): ORL, cérébrales, sarcomes...
 - Tissus sains environnants (fibroblastes, kératinocytes, cellules cérébrales)
- **Animaux : Plan de ttt?**
 - Xénogreffe tumorale humaine
- **Biopsies tumorales de patients irradiés**
 - Seulement RT photons





Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Contribution spécifique des Physiciens à l'Hadronbiologie ?

- **Expérimentale :**

- ✓ **Développements +++ et qualité faisceaux**

- **Modélisation :**

- ✓ **Effets physico-chimiques précoces**

- ✓ **Implémentation des plans de ttt avec les données biologiques nouvelles**

Quels faisceaux, pour quelle question ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- **Faisceaux d'ions carbone de « qualité clinique » :**

- ✓ Questions bios fondamentales
- ✓ TEL / EBR
- ✓ Effets du débit de dose

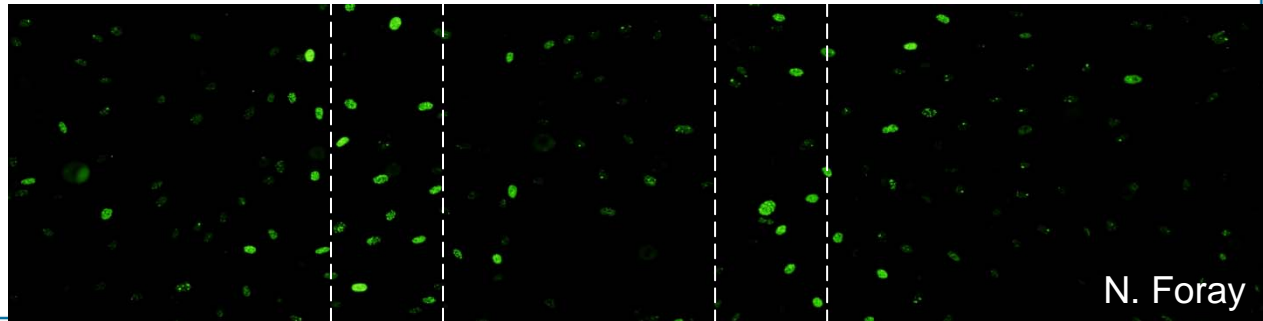
- **Microfaisceaux :**

- ✓ Compartiments cellulaires
- ✓ Effet de voisinage



CDB

24h



N. Foray

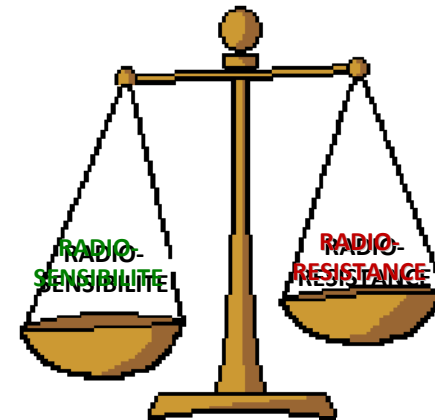


Centre ETOILE

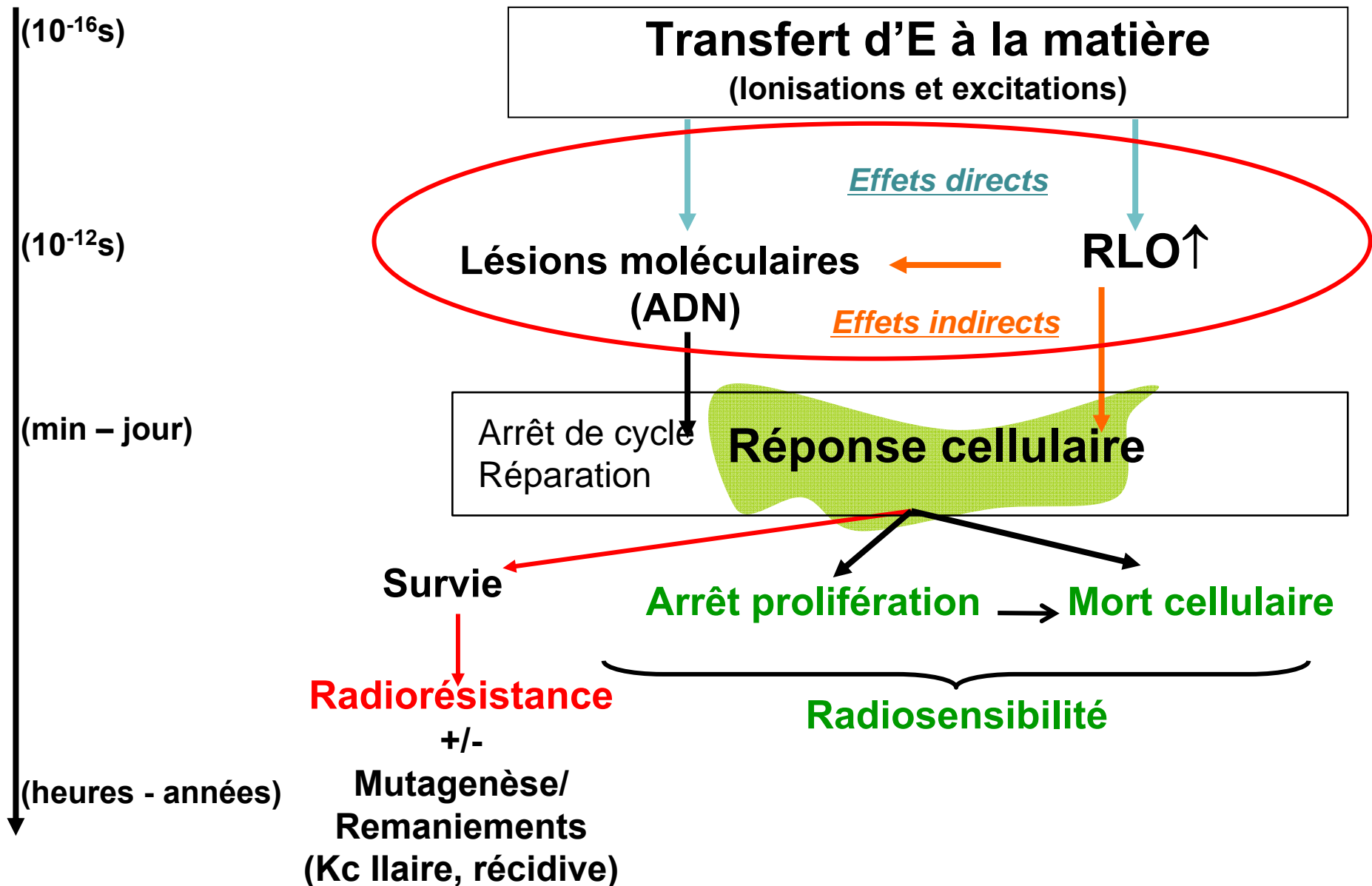
Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Questions majeurs de l'Hadronbiologie

- Comprendre
- Prédire
- Optimiser



Chronologie des évènements cellulaires déclenchés en réponse à l'irradiation

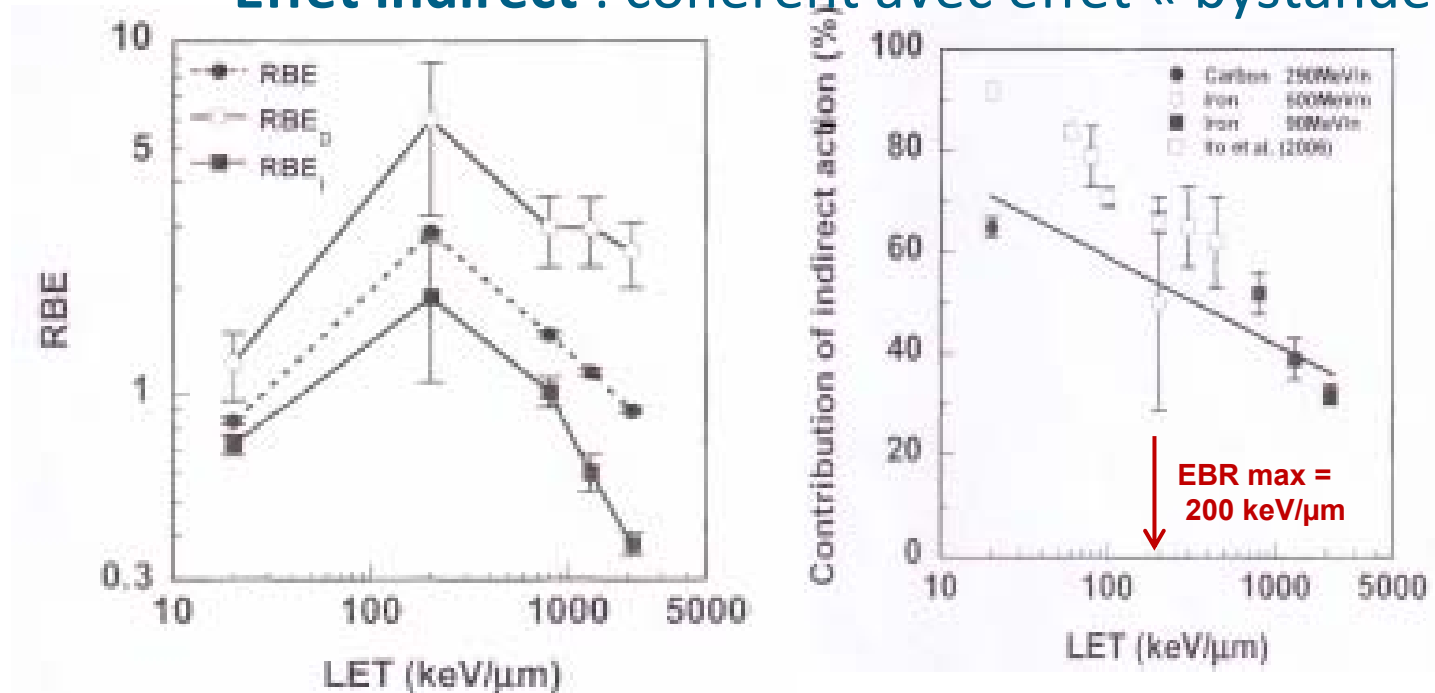


Effets direct ou indirect ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- **Effet direct** : cohérent avec réduction de l'effet oxygène
- **Effet indirect** : cohérent avec effet « bystander » (RLO)

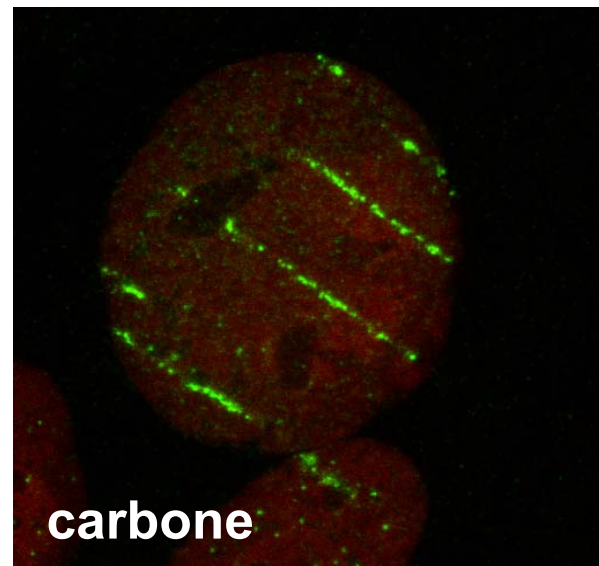
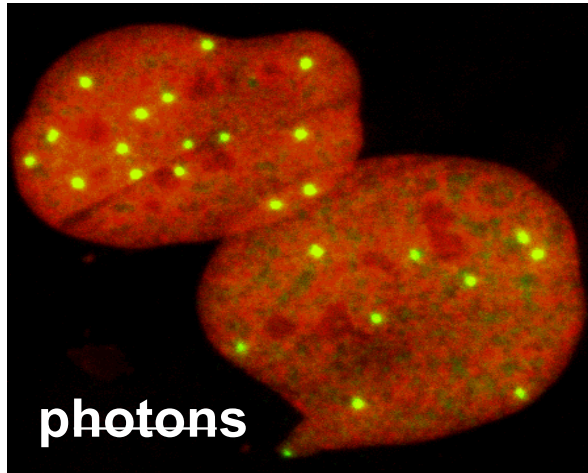


Hirayama et al,
Rad Res, 2009

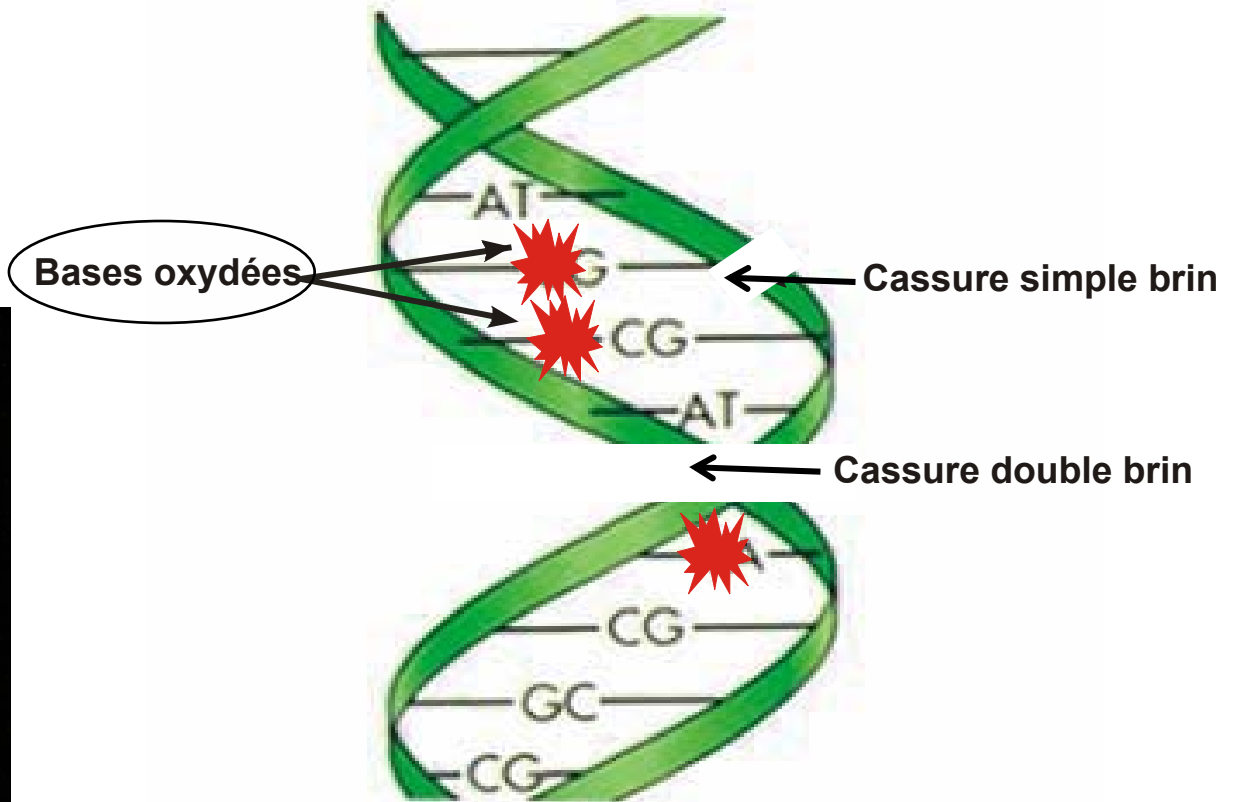
⇒ Contribution effet indirect diminue quand le TEL augmente
55% effet indirect pour EBR max

Lésions complexes de l'ADN ?

Cassures double-brin



Dommmages multiples localisés (LMDS)

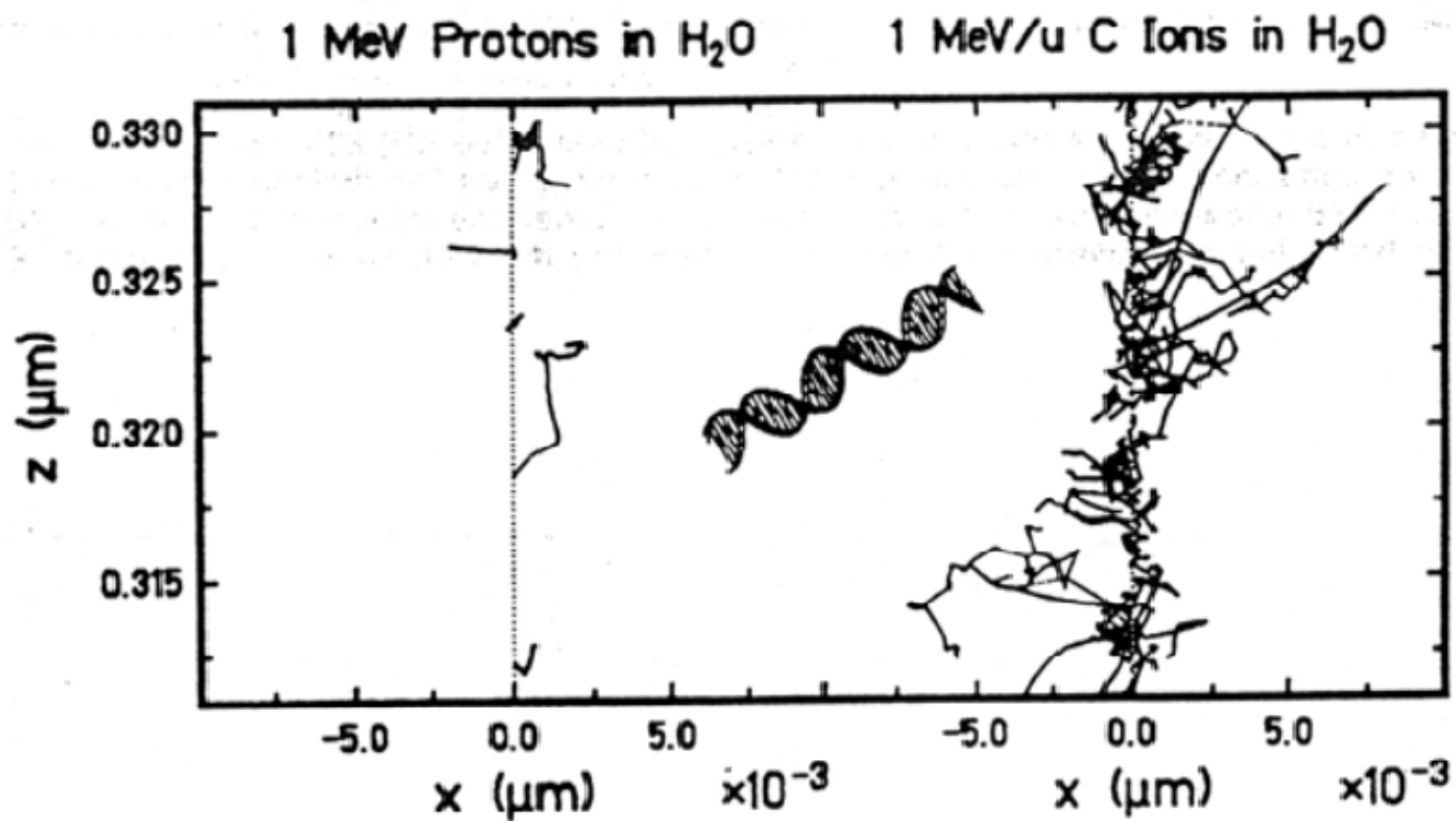


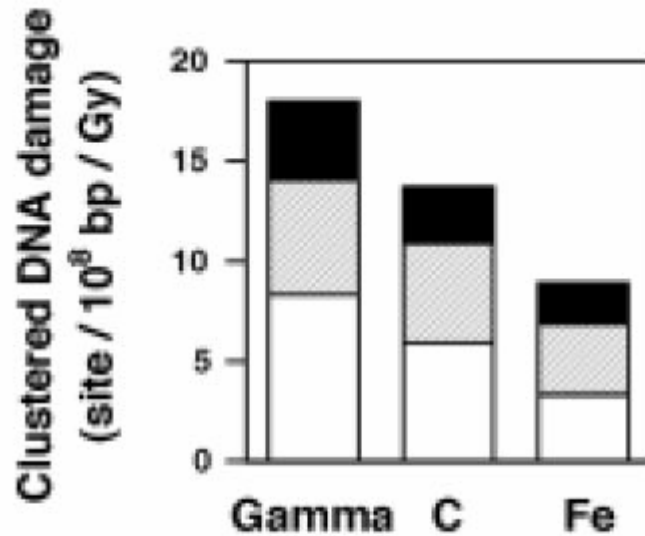


Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

La trace d'un ion a une taille comparable à celle de l'ADN !





Moins de lésions complexes en carbone qu'en photons mais lésions beaucoup plus difficiles à réparer

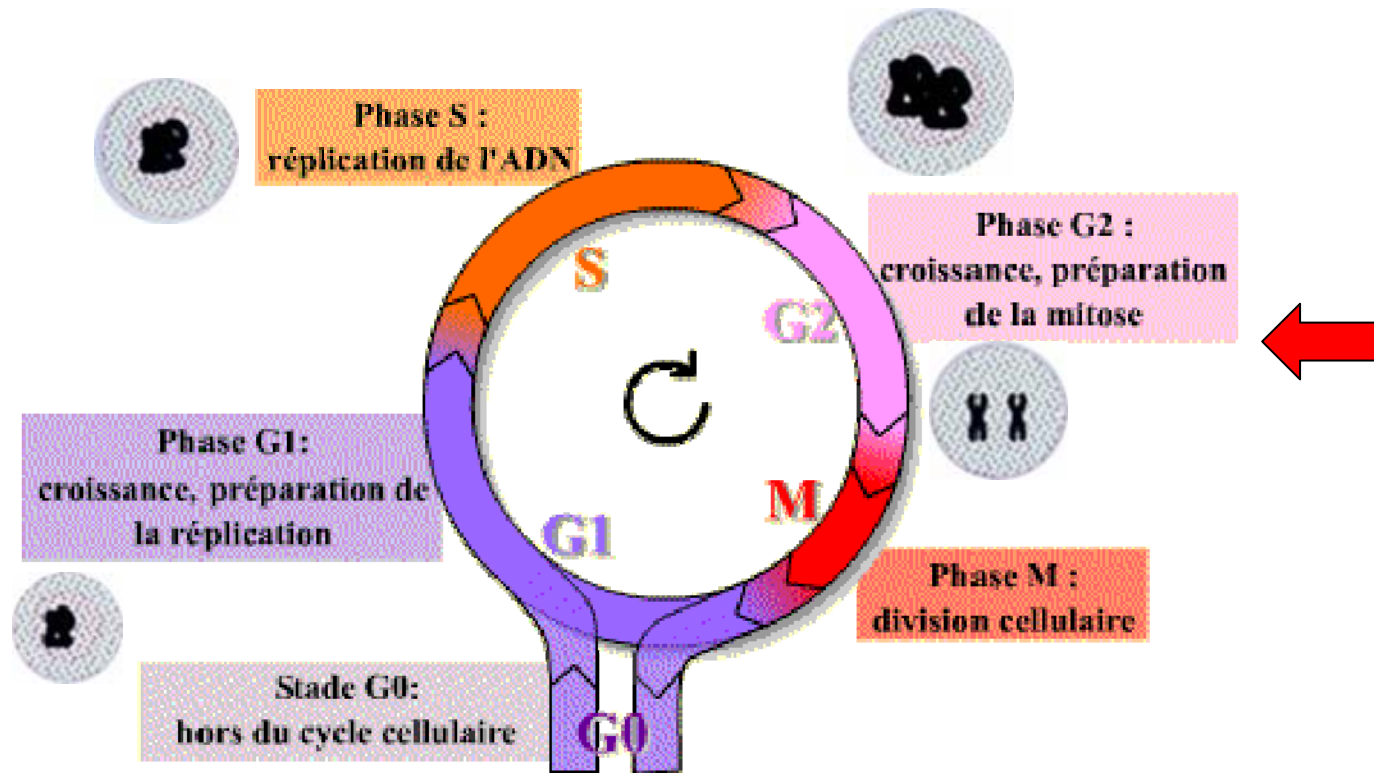
Figure 2. Yields of clustered DNA damage in plasmid DNA irradiated with gamma-rays, carbon ions (C), and iron ions (Fe). Open, hatched, and closed columns indicate DSBs, oxidative pyrimidine clusters, and oxidative purine clusters, respectively.

Terato et al, Nucleic Acid Symposium, 2007



Arrêts de cycle/réparation ?

- Arrêts prolongés en G2/M pour réparer
- Pas de mécanisme de réparation spécifique des LMDS





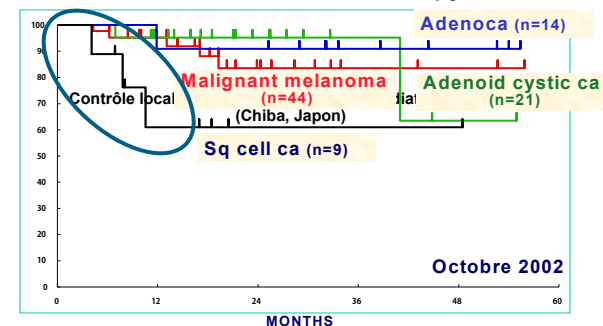
Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Modèles tumoraux utilisés au Laboratoire

Carcinomes Epidermoïdes Tête et Cou (HNSCC) :

- Radiothérapie de première intention (chirurgie mutilante)
- Tumeurs radio-résistantes, peu métastasiantes, récidives locales
- Indications de l'hadronthérapie (résistance)



Glioblastomes :

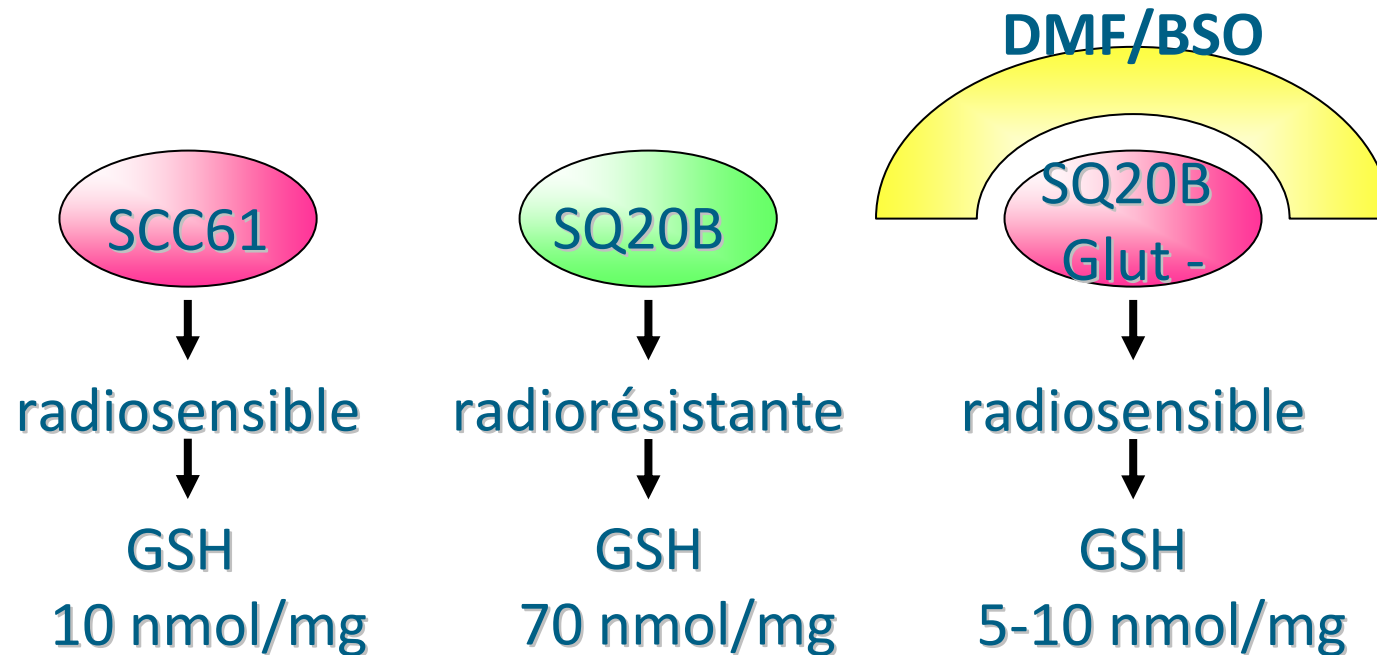
- Radiothérapie +/- chirurgie (+/- témozolomide)
- Tumeurs radio-résistantes, récidives locales (90%)
- Indications de l'hadronthérapie (résistance)



Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Modèle d'étude HNSCC

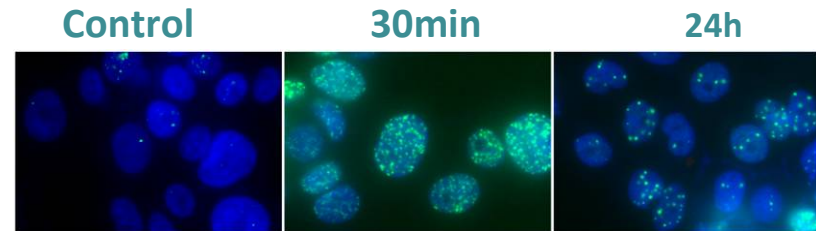
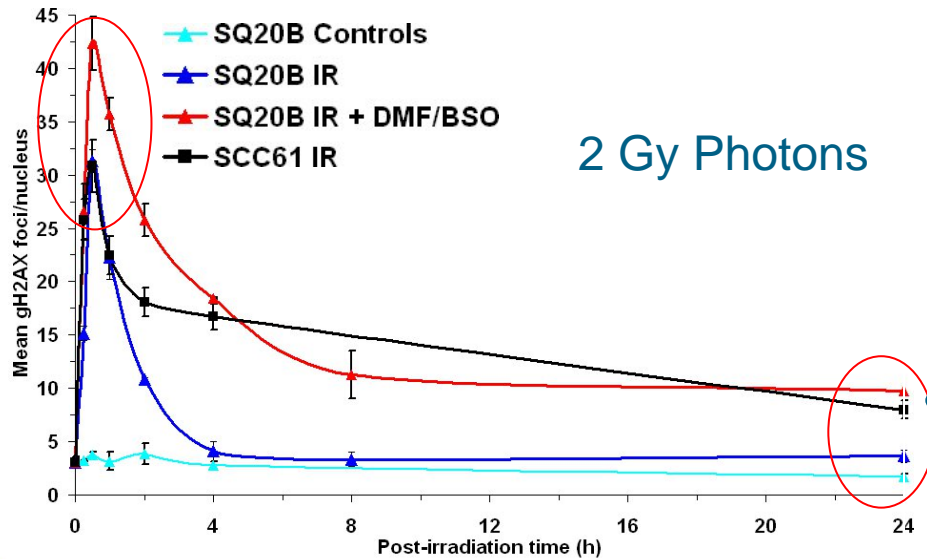


Photons ou Ions carbone (GANIL 33,6 keV/ μm , GSI 184 keV/ μm)

Glutathion = défense anti-oxydante =
piégeur de RLO

Lésions/ protection-réparation de l'ADN ?

Cassures double brin γ H2AX

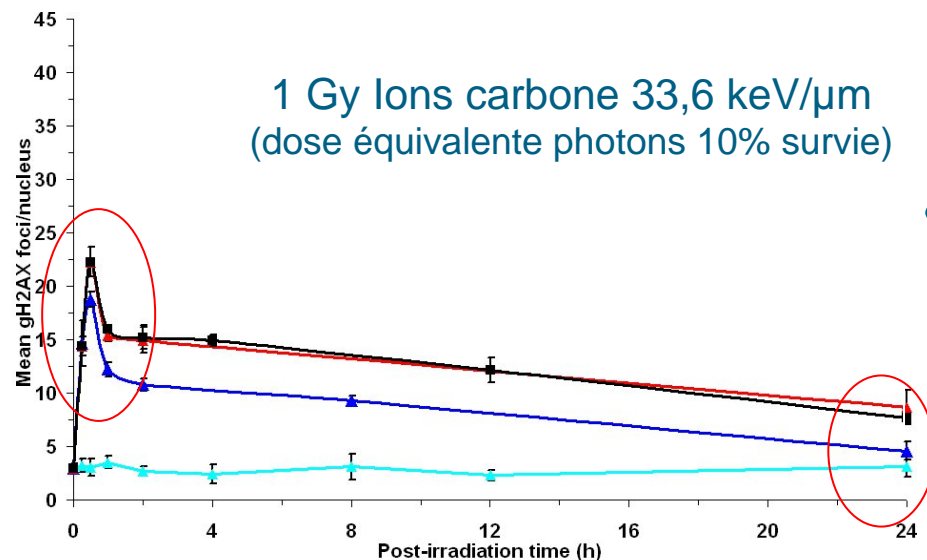


• Photons:

SCC61: réparation lente, CDB résiduelles

SQ20B: réparation rapide

Glut - : ↗ pic de dommages, CDB résiduelles



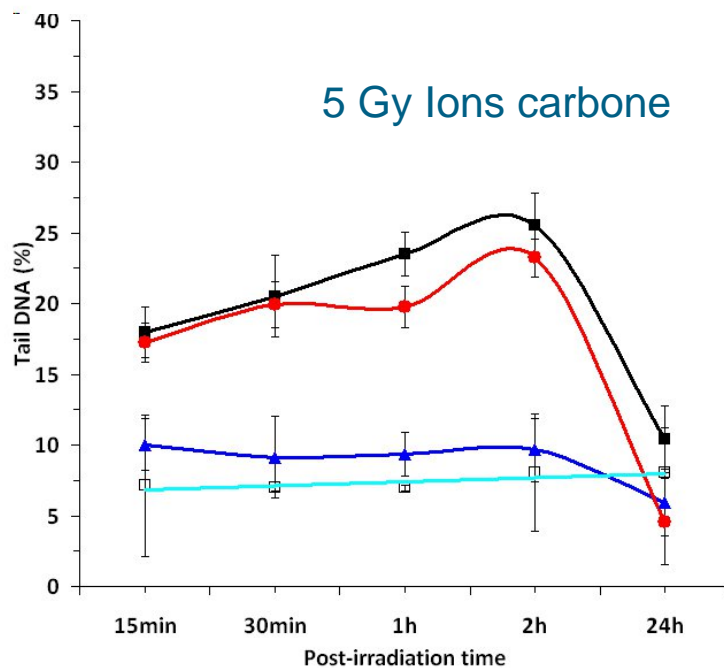
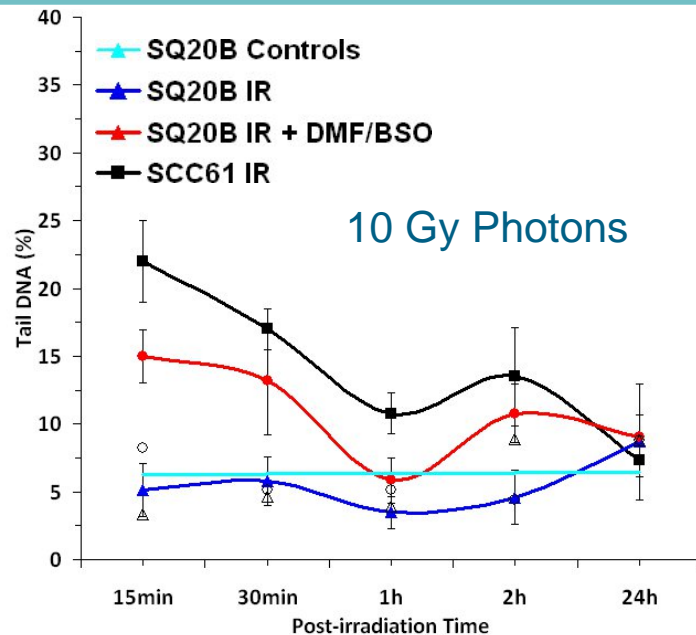
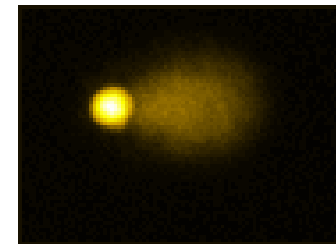
• Carbone:

Pic de dommages similaire entre RS
Vitesse de réparation comparable RS
et RR : complexité des lésions

Lésions/ protection-réparation de l'ADN ?

Test des comètes

Cassures simple brin (+ sites fragilisés)



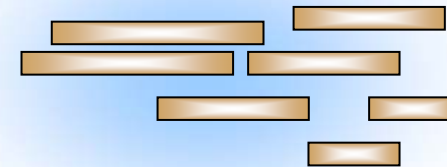
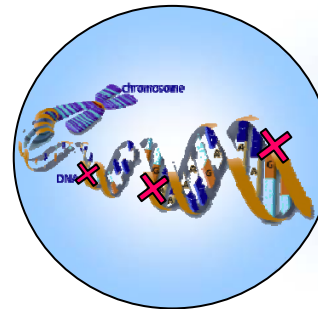
- **Photons:**
Profils similaires entre RS
Majorité de la réparation en 1h
- **Carbone:**
Profils similaires entre RS
Cinétique lente de réparation =
“cluster”

Lésions/ protection-réparation de l'ADN ?

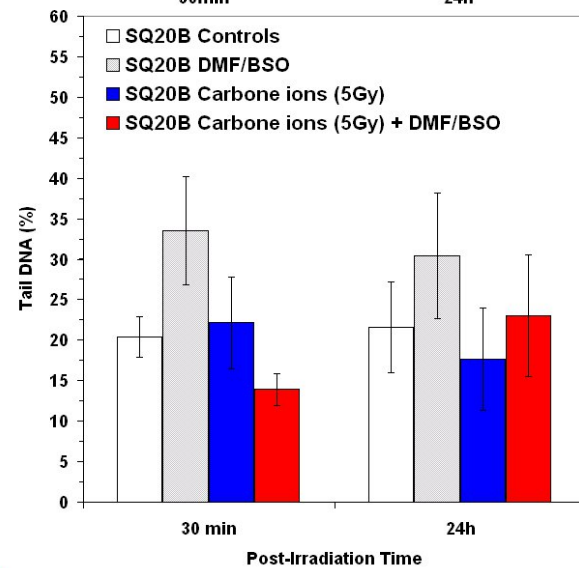
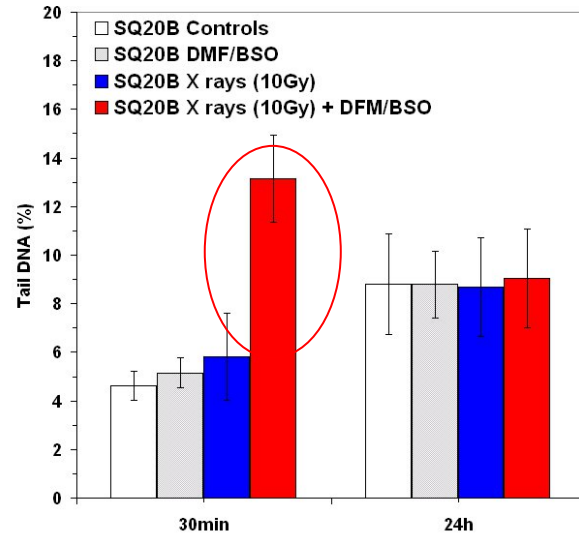
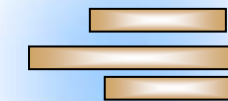
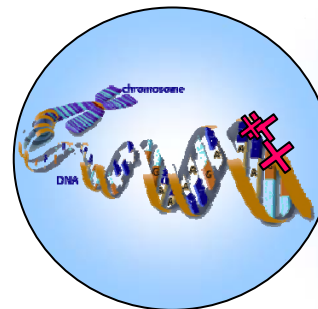
Bases oxydées 8-oxo-G

(Fpg - CSB)

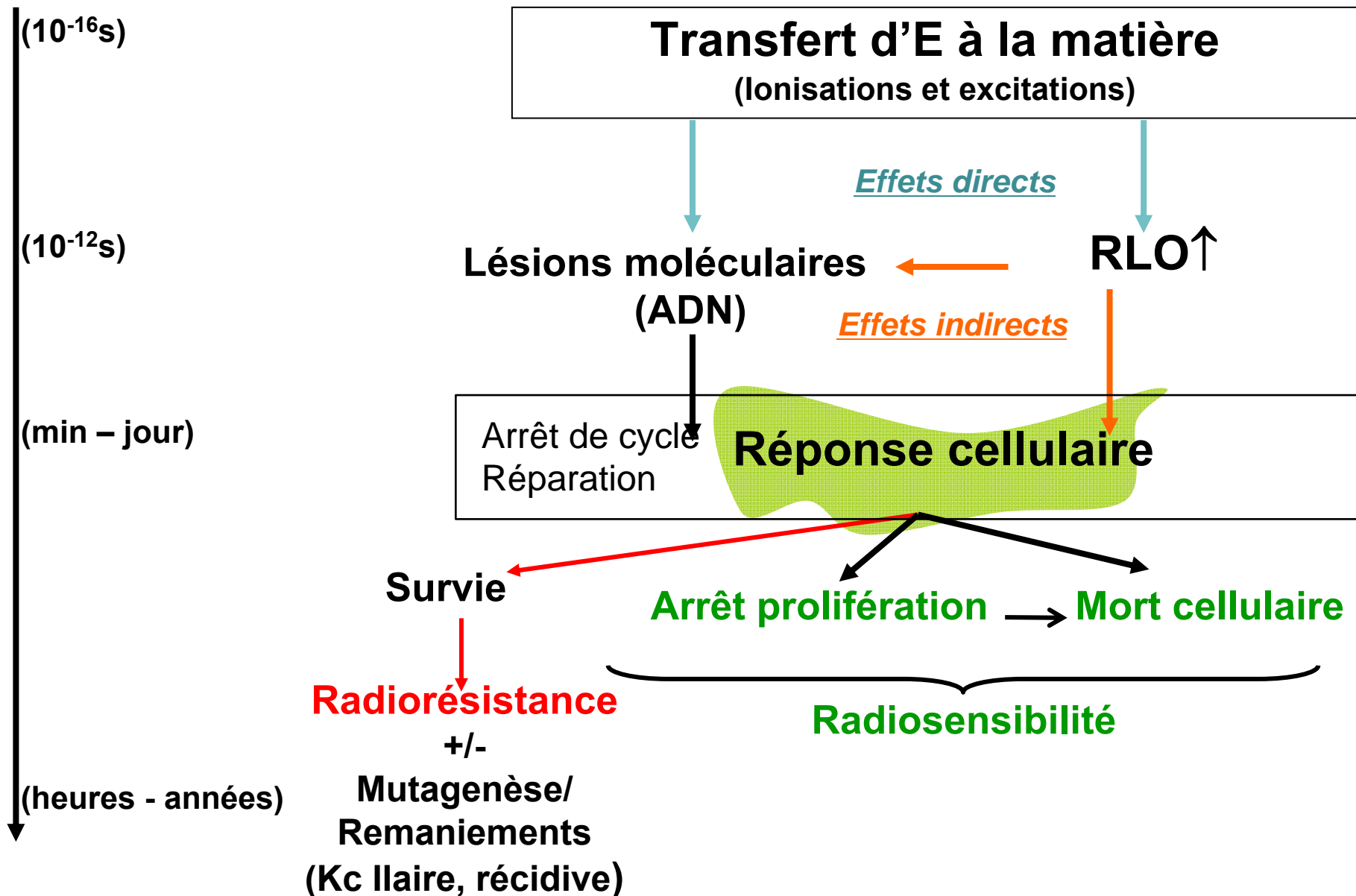
- Photons : Bases oxydées dispersées



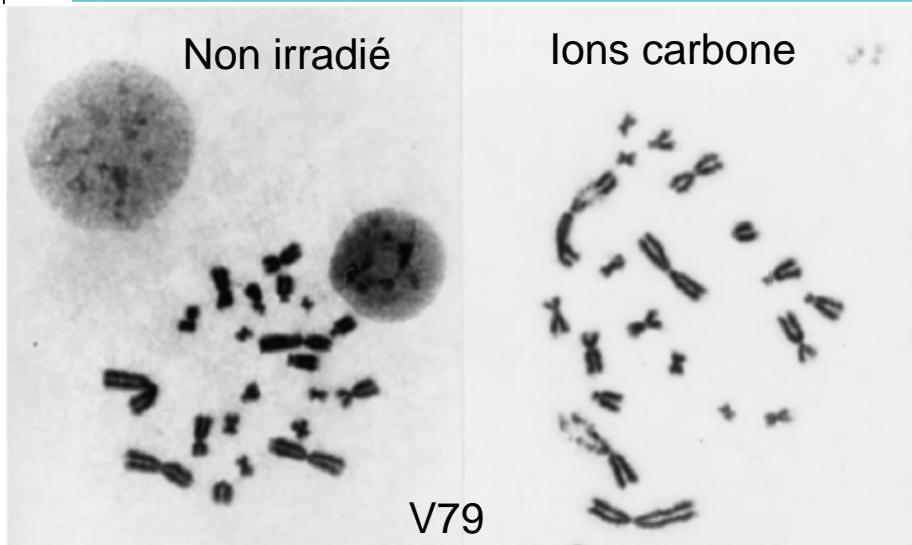
- Ions carbone : Dommages localisés



Chronologie des évènements cellulaires déclenchés en réponse à l'irradiation



Réarrangements chromosomiques ?

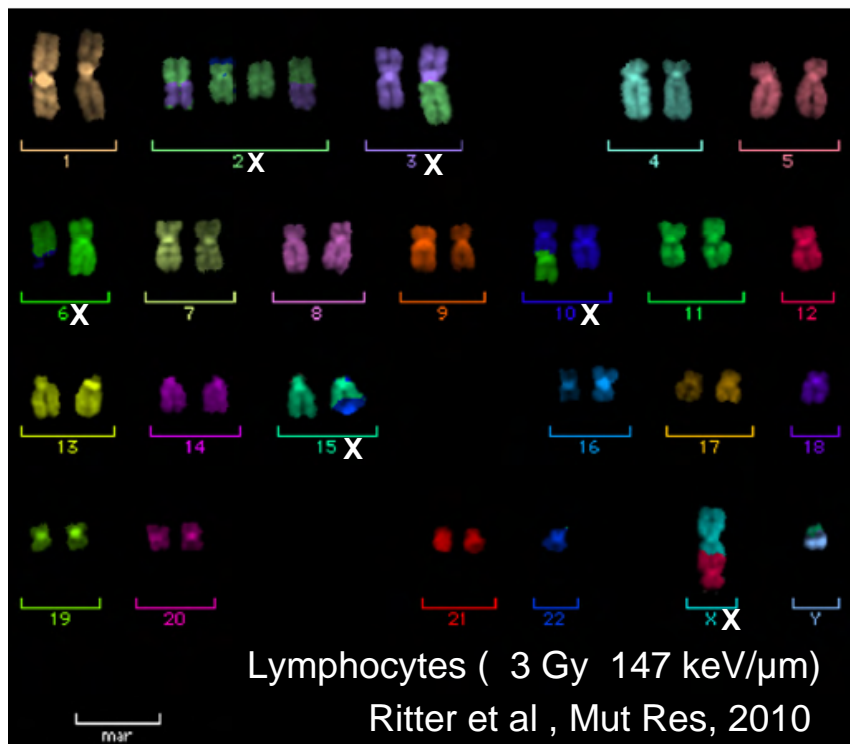


Par rapport à isodose photons :

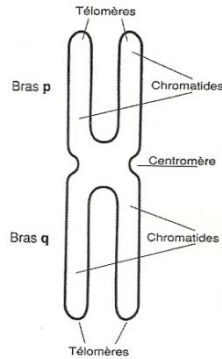
- + de cassures, sur plus de chromosomes
- + lésions complexes
- échanges de chromatides



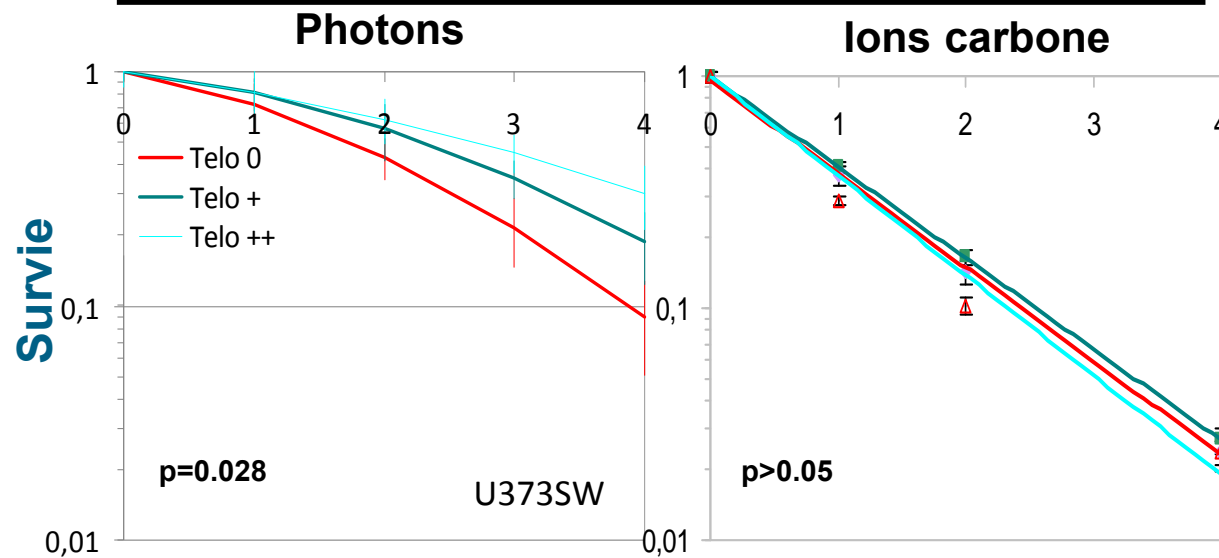
Moins de risque de transmission à la descendance



Lésions télomériques ?



Dose



- Pas de résistance liée à la taille des télomères (très sensibles aux RLO) : Favorable pour la stérilisation tumorale

↗ Taille télomères
→ radorésistance

Pas de relation entre taille télomères et la réponse aux ions carbone

Lésions/ protection-réparation de l'ADN ?

Centre ETOILE

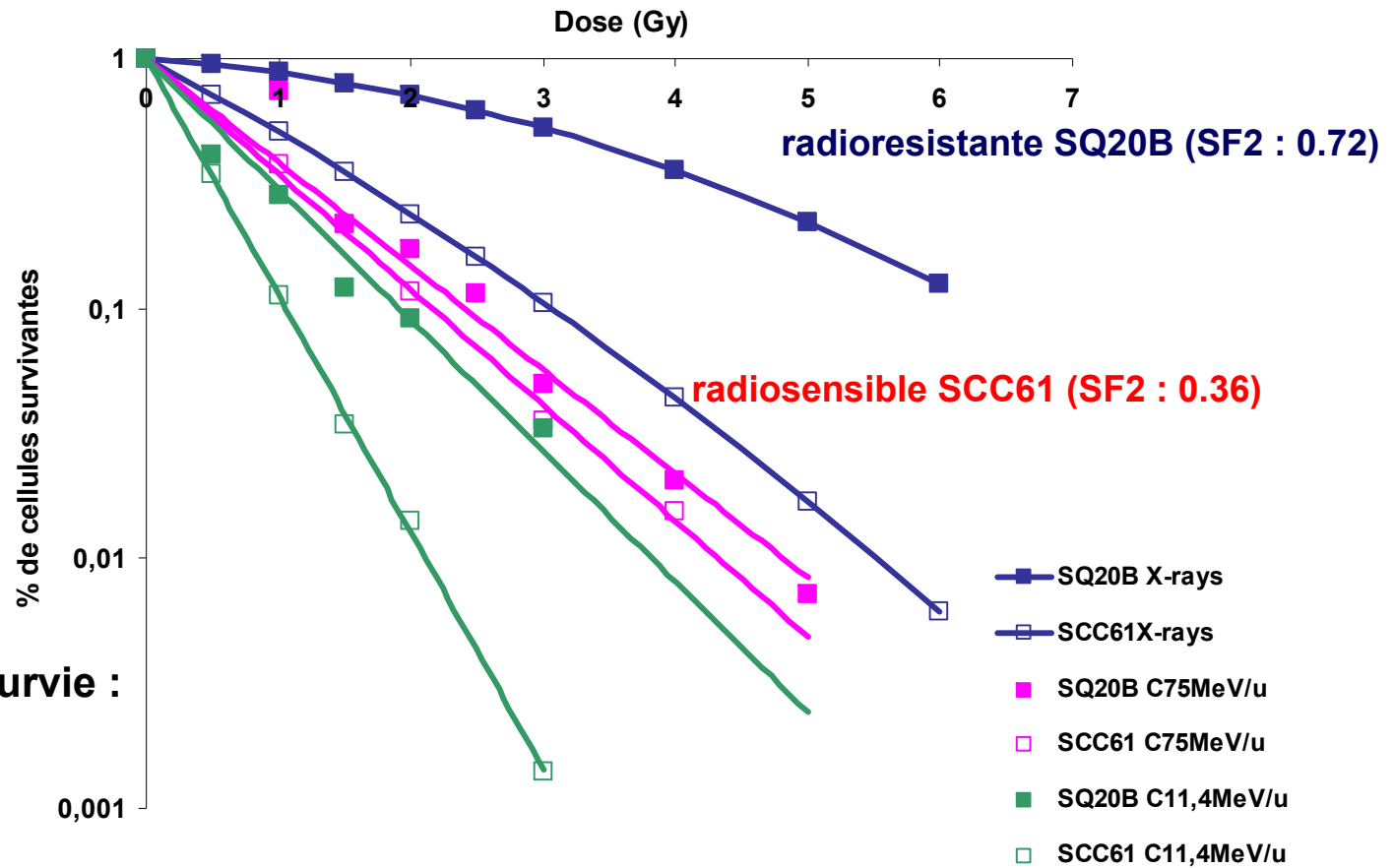
Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- Contribution des RLO (effet indirect) à l'EBR des ions carbone
- Lésions complexes localisées





Courbes de survie cellulaire



EBR à 10% de survie :

C75 MeV/n :

1.5 (SCC61)

2.5 (SQ20B)

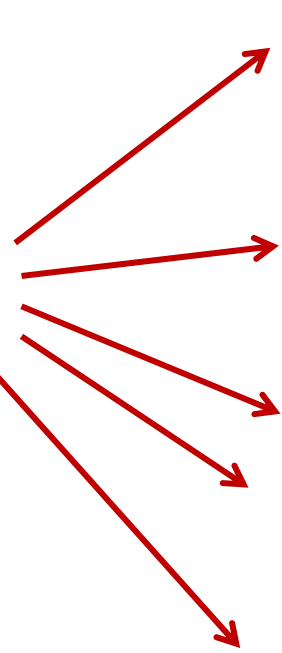
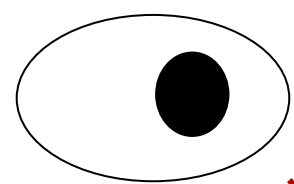
C11.4 MeV/n :

4.2 (SCC61)

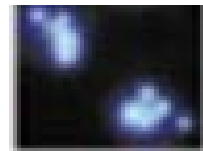
2.8 (SQ20B)



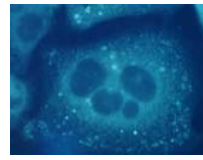
Types de mort cellulaire ?



Apoptose



**Catastrophe Mitotique
Autophagie**



Necrose



Sénescence



Survie

Favorable



Non favorable

Tous les types de mort cellulaire décrits en réponse aux ions carbone

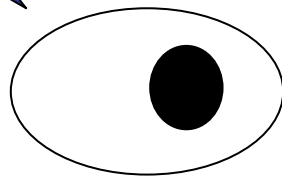


Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Types de mort cellulaire ?

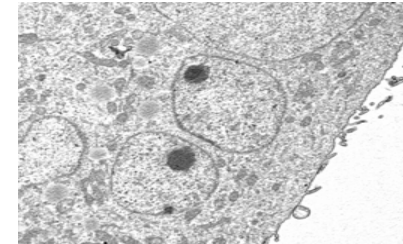
L'irradiation carbone ne modifie pas le type de mort cellulaire mais la déclenche plus précocement et l'amplifie



SQ20B

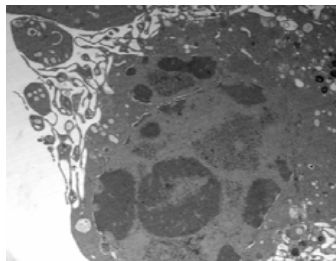
Arrêt en G2
Réparation de l'ADN

**Mort mitotique
Apoptose tardive**



SCC61

Apoptose précoce



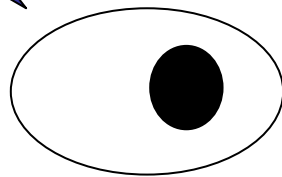


Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Types de mort cellulaire ?

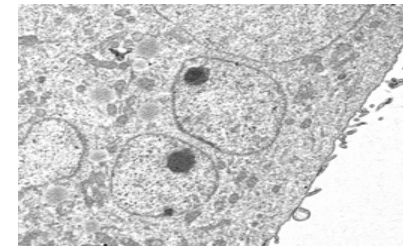
L'irradiation carbone ne modifie pas le type de mort cellulaire mais la déclenche plus précocement et l'amplifie



SQ20B

Arrêt en G2
Réparation de l'ADN

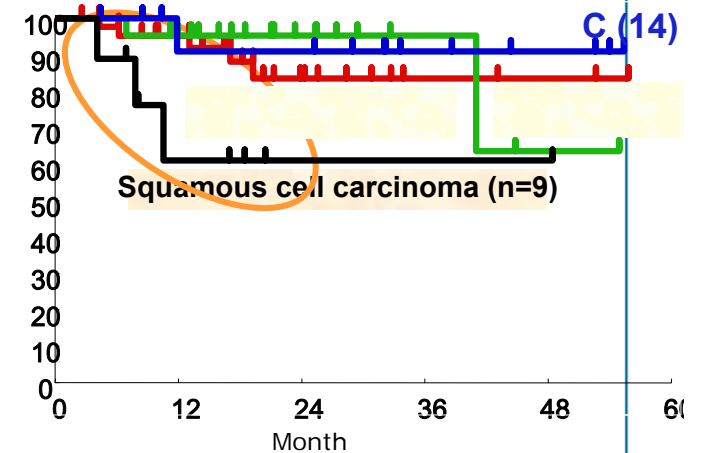
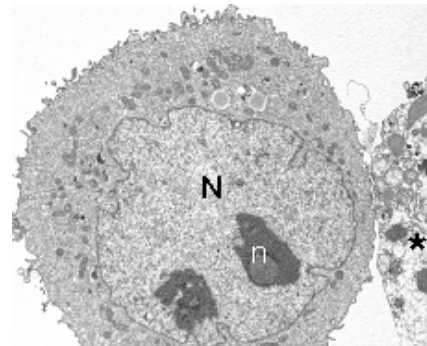
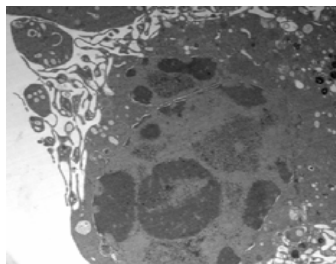
**Mort mitotique
Apoptose tardive**



**Pas d'aberration :
récidives locales ?**

SCC61

Apoptose précoce

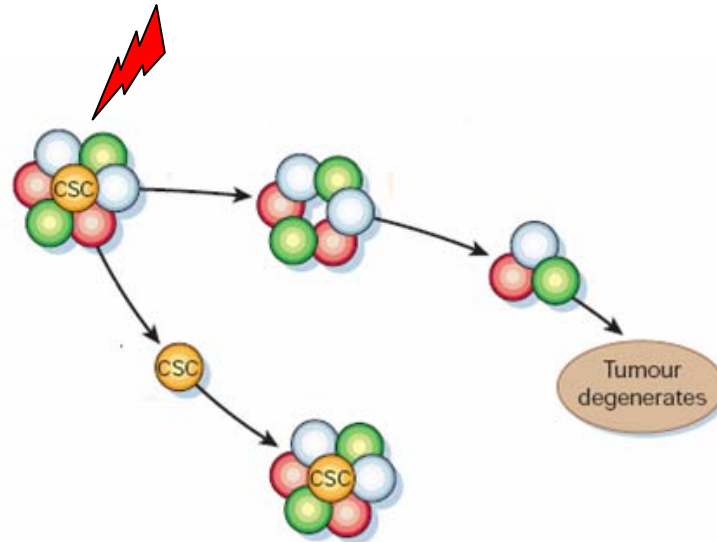
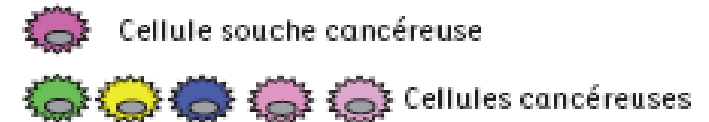
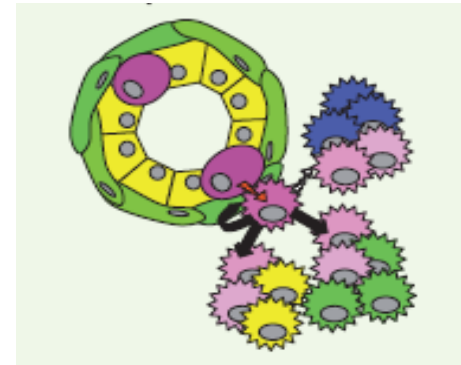


Maalouf et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009

Contrôle local / Métastases ?

Rôle des cellules souches cancéreuses

- Auto-renouvellement
- Prolifération élevée
- Localisation dans « niches » hypoxiques
- Défenses anti-oxydantes ++
- Grande capacité de migration,
- Résistance aux traitements

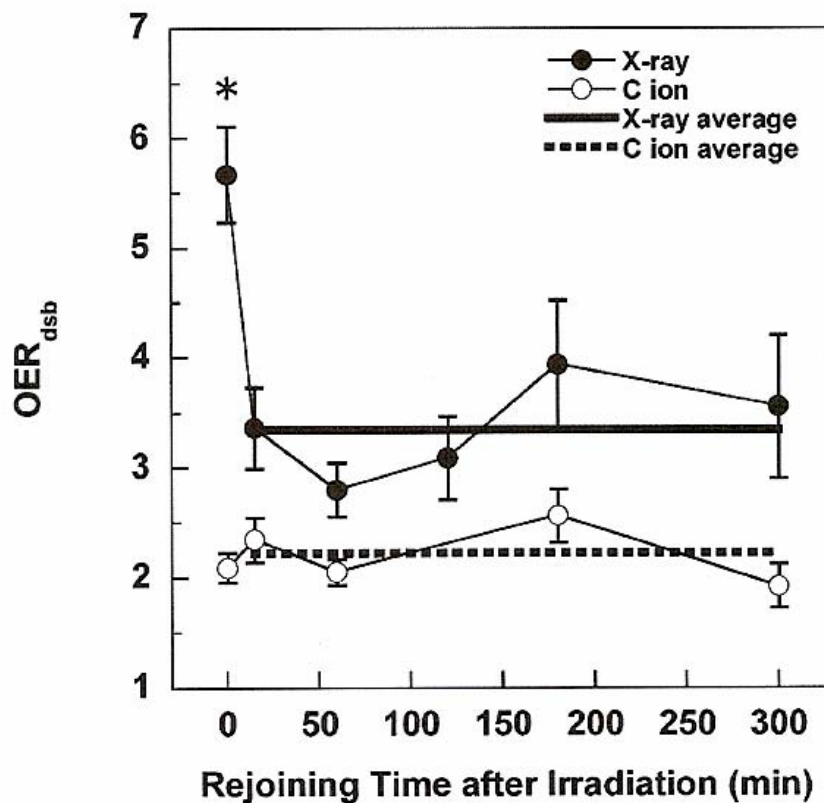


Réponse des cellules souches cancéreuses ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Faible effet oxygène = meilleure efficacité des ions carbone ?



OER (Oxygen Enhancement Ratio) :
rapport de dose pour produire le même effet biologique selon que les cellules sont irradiées en condition d'hypoxie ou non

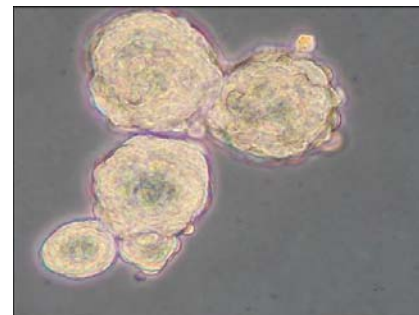
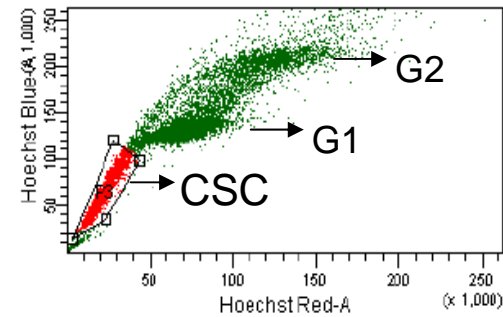
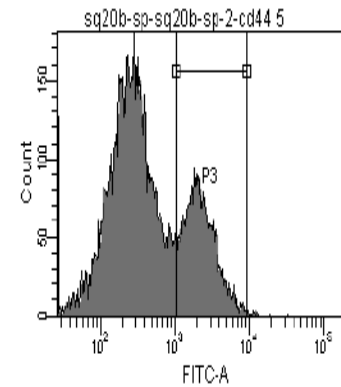
Réponse des cellules souches cancéreuses ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Isolement des CSC :

- Exclusion du Hoeschst
- Expression de CD44, ALDH
- Formation de tumorisphères
- Tumorigènes *in vivo*





Réponse des cellules souches cancéreuses ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

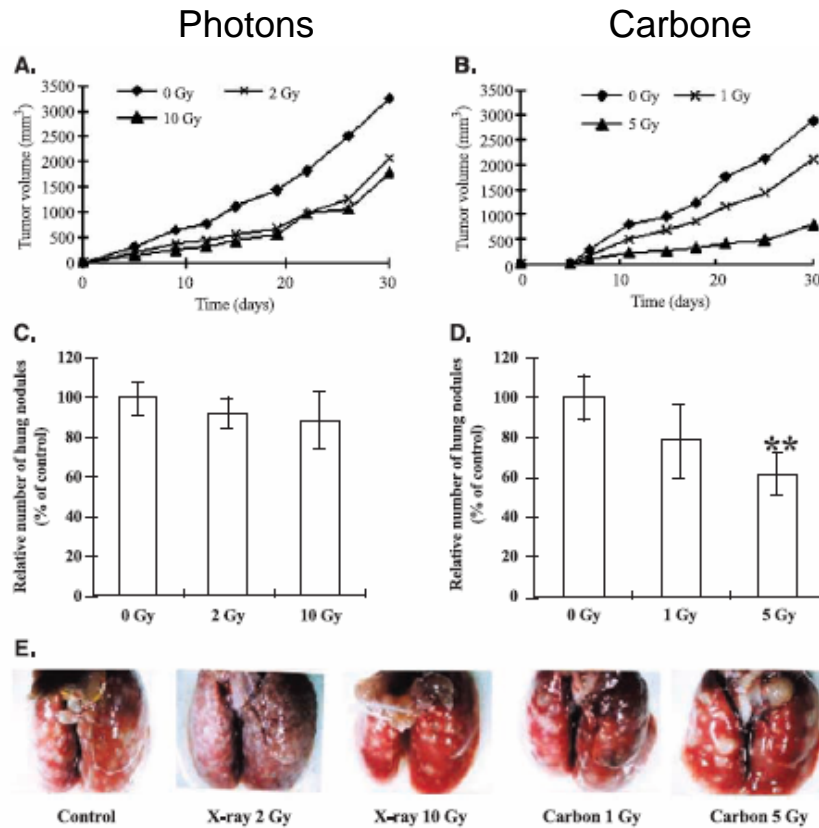
SF2	SQ20B/CD44+	SQ20B/CD44-
Photons	0,82	0,56
C 33,6keV/ μm	0,3	0,1
C 184keV/ μm	0,19	0,07

Les **CSC** sont **plus résistantes** que les cellules non souches en réponse aux photons ou aux ions carbone

Maalouf et al., en préparation



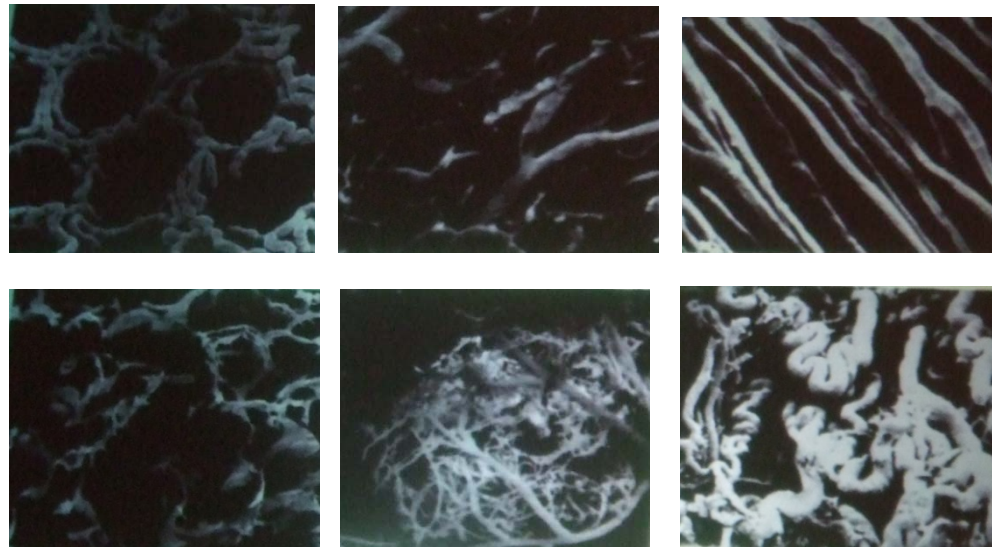
**Résultats contradictoires
comparaison carbone/photons :**



(Ogata et al, Cancer Res, 2005)

- Ostéosarcome in vitro et in vivo : **moins de métastases** pulmonaires (Ogata et al, Cancer Res, 2005)
- Ostéosarcome in vitro : **moins d'invasion, prolifération, et migration** de cellules cancer poumon (Akino et al, .,IJROBP, 2005)
- Tumeurs SCC *in vivo* → métastases pulmonaires : **pas de différence** (Tamaki et al.,IJROBP, 2008)

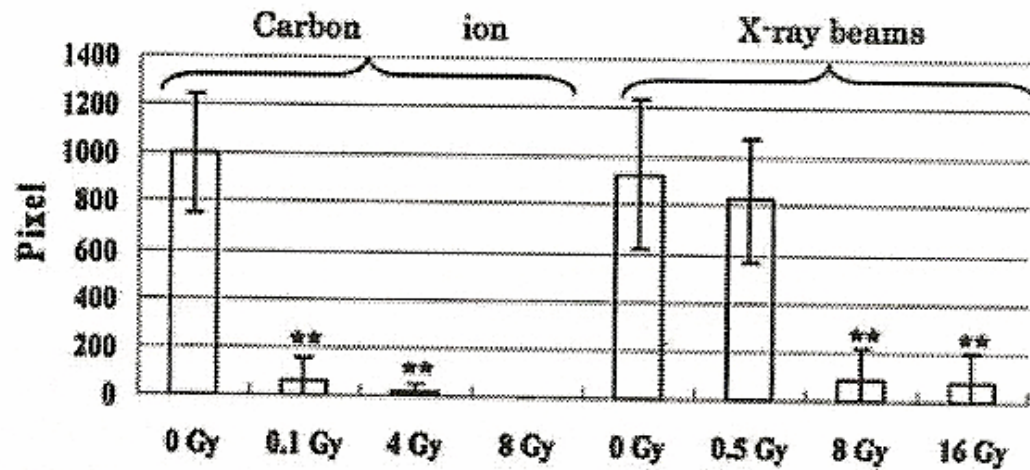
Angiogénèse tumorale?



Tissu sain

Tumeur

Konerding et al



(Takahashi et al)

Moins d'angiogénèse tumorale chez la souris



Centre ETOILE

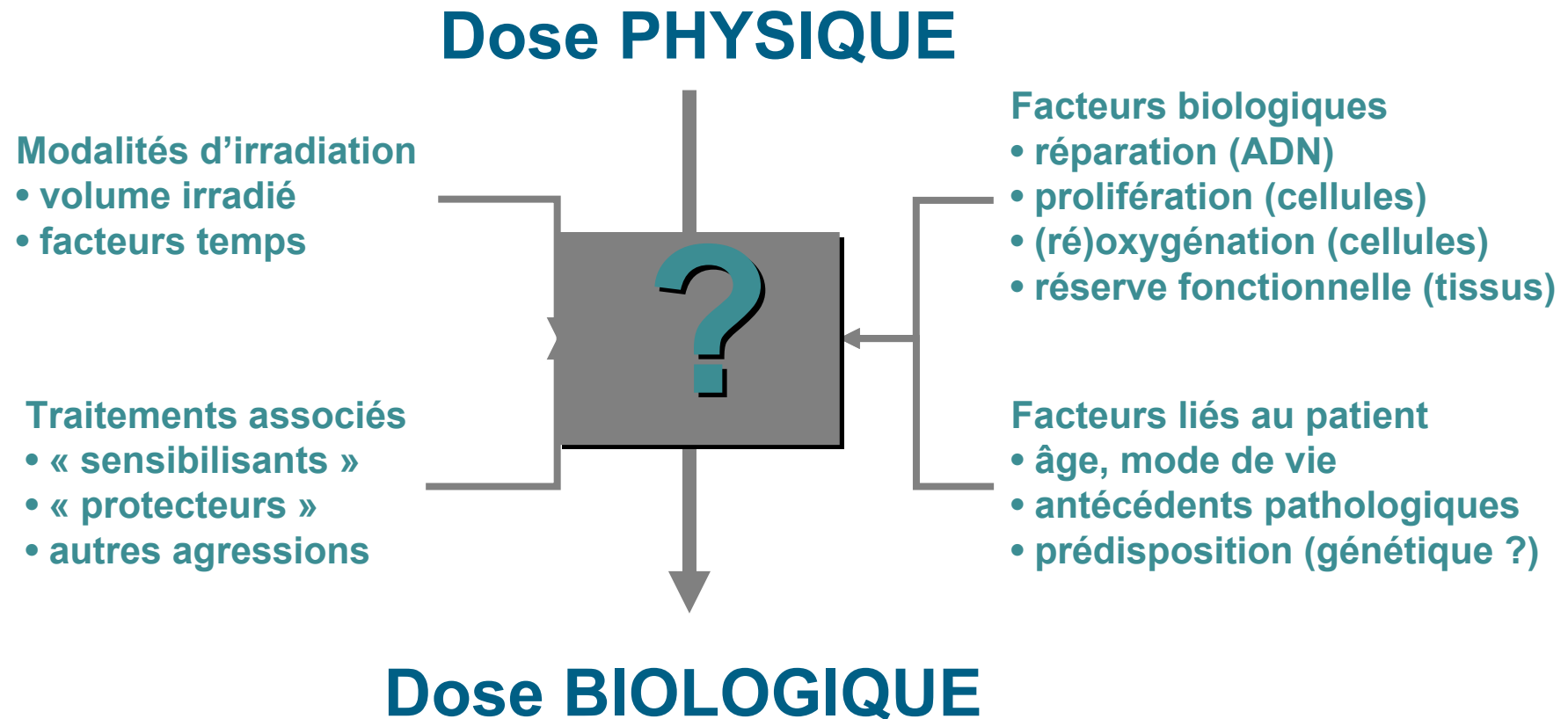
Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- Comprendre

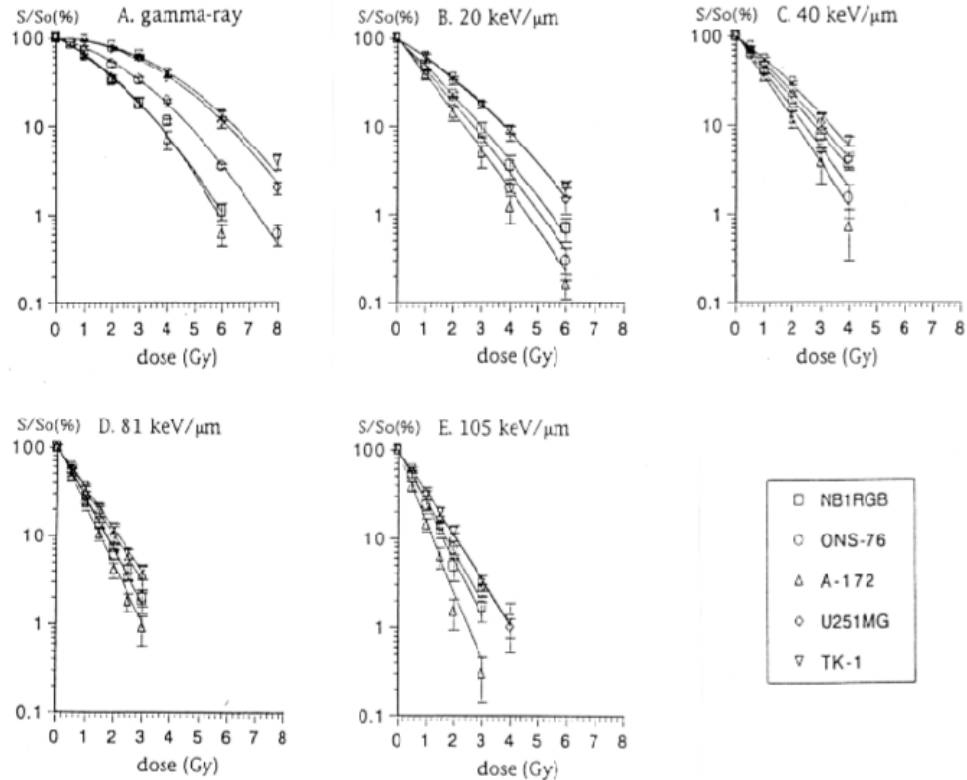
- Optimiser

- Prédire

Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (1) ?



Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (2) ?

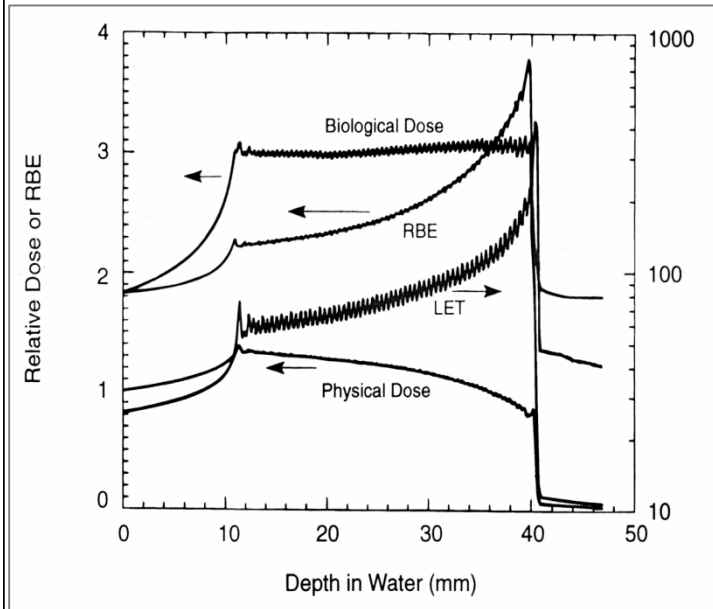


- EBR augmente avec le TEL
- EBR en fonction profondeur et types de tissus (« endpoints ») ?

Courbes de survie aux photons (^{137}Cs) et aux ions carbone de différents TEL pour 5 lignées cellulaires: 3 glioblastomes (U25; TK-1; A-172), un médulloblastome (ONS) et des fibroblastes (NB1).

K. Tsuboi et al, *IJRB*, 74:71-9, 1998.(HIMAC)

Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (3) ?



Kanai et al, *Rad Res*, 1997

- Très hauts débits de dose (Spot Scanning)
- Ré-irradiations très rapprochées (SS)
- Hypofractionnement
- Effets précoces/tardifs (Tumeur vs T sain)

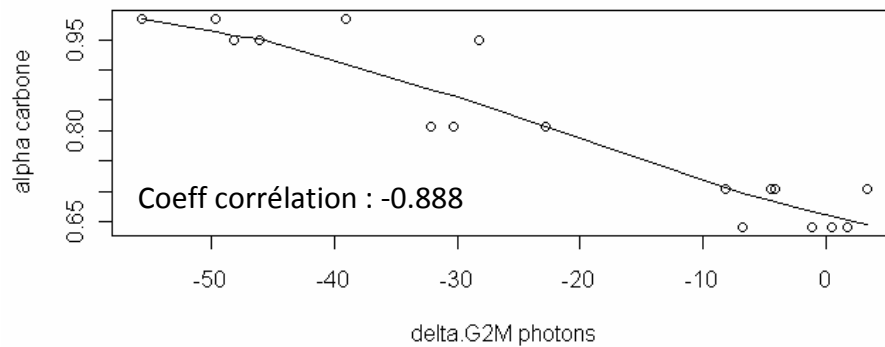
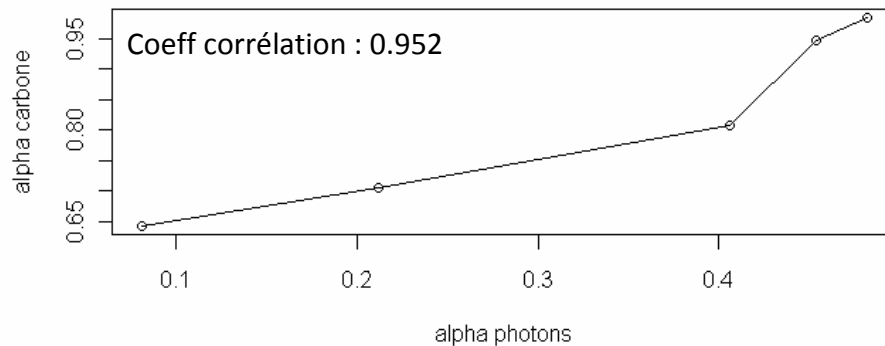


Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (4) ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Lignées de glioblastomes



- Nouveaux paramètres d'entrée pour les modèles (LEM, MKM...)

- **Corrélation entre :**
 - alpha photons / alpha carbone
 - delta G2M photons / alpha carbone



Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (5) ?

Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- Associations Ions Carbone à :

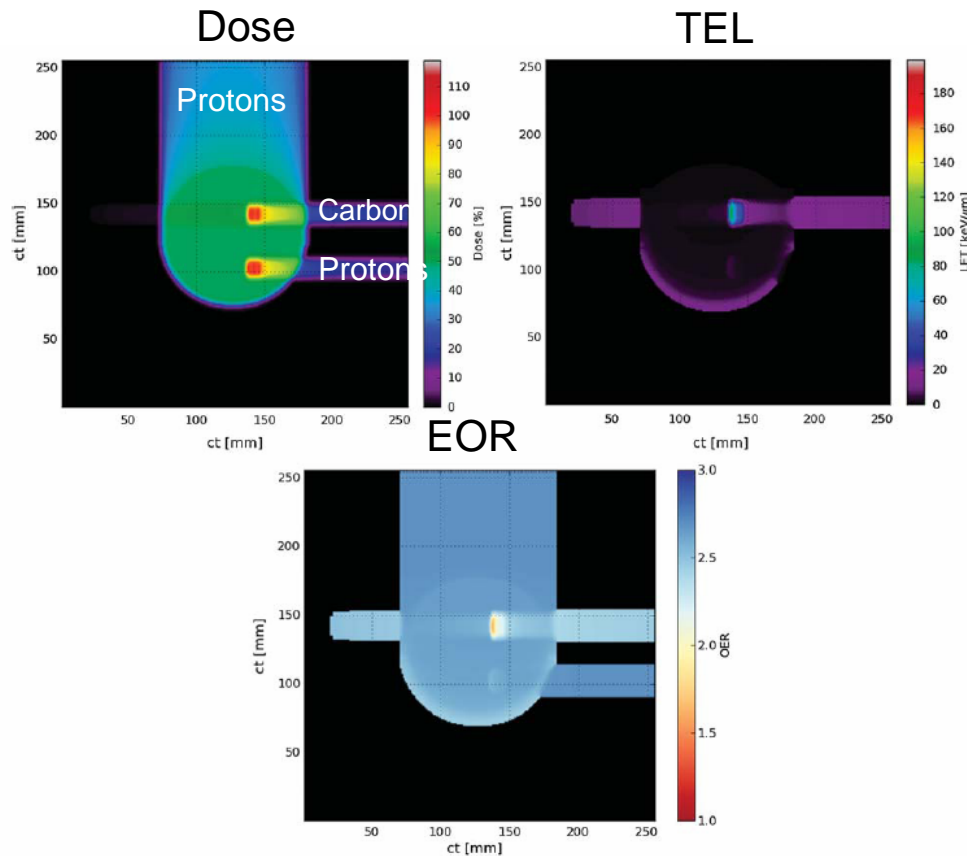
- **Chimiothérapie** (phase 2 clinique dans glioblastomes : témozolomide + C (Heidelberg))
- **Thérapies ciblées** (Immunothérapie)
- **Nanoparticules** (Lantharad)

- **Phénomène d'adaptation** : irradiation carbone post-RT ?

Première irradiation à faible dose induit une résistance à une plus forte dose (*irradiation souris corps entier 0,5 Gy photons puis 7,5 Gy 15 et 55 keV/ μ m (Wang et al, Rad Res, 2010)*)

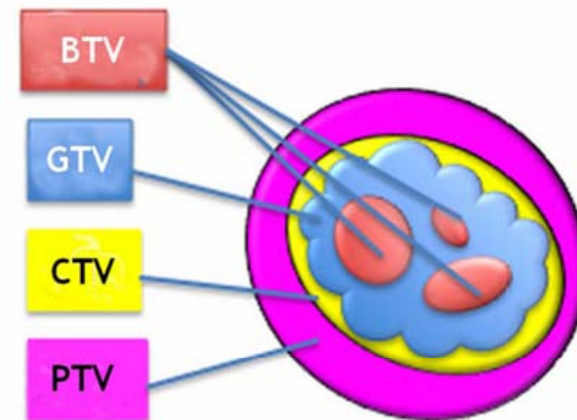
Effets biologiques associés au mode de délivrance du ttt (6) ?

« Tumor Painting »



Quels marqueurs biologiques pour l'imagerie ?

- hypoxie
- prolifération
- métabolisme



BTV : volume cible biologique
GTV : volume cible tumoral
CTV : cible anatomoclinique
PTV : cible prévisionnelle

Bassler et al., Acta Oncologica, 2010



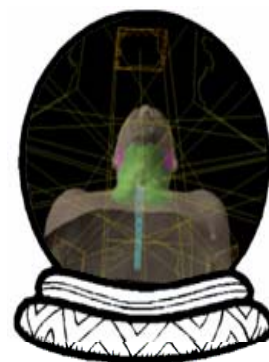
Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

- **Comprendre**

- **Optimiser**

- **Prédire**



Marqueurs biologiques de la réponse tumorale ?

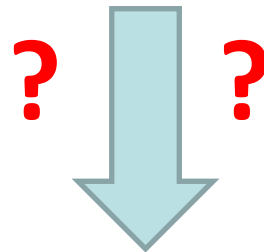
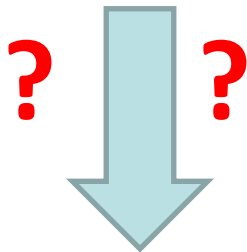
Classification biologique des tumeurs = prédiction de la réponse individuelle

**Tumeur radio-
résistantes**

**Tumeurs radio-
sensibles**

Les « omiques » :

- **Génomique**
- **Transcriptomique**
- **Protéomique**



Escalade thérapeutique

Boost photons ou
Ions Carbone,
« tumor painting »

**Désescalade
thérapeutique**



Centre ETOILE

Centre National d'Hadronthérapie par Ions Carbone

Conclusions

Beaucoup de questions non résolues !!!

- La signature moléculaire des ions carbone est en cours mais difficultés d'analyse et d'accès aux faisceaux
- Le ciblage des CSC est à prendre en considération
- Les effets précoces et tardifs sur tissus sains mal connus
- Les données physiques et biologiques doivent conduire à une optimisation de la délivrance du ttt et de son efficacité curative

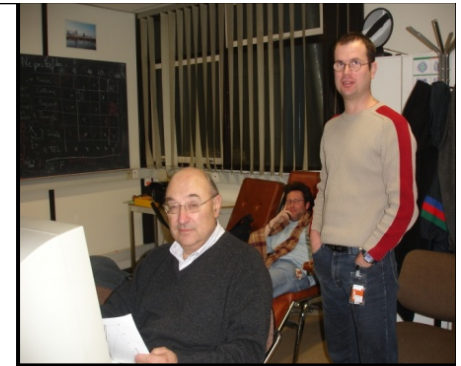




- **Laboratoire de Radiobiologie Cellulaire et Moléculaire**

- **IPNL-LIRIS-La Doua:**

Michael Beuve, Anthony Colliaux, Marcel Bajard, Etienne Testa ...



- **LPC CLERMONT**

Gérard Montarou, Djamel Dabli



- **GSI-Biophysics Group-Darmstadt-Germany:**
Claudia Fournier , Gisela Taucher-Scholz,



- **GANIL-LARIA-Caen:**
Isabelle Testard,
Emmanuel Balanza

