



Lutter contre les cancers grâce aux pigments de microalgues

Laurent Picot

► To cite this version:

Laurent Picot. Lutter contre les cancers grâce aux pigments de microalgues. Biofutur, 2014. hal-01247714

HAL Id: hal-01247714

<https://hal.science/hal-01247714>

Submitted on 22 Dec 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Lutter contre les cancers grâce aux pigments de microalgues

Auteur

Laurent PICOT

UMRi CNRS 7266 LIENSs – Université de La Rochelle

Les pigments de microalgues présentent un potentiel pharmacologique important pour la prévention et le traitement des tumeurs. Cet article présente quelques applications et pistes de recherche dans les domaines du diagnostic immunologique, de la photothérapie et de la chimiothérapie des tumeurs.

Depuis plus de 40 ans, les microalgues suscitent un immense intérêt du fait de leur fonction écologique majeure dans les écosystèmes aquatiques et grâce à leurs applications biotechnologiques dans les domaines de l'alimentation et de l'énergie. Un autre champ d'étude très actif concerne la recherche dans ces organismes de substances d'intérêt pour prévenir, diagnostiquer ou soigner des cancers. Certains pigments de microalgues présentent des propriétés de fluorescence remarquables et peuvent être couplés à des anticorps pour réaliser la caractérisation immunologique de tumeurs. D'autres se dégradent lorsqu'ils sont irradiés par une source LASER et libèrent des molécules toxiques qui vont détruire localement les tumeurs. Une dernière famille présente des activités cytotoxiques, antitumorales, antimétastatiques et antiangiogéniques, démontrées sur des modèles de cellules cancéreuses ou de tumeurs chez le rongeur, et le développement de méthodes d'extraction et de purification à grande échelle est en cours pour valider leur efficacité thérapeutique chez l'homme.

Les phycobiliprotéines, des pigments fluorescents utiles pour la caractérisation des tumeurs

Les phycobiliprotéines (PBP) sont des pigments hydrophiles de nature protéique, présents dans de nombreuses espèces de cyanobactéries (autrefois nommées algues bleu-vert) et chez plusieurs groupes de microalgues eucaryotes telles que les rhodophytes (algues rouges) ou les glaucophytes (algues bleu-gris d'eau douce). Les sous-unités de ces pigments sont constituées d'une chaîne protéique associée à une chaîne tétrapyrrolique*¹ ouverte (voir schéma) et leur fonction est de collecter les photons au niveau des membranes thylakoïdiennes*², au sein de complexes collecteurs de lumière nommés phycobilisomes. L'énergie des photons collectés au niveau des phycobilisomes est transférée à la chlorophylle a pour la photosynthèse. Il existe quatre types de phycobiliprotéines : la phycoérythrine, la phycocyanine, l'allophycocyanine, et la phycoérythrocyanine. Elles diffèrent par leurs longueurs d'onde d'absorption et de fluorescence, du fait de variations de structure de la chaîne tétrapyrrolique. Tous ces pigments présentent des propriétés de fluorescence remarquables, en particulier de forts rendements quantiques*³, et des déplacements de Stokes*⁴ importants. Ils

*¹un pyrrole est un hétérocycle aromatique pentagonal de formule C₄H₅N.

*²ensemble de membranes des cyanobactéries et des chloroplastes où se déroule la phase photochimique de la photosynthèse.

*³rapport entre le nombre de photons émis par fluorescence et le nombre de photons absorbés

*⁴différence entre la longueur d'onde d'absorption et la longueur d'onde de fluorescence du fluorochrome

sont hydrosolubles et chimiquement stables dans la gamme de pH physiologique, et peuvent être conjugués à des anticorps sans altération de leurs propriétés spectrales. Ils sont donc aujourd'hui largement utilisés dans les techniques d'immunofluorescence, de cytométrie de flux ou d'ELISA^{*5}, pour la caractérisation immunologique des tumeurs et le dosage de biomarqueurs. Des travaux plus récents ont également démontré que les PBP sont cytotoxiques sur des modèles de cellules cancéreuses cultivées *in vitro* (carcinome colique, cancer de la prostate)^{1,2}. Ces protéines peuvent par ailleurs augmenter *in vitro* la sensibilité de cellules cancéreuses au topotécan², un médicament utilisé pour bloquer la réplication de l'ADN et la synthèse d'ARN.

Détruire les tumeurs en irradiant des pigments de microalgues par un LASER

La photothérapie des tumeurs ou thérapie photodynamique (PDT) consiste à injecter au patient porteur d'une tumeur solide un médicament nommé photosensibilisant, qui va se concentrer dans la tumeur et se dégrader en libérant des molécules toxiques lors d'une irradiation LASER (voir schéma). L'irradiation du photosensibilisant – à des longueurs d'onde spécifiques généralement situées dans le rouge ou le proche infrarouge (entre 640 et 800 nm) – déclenche une série de transitions énergétiques dans la molécule, qui conduisent à sa dégradation et à la libération dans le tissu tumoral d'espèces radicalaires très cytotoxiques, telles que l'oxygène moléculaire singulet et les radicaux hydroxyles. En réagissant avec les lipides des membranes cellulaires, les acides aminés et l'ADN, ces espèces oxydantes détruisent les cellules tumorales^{3,4}. L'utilisation de fibres optiques LASER, combinée à la capture préférentielle des pigments par la tumeur, permet de limiter la destruction et l'inflammation des tissus sains environnant, ce qui fait de la PDT un traitement locorégional relativement sélectif. De nombreuses tumeurs peuvent ainsi être traitées (métastases cutanées des cancers du sein, cancers de la prostate, tumeurs bronchiques, etc...)³.

Parmi les principaux médicaments sur le marché ou en développement, on retrouve plusieurs porphyrines et chlorines, telles que l'hématoporphyrine dérivée (HPD, Photofrin®), la chlorine e6 et ses dérivés (mono-L-aspartyl chlorin e6 et diaspartyl chlorin e6), le phéophorbide *a*, ou la méta-tétra-hydroxyphényle chlorin (m-THPC, Foscan®), qui présentent toutes une structure chimique très proche de la chlorophylle *a*. Les travaux de recherche actuels visent à identifier de nouvelles molécules présentant davantage de phototoxicité, de sélectivité tumorale, ou une absorption accrue afin d'irradier des tumeurs situées profondément dans les tissus. Trois équipes françaises (à l'Ifremer Nantes, au CHU de Nantes et à l'Université de La Rochelle), ont exploré les grands groupes taxonomiques des microalgues, afin d'évaluer la performance d'extraits pigmentaires en vue du développement de photosensibilisants plus efficaces que ceux actuellement sur le marché. Cette étude a été financée par la région Pays de Loire, l'ANR (dans le cadre d'un projet Émergence Bio Photomer), et la ligue contre le cancer. Elle a permis de démontrer que les extraits pigmentaires de certaines espèces présentent un indice de performance – évalué par le rapport phototoxicité/toxicité *in vitro* ^{*6} – 20 à 30 fois supérieur à celui du m-THPC (données non publiées), l'un des meilleurs photosensibilisants sur le marché. Ces espèces contiennent donc des pigments présentant un potentiel exceptionnel pour la destruction des tumeurs par PDT.

^{*5} dosage immuno-enzymatique sur support solide.

^{*6} un photosensibilisant idéal est très phototoxique et non cytotoxique

Les caroténoïdes et leurs multiples activités cytotoxiques, antitumorales, antimétastatiques et antiangiogéniques

Les caroténoïdes sont des pigments lipidiques polyisopréniques*⁷jaune-orangés présents en abondance chez les microalgues⁵, les végétaux supérieurs, les champignons supérieurs, les lichens et les macroalgues. On distingue deux classes de caroténoïdes, ceux ne contenant dans leur structure que des atomes de carbone et d'hydrogène (carotènes, lycopène et phytoène), et ceux contenant également des atomes d'oxygène (xanthophylles). Ces pigments assurent des fonctions écophysiologiques essentielles, telles que la capture de photons pour la photosynthèse (ce sont des pigments accessoires, transférant l'énergie des photons vers la chlorophylle a) ou la photoprotection en cas de fortes irradiances. Leur synthèse par voie chimique est difficile, du fait de leur stéréochimie*⁸ complexe, et il est donc plus rentable de les purifier à partir d'organismes producteurs. Les rendements de production ainsi que la chimiodiversité de ces pigments sont très élevés chez les microalgues et ces dernières offrent de nombreux autres avantages pour leur biosynthèse: une relative simplicité de culture, pas de mobilisation de la ressource en eau ou en surface agricole, des rendements de croissance à l'hectare très supérieurs à ceux des végétaux supérieurs et des macroalgues, une récolte en continu, une croissance sans pesticide et une plasticité métabolique permettant d'optimiser les rendements de production des pigments.

Depuis les années 1980, il est admis qu'une alimentation riche en caroténoïdes contribue à la prévention des cancers grâce à l'activité anti-oxydante de ces pigments⁶. Cette propriété a longtemps été considérée comme la principale explication de leur activité biologique. Dans un tissu sain, les caroténoïdes limitent, en effet, l'oxydation des biomolécules ainsi que les risques mutagènes et inflammatoires^{6,7}. Il est cependant aujourd'hui bien établi que le mode d'action de ces pigments est plus complexe et cible également des mécanismes cellulaires impliqués dans la survie, la communication intercellulaire et le potentiel invasif et angiogénique des cellules tumorales^{8,9}. La fucoxanthine – un caroténoïde époxydé, présent en abondance chez les diatomées*⁹ – est le pigment dont la pharmacologie a été la mieux étudiée. A des concentrations micromolaires, elle présente une activité cytotoxique et antiproliférative sur la plupart des cellules cancéreuses cultivées *in vitro*⁸⁻¹¹. De façon très intéressante, elle est même cytotoxique sur des lignées résistantes à des agents chimiothérapeutiques tels que la doxorubicine^{12,13}. Dans ces modèles, elle inhibe la voie de transduction NF-kB impliquée dans l'inflammation, certaines kinases cycline-dépendantes et la topoisomérase II, des enzymes indispensables à la division cellulaire, et les ADN et ARN polymérases, des enzymes permettant la réplication de l'ADN et la biosynthèse des ARN (pour revue de l'activité de la fucoxanthine sur les cellules cancéreuses, voir ^{8,13}). Elle stimule la communication intercellulaire via les jonctions Gap, ce qui peut augmenter la sensibilité des cellules cancéreuses aux agents chimiothérapeutiques, inhibe la voie des MAP kinases, impliquée dans le potentiel mitogène des cellules cancéreuses, ainsi que l'expression de l'oncogène N-myc (stimulateur de prolifération cellulaire) et de la survivine, une protéine impliquée dans le contrôle des phases terminales de la mitose (ségrégation des chromosomes, anaphase *¹⁰ et

*⁷ contenant dans leur structure une longue chaîne hydrocarbonée dans laquelle alternent des simples et doubles liaisons entre atomes de carbone (voir schéma)

*⁸ arrangement spatial relatif de certains groupements fonctionnels dans la molécule

*⁹ microalgues brunes constituant le groupe le plus abondant d'eucaryotes photosynthétiques dans les océans.

*¹⁰ phase de la division cellulaire pendant laquelle a lieu la répartition du matériel génétique entre les deux cellules filles

cytokinèse*¹¹). Elle perturbe également l'expression des protéines pro- et anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 et déclenche en conséquence la mort cellulaire par apoptose ou autophagie^{11,14-17}. Enfin, elle bloque le fonctionnement de glycoprotéines membranaires responsables de l'efflux des agents cytotoxiques et de la résistance multi-drogues¹⁸.

In vivo, la fucoxanthine est désacétylée en fucoxanthinol par le microbiome intestinal et/ou les entérocytes^{19,20}. Celui-ci est résorbé par voie intestinale et transporté dans le sang et les tissus avant d'être métabolisé par les enzymes hépatiques²¹. Chez des animaux non porteurs de tumeurs, l'administration de ce caroténoïde limite les effets génotoxiques*¹² de l'exposition aux UV et la carcinogénèse induite au niveau de la peau ou du duodénum par les agents mutagènes tels que les nitrosoguanidines²². Sur des modèles d'animaux porteurs de tumeurs induites par des agents chimiques, elle présente une forte activité antitumorale, démontrée par la diminution du nombre moyen de tumeurs par animal et l'augmentation significative de la proportion de cellules apoptotiques dans les tumeurs^{23,24}. Elle pourrait par ailleurs limiter le risque d'apparition de tumeur en inhibant l'activité de cytochromes P450 hépatiques impliqués dans l'activation de molécules pro-carcinogènes²⁵. De façon étonnante, une étude récente suggère aussi que la fucoxanthine pourrait détruire les cellules cancéreuses via une activité pro-oxydante, car son activité proapoptotique est bloquée dans des modèles cellulaires par l'ajout d'antioxydants (N-acétyl cystéine)²⁶. Chez des souris xénogreffées par des tumeurs humaines (mélanome, sarcome, côlon, etc...), ce caroténoïde ralentit la croissance tumorale^{23,24,27}, diminue la néoangiogénèse tumorale²⁸, et réduit l'expression et la sécrétion de métalloprotéases de la matrice extracellulaire impliquées dans l'invasion tumorale et le processus métastatique²⁷. La fucoxanthine diminue également la motilité cellulaire²⁷, en inhibant la formation de lamellipodes et de fibres de stress, et réduit l'interaction des cellules cancéreuses avec l'endothélium vasculaire, en diminuant l'expression des glycoprotéines de membrane CD44 et CXR4²⁷. Enfin, du fait de ses propriétés amphiphiles, il est très probable qu'elle intègre les membranes cytoplasmiques des cellules cancéreuses et y perturbe le fonctionnement de protéines impliquées dans leur caractère invasif (cette hypothèse est actuellement à l'étude).

Des travaux ont également montré que les caroténoïdes pourraient stimuler l'immunité antitumorale^{29,30}, mais quasiment tout reste à explorer dans ce domaine de recherche.

À ce jour, la production des caroténoïdes comme la fucoxanthine n'est pas industrialisée, en dépit de l'intérêt majeur de ces pigments pour la santé publique. Le coût des xanthophylles purifiés demeure très élevé (plus de 8000 € par kilogramme pour la fucoxanthine), ce qui limite l'évaluation de leur activité sur des modèles animaux et ne permet pas d'envisager une évaluation clinique de leur activité antitumorale. La disponibilité de grandes quantités de pigments hautement purifiés, à des coûts rationnels, constituera donc une étape clé pour envisager des essais cliniques. Dans cet objectif, notre équipe travaille au développement de nouvelles méthodes d'extraction ou d'éco-extraction de caroténoïdes totaux³¹⁻³³, et à la mise au point de procédés de purification des pigments les plus prometteurs, tels que la fucoxanthine, ou la zéaxanthine et la β -cryptoxanthine, deux autres xanthophylles ayant montré de fortes activités cytotoxiques sur des cellules humaines de mélanome³⁴. Au vu de leur remarquable activité biologique **in vitro** et **in vivo**, il est donc très probable que ces pigments soient un jour utilisés pour améliorer l'efficacité des traitements anticancer.

*¹¹ division du cytoplasme dans les dernières phases de la mitose

*¹² portant atteinte à l'intégrité physique ou fonctionnelle du génome.

Références

1. Lu, W., Yu, P. & Li, J. Induction of apoptosis in human colon carcinoma COLO 205 cells by the recombinant α subunit of C-phycocyanin. *Biotechnol. Lett.***33**, 637–44 (2011).
2. Gantar, M., Dhandayuthapani, S. & Rathinavelu, A. Phycocyanin induces apoptosis and enhances the effect of topotecan on prostate cell line LNCaP. *J. Med. Food***15**, 1091–5 (2012).
3. Patrice, T., Olivier, D. & Bourre, L. PDT in clinics: Indications, results, and markets. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.***25**, 467–485 (2006).
4. Sakharov, D. V., Bunschoten, A., Van Weelden, H. & Wirtz, K. W. A. Photodynamic treatment and H₂O₂-induced oxidative stress result in different patterns of cellular protein oxidation. *Eur. J. Biochem.***270**, 4859–4865 (2003).
5. Guedes, A. C., Amaro, H. M. & Malcata, F. X. Microalgae as sources of carotenoids. *Mar. Drugs***9**, 625–44 (2011).
6. Tanaka, T., Shnimizu, M. & Moriwaki, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules***17**, 3202–42 (2012).
7. Maoka, T. *et al.* Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer Lett.***172**, 103–109 (2001).
8. Kumar, S. R., Hosokawa, M. & Miyashita, K. Fucoxanthin: a marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Mar. Drugs***11**, 5130–47 (2013).
9. Gagez, A.-L., Thiéry, V., Pasquet, V., Cadoret, J.-P. & Picot, L. Epoxycarotenoids and Cancer. Review. *Curr. Bioact. Compd.***8**, 109–41 (2012).
10. Moreau, D. *et al.* Cultivated microalgae and the carotenoid fucoxanthin from *Odontella aurita* as potent anti-proliferative agents in bronchopulmonary and epithelial cell lines. *Environ. Toxicol. Pharmacol.***22**, 97–103 (2006).
11. Kotake-Nara, E., Terasaki, M. & Nagao, A. Characterization of apoptosis induced by fucoxanthin in human promyelocytic leukemia cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.***69**, 224–227 (2005).
12. Eid, S. Y., El-Readi, M. Z. & Wink, M. Carotenoids reverse multidrug resistance in cancer cells by interfering with ABC-transporters. *Phytomedicine***19**, 977–87 (2012).
13. Gagez, A.-L., Thiery, V., Pasquet, V., Cadoret, J.-P. & Picot, L. Epoxycarotenoids and Cancer. Review. *Curr. Bioact. Compd.***8**, 109–141 (2012).
14. Yoshiko, S. & Hoyoku, N. Fucoxanthin, a natural carotenoid, induces G1 arrest and GADD45 gene expression in human cancer cells. *In Vivo***21**, 305–310 (2007).

15. Kim, K.-N., Heo, S.-J., Kang, S.-M., Ahn, G. & Jeon, Y.-J. Fucoxanthin induces apoptosis in human leukemia HL-60 cells through a ROS-mediated Bcl-xL pathway. *Toxicol. In Vitro***24**, 1648–54 (2010).
16. Hosokawa, M. *et al.* Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPARgamma ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochim. Biophys. Acta***1675**, 113–119 (2004).
17. Liu, C.-L., Huang, Y.-S., Hosokawa, M., Miyashita, K. & Hu, M.-L. Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication. *Chem. Biol. Interact.***182**, 165–72 (2009).
18. Molnár, J. *et al.* Modulation of multidrug resistance and apoptosis of cancer cells by selected carotenoids. *In Vivo (Brooklyn)***18**, 237–244 (2004).
19. Hashimoto, T. *et al.* Pharmacokinetics of fucoxanthinol in human plasma after the oral administration of kombu extract. *Br. J. Nutr.***107**, 1–4 (2011).
20. Sugawara, T., Baskaran, V., Tsuzuki, W. & Nagao, A. Brown algae fucoxanthin is hydrolyzed to fucoxanthinol during absorption by Caco-2 human intestinal cells and mice. *J. Nutr.***132**, 946–951 (2002).
21. Asai, A., Sugawara, T., Ono, H. & Nagao, A. Biotransformation of fucoxanthinol into amarouciaxanthin A in mice and HepG2 cells: formation and cytotoxicity of fucoxanthin metabolites. *Drug Metab. Dispos.***32**, 205–211 (2004).
22. Okuzumi, J. *et al.* Inhibitory effects of fucoxanthin, a natural carotenoid, on N-ethyl-N'-nitro-n-nitrosoguanidine-induced mouse duodenal carcinogenesis. *Cancer Lett.***68**, 159–168 (1993).
23. Yamamoto, K., Ishikawa, C., Katano, H., Yasumoto, T. & Mori, N. Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas. *Cancer Lett.***300**, 225–34 (2011).
24. Liu, C.-L., Huang, Y.-S., Hosokawa, M., Miyashita, K. & Hu, M.-L. Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication. *Chem. Biol. Interact.***182**, 165–172 (2009).
25. Satomi, Y. & Nishino, H. Inhibition of the enzyme activity of cytochrome P450 1A1, 1A2 and 3A4 by fucoxanthin, a marine carotenoid. *Oncol. Lett.***6**, 860–864 (2013).
26. Kim, K.-N., Heo, S.-J., Kang, S.-M., Ahn, G. & Jeon, Y.-J. Fucoxanthin induces apoptosis in human leukemia HL-60 cells through a ROS-mediated Bcl-xL pathway. *Toxicol. In Vitro***24**, 1648–1654 (2010).
27. Chung, T.-W. *et al.* Marine algal fucoxanthin inhibits the metastatic potential of cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***439**, 580–5 (2013).

28. Sugawara, T., Matsubara, K., Akagi, R., Mori, M. & Hirata, T. Antiangiogenic activity of brown algae fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol. *J. Agric. Food Chem.***54**, 9805–9810 (2006).
29. Ghodrati-zadeh, S. *et al.* Effect of carotenoid β -cryptoxanthin on cellular and humoral immune response in rabbit. *Vet. Res. Commun.***38**, 59–62 (2014).
30. Pechinskii, S. V. & Kuregyan, A. G. The Impact of Carotenoids on Immunity (Review). *Pharm. Chem. J.***47**, 509–513 (2014).
31. Pasquet, V. *et al.* Study on the microalgal pigments extraction process: Performance of microwave assisted extraction. *Process Biochem.***46**, 59–67 (2011).
32. Serive, B. *et al.* Selection and optimisation of a method for efficient metabolites extraction from microalgae. *Bioresour. Technol.***124**, 311–20 (2012).
33. Juin, C. *et al.* Microwave-Assisted Extraction of Phycobiliproteins from *Porphyridium purpureum*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* (2014). doi:10.1007/s12010-014-1250-2
34. Baudalet, P.-H. *et al.* Antiproliferative activity of *Cyanophora paradoxa* pigments in melanoma, breast and lung cancer cells. *Mar. Drugs***11**, 4390–406 (2013).

Remerciements

L’auteur remercie la région Poitou-Charentes, l’ANR, la région Pays de Loire et La Ligue contre le cancer pour leur soutien financier. Le groupe de recherche de Laurent Picot fait partie de l’axe « Valorisation des produits de la mer en cancérologie » du Cancéropôle Grand Ouest.