

Contribution aux exercices de prospective 2020-2030

Sciences Nucléaires et Vivant

Amplification de la Dose et Optimisation de la Destruction Cellulaire

Contributeurs

- **Institut Curie Orsay** Equipe NARA (Nouvelles Approches en Radiothérapie) : Y. Prezado
- **Laboratoire de Physique de Clermont** Equipe Santé : G. Montarou P. Vernet
- **Centre d'Etude Nucléaire de Bordeaux Gradignan** Equipe IriBIO : H. Seznec
- **Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien** Equipe Hadronthérapie : M. Rousseau
- **Laboratoire de Physique Corpusculaire de Caen** Equipe Applications médicales et Industrielles : S. Salvador
- **Institut de Physique des Deux Infinis de Lyon** Equipe Prismes : C. Rodriguez-Lafrasse
- **Laboratoire de Physique Subatomique et de Cosmologie de Grenoble** Equipe MIMAC : D. Santos
- **Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie** R. Delorme
- **Arronax et Subatech** : F. Haddad, C. Koumeir

Introduction

L'utilisation thérapeutique des rayonnements ionisants a été largement guidée par l'objectif d'éliminer toutes les cellules cancéreuses tout en minimisant la toxicité pour les tissus adjacents. De nos jours, les progrès technologiques et cliniques ont permis d'améliorer sensiblement la conformation de la dose dans la tumeur, réduisant ainsi la dose aux organes à risque. Cependant, le traitement de certaines tumeurs radiorésistantes, voisines de structures sensibles, et de cancers pédiatriques est toujours compromis en raison du degré de tolérance des tissus normaux.

Le dogme central de la radiothérapie conventionnelle, selon lequel les effets cytotoxiques des radiations sont principalement dus à la production de cassures de double brin d'ADN suivies d'une forme de mort cellulaire (apoptose, nécrose, autophagie, sénescence), est remis en cause par certains auteurs. Ce changement de paradigme résulte notamment des récentes preuves de l'importance de la signalisation cellulaire [1, 2] et du rôle des modifications vasculaires [3], stromales et immunologiques [4, 5] induites par la radiation dans la tumeur et son microenvironnement. L'impact de ces effets non-ciblés sur la réponse biologique aux radiations commence à être pris en considération afin d'améliorer l'indice thérapeutique en radiothérapie [6, 7, 8, 1, 2, 3, 4, 5].

La radiothérapie externe standard est limitée aux mêmes paramètres physiques [9, 10], les mêmes schémas temporels (le plus commun étant une session de 2 Gy par jour pendant plusieurs semaines), des débits de dose faibles (<10 Gy/min), type de particule de faisceau (les photons sont utilisés dans 90% des traitements) et distributions spatiales (principalement de grandes tailles de faisceaux de plusieurs centimètres carrés conduisant à des distributions de dose homogènes). Par ailleurs, le lien étroit existant entre physique et biologie dans la radiothérapie peut permettre une activation et/ou une modulation des effets radiobiologiques différents en ajustant les paramètres physiques de l'irradiation.

Les différentes pistes qui sont actuellement en cours de développement à moyen et long terme sont décrites dans les paragraphes suivants.

«Flash» de particules

De nombreux travaux ont montré le bénéfice de l'hypofractionnement. La technique «Flash» qui consiste à délivrer une dose très importante (qq dizaines de Gy) sur un temps très court (quelques ms) a montré un potentiel intéressant chez le petit animal. Par exemple de très fortes doses en une fraction pourraient transformer le microenvironnement de la tumeur immunosuppressive, qui contribuent aux rémissions complètes souhaitables des tumeurs du côlon murines traitées avec une dose unique de rayonnement de 30 Gy [11]. Des débits de dose très élevés (> 40 Gy/s), similaires à ceux utilisés dans la thérapie FLASH, semblent entraîner, entre autres effets, un gain significatif dans les tolérances tissulaires normales [12].

Il est important d'appréhender aussi tôt que possible les limites de l'irradiation «Flash», notamment en effectuant une étude exhaustive de l'impact du mode de délivrance (durée de l'irradiation, intensité de faisceau, effet de la période de répétition des trains des paquets de particules, pour définir la procédure d'application du mode «Flash» et la compatibilité avec la délivrance de la dose en mode de « pencil beam scanning ». Par ailleurs les mécanismes à l'oeuvre dans cette modalité d'irradiation ne sont pas encore complètement appréhendés et des programmes plus fondamentaux seront nécessaires.

Les plateformes Arronax ([13]), à Nantes et PRECy ([14]) à l'IPHC ont lancé des travaux d'adaptation de leurs faisceaux (proton et alpha à Arronax; proton à PRECy) pour effectuer ces programmes en coopération avec des centres cliniques (Institut de Cancérologie de l'ouest pour Arronax et Centre Paul Strauss pour PRECy). D'un point de vue technique, le développement d'instruments de diagnostic faisceau à très haut débit de dose reste encore un défi à la limite de nos connaissances scientifiques. Dans ce domaine le LPC Caen a poursuivi l'évolution de leur moniteur faisceau Dosion pour l'adapter à des faisceaux de particules chargées à des débits de dose supérieurs à 1 kGray/min. en coopération avec l'institut Curie et le centre de Protonthérapie d'Orsay, pour lesquels cet instrument est développé [15]

Utilisation de Rayonnements divers

Protons

L'utilisation de protons au lieu de photons a été jugée avantageuse, principalement en raison d'une libération de dose plus localisée dans la région appelée pic de Bragg. Cependant, à ce jour, certains indices donnent à penser que le rayonnement de protons pourrait également avoir des propriétés biologiques distinctes [16], telles qu'une capacité accrue à inhiber l'angiogenèse tumorale ou une sensibilité accrue à la destruction des cellules tumorales par les lymphocytes T [17], qui élimineront eux la tumeur.

La multiplication de plateformes délivrant des protons avec une gamme d'énergie très large : 3 MeV (AIFIRA, Radiograaf), 25 MeV (PRECy), 70 MeV (Arronax) 62 MeV (Medicyc) ou de disponibilités de protons à haute énergie dans les centres cliniques en opération actuellement (CPO Orsay CAL Nice) permettent d'envisager de poursuivre des programmes d'amélioration de l'utilisation de protons.

Ions Légers

L'utilisation d'ions légers comme les alphas, le lithium et bien sûr les ions carbones sont naturellement une modalité de traitement de radiothérapie par particules qui nécessite encore un programme d'étude ; et ceci dans l'optique du centre ARCADE. Il est ainsi important :

- de fournir des données biologiques en réponse à différents ions, de différents TEL, pour implémenter les modèles comme Nanox développé par l'équipe PRISME au sein de l'IP2I de Lyon et les plans de traitement pour l'hadronthérapie.
- de démontrer la supériorité biologique des ions afin de permettre de nouveaux développements en clinique. En effet, les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la cellule en réponse à l'irradiation dépendent de la répartition locale de dose à l'échelle nanométrique et plus spécifiquement de la distribution locale des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Les travaux de l'équipe PRISME de l'IP2I de Lyon [18, 19] mettent en avant l'effet « bombardier-furtif » selon lequel les ions carbone produisent des dégâts intracellulaires complexes et irréparables le long des traces, mais surtout n'activent pas les systèmes de défenses et de survie cellulaire en dehors de traces, conduisant potentiellement à moins de récidives et de métastases. La répartition homogène des ROS en réponse à l'irradiation photonique déclenche par contre les voies de survie et de prolifération cellulaire.

Les travaux futurs du groupe PRISME concernent donc la confirmation de ce paradigme pour d'autres ions et dans différents types tumoraux afin de démontrer que les ions auront toujours une supériorité biologique par rapport à la plus sophistiquée des techniques de radiothérapie conventionnelle.

Very High Energy Electron

Les électrons, dont l'énergie variant entre 5 et 20 MeV, ont également été utilisés. Cependant, ils ne conviennent pas au traitement des tumeurs profondes en raison de leur courte portée et de leur diffusion latérale importante. Ces inconvénients peuvent être surmontés si l'énergie est augmentée au-dessus de 70 MeV.

Parmi ces avantages, il a été démontré que ces faisceaux ont une profondeur de pénétration élevée (> 40 cm au-dessus de 150 MeV), un profil de dose longitudinal plus plat et une pénombre latérale comparable ou plus nette avant la profondeur de la tumeur (<10 cm), par rapport aux faisceaux de photons [20, 21]. Des simulations de Monte Carlo ont montré que les VHEE de 150-250 MeV présentaient des avantages potentiels dans le traitement du cancer par rapport aux traitements actuellement disponibles aux électrons, aux photons et aux faisceaux de protons, [22] pour certaines indications comme le cancer de la prostate [23].

Les faisceaux VHEE peuvent être délivrés avec une plus grande précision et les accélérateurs peuvent être construits à un coût nettement inférieur à celui des faisceaux de protons. Initié au sein de l'équipe NARA de l'IMNC (Y. Prezado, R. Delorme) deux collaborations ont démarré sur cette thématique : une 1ère avec l'IRSN pour étudier de

manière théorique les caractéristiques micro et nano-dosimétriques des VHEE, une 2^{de} avec le LOA (Palaiseau) pour réaliser des premières expériences de dosimétrie expérimentale et de biologie *in vitro* sur des faisceaux VHEE laser-plasma de très haute énergie (250 MeV) et pouvant présenter un très haut débit de dose par pulse. Ces études devraient perdurer à court et moyen termes.

Fractionnement spatiale de la dose

Malgré des avancées notables, les traitements conventionnels par radiothérapie se heurtent à la limite de la tolérance des tissus sains aux rayonnements qui limite la délivrance de fortes doses (potentiellement curatives) à la tumeur. Pour remédier à ce problème, une possible solution est l'utilisation de distributions spatiales distinctes, telles que la radiothérapie par mini-faisceaux, qui semble activer des mécanismes biologiques différents de ceux impliqués lorsque des dommages directs sont causés par les rayonnements ionisants.

La MBRT combine des faisceaux submillimétriques à un fractionnement spatial de la dose. Cette modalité utilise un réseau de faisceaux d'un 0,5 mm de largeur espacés de 1 à 4 mm [24]. La base biologique de la conservation normale des tissus après irradiation par MBRT n'est pas encore bien comprise. Certains auteurs [25, 26] font référence à un l'effet dose-volume : plus la taille du champ est petite, plus la tolérance aux tissus normaux est élevée.

La radiothérapie par mini-faisceau de protons (pMBRT) a été proposée pour la première fois par Y. Prezado et G. Fois en 2013 [27]. Des exemples de dose calculée (profils unidimensionnels et distributions de dose bidimensionnelles) ainsi que les derniers résultats biologiques obtenus ont été publiés [28] pour les différentes techniques de fractionnement spatial GRID, micro- (*microbeam radiation therapy*, MRT) et minifaisceaux (*minibeam radiation therapy*, MBRT). Des résultats récents obtenus avec les protons ont également montré une amélioration possible de la protection des tissus sains par cette technique, ouvrant ainsi la voie à de possibles escalades de dose dans les tumeurs et tout particulièrement un traitement plus efficace des tumeurs très radiorésistantes. La preuve de concept expérimentale de la pMBRT a été réalisée au Centre de Protonthérapie d'Orsay (Institut Curie).

Par ailleurs, un nouvel usage potentiel des ions lourds (néon et plus lourds) en radiothérapie a été évalué dans des études MC, et des premières expériences au NIRS (Japon). Les combiner à un fractionnement spatial permettrait de tirer profit de leur efficacité dans le traitement de tumeurs radiorésistantes (hypoxiques), un des principaux défis de la radiothérapie, tout en minimisant leurs effets secondaires.

Une stratégie innovante pourrait être donc une exploration approfondie à moyen et long terme de cette approche : la MBRT par faisceaux d'ions très lourds.

Radiosensibilisation par Nanoparticule

Une autre stratégie de radiosensibilisation concerne l'utilisation de matériaux, ciblant les cellules et permettant par réaction avec l'irradiation primaire de renforcer la dose locale par l'émission très localisée de particules secondaires à fort pouvoir d'ionisation. Les matériaux réalisant cette radio-sensibilisation peuvent être des nanoparticules de matériaux à Z élevé (Gd, Au), avec des fonctionnalisations diverses selon les ligands associés.

De nombreux travaux antérieurs ont permis de faire la preuve de concept *in vitro* et *in vivo* de l'effet sensibilisant à l'irradiation photonique conventionnelle, voire en irradiation par proton et par ions carbone, de différents types de nanoparticules métalliques [29, 30, 31].

Seulement deux types de nanoparticules métalliques, développées en collaboration avec des équipes IN2P3 et mises sur le marché par la recherche française, sont actuellement en phase d'évaluation clinique : - les nanoparticules d'oxyde d'hafnium NBTXR3 ® de Nanobiotix, actuellement en phase 3 clinique dans les sarcomes [32], et celles de gadolinium AGuIX ® de TherAguix en phase 2 dans les métastases cérébrales et le cancer du col de l'utérus [33]. Cependant, les premières, en raison d'un diamètre de 45 nm sont injectées uniquement par voie intra-tumorale, et les deuxièmes de 10 nm ne permettent d'amener que 5% de la dose injectée par voie-inveineuse à la tumeur avec une demi-vie de une à deux heures. De plus, leur effet biologique est étroitement corrélé au dépôt de dose à l'échelle nanométrique mais n'est pas encore totalement compris.

Des développements concernant les nanoparticules métalliques de petite taille sont donc indispensables afin :

- d'augmenter leur cytotoxicité dans la cellule tumorale ;
- d'améliorer leur ciblage à la tumeur ;

- de comprendre leur mécanisme d'action biologique à l'échelle nanométrique par rapport au dépôt de dose locale.

Trois stratégies complémentaires sont proposées par trois groupes, en coopération avec des partenaires hors IN2P3 :

• **Groupe PRISME de l'IP2I de Lyon** : Étude de l'effet radiosensibilisant de nouvelles générations de nanoparticule AGuIX dans lesquelles :

1. la nature du métal constituant la nanoparticule sera modifiée afin d'augmenter l'effet cytotoxique intratumoral : Les coefficients d'absorption d'énergie massique des rayons X augmentant fortement avec un numéro atomique croissant (l'effet photoélectrique est proportionnel à Z^5), l'effet radiosensibilisant devrait être plus important avec des nanoparticules AGuIX contenant un métal dont le Z est plus élevé que le Gd. Des nanoparticules contenant Y, Lu, Bi à la place du Gd, en ne modifiant aucun autre paramètre de la nanoparticule (taille, surface, hydrophobie), ont été synthétisées selon un nouveau procédé (brevet EP17305701) par l'équipe d'O. Tillement (Fennec, ILM) et sont en cours d'évaluation par l'équipe PRISME.
2. le ciblage tumoral sera amélioré en greffant à leur surface des ligands les adressant plus spécifiquement à la tumeur (adressage aux protéoglycanes de surface, ciblage de PDL1 ou de la neuropiline par des nanobodies).

Les effets radiosensibilisant de ces deux types de nouvelles générations d'AGuIX® seront testés à la fois *in vitro* et *in vivo* dans des modèles tumoraux de cancer tête et cou, de mélanome ou de tumeurs cérébrales et les mécanismes moléculaires mis en jeu seront approfondis.

• **Pôle PPSE du Laboratoire de Physique de Clermont** : Effet radiosensibilisant et ciblage mitochondrial

Le programme envisagé se focalise la mitochondrie. En effet, cet organite constitue une cible de choix pour modifier et altérer le fonctionnement cellulaire car elle contrôle de façon stricte un grand nombre de fonctions cellulaires [34]. Le ciblage mitochondrial, c'est à dire l'adressage spécifique de molécules ou composés à cet organite, se fait le plus souvent par l'utilisation de petites molécules lipophiles et cationiques, comme le montre aussi l'utilisation de composés organo-métalliques [35]. Ce programme repose donc sur la conception et la préparation de nanoparticules métalliques à Z élevé et de tailles variées (5 à 10 nm) pouvant cibler le réseau mitochondrial des cellules via des fonctionnalisations spécifiques. Dans le cas présent, les études seront réalisées avec des nanoparticules d'or générées au laboratoire et qui pourront être complétées par des nanoparticules de dioxyde de titane seules dans un 1^{er} temps. Les modèles cellulaires actuellement utilisés (cellules prostatiques tumorales) présentent l'avantage de la diversité des phénotypes et des origines [36] permettant de tester dans différents contextes les approches choisies.

Les mécanismes et les voies de signalisation conduisant au processus de radiosensibilisation seront comparés à ceux déclenchés en absence de ciblage mitochondrial. Les altérations mitochondriales et plus particulièrement les dommages fonctionnels à l'ADN mitochondrial seront analysés [37].

La radiosensibilisation sera réalisée dans un contexte d'irradiations X sur la plateforme PAVIRMA (250 keV). De plus de par sa localisation et la proximité d'organes à risque (vessie, rectum), le cancer de la prostate se prête particulièrement bien au traitement par protonthérapie. Les effets comparatifs par rapport aux photons sont indéniables du point de vue théorique et physique, mais restent à confirmer sur un aspect clinique [38]. Une étude comparative sera effectuée sur les modèles prostatiques utilisés en bénéficiant de la disponibilité de plusieurs lignes en France de faisceaux protons d'énergie variées (3 MeV AIFIRA, 25 MeV PreCy, 65 et 230 MeV CAL Nice). Cela permettra de comparer les effets sur un même modèle cellulaire dans des contextes énergétiques différents et de pouvoir analyser de façon systématique les conséquences induites et les mécanismes mis en jeu.

• **Groupe IRIBIO du CENBG de Bordeaux** : La compréhension des mécanismes d'interactions entre nanoparticules métalliques/oxydes de métaux et les Rayonnements ionisants (RI) est loin d'être complètement maîtrisée. Ces interactions peuvent intégrer des effets physiques, chimiques et biologiques.

- Outre les éventuelles toxicité ou sensibilité cellulaire induite par les nanoparticules, il est nécessaire d'évaluer *in vitro* la relation dose-effet en intégrant non seulement la dose de RI mais également la dose de nanoparticules et d'évaluer ainsi la radio-sensibilisation/potentialisation nano-induite.
- Il est donc nécessaire de quantifier les nanoparticules à l'échelle cellulaire en fonction du type de nanoparticules (chimie, taille, réactivité de surface, forme) et du type cellulaire considéré (sain *versus* cancer) [39].
- Cette caractérisation nécessite la mise en oeuvre de protocoles de préparation d'échantillons et de méthodes de micro-analyses chimiques multi-élémentaires et quantitatives (micro-PIXE) disponibles sur la plateforme AIFIRA du CENBG.

- Ces analyses permettent d'obtenir des informations essentielles sur l'internalisation, la localisation, la distribution et la quantité des nanoparticules, sur leur impact sur l'homéostasie cellulaire et l'identification d'altérations physico-chimiques et suggérer des voies biologiques nano-induites d'intérêt pour d'éventuelles approches thérapeutiques [40, 41].

Radiosensibilisation par Reaction de particule lentes (neutrons, protons) sur du Bore

La thérapie par capture de neutrons (BNCT) comporte deux étapes : on injecte d'abord au patient un médicament susceptible de se concentrer dans la tumeur contenant du Bore (^{10}B) qui a une forte section efficace de capture des neutrons lents. Ensuite, le patient est irradié avec des neutrons lents dont la source est soit un réacteur nucléaire, soit un accélérateur. Après avoir perdu de l'énergie lorsqu'ils pénètrent les tissus, les neutrons sont absorbés par le ^{10}B , qui émet ensuite des particules chargées de haute énergie qui peuvent tuer sélectivement les cellules tumorales qui ont absorbé des quantités suffisantes de ^{10}B . La BNCT est actuellement peu développée principalement en raison de la grande difficulté, de pouvoir avoir accès à des réacteurs nucléaires adaptés à un environnement clinique, bien que ceux-ci présenteraient un intérêt réel pour de nombreuses pathologies cancéreuses.

Le LPSC (Equipe MIMAC D. Santos et al.) a initié un programme de R&D basé sur une technique spécifique d'AB-NCT permettant la fabrication de sources intenses de neutrons produites par un accélérateur et de définir un démonstrateur AB-NCT avec une source de deutons intense ($I > 10 \text{ mA}$), couplé à un accélérateur compact produisant des deutons à 1,45 MeV avec un système adapté pour contrôler et surveiller l'optique du faisceau [42]. En parallèle la réalisation de nanovecteurs biologiques et chimiques délivrant le bore au patient avec l'exigence d'un ciblage sélectif des tumeurs afin d'atteindre des concentrations en bore suffisantes pour produire des doses thérapeutiques de rayonnement sur le site de la tumeur avec un rayonnement minimal délivré aux tissus normaux peut relancer cette modalité, spécifiquement adaptée à la destruction des tumeurs diffusives ou des métastases.

Si la BNCT utilise la capture de neutrons lents par le ^{10}B , il existe une réaction, $^{11}\text{B} + p \rightarrow 3\alpha$, qui utilise la capture de proton lent par l'autre isotope ^{11}B . Cette modalité appelé fusion proton-Bore (PBCT) a été proposée pour la première fois par D-K. Yoon et al. [44], peut trouver une application dans le cadre de la protonthérapie. En effet, les dépôts d'énergie dans les traitements par hadronthérapie sont caractérisés par le phénomène du Pic de Bragg ; où, à la fin du parcours des protons incidents, ceux-ci ont perdu la plus grande partie de leur énergie et donc sont devenu des protons lents qui peuvent interagir avec le ^{11}B .

Les effets biologiques de la réaction de fusion p-B ont été étudiés en mesurant la mort cellulaire clonogénique et les aberrations chromosomiques (AC) dans une lignée cellulaire du cancer de la prostate (DU145) et dans une lignée cellulaire épithéliale mammaire non tumorigène (MCF-10A), respectivement [45]. Il a été démontré que la létalité cellulaire induite par l'irradiation de protons était grandement accrue par l'irradiation de cellules préalablement traitées avec de la BSH.

Les données radiobiologiques rapportées dans les travaux du groupe du LNS Catania (G.A.P. Cirrone et al.) suggèrent que la réaction $p + ^{11}\text{B} \rightarrow 3\alpha$ est bien responsable de l'augmentation observée de l'efficacité biologique d'un faisceau de protons clinique. Cependant il n'est pas possible actuellement de fournir un simple calcul analytique capable d'expliquer ces résultats [46]. Les connaissances actuelles sur l'action des rayonnements biologiques ont néanmoins établi que les effets biologiques des particules secondaires générées, essentiellement des particules alphas de basse énergie et de grand LET ne peuvent pas être interprétés uniquement sur la base de concepts macroscopiques tels que la dose absorbée ou les distributions moyennes de TEL. Cela est dû à la nature intrinsèquement inhomogène des événements de dépôt d'énergie le long des traces de ces particules, qui devient plus importante avec l'augmentation de la densité d'ionisation. Par conséquent, les approches micro et nano dosimétriques doivent être prises en compte pour analyser les effets survenant au niveau cellulaire que ce soit pour la BNCT [47, 48] que pour la PBFT [49, 50].

Conclusion

Dans cette optique, les prochaines avancées en matière de radiothérapie proviendront d'une meilleure compréhension des effets et des mécanismes biologiques mis en oeuvre par le rayonnement et, en particulier, de la manière dont ceux-ci peuvent être activés et/ou modulés en modifiant les paramètres physiques suivant : le type de particule, l'énergie du faisceau, les distributions temporelles (fractionnement, débit de dose (Flash)) ou spatiales.

L'objectif à moyen et long terme devra être de contribuer à l'exploration de cette vaste terra incognita, à savoir comment la physique peut moduler la réponse biologique et comment utiliser efficacement et rapidement ce lien au profit du traitement des patients.

Références

- [1] K. Prise, J. O’Sullivan, Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy., *Nature reviews. Cancer* 9 (2009) 351–360.
- [2] F. Rodel, B. Frey, G. Multhoff, U. Gaipl, Contribution of the immune system to bystander and non-targeted effects of ionizing radiation, *Cancer Letters* 356 (1) (2015) 105–113.
- [3] H. Park, R. Griffin, S. Hui, S. Levitt, C. Song, Radiation-induced vascular damage in tumors : Implications of vascular damage in ablative hypofractionated radiotherapy (sbirt and srs), *Radiation Research* 177 (2012) 311–327.
- [4] D. Schaue, E. Kachikwu, W. McBride, Cytokines in radiobiological responses : A review, *Radiation Research* 178 (2012) 505–523.
- [5] R. Weichselbaum, H. Liang, L. Deng, Y.-X. Fu, Radiotherapy and immunotherapy : a beneficial liaison?, *Nature Reviews Clinical Oncology* 14 (2017) 365–379.
- [6] H. Barker, J. Paget, A. Khan, K. Harrington, The tumour microenvironment after radiotherapy : mechanisms of resistance and recurrence., *Nature reviews. Cancer* 15 (2015) 409–425.
- [7] S. Formenti, S. Demaria, Systemic effects of local radiotherapy., *Lancet Oncol.* 10 (2009) 718–726.
- [8] J. Nessler, D. Peiffert, G. Vogin, P. Nickers, Cancer, radiothérapie et système immunitaire, *Cancer Radiothérapie* 21 (4) (2017) 307–315.
- [9] G. Steel, *Basic Clinical Radiobiology*, Oxford University Press, 2002.
- [10] R. Hoppe, T. Phillips, M. Roach, *Textbook of Radiation Oncology*, Elsevier, 2010.
- [11] A. Filatenkov, Ablative tumor radiation can change the tumor immune cell microenvironment to induce durable complete remissions., *Clin. Cancer Research* 21 (2015) 3727–3739.
- [12] V. Favaudon, C. Fouillade, M.-C. Vozenin, Ultrahigh dose-rate, flash irradiation minimizes the side-effects of radiotherapy, *Cancer Radiother.* 19 (2015) 526–531.
- [13] C. Koumeir, V. De Nadal, R. Cherubini, M. Cherel, E. Garrido, S. Gouard, A. Guertin, F. Haddad, V. Maitivier, N. Michel, F. Poirier, N. Servagent, T. Soualet, N. Varmenot, The radiobiological platform at arronax, *Radiation Protection Dosimetry* 183 (2019) 270–273.
- [14] J. Constanzo, M. Vanstalle, C. Finck, D. Brasse, M. Rousseau, Dosimetry and characterization of a 25-mev proton beam line for preclinical radiobiology research, *Medical Physics* 46 (2019) 2356–2362.
- [15] V. Favaudon, J.-M. Lentz, S. Heinrich, A. Patriarca, L. de Marzi, C. Fouillade, M. Dutreix, Time-resolved dosimetry of pulsed electron beams in very high dose-rate, flash irradiation for radiotherapy preclinical studies, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 944 (2019) 162537.
- [16] S. Girdhani, R. Sachs, L. Hlatky, Biological Effects of Proton Radiation : What We Know and Don’t Know, *Radiation Research* 179 (2013) 257–272.
- [17] S. Gameiro, M. Bernstein, K. Tsang, A. Vasantachart, N. Sahoo, R. Taylor, R. Pidikiti, C. Guha, S. Hahn, S. Krishnan, J. Hodge, Tumor cells surviving exposure to proton or photon radiation share a common immunogenic modulation signature, rendering them more sensitive to t cell mediated killing, *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 95 (2016) 120–130.
- [18] A. Wozny, A. Lauret, P. Battiston-Montagne, J. Guy, M. Beuve, Y. Cunha, M. Saintigny, E. Blond, N. Magne, P. Lalle, D. Ardail, G. Alphonse, C. Rodriguez-Lafrasse, Differential pattern of hif-1alpha up expression in hnscc cancer stem cells after carbon ion or photon irradiation : one molecular explanation of the oxygen effect., *Br J Cancer.* 116 (10) (2017) 1340–1349.

- [19] A. Wozny, G. Vares, G. Alphonse, A. Lauret, C. Monini, N. Magne, A. Cuerq, C. Fujimori, J. Monboisse, M. Beuve, T. Nakajima, C. Rodriguez-Lafrasse, Ros production and distribution : A new paradigm to explain the differential effects of x-ray and carbon ion irradiation on cancer stem cell migration and invasion., *Cancers (Basel)* 3 (11) (2019) 468.
- [20] I. Martinez-Rovira, G. Fois, Y. Prezado, Dosimetric evaluation of new approaches in grid therapy using non-conventional radiation sources, *Medical Physics* 42 (2) (2015) 685–693.
- [21] C. DesRosiers, V. Moskvina, A. Bielajew, L. Papiez, 150-250 MeV electron beams in radiation therapy, *Physics in Medicine and Biology* 45 (7) (2000) 1781–1805.
- [22] E. Schuler, K. Eriksson, E. Hynning, S. Hancock, S. Hiniker, M. Bazalova-Carter, T. Wong, Q.-T. Le, B. Loo Jr., P. Maxim, Very high-energy electron (vhee) beams in radiation therapy ; treatment plan comparison between vhee, vmat, and ppbs, *Medical Physics* 44 (6) (2017) 2544–2555.
- [23] C. DesRosiers, V. Moskvina, M. Cao, C. Joshi, M. Langer, Laser-plasma generated very high energy electrons in radiation therapy of the prostate, in : *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, Vol. 6881, 2008.
- [24] F. Dilmanian, Z. Zhong, T. Bacarian, H. Benveniste, P. Romanelli, R. Wang, J. Welwart, T. Yuasa, E. Rosen, D. Anschel, Interlaced x-ray microplanar beams : A radiosurgery approach with clinical potential, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (25) (2006) 9709–9714.
- [25] J. Hopewell, K. Trott, Volume effects in radiobiology as applied to radiotherapy., *Radiother. Oncol.* 56 (2000) 283–288.
- [26] R. Lawrence, X. Li, I. El Naqa, C. Hahn, L. Marks, T. Merchant, A. Dicker, Radiation dose-volume effects in the brain., *Int.J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 76 (2010) S20–S27.
- [27] Y. Prezado, G. Fois, Proton-minibeam radiation therapy : A proof of concept, *Medical Physics* 40 (3) (2013) 031712.
- [28] D. M. L., C. Nauraye, P. Lansonneur, . , A. Patriarca, T. Schneider, C. Guardiola, H. Mammar, R. Dendale, Y. Prezado, Spatial fractionation of the dose in proton therapy : Proton minibeam radiation therapy, *Cancer/Radiation Therapy* 23 (6) (2019) 677–681.
- [29] C. Verry, E. Porcel, C. Chargari, J. Rodriguez-Lafrasse, C. Balosso, Utilisation de nanoparticules comme agent radiosensibilisant en radiothérapie : ou en est-on, *Cancer Radiation Therapy* (2019).
- [30] F. Lux, et al., AguiX from bench to bedside transfer of an ultrasmall theranostic gadolinium-based nanoparticle to clinical medicine, *The British Journal of Radiology* 92 (1093) (2019) 20180365.
- [31] M. Liu, R.-C. Anderson, X. Lan, P. Conti, K. Chen, Recent advances in the development of nanoparticles for multimodality imaging and therapy of cancer, *Medicinal Research Reviews* (2019).
- [32] S. Bonvalot, et al., Nbtxr3, a first-in-class radioenhancer hafnium oxide nanoparticle, plus radiotherapy versus radiotherapy alone in patients with locally advanced soft-tissue sarcoma (act.in.sarc) : a multicentre, phase 2–3, randomised, controlled trial, *The Lancet Oncology* 20 (8) (2019) 1148–1159.
- [33] C. Verry, L. Sancey, S. Dufort, G. Le Duc, C. Mendoza, F. Lux, S. Grand, J. Arnaud, J. Quesada, J. Villa, O. Tillement, J. Balosso, Treatment of multiple brain metastases using gadolinium nanoparticles and radiotherapy : Nano-rad, a phase i study protocol, *BMJ Open* 9 (2) (2019).
- [34] K. Roth, I. Mambetsariev, P. Kulkarni, R. Salgia, The mitochondrion as an emerging therapeutic target in cancer, *Trends in Molecular Medicine* 19 (2019) 30171–6.
- [35] E. A., Mitochondria-targeting anticancer metal complexes., *Curr Med Chem.* 26 (4) (2019) 694–728.
- [36] E. Arisan, P. Obakan, A. Coker-Gurkan, A. Calcabrini, E. Agostinelli, N. Unsal, Cdk inhibitors induce mitochondria-mediated apoptosis through the activation of polyamine catabolic pathway in lncap, du145 and pc3 prostate cancer cells., *Curr Pharm Des.* 20 (2) (2014) 180–8.

- [37] A. Moretton, F. More, B. Macao, P. Lachaume, L. Ishak, I. Lefebvre, M. Garreau-Balandier, P. Vernet, M. Falkenberg, G. Farge, Selective mitochondrial dna degradation following double-strand breaks., *PLoS One*. 12 (4) (2017) e0176795.
- [38] T. Royce, J. Efstathiou, Proton therapy for prostate cancer : A review of the rationale, evidence, and current state, *Urologic Oncology : Seminars and Original Investigations* 37 (9) (2019) 628–636.
- [39] G. Muggiolu, M. Simon, N. Lampe, G. DevÃ’s, P. Barberet, C. Michelet, H. Delville, M.-H. Seznec, In situ detection and single cell quantification of metal oxide nanoparticles using nuclear microprobe analysis, *J Vis Exp*. 132 (2018) e55041.
- [40] Q. Le Trequesser, G. DevÃ’s, G. Saez, L. Daudin, P. Barberet, C. Michelet, M.-H. Delville, H. Seznec, Single cell in situ detection and quantification of metal oxide nanoparticles using multimodal correlative microscopy, *Analytical Chemistry* 86 (15) (2014) 7311–7319.
- [41] M. Simon, G. Saez, G. Muggiolu, M. Lavenas, Q. Le Trequesser, C. Michelet, G. DevÃ’s, P. Barberet, E. Chevet, D. Dupuy, M.-H. Delville, H. Seznec, In situ quantification of diverse titanium dioxide nanoparticles unveils selective endoplasmic reticulum stress-dependent toxicity, *Nanotoxicology* 11 (1) (2017) 134–145.
- [42] M. Capoulat, N. Sauzet, A. Valda, L. Galletti, O. Guillaudin, L. Lebreton, D. Maire, P. Mastinu, J. Praena, Q. Riffard, B. Tampon, D. Santos, A. Kreiner, Neutron spectrometry of the $9\text{be}(\text{d}(1.45\text{mev}),\text{n}10\text{b})$ reaction for accelerator-based bnc, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms* 445 (2019) 57–62.
- [43] D.-K. Yoon, J.-Y. Jung, T. Suh, Application of proton boron fusion reaction to radiation therapy : A monte carlo simulation study, *Applied Physics Letters* 105 (22) (2014) 223507.
- [44] G. Cirrone, L. Manti, D. Margarone, G. Petringa, L. Giuffrida, A. Minopoli, A. Picciotto, G. Russo, F. Cammarata, P. Pisciotto, F. Perozziello, M. Romano, V. Marchese, V. Milluzzo, G. Scuderi, G. Cuttone, G. Korn, First experimental proof of proton boron capture therapy (pbct) to enhance protontherapy effectiveness, *Scientific Reports* 8 (2018) 1141.
- [45] G. Cirrone, G. Petringa, A. Attili, D. Chiappara, L. Manti, V. Bravata, M. Margarone, G. Cuttone, Study of the discrepancy between analytical calculations and the observed biological effectiveness in proton boron capture (pbct), *Rad. Applic.* 3 (2018) 147–151.
- [46] H. Horiguchi, T. Sato, H. Kumada, T. Yamamoto, T. Sakae, Estimation of relative biological effectiveness for boron neutron capture therapy using the phits code coupled with a microdosimetric kinetic model., *J Radiat Res*. 56 (2) (2015) 382–390.
- [47] T. Sato, S. Masunaga, H. Kumada, N. Hamada, Microdosimetric modeling of biological effectiveness for boron neutron capture therapy considering intra- and intercellular heterogeneity in 10b distribution, *Scientific Reports* 8 (2018) 988.
- [48] K. Takada, T. Sato, H. Kumada, J. Koketsu, K. Hideyuki, H. Sakurai, T. Sakae, Validation of the physical and rbe-weighted dose estimator based on phits coupled with a microdosimetric kinetic model for proton therapy., *J Radiat Res* 59 (1) (2018) 91–99.
- [49] T. Sato, Y. Furusawa, Cell survival fraction estimation based on the probability densities of domain and cell nucleus specific energies using improved microdosimetric kinetic models, *Radiation Research* 178 (4) (2012) 341–356.