

Contrôle de l'expression génique par hyperthermie pour des thérapies locales innovantes



EA IMOTION

Imagerie Moléculaire et Thérapies
Innovantes en Oncologie

Franck Couillaud
Université de Bordeaux



Vivoptic
UMS 3428

Approche prépondérante en Oncologie

Cibler les cellules tumorales pour les détruire.....



Chimique
Physique
Chirurgicale

n'empêche pas la récurrence locale et les métastases

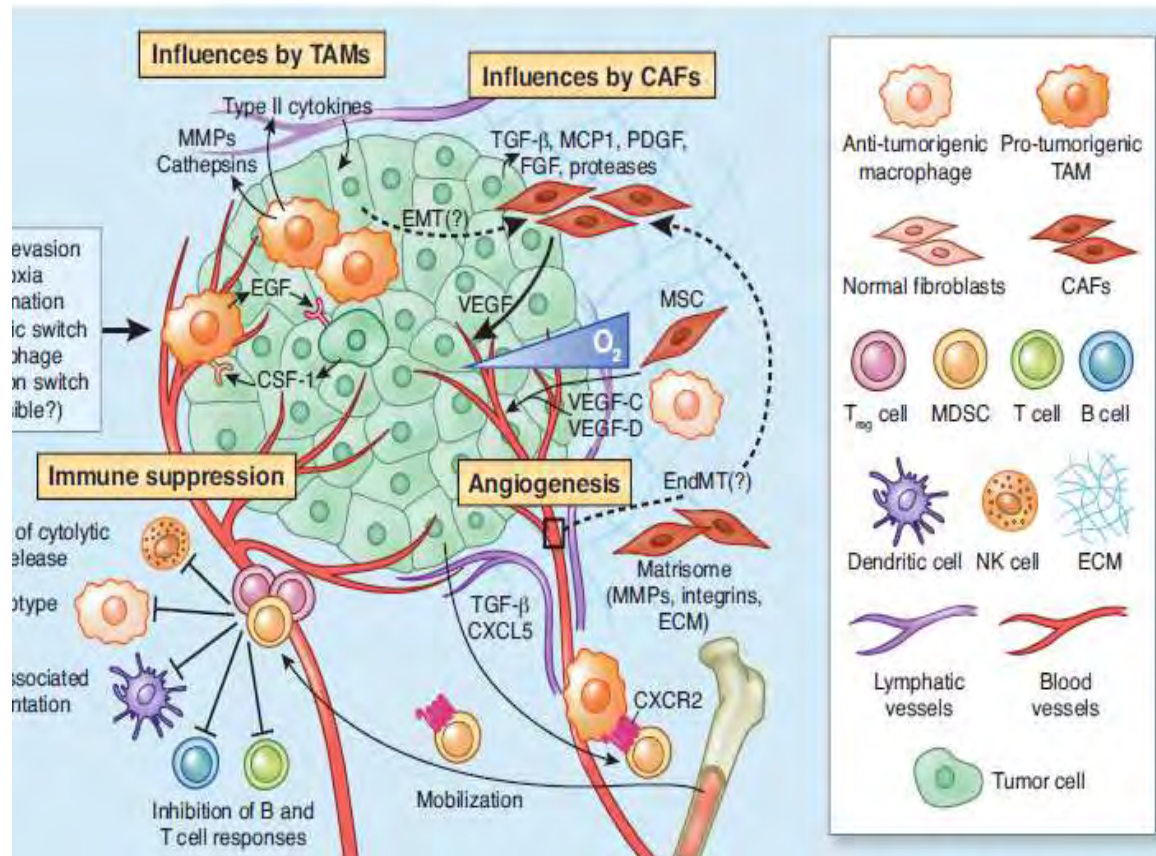


> 80% des morts par cancer sont dues à des métastases

Améliorer les méthodes de destruction

Atteindre RO (résection complète)

Cibler le microenvironnement tumoral pour le modifier ...



- échapper à l'influence de la tumeur
- récupérer ses propriétés naturelles de suppresseur de tumeur
- armer le μE pour combattre activement le processus cancéreux.

Délivrer localement des agents thérapeutiques

Hyperthermie locale modérée par HIFU

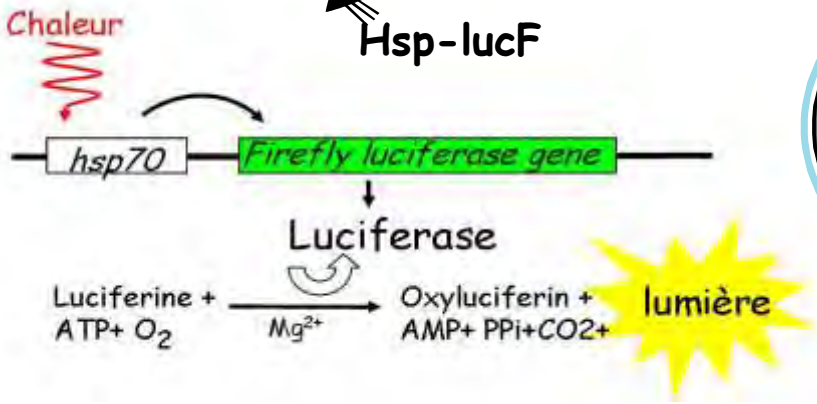
D'après Quail & Joyce, (2013)

- expression thermo-induite de gènes ou de miRNA
- libération des médicaments à partir de nano-véhicules thermosensibles

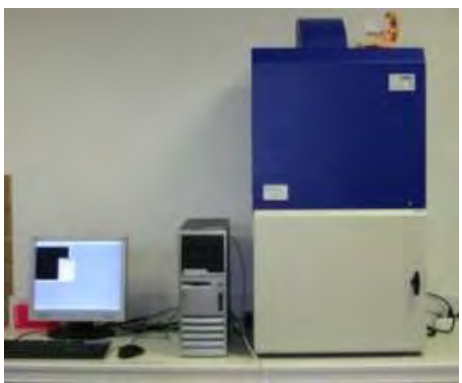
préservé la viabilité du microenvironnement tumoral



Hsp-lucF



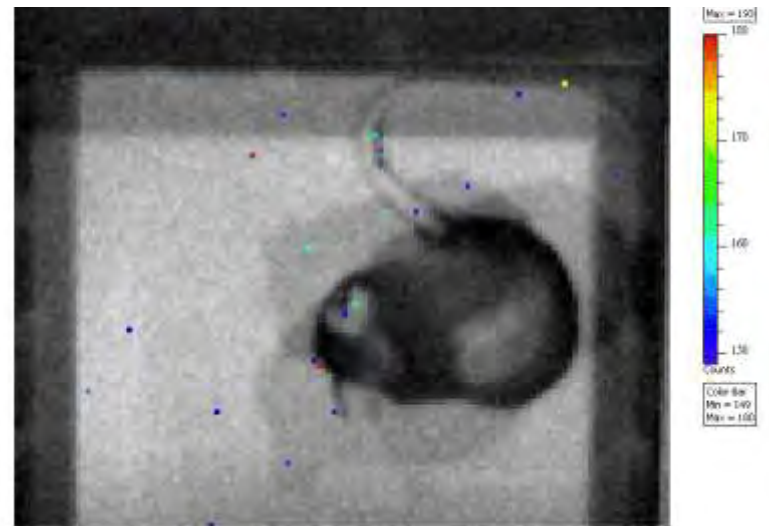
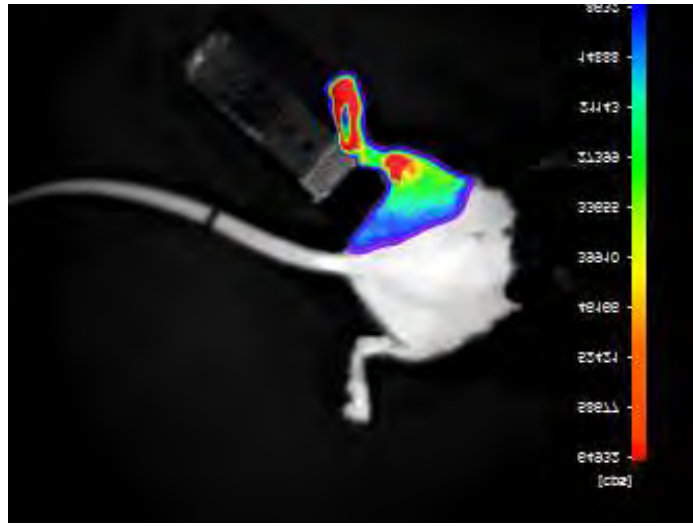
6 H



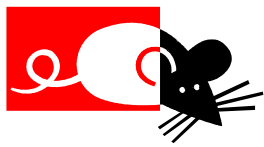
Bioluminescence (BLI)



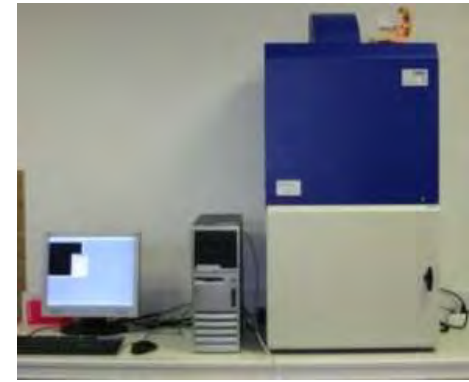
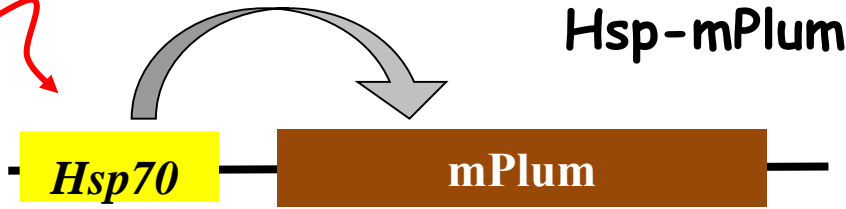
Nécessite la viabilité cellulaire !



Chaleur



De la Rosa et al, 2013



Fluorescence (FRI)

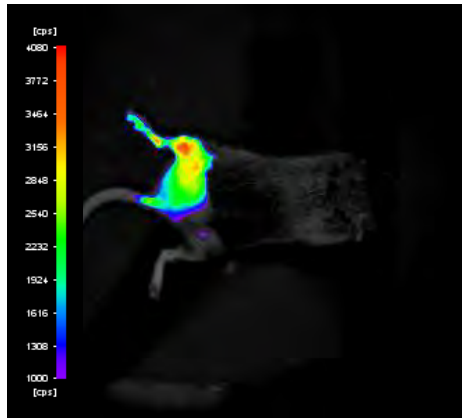
Ext: 590 nm

mPlum

680 nm



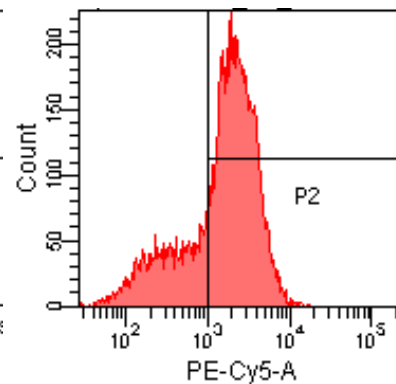
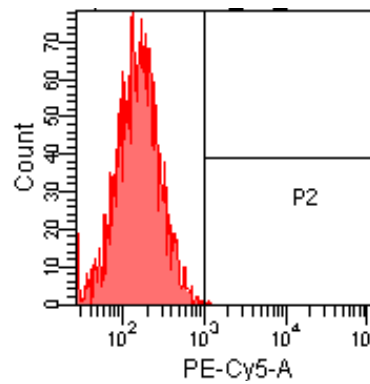
5 min @ 45°C



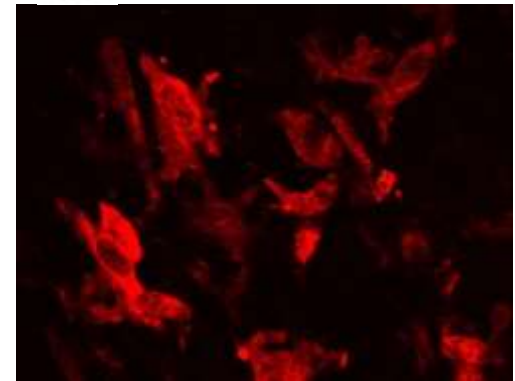
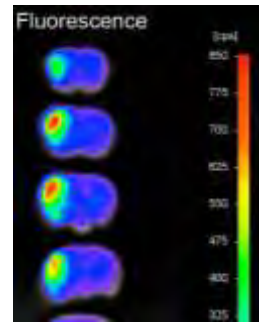
30 h après

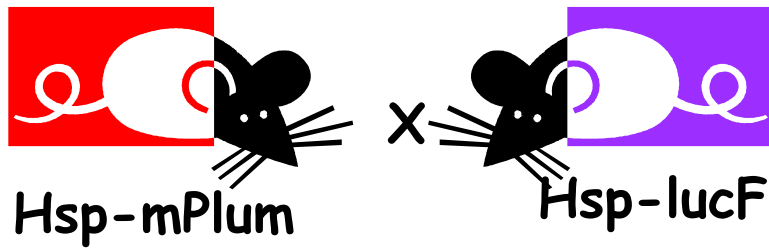
Before heating

48 h after heating

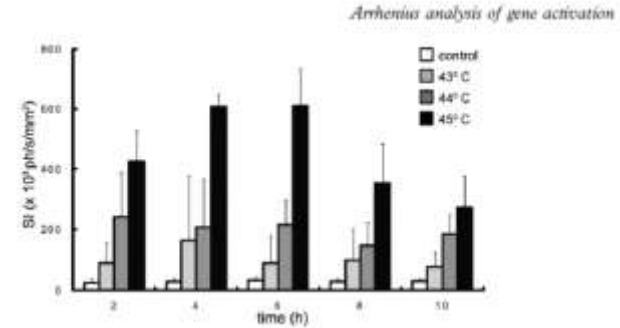


Fluorescence (660/20 nm)

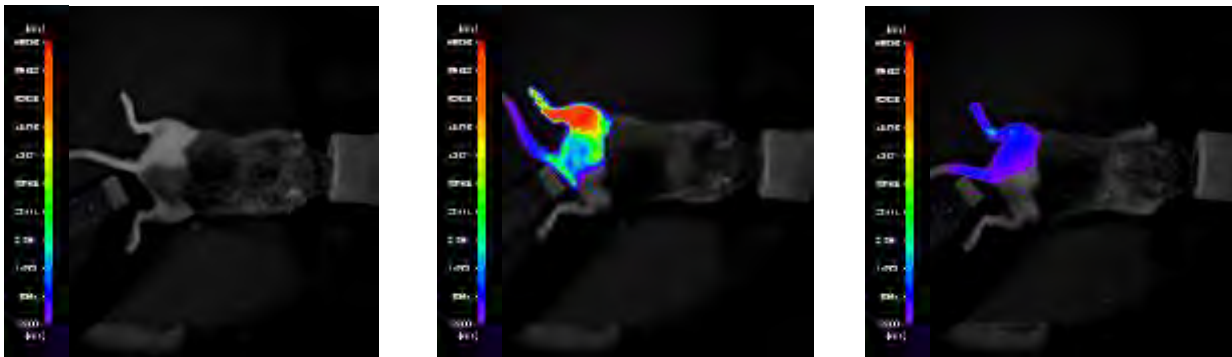




Réponse à la dose thermique ($T^{\circ} \times t$)
Viabilité cellulaire

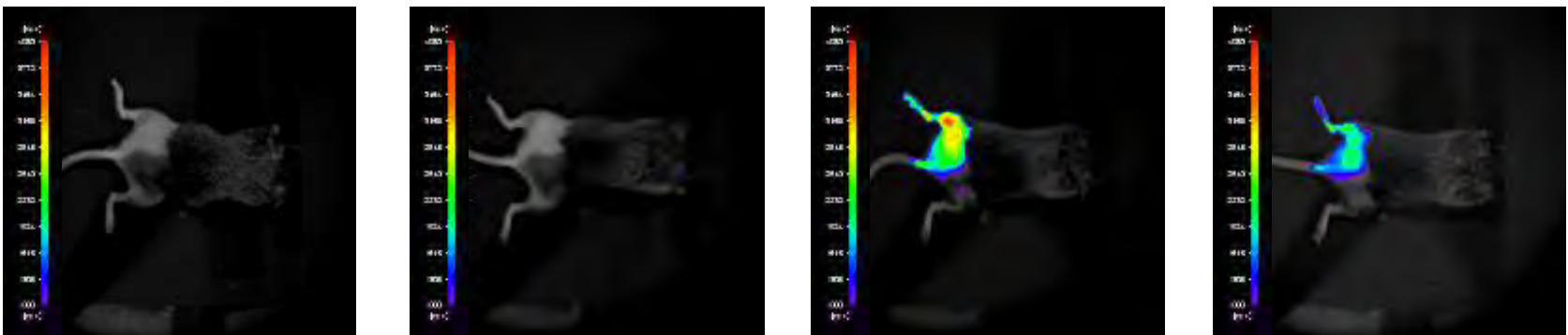


BLI



Deckers et al, 2012

FRI



Avant chauffage

6 h après

30 h après

5 jours après

Fortin et al, 2014

Contrôle automatique en temps réel de la température par ultrasons focalisés guidés par thermométrie IRM (MRgHIFU)

Thermométrie IRM (technique PRF)



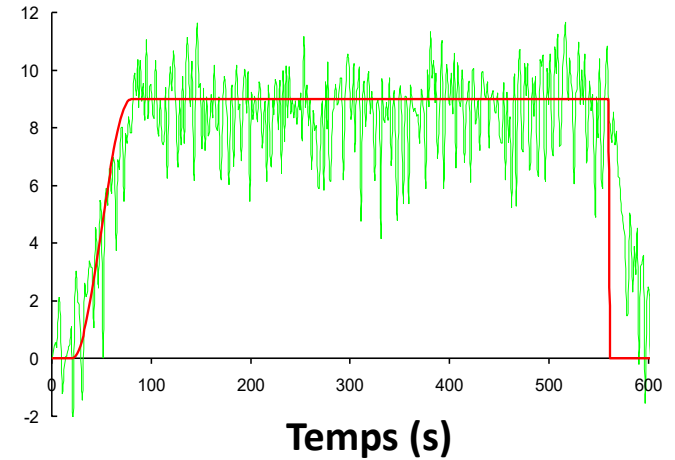
IRM

Résolution spatiale: $1 \times 1 \times 2 \text{ mm}^3$
Résolution temporelle: 3 s/volume

Carte de température
+
Image anatomique

Taille du point focal
($1 \times 1 \times 5 \text{ mm}^3$)

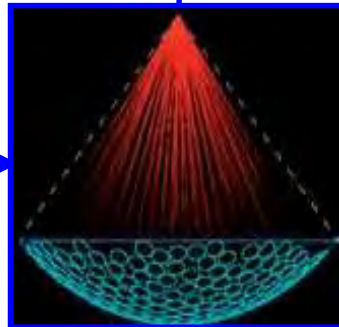
Ajustement de la
puissance ultrasonore



Evolution de température
=
courbe de consigne
avec une précision de $\pm 1^\circ\text{C}$

+0°C +11°C

Console de traitement



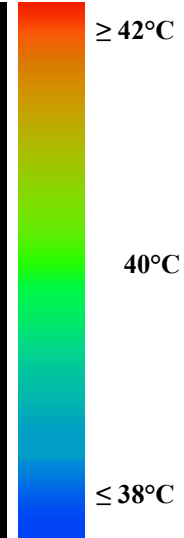
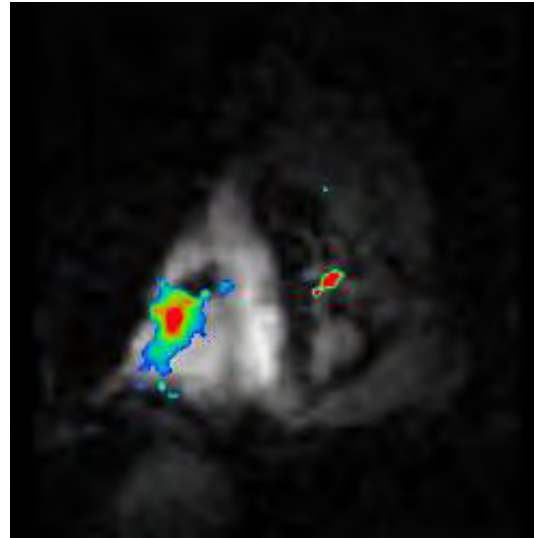
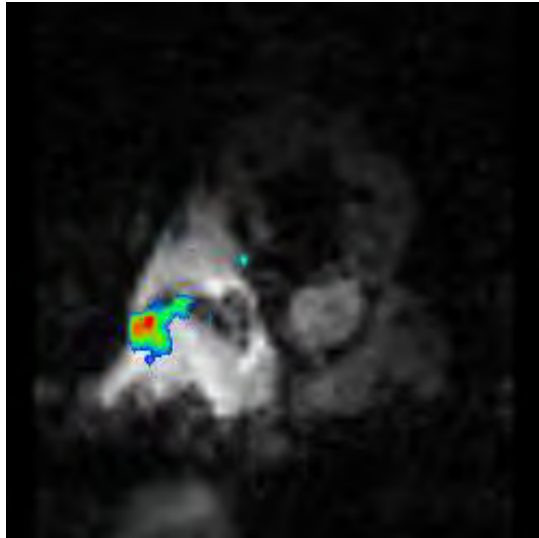
Ultrasons focalisés (HIFU)

43°C @ 8 min

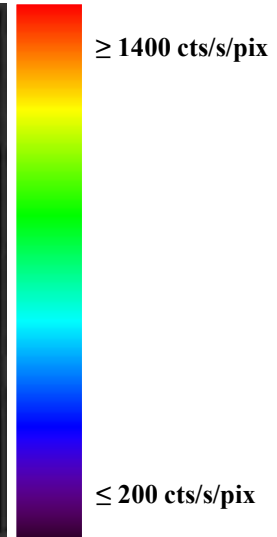
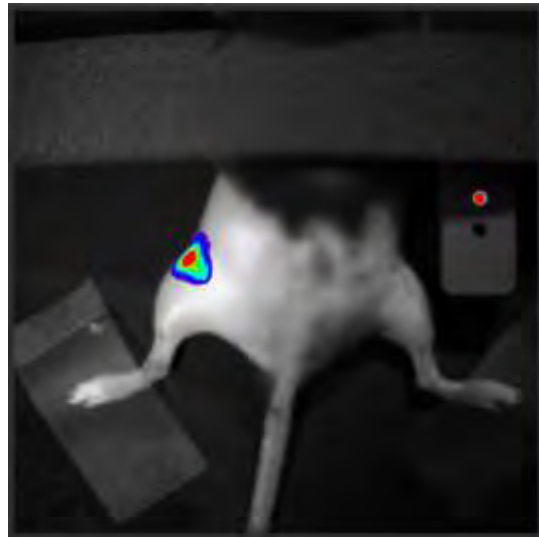
Mouse 1

Mouse 2

T-map



BL image at 6h





MRgHIFU permettent

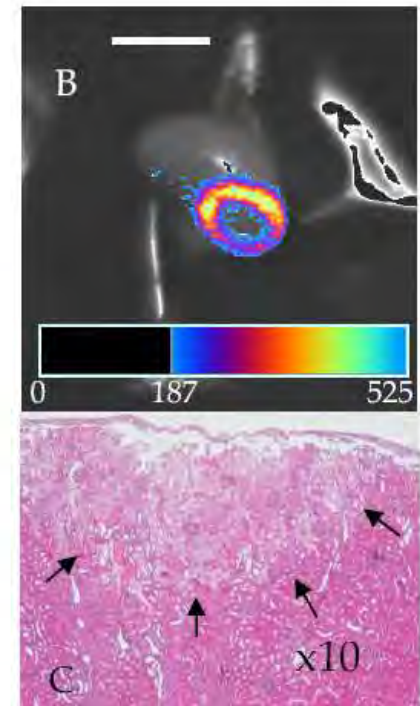
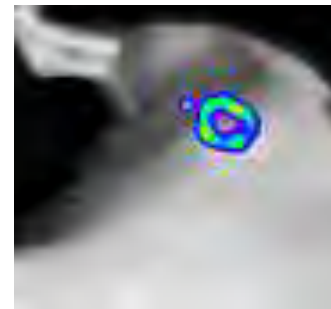
- hyperthermies modérées « physiologiques »
- contrôle spatial & temporel de l'expression génique

Souris transgénique Hsp/lucF-Hsp/mPlum
permet de visualiser *in vivo* l'expression génique thermo-induite

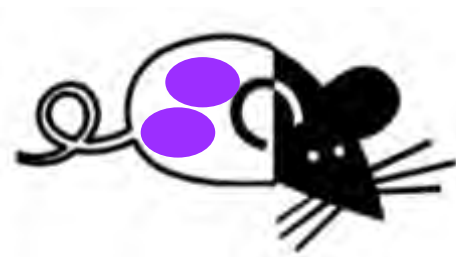
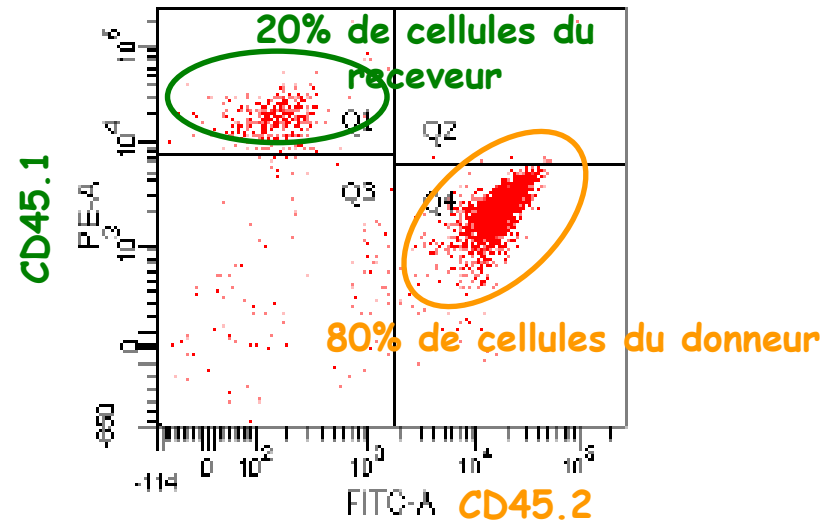
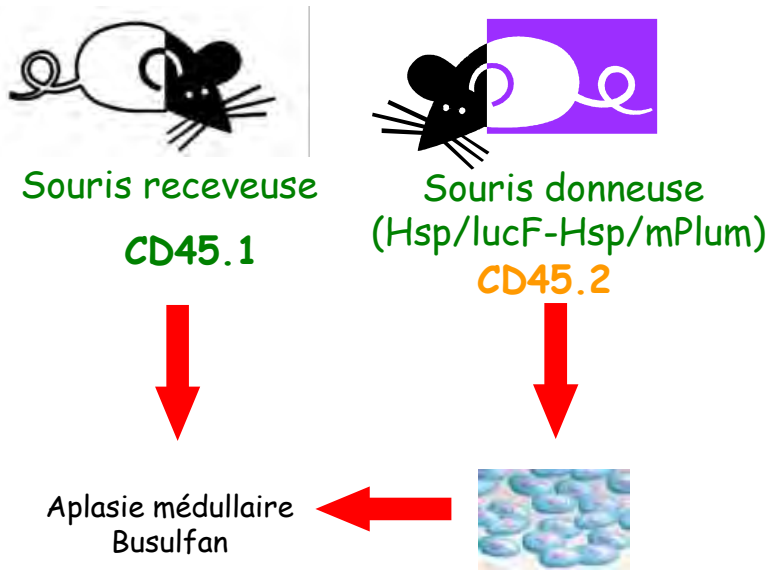
C'est un **marqueur de viabilité**

- Transcription et traduction
- Activité enzymatique

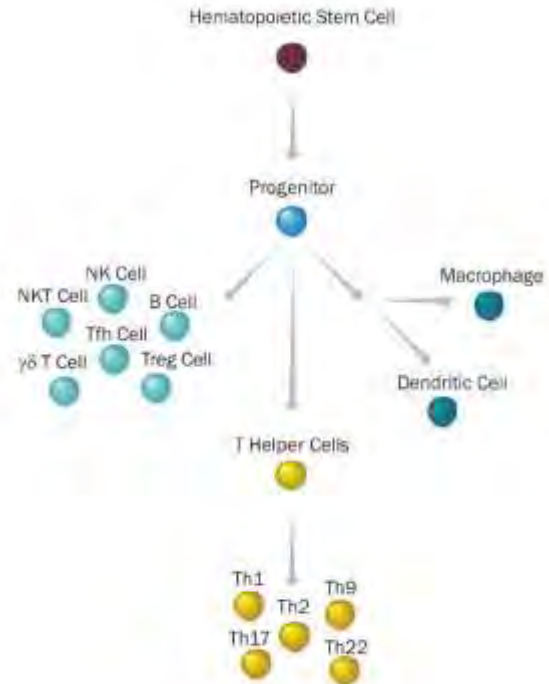
« Image en anneau »

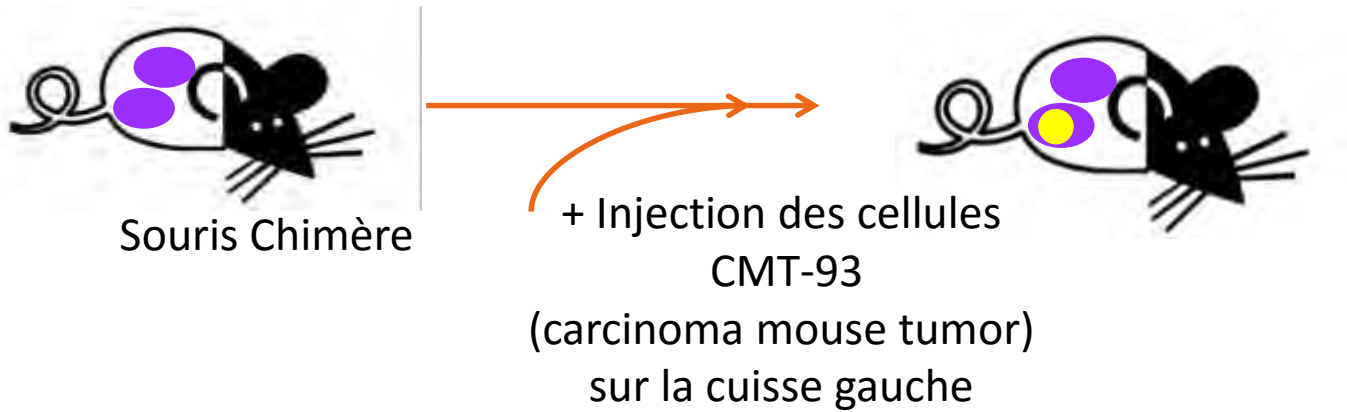


Utiliser les cellules sanguines circulantes pour adresser un transgène à une tumeur

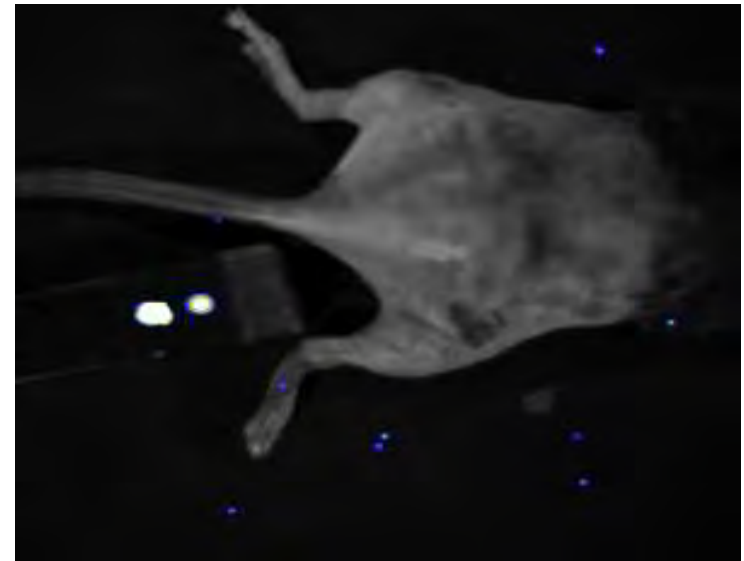
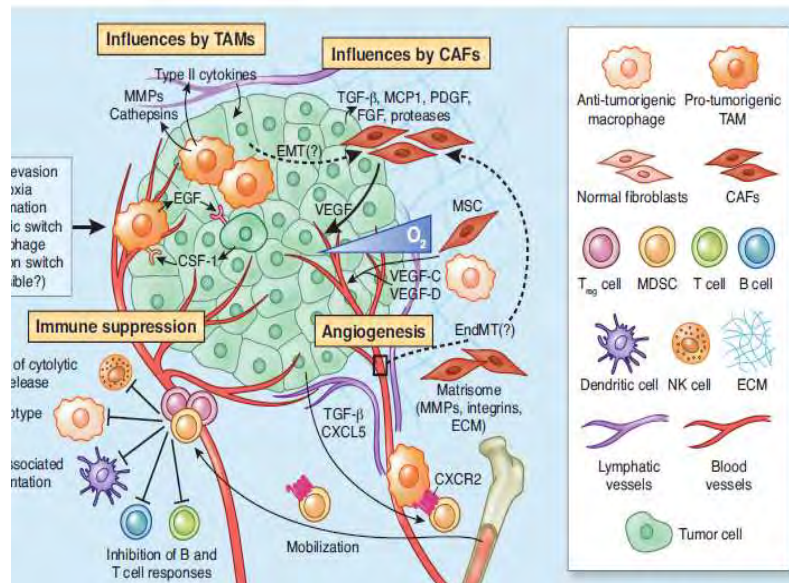


Souris chimère avec la lignée hématopoïétique thermosensible



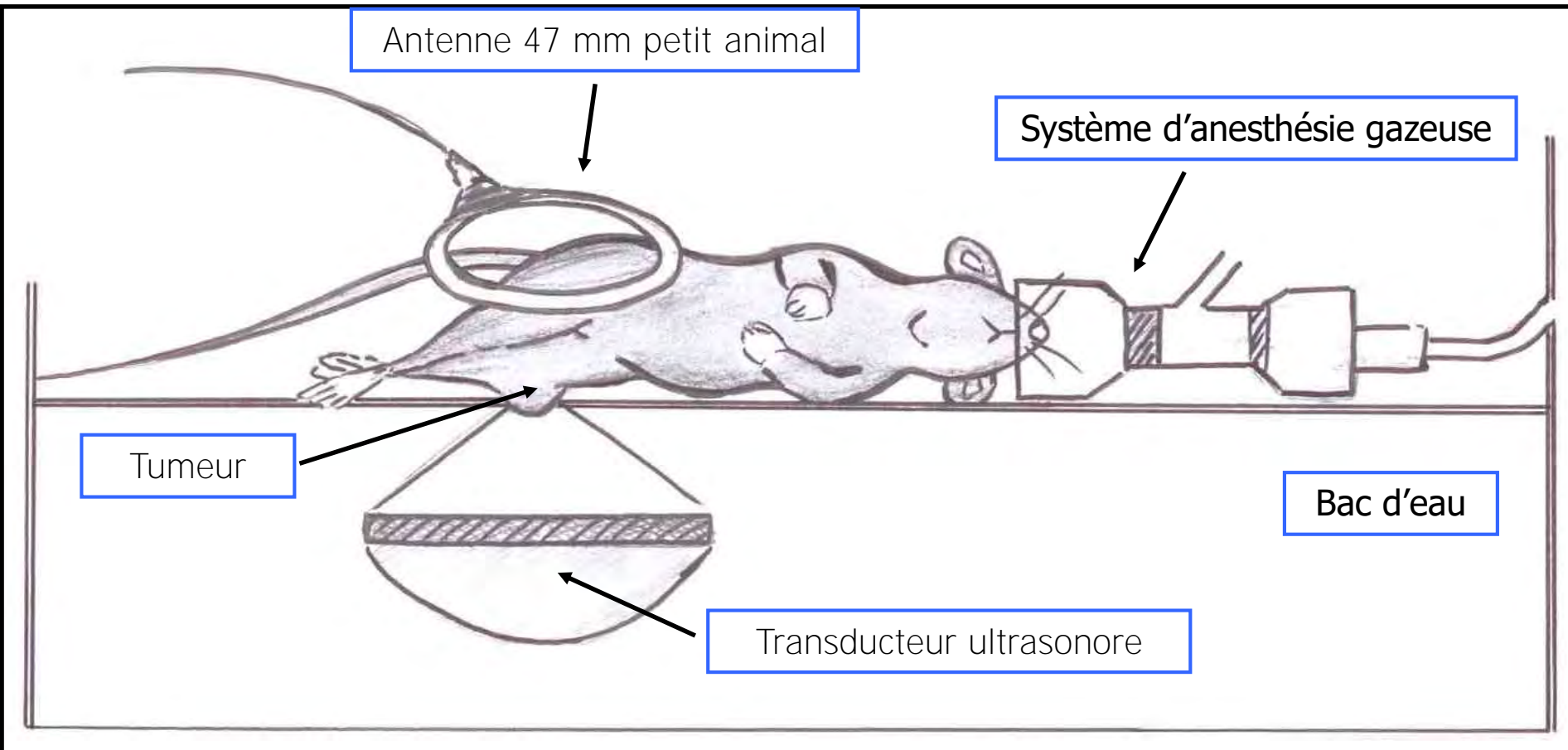


Macrophages (TAM) sont mobilisés autour de la tumeur

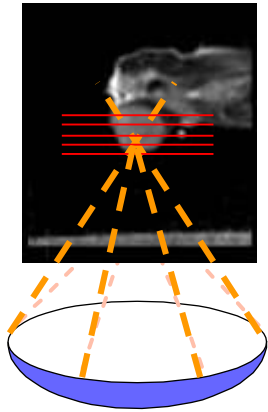


En absence de chauffage, pas de signal !

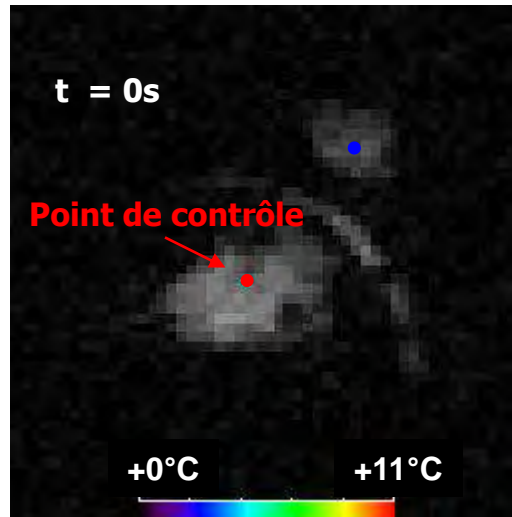
Positionnement de la souris dans l'IRM



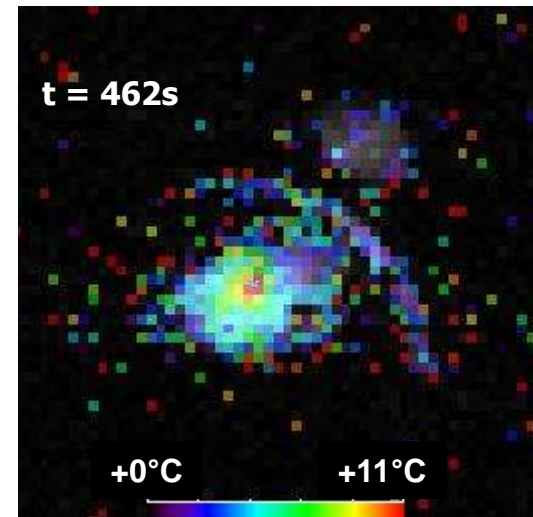
Résultats du chauffage des tumeurs en utilisant le système MRgHIFU



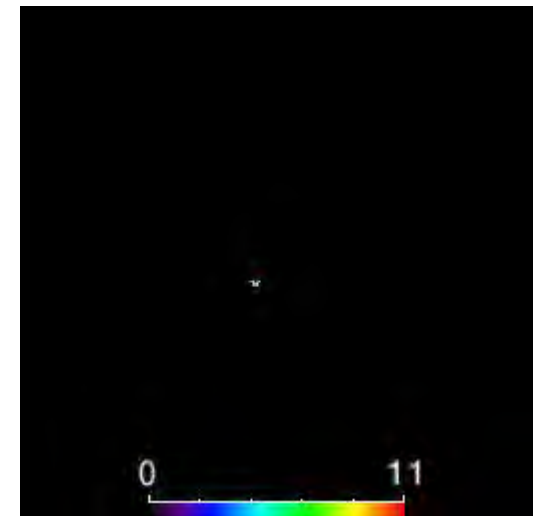
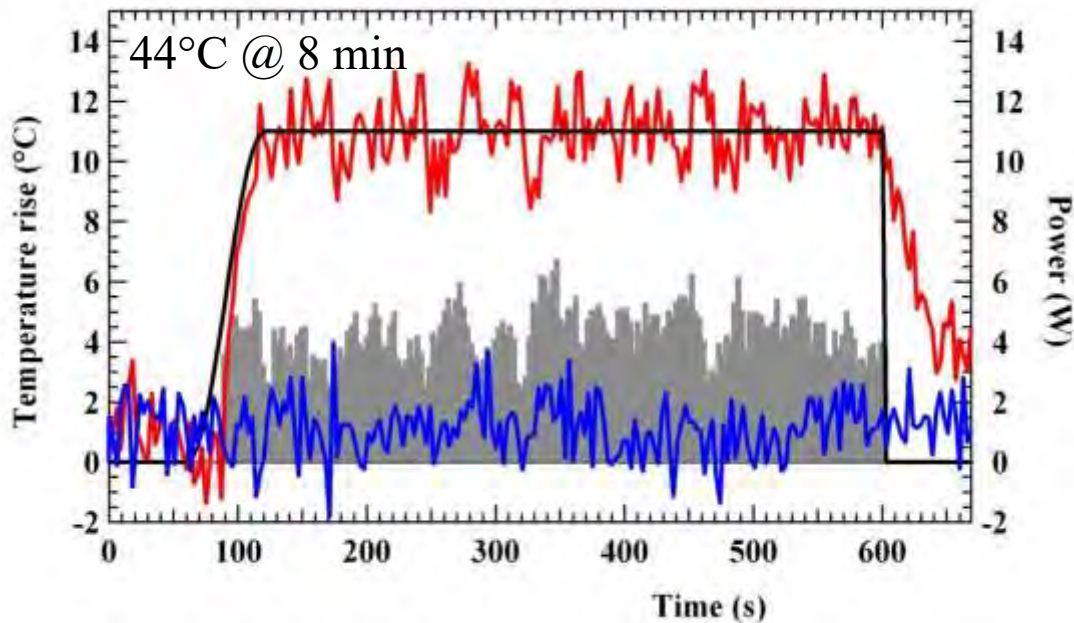
Transducteur ultrasonore mono-élément



Carte de température



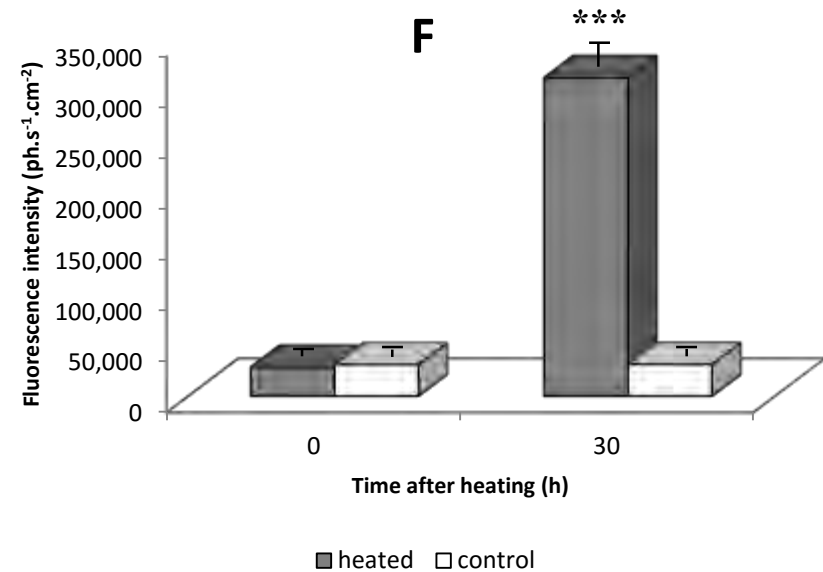
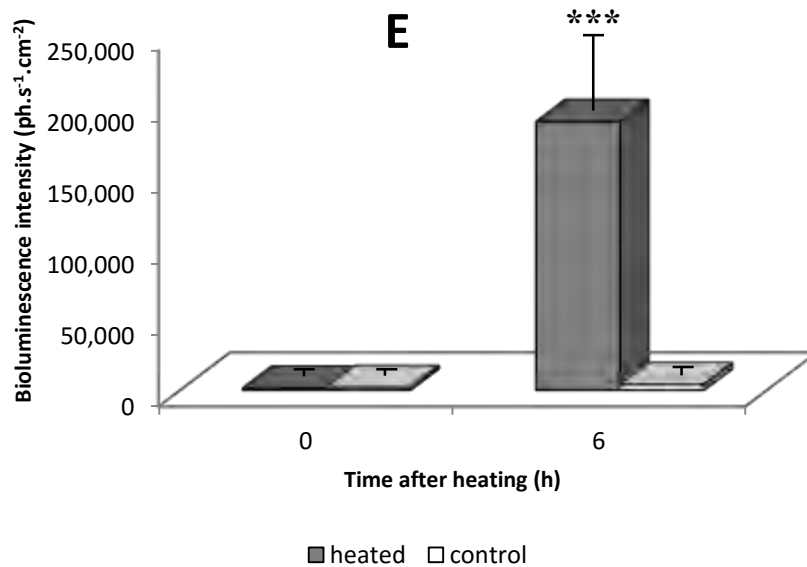
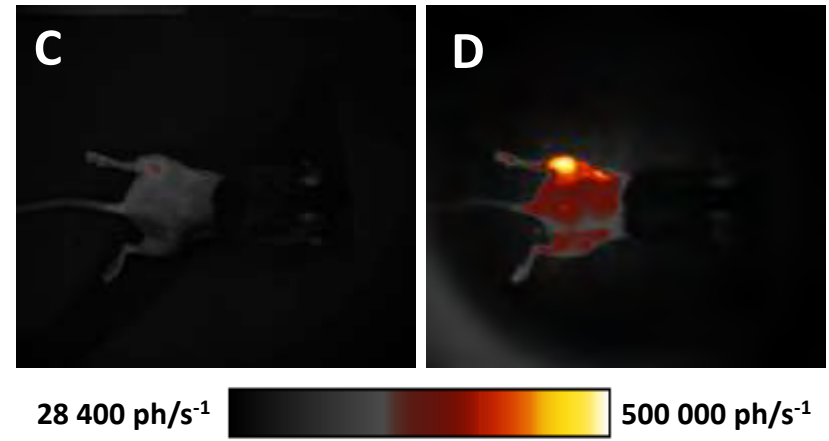
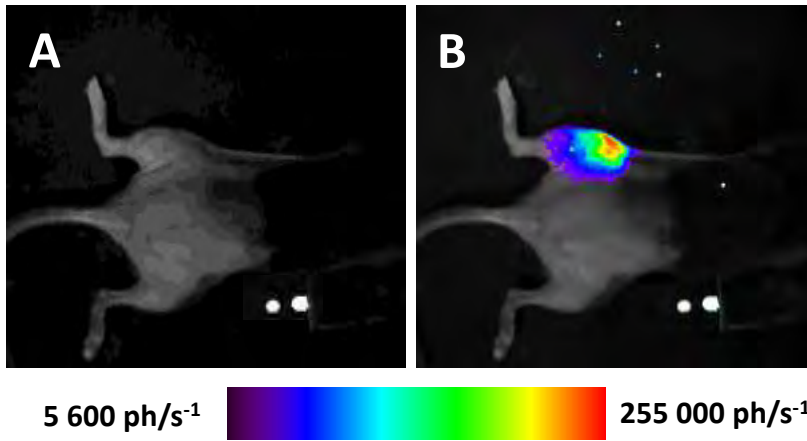
Carte de température



Chauffage

6 heures après

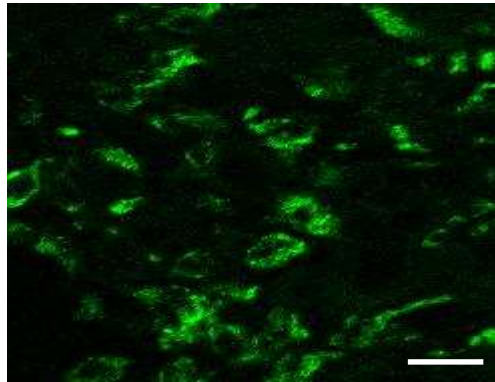
30 heures après



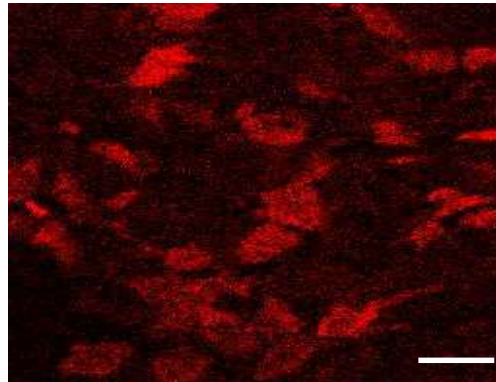


Les macrophages (TAM) sont responsables de l'expression génique thermo-induite

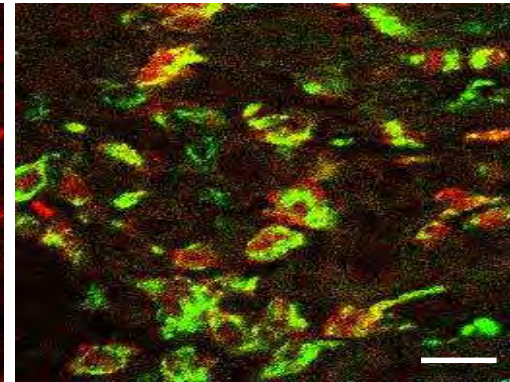
CD68



mPlum



Merge





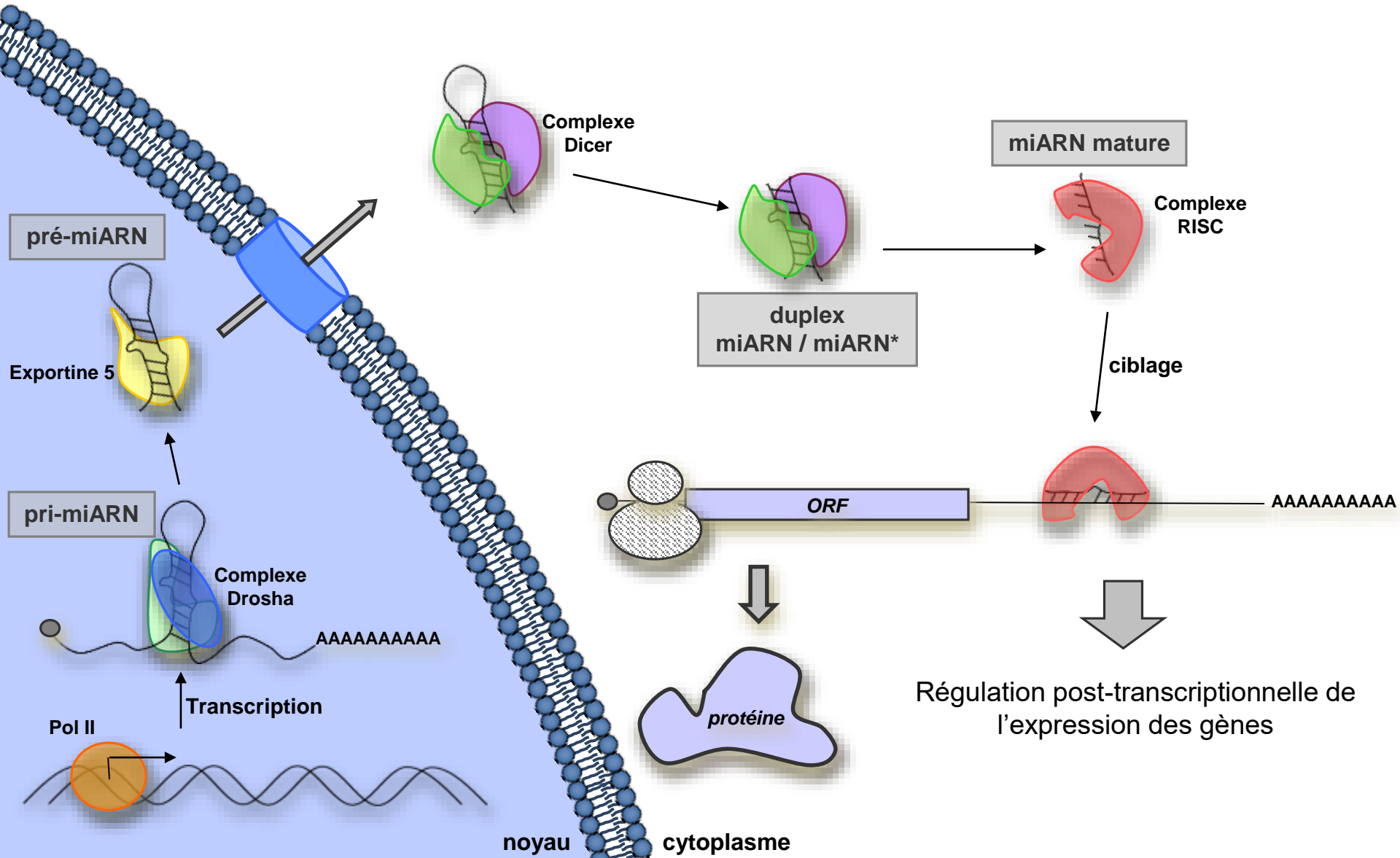
- adresser des macrophages génétiquement modifiés (mais silencieux) à une tumeur
- activer localement par hyperthermie locale (MRgHIFU) pour produire un ou 2 gènes au choix

Ce qu'il faut améliorer

- Greffe avant la tumeur !
- S'affranchir de la souris transgénique donneuse (cellules souches ou macrophages modifiés)

Inhibition de l'expression génique par interférence ARN (RNAi)

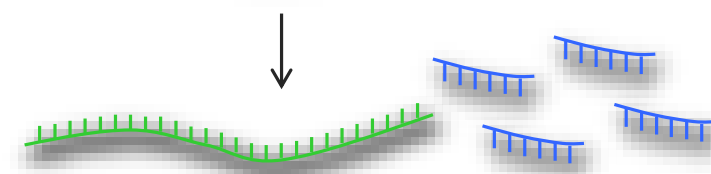
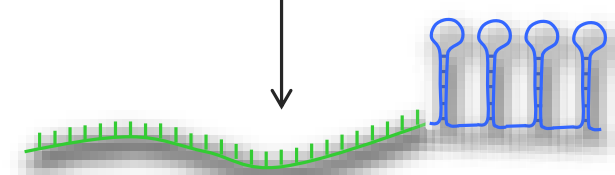
- siRNA
- miRNA



Choc thermique



Transcription



Traduction



+ Mg²⁺

Luciférine + ATP + O₂

Oxyluciférine + AMP + PPi + CO₂

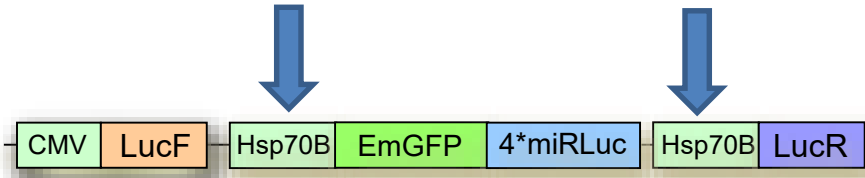
+



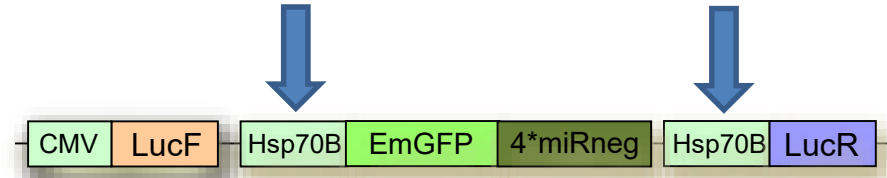
Témoin d'activation thermique

Lignées U87 (glioblastome)

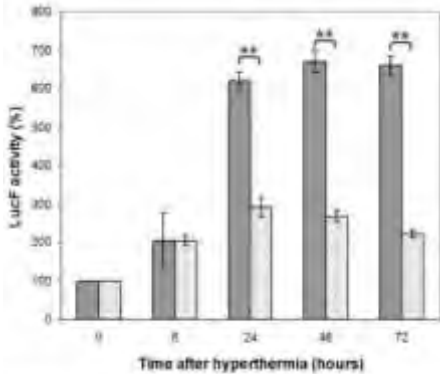
Choc thermique 45°C ; 8 min



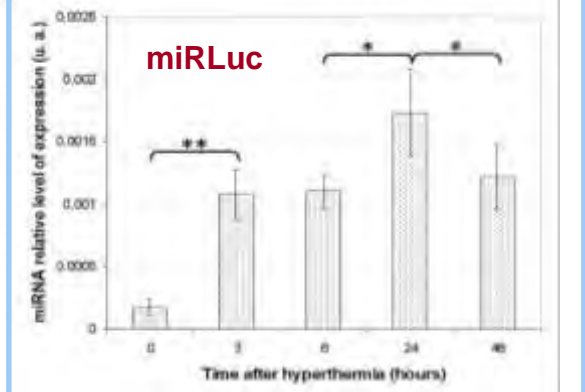
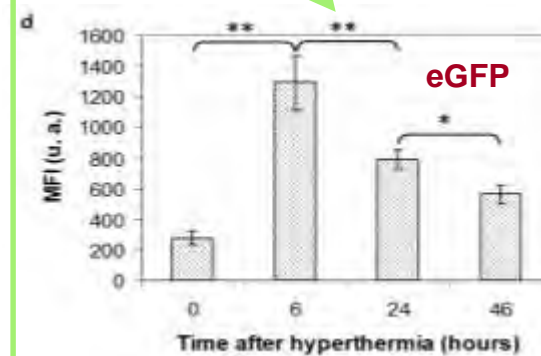
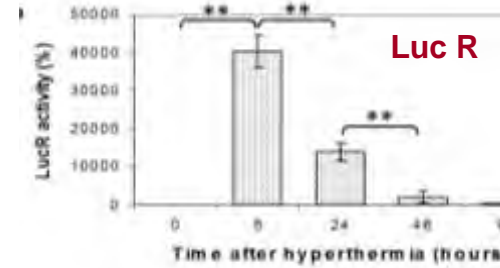
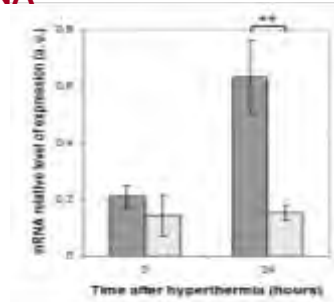
Choc thermique 45°C ; 8 min

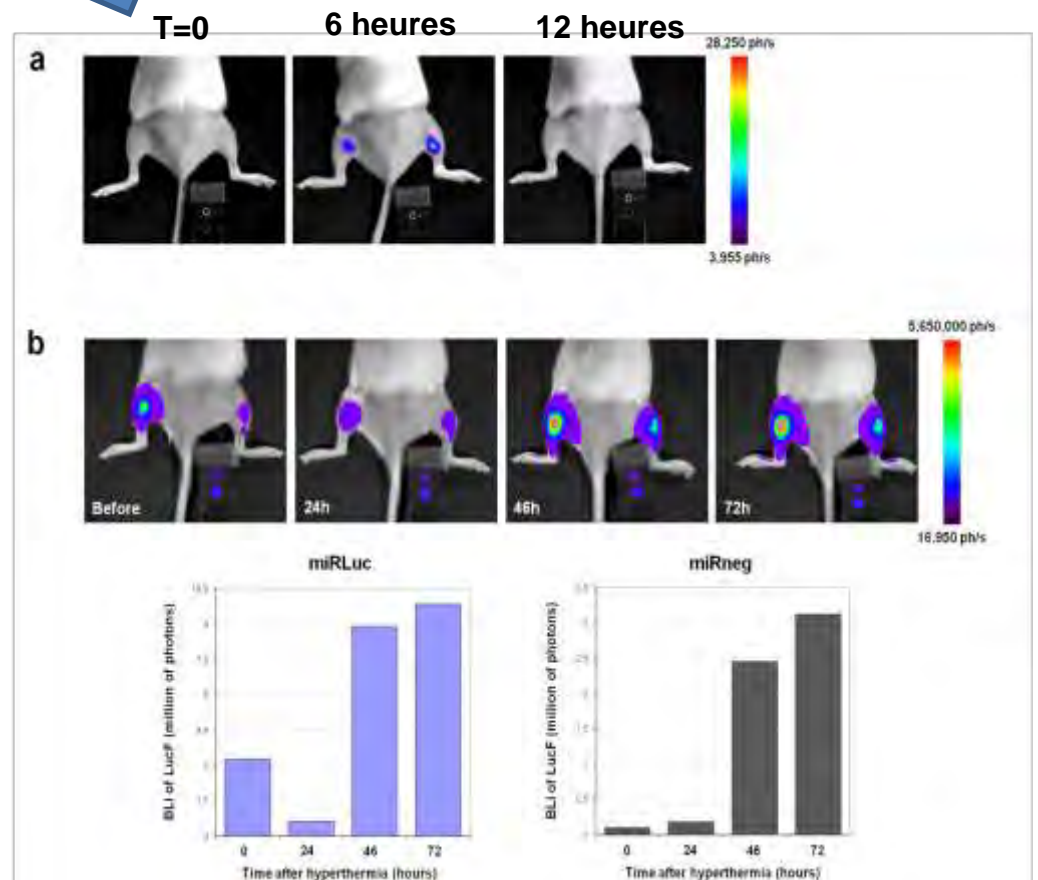
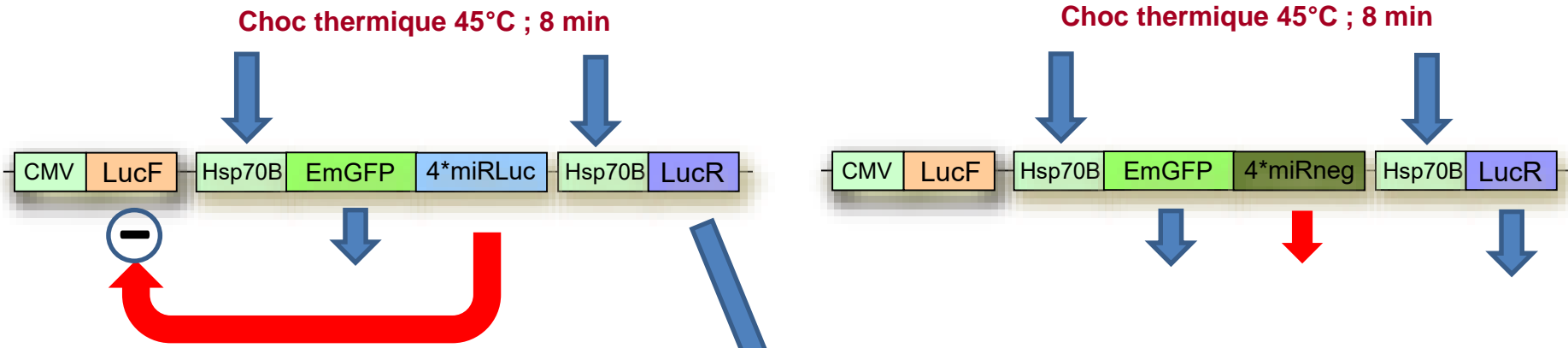


LucF activité

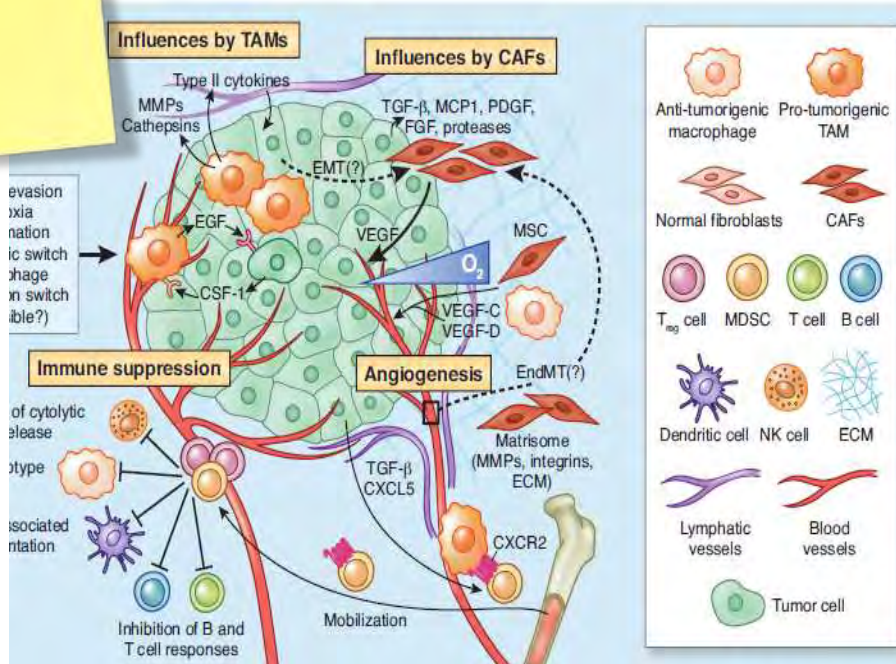


LucF mRNA





Conclusion



D'après Quail & Joyce, (2013)

Hyperthermie locale
modérée par HIFU

Délivrer localement des
agents thérapeutiques

préservé la viabilité du
microenvironnement
tumoral

expression thermo-induite de 2 gènes et 4 miRNA

Perspectives:

Messagers exclusivement intracellulaires

Nanovéhicules thermosensibles

Valider les nouveaux systèmes HIFU et MRgHIFU



IMOTION:

Coralie Germain-Genevois, Nicolas Grenier, Sandrine Eimer-Bouillot
Karine Pinel, Christelle Debeissat, Pierre-Yves Fortin,

MRgHIFU:

Bruno Quesson, Matthieu Lepetit-Coiffé, Roel Deckers, Chrit Moonen

Histologie: Jan Pieter Konsman

Souris mPlum: Anna Planas, Xavier de la Rosa, Thomas Santalucia,
CSIC Barcelone

Animaleries: Pierre Costet, Benoit Rousseau, Laetitia Medan

Vivoptic, Imagerie optique du petit animal



*Announce
Post-Doc!*