

Photomolecular beacon ciblant LRP-1, activables par les MMPs, pour traiter le glioblastome par thérapie photodynamique

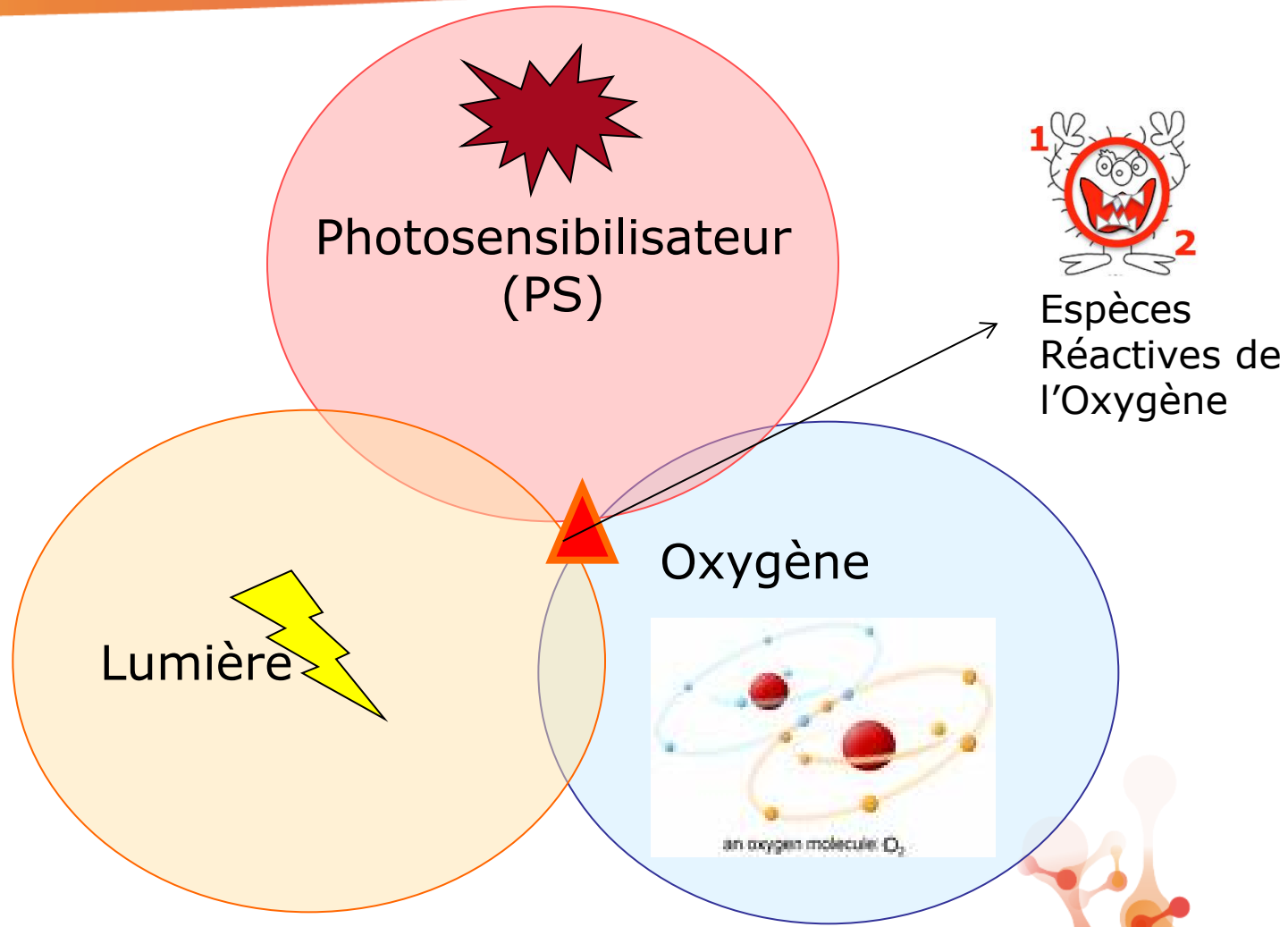
Céline Frochot

CGE, 24 novembre 2016



Le contexte

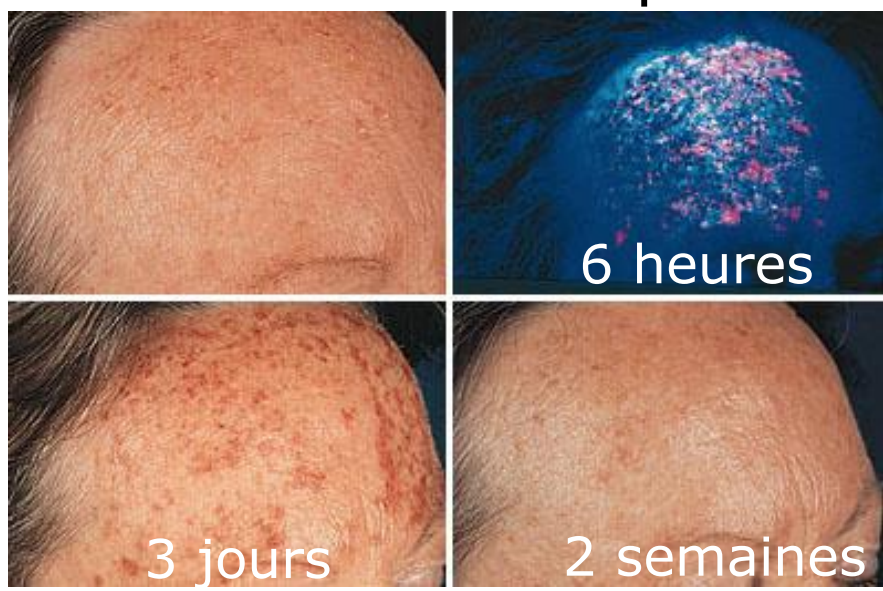
La thérapie photodynamique



PDT : « success story »?

Dermatologie

Kératoses actiniques

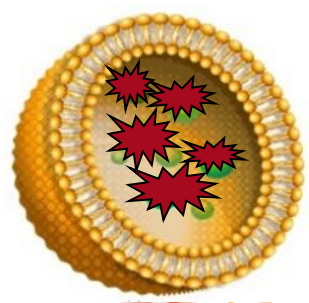
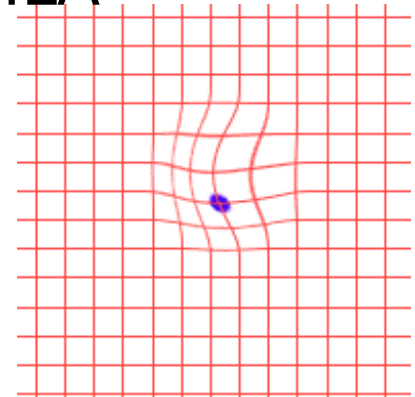


ALA 120 J/cm² 652 nm

Fritsch et al. Archives of Dermatology; 1998

Ophthalmologie

DMLA



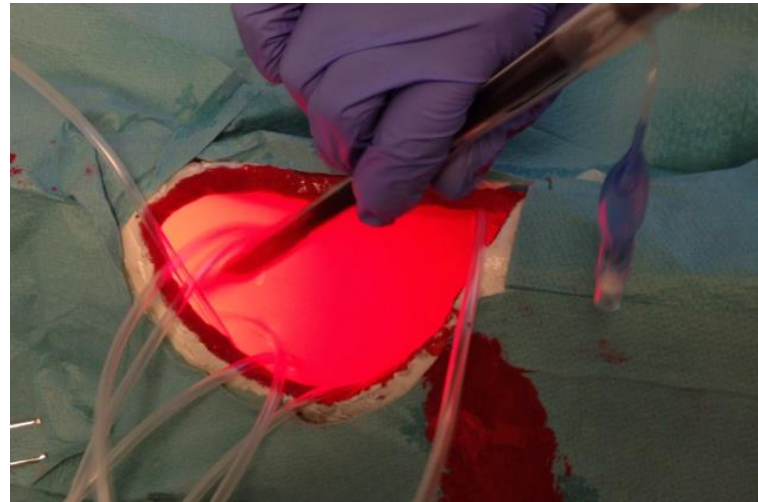
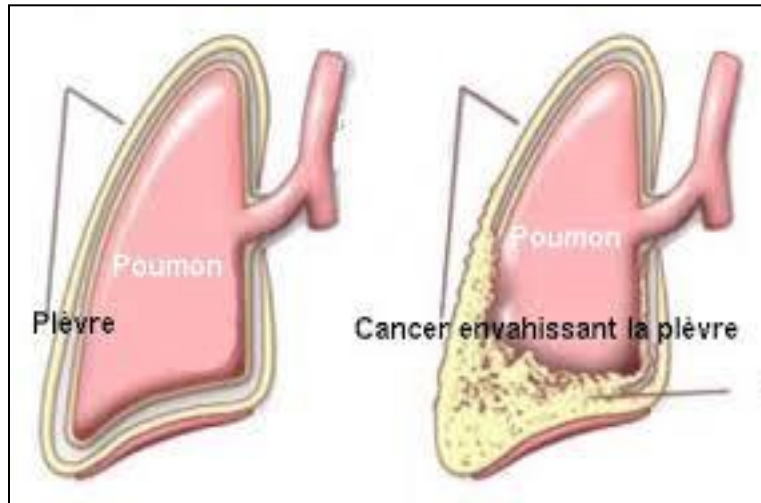
Visudyne®



Pneumologie

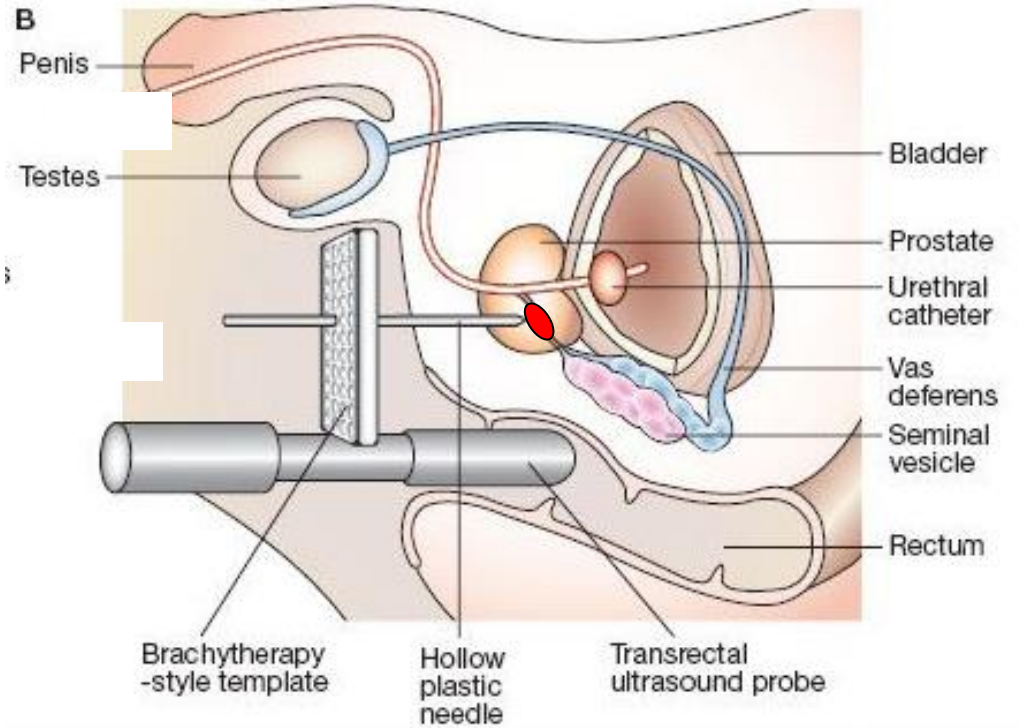
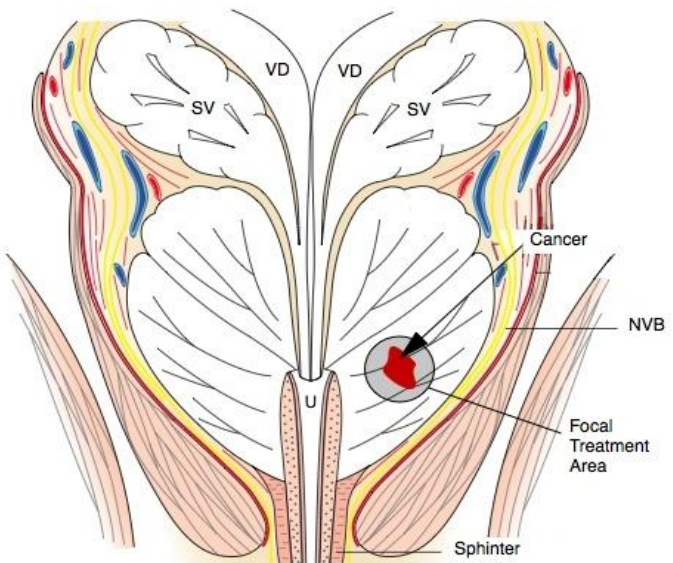
Mésothéliome : essai de phase II en cours à l'hôpital de Lille, Pr Sherpereel

Photofrin, 2 mg/kg IV 24-48h avant illumination à 630 nm

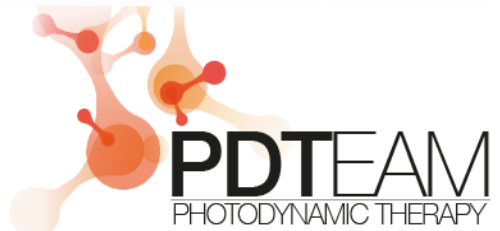


Urologie : Prostate

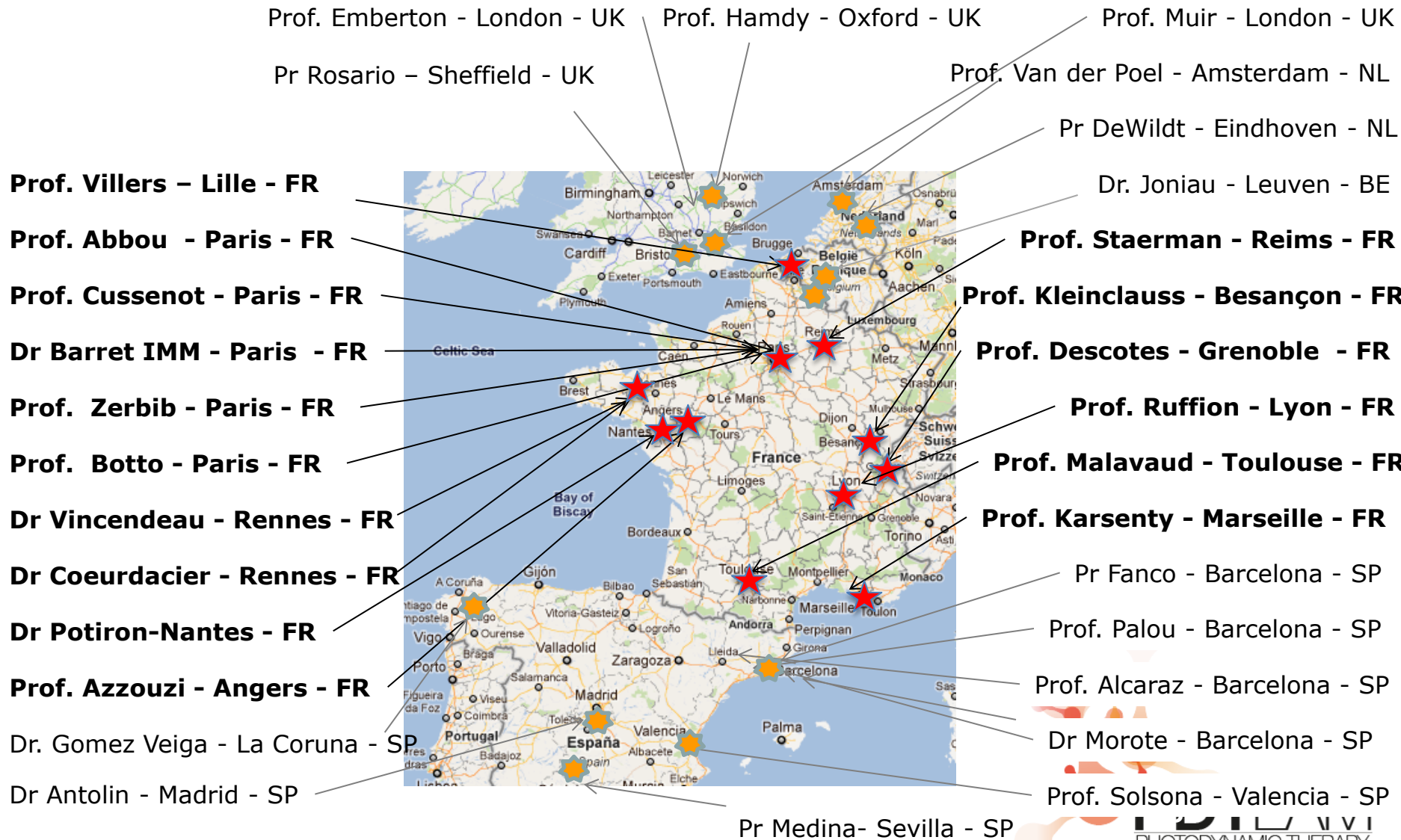
Thérapie focale (phase III finie)



Steba Biotech
Tookad® soluble

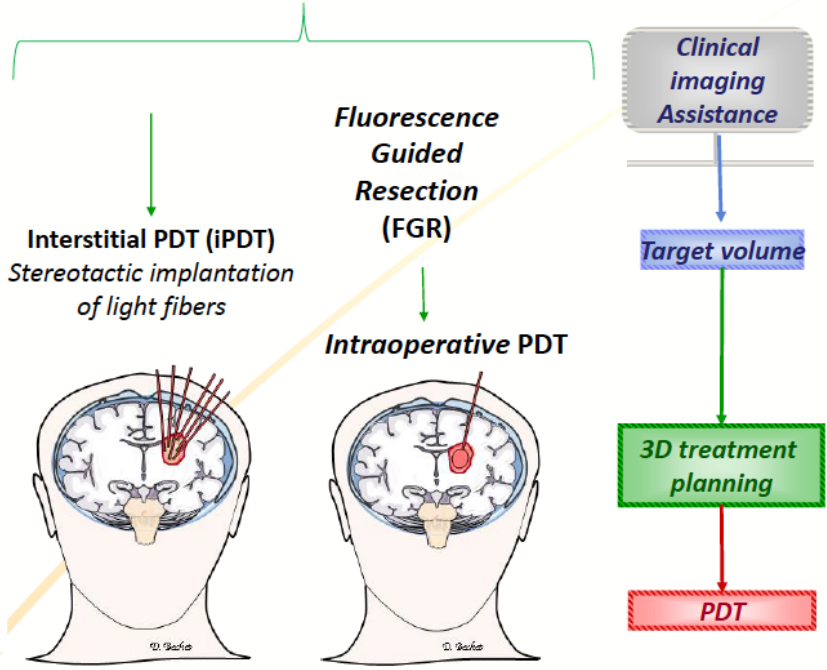


PDT et prostate



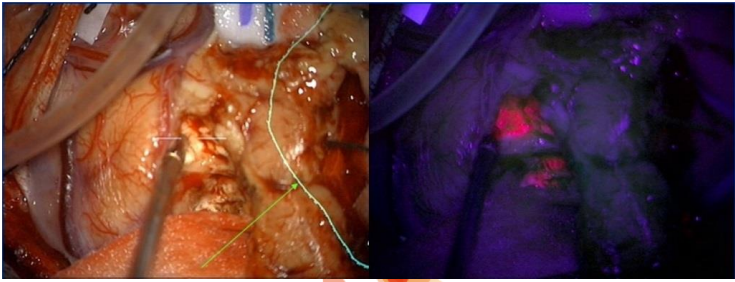
Glioblastome

PHOTODYNAMIC THERAPY OF GBM: TWO STRATEGIES

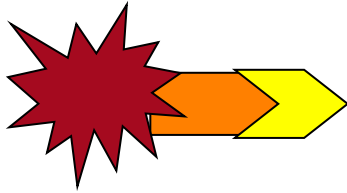


Color plate 39 A patient receiving bedside PDT treatment for invasive supratentorial tumor.

Hamblin M.R. and Mroz P. Advances in photodynamic therapy
Artech House 2008



Objectifs de la PDTEAM : ciblage



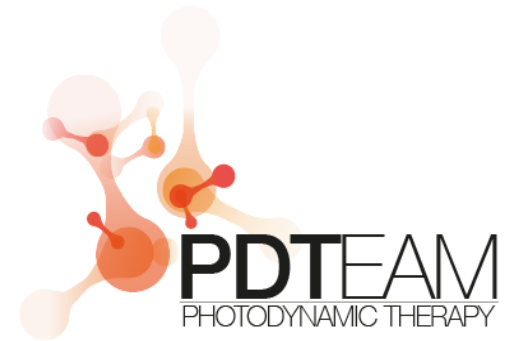
1) Photosensibilisateur



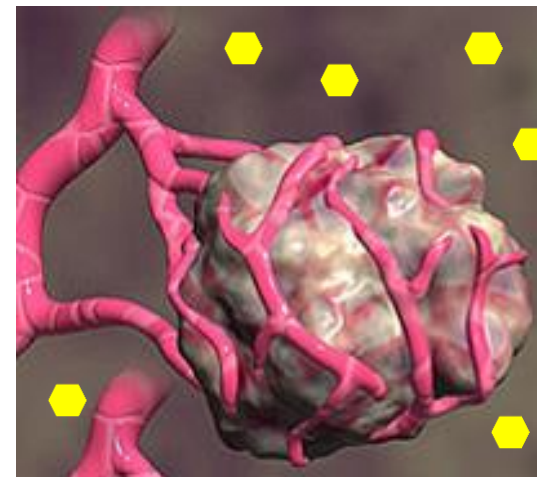
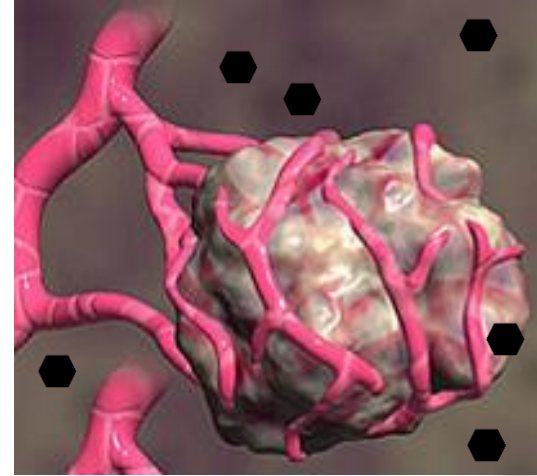
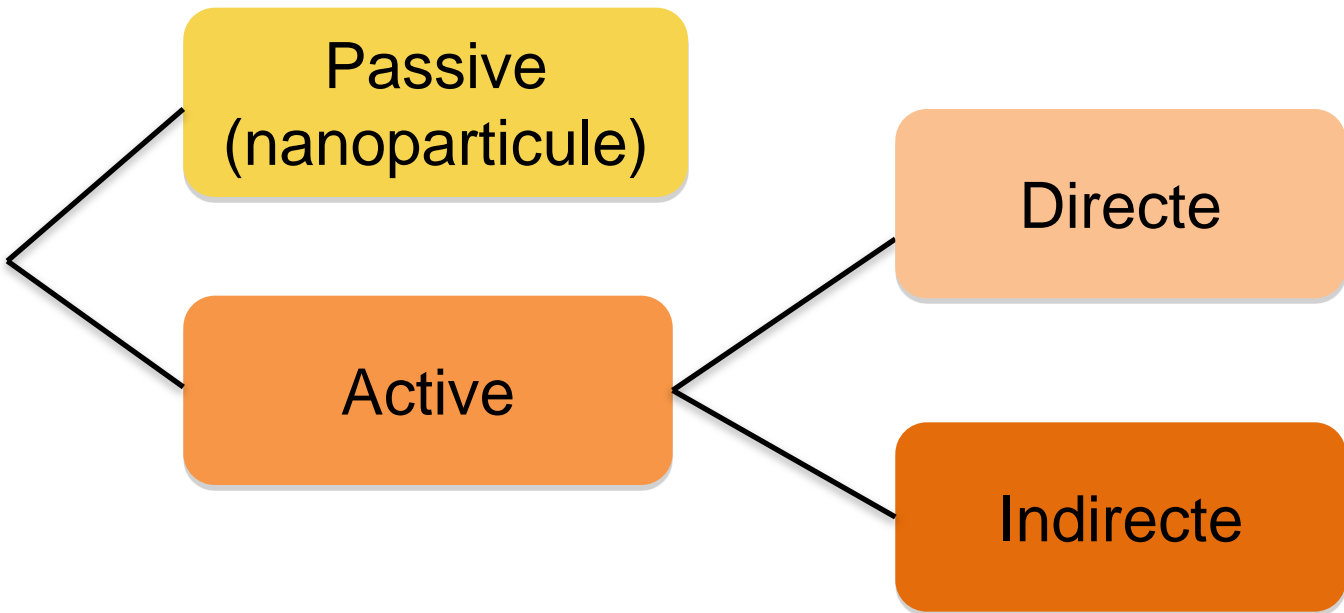
2) $^1\text{O}_2$



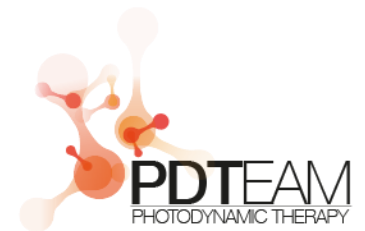
3) Lumière



Notre objectif : cibler



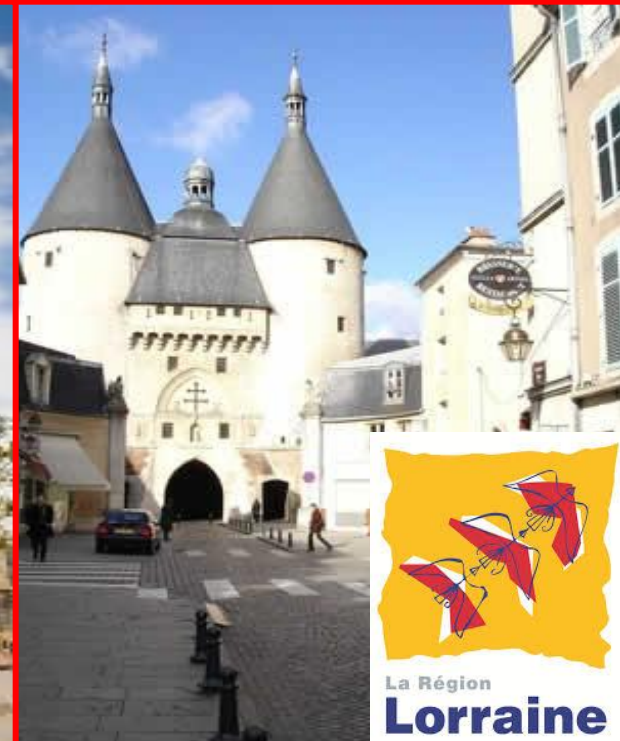
Le projet



Photomolecular beacon ciblant LRP-1, activables par les MMPs pour traiter le glioblastome par thérapie photodynamique



Céline FROCHOT
Strasbourg, 17 avril 2014

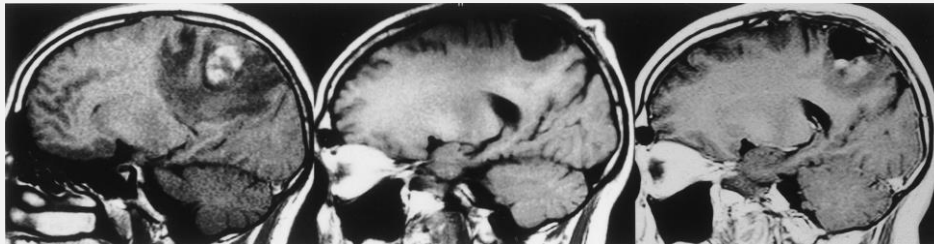


Objectif à long terme : valider la stratégie PMBs en phase préclinique *in vitro* et *in vivo*

Glioblastome multiforme

- Tumeur cérébrale de haut-grade du SNC
- 2000 nouveaux cas par an en France *Zouaoui et al., Neurochirurgie, 2012*
- Survie médiane : 15 mois (protocole Stupp, essai clinique phase III), 7 mois (population réelle)
- Caractère prolifératif et infiltrant

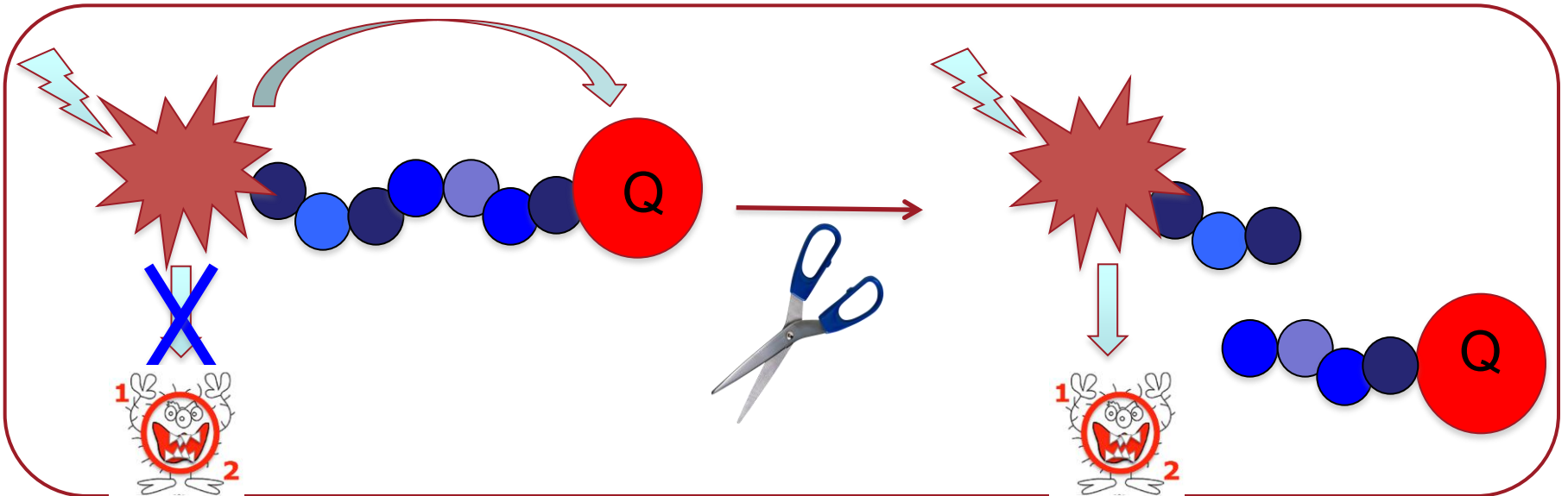
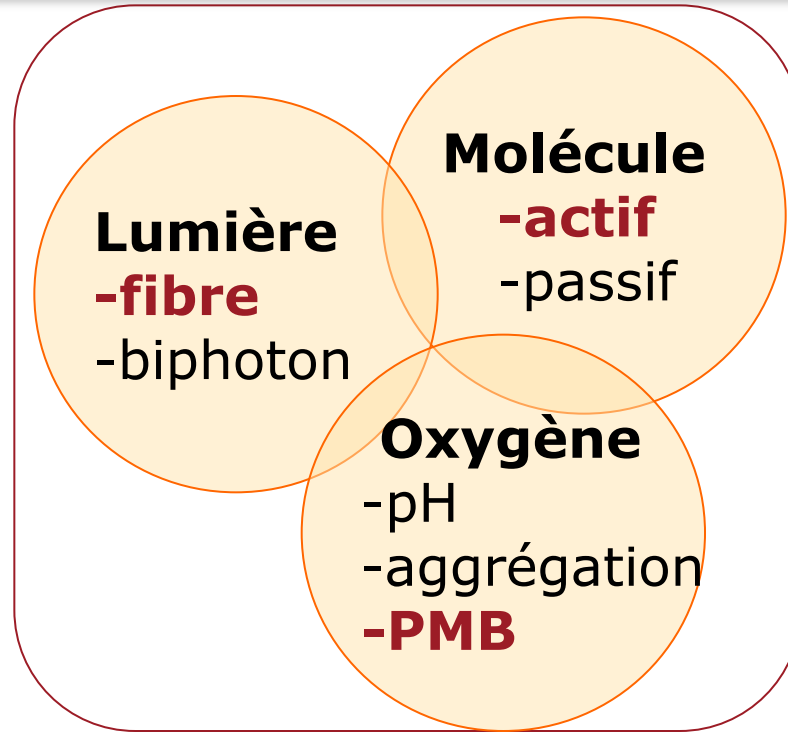
- Lignes de traitement des tumeurs de haut-grade :
 - Chirurgie
 - Radiothérapie + chimiothérapie
 - Chimiothérapie (temodal®) *Stupp et al., N Engl J Med, 2005*



Giese et al., J Clin Oncol, 2003

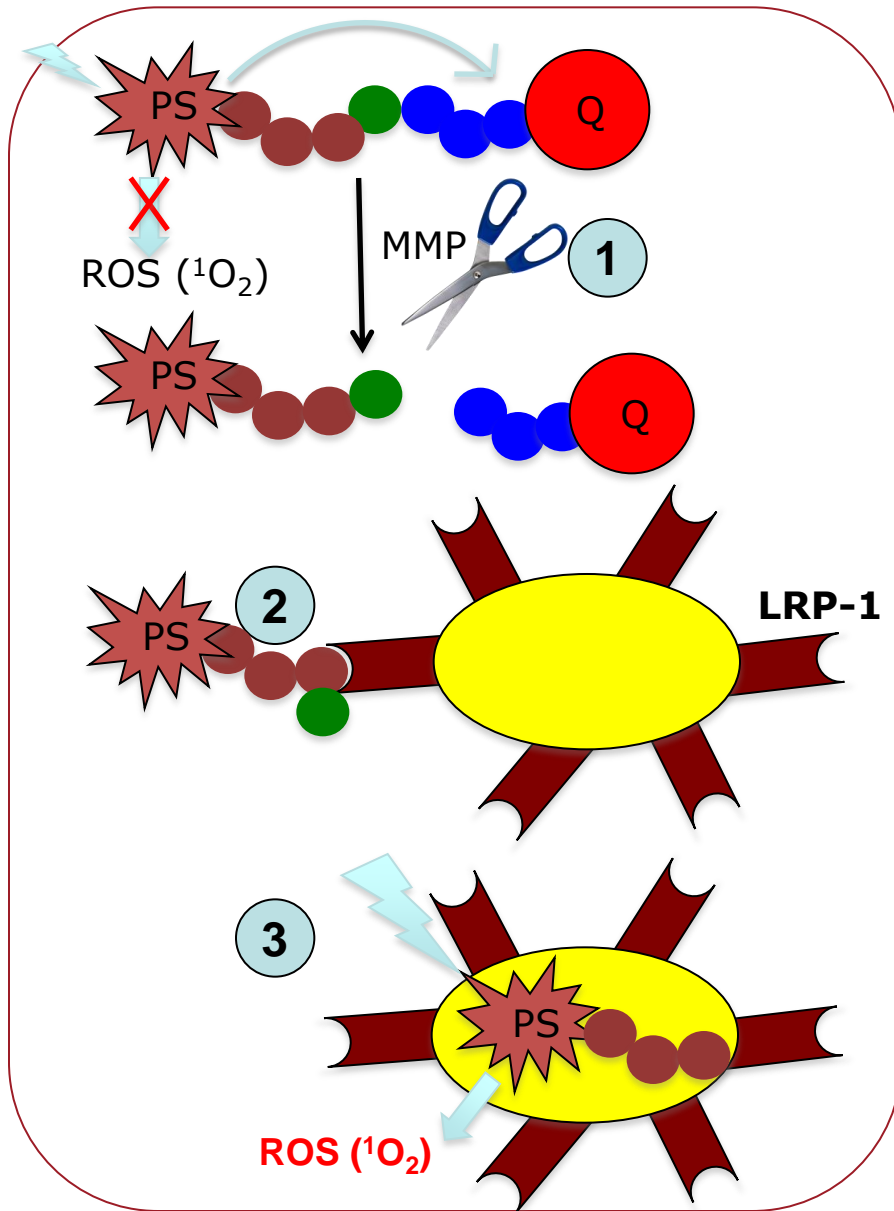
Dans 80-90% des cas : Reprise tumorale dans le volume cible de radiothérapie
Nécessité d'améliorer le contrôle local

Thérapie photodynamique ciblée



Objectif : cibler, cibler et cibler

② CFITKALGISYG GPLGK ①



**Ciblage de l'activité
par les MMPs** ①

**Ciblage intracellulaire
du composé** ②

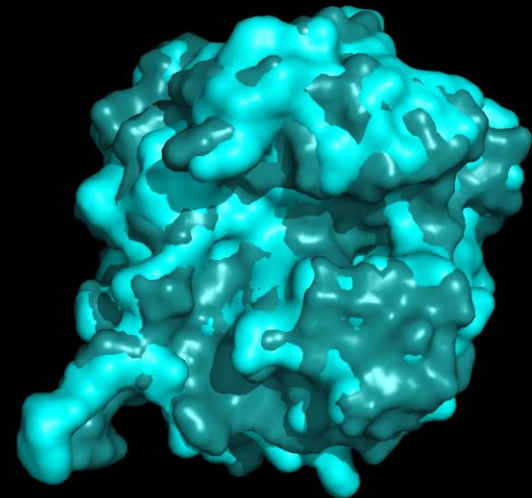
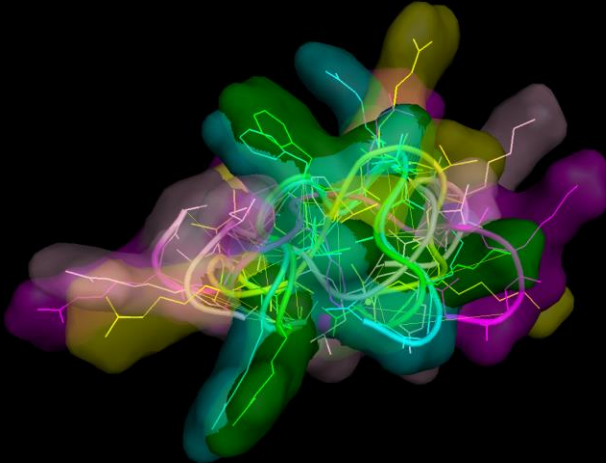
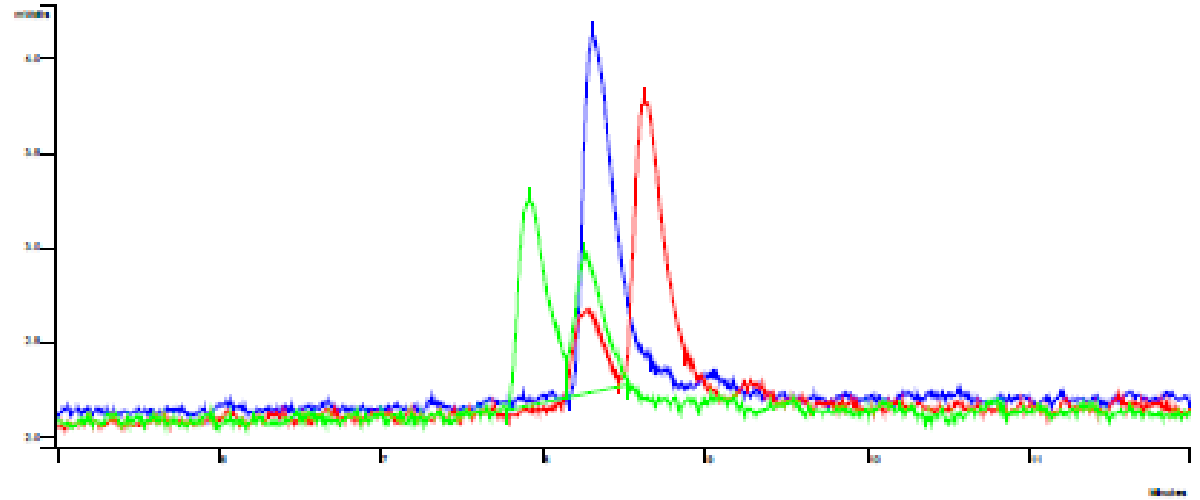
**Ciblage de l'activité
par la lumière** ③

MMP : Résultats préliminaires encourageants

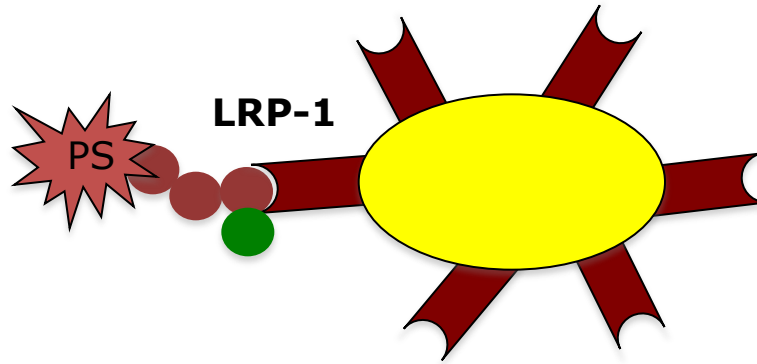
Thèse Aurélie Stallivieri



Chromatogramme HPLC (MMP-9)

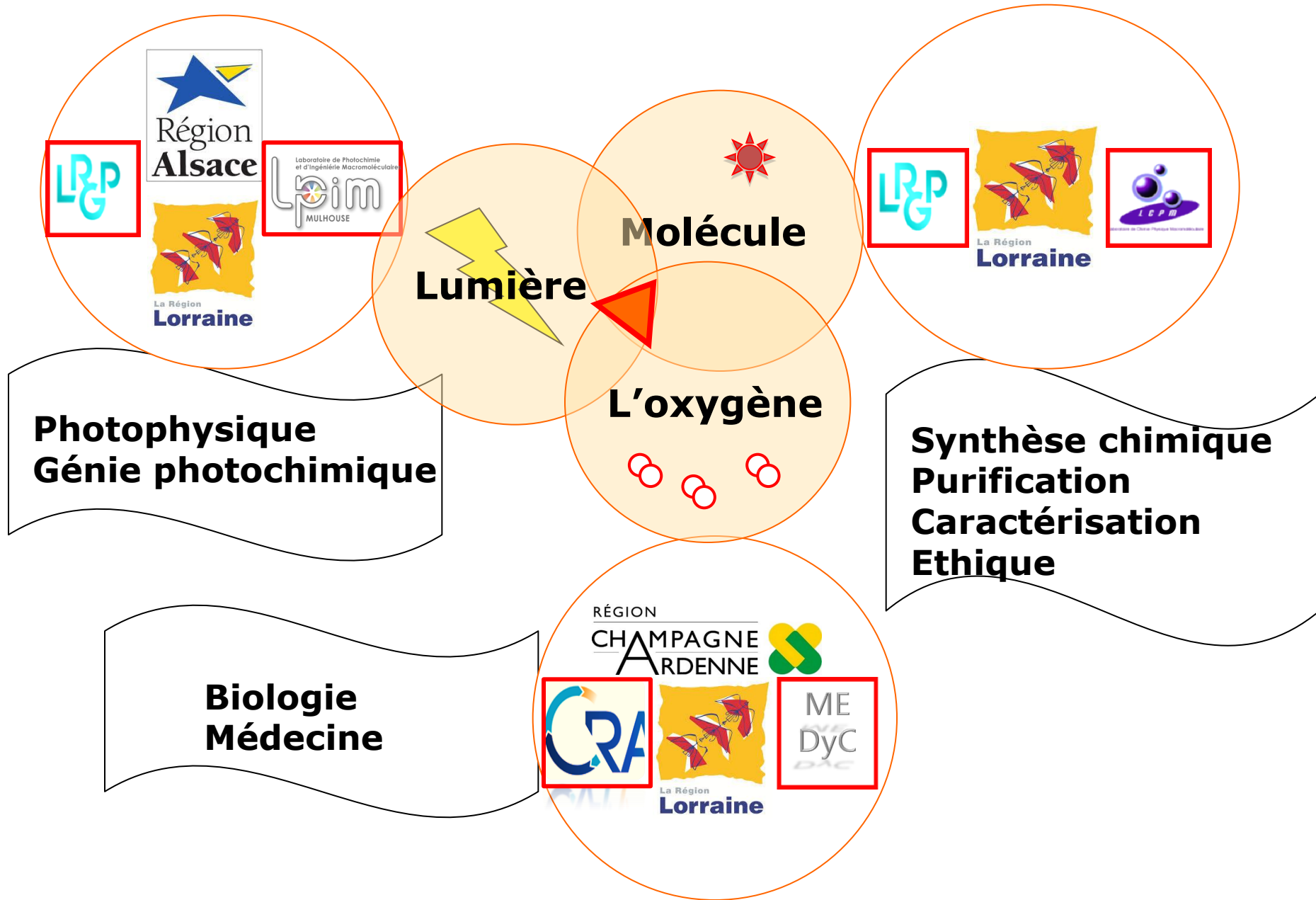


LRP-1 : Intérêt du ciblage



- Surexprimé dans les cellules issues de glioblastomes (Song H *et al.* Cancer Res., 2009; Tajima *et al.* Open Ortho., 2010; Maletínská *et al.* Cancer Res., 2000; Wei X Molecular Pharmaceutics,, 2014)
- Incorporation des ligands de LRP-1 (RAP, TIMP-1...) par endocytose (mécanisme actif) (Emonard *et al.* Biochimie, 2005)
- Régulateur de la cascade protéolytique extracellulaire impliquée dans la progression tumorale (migration, invasion, prolifération, survie) (Lillis AP *et al.* Physio. Rev., 2008 ; Brandan *et al.* J. Biol. Chem., 2006 ; Herz *et al.* J. Clin. Invest., 2001)

Un vrai projet interdisciplinaire



« Auto-critique » du projet

FAIBLESSES

- Interdisciplinarité
- PDT controversée
- Projet encore dans sa phase amont

FORCES

- Localisation extrême du traitement
- Projet novateur
- Résultats préliminaires encourageants
- Interdisciplinarité déjà menée avec succès

MENACES

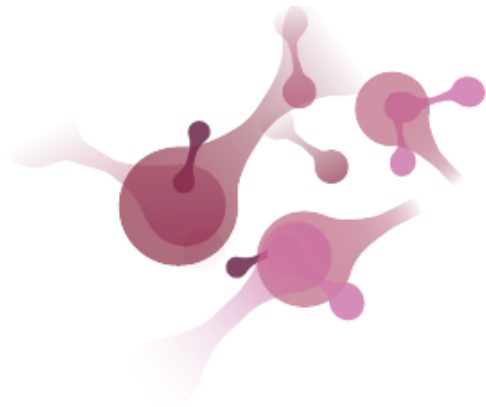
- Evolution du contexte réglementaire
- Dépendance vis-à-vis des industriels pour le développement clinique des applications

OPPORTUNITES

- Nouvelle stratégie de ciblage
- Aspect socio-économiques favorables (coûts faibles des lasers)
- Survie améliorée déjà prouvée avec PDT

Les résultats

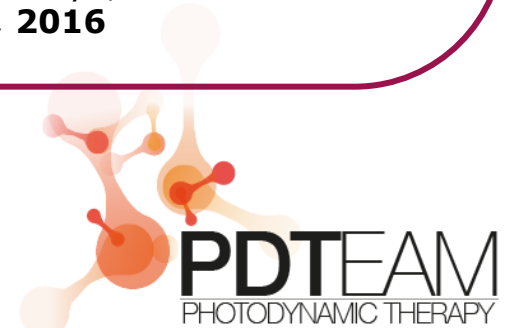
PDT et glioblastome



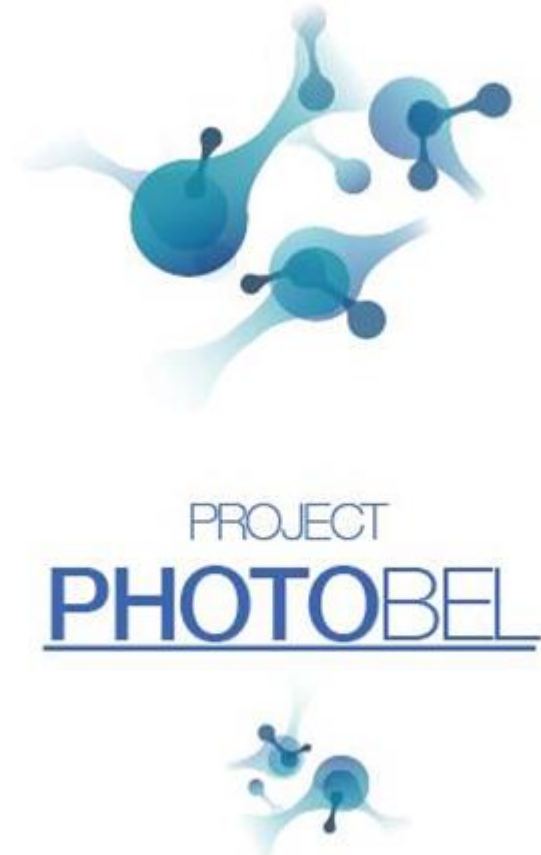
PROJECT
PHOTOBRAIN



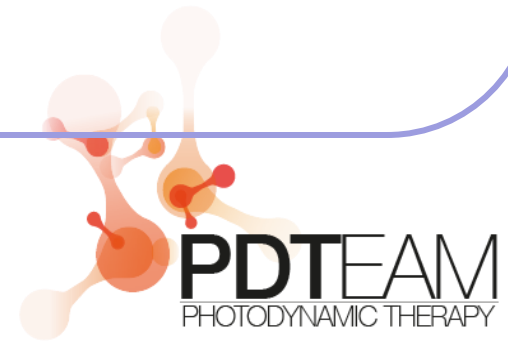
Tirand L. *et al.* J. control. Release **2006**
Tirand L. *et al.* Drug Metab. Dispos. 2007
Thomas N. *et al.* Photochem. Photobiol. Sci. 2008
Thomas N. *et al.* Photochem. Photobiol. Sci. 2008
Béchet D. *et al.* Trends in Biotechnology 2008
Tirand L. *et al.* Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2009
Thomas N. *et al.* Biochem. Pharm. 2010
Béchet D. *et al.* Pharm. Res. 2010
Couleaud P. *et al.* Nanomedicine 2011
Pernot M. *et al.* Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2011
Benachour H. *et al.* Theranostics 2012
Chouikrat R. *et al.* Curr. Med. Chem. 2012
Sève A. *et al.* Photochem. Photobiol. Sci. 2012
Benachour H. *et al.* PLoS One 2012
Truillet C. *et al.* Dalton Trans. 2013
Kamarulzaman E. E. *et al.*, Int Mol Sci, 2015
Béchet D. *et al.* Nanomedicine NBM 2015
Kamarulzaman, J Biomol Struct Dyn, 2016
Toussaint *et al.*, Theranostics, **2016**



Projet photobel

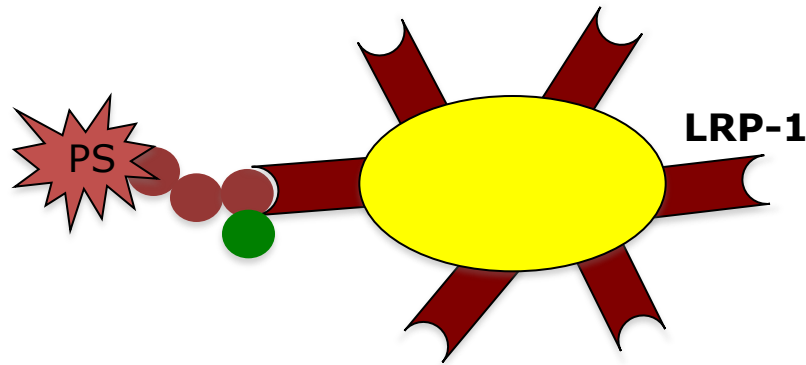
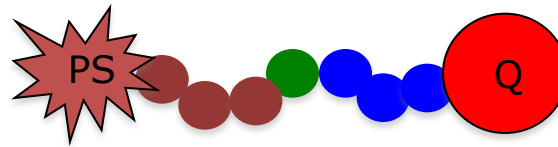


1 publication en cours d'écriture



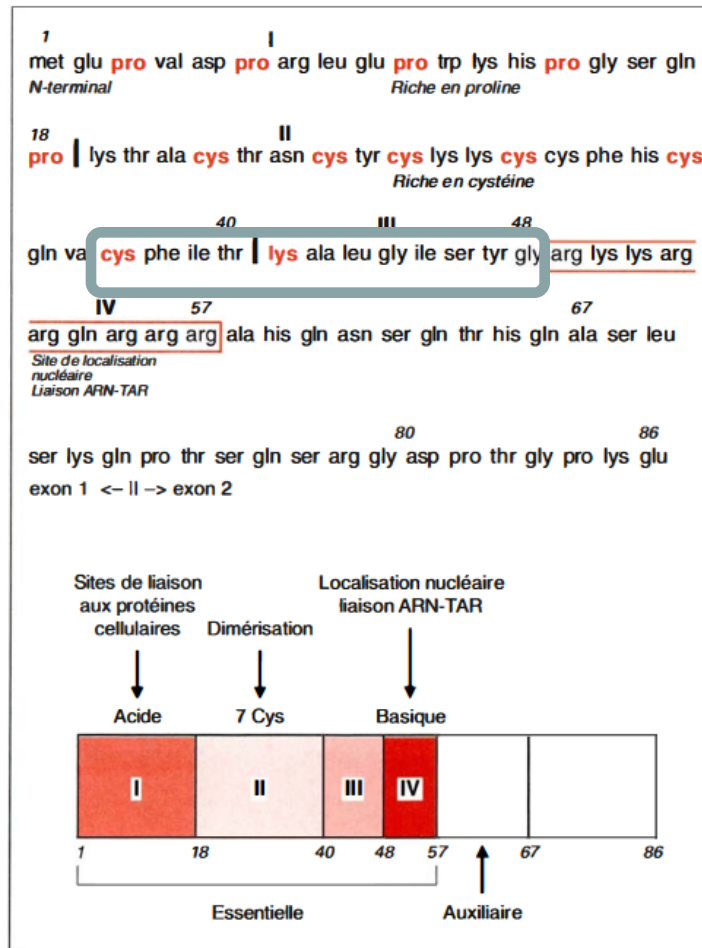
Choix du peptide

② CFITKALGISYG GPLGK ①



Choix du peptide ciblant LRP-1

Peptide TAT (38-48)



M/S

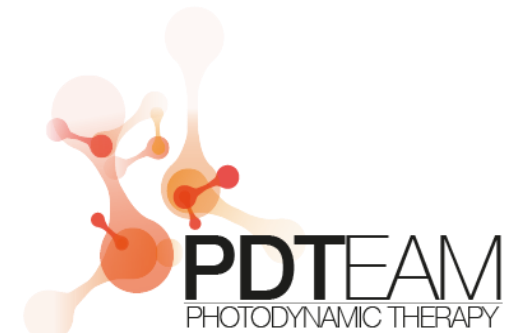
SYNTHÈSE

médicine/strucres 1993; 9: 1342-51

**La protéine Tat du VIH:
 cible potentielle
 en chimiothérapie
 antirétrovirale**

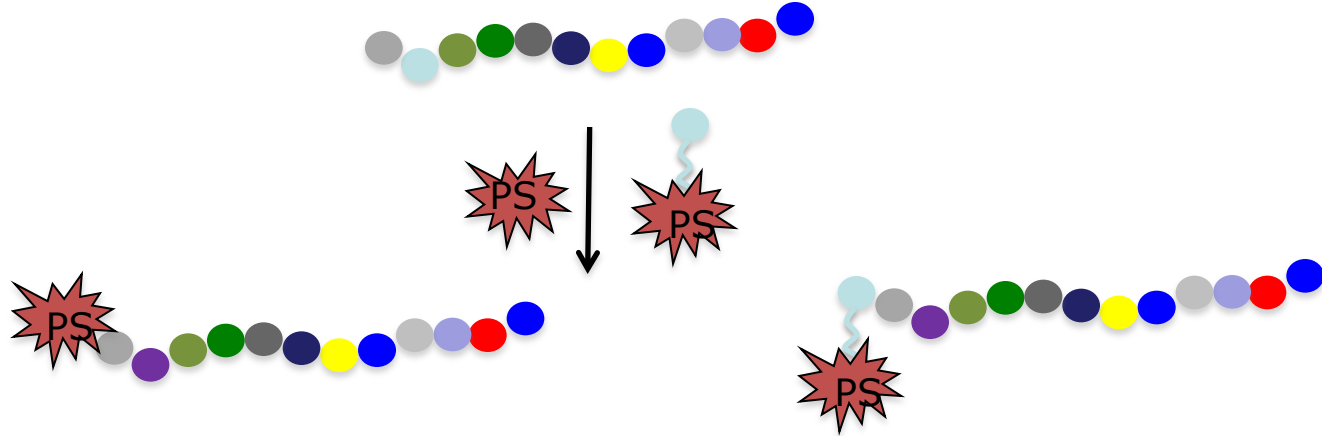
TAT (37-48)

Figure 1. **Structure primaire de la protéine Tat et ses différentes régions fonctionnelles.**



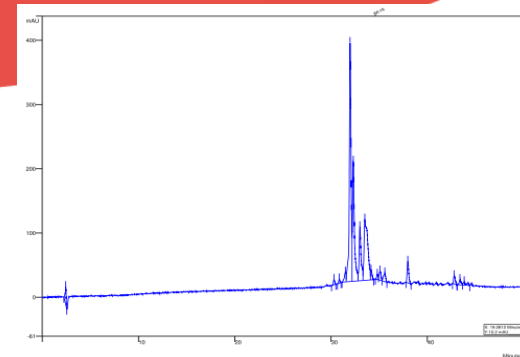
Synthèse

CFITKALGISYG

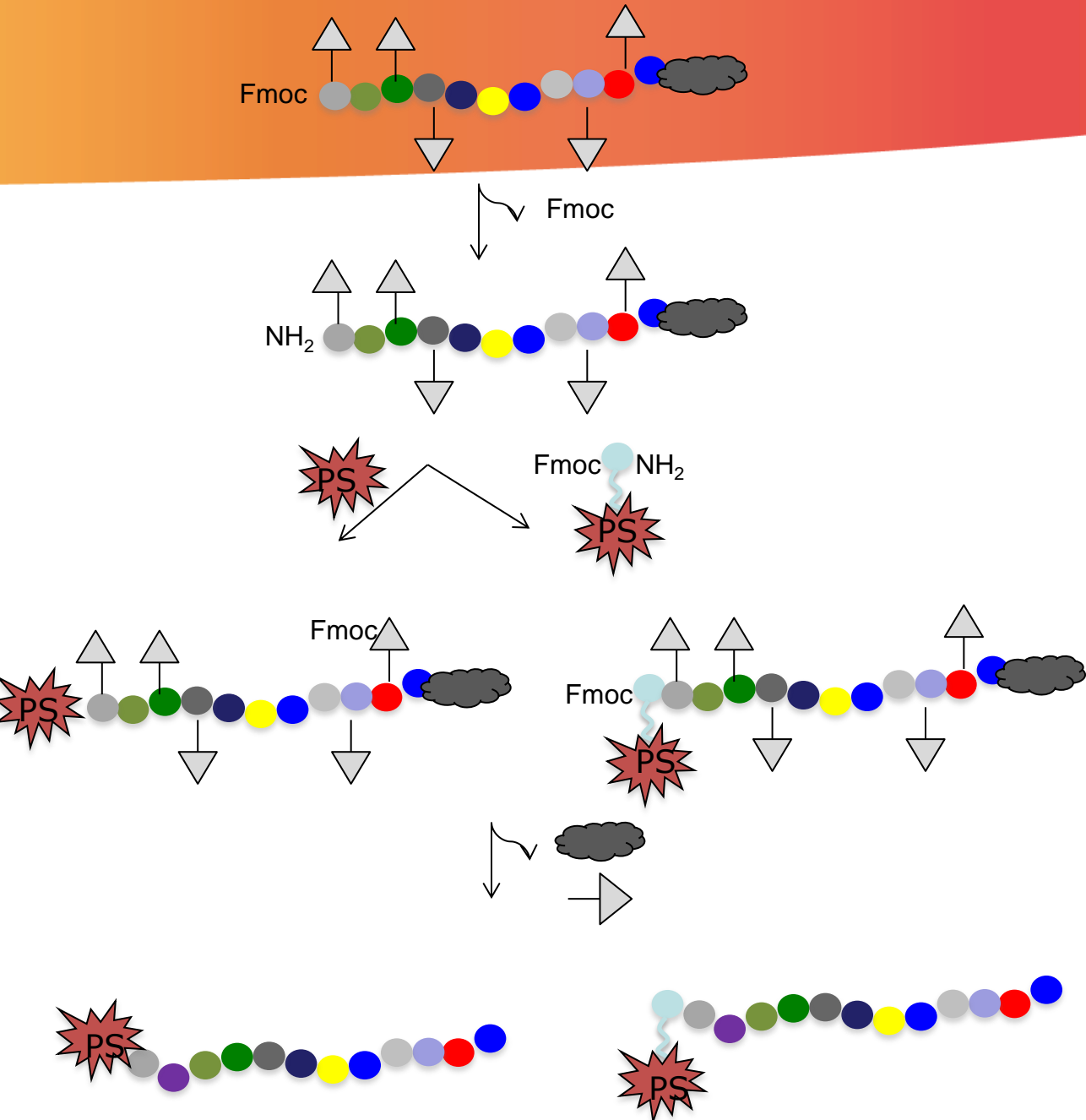
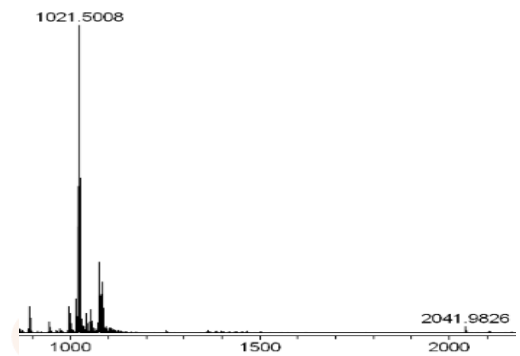
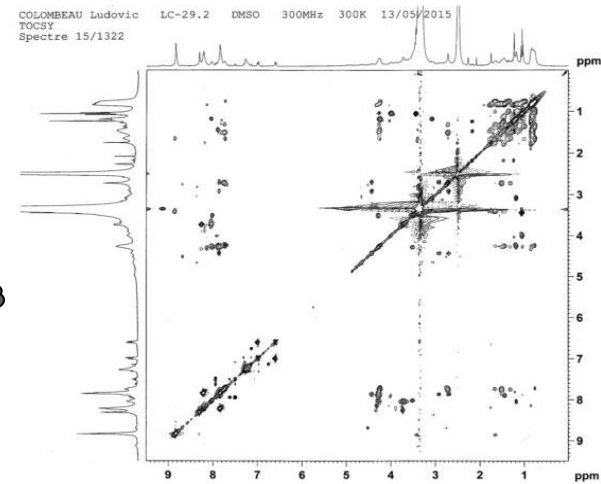


 = Porphyrine

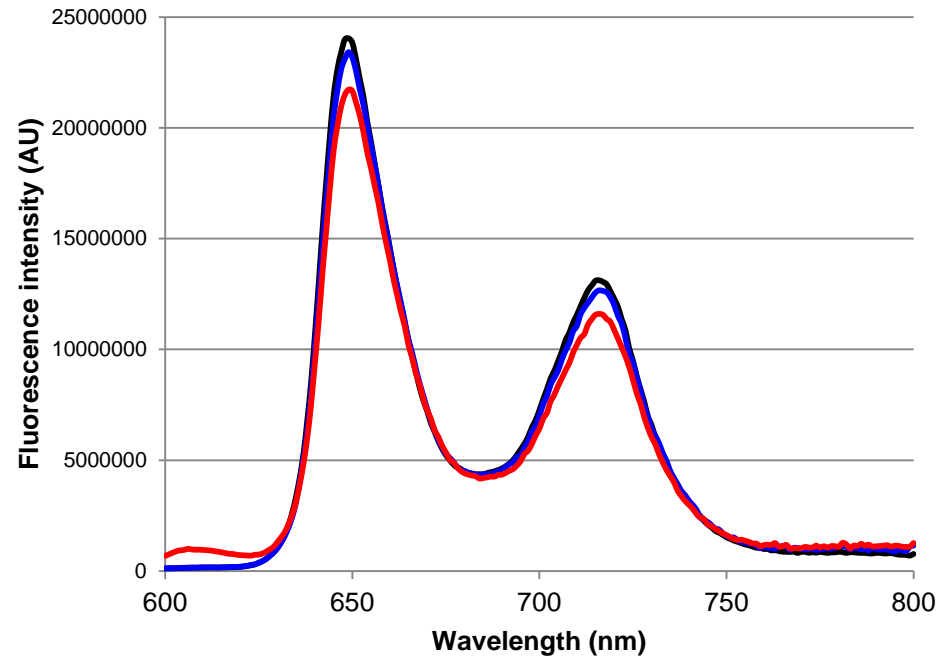
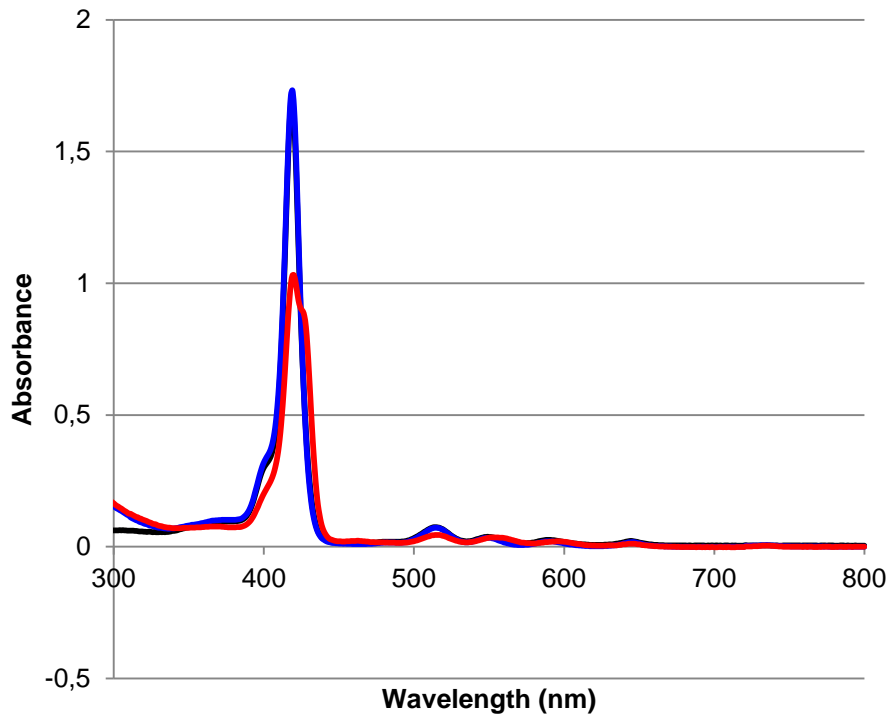
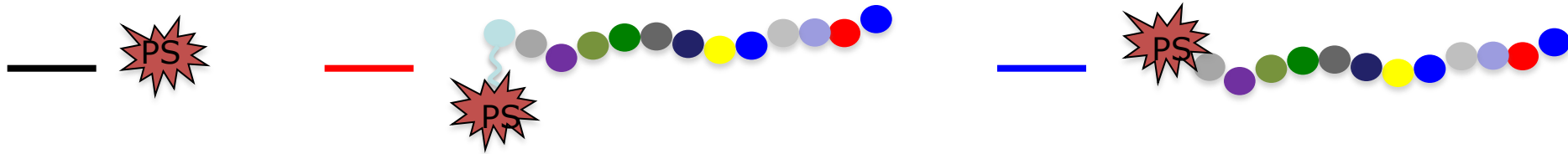
HPLC






Masse et RMN



Absorption et fluorescence

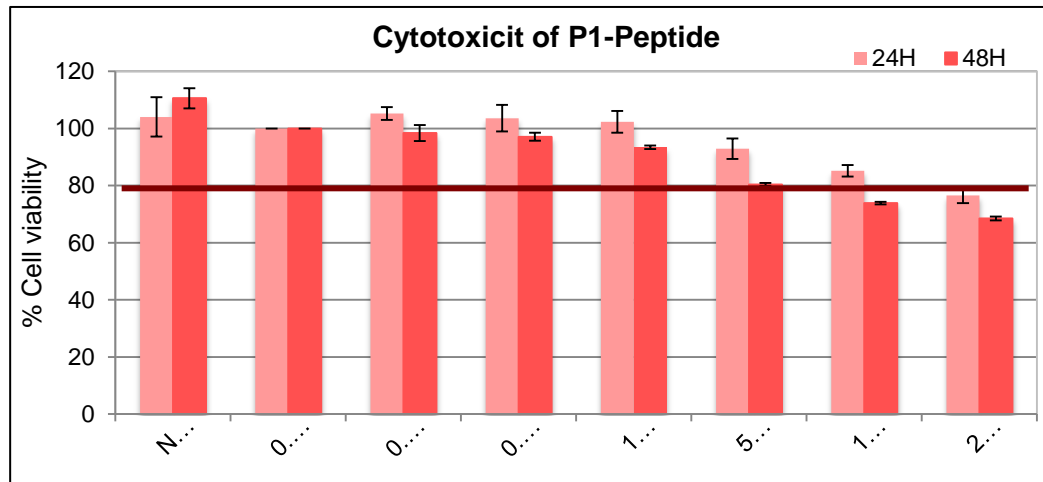
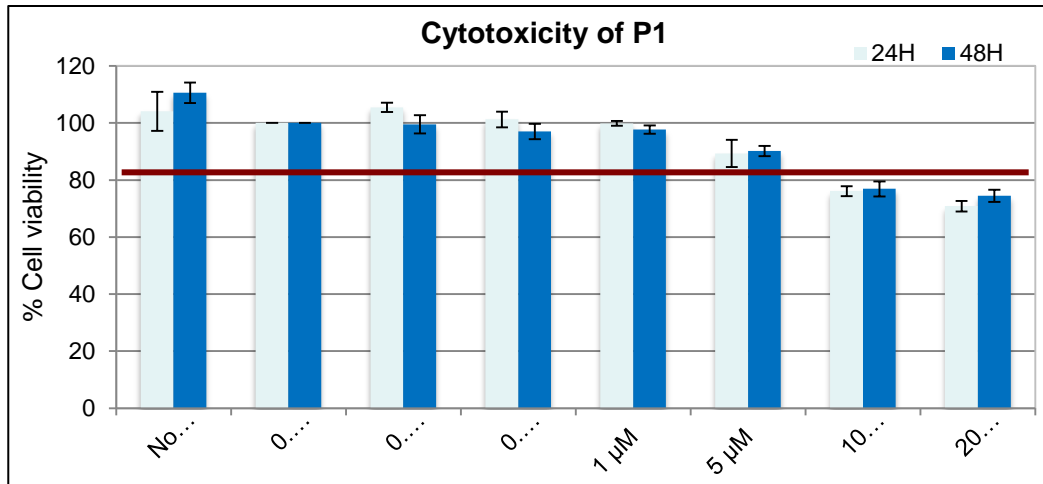


Phototoxicité

Product	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)						λ_{exc} (nm)	φ_F (%)	φ_{Δ} (%)	τ_F (ns)	τ_{Δ} (μs)
	Soret Band (λ_{max})	Q_{IV}	Q_{III}	Q_{II}	Q_I	350nm					
	411224 (418 nm)	17347	8367	5510	4898		414	15	39	11.5	8.3
	216874 (419 nm)	9343	7016	3984	2009		419	13	29	10.9	9.7
	351863 (415 nm)	14231	6494	3820	3151		419	16	27	11.2	9.3

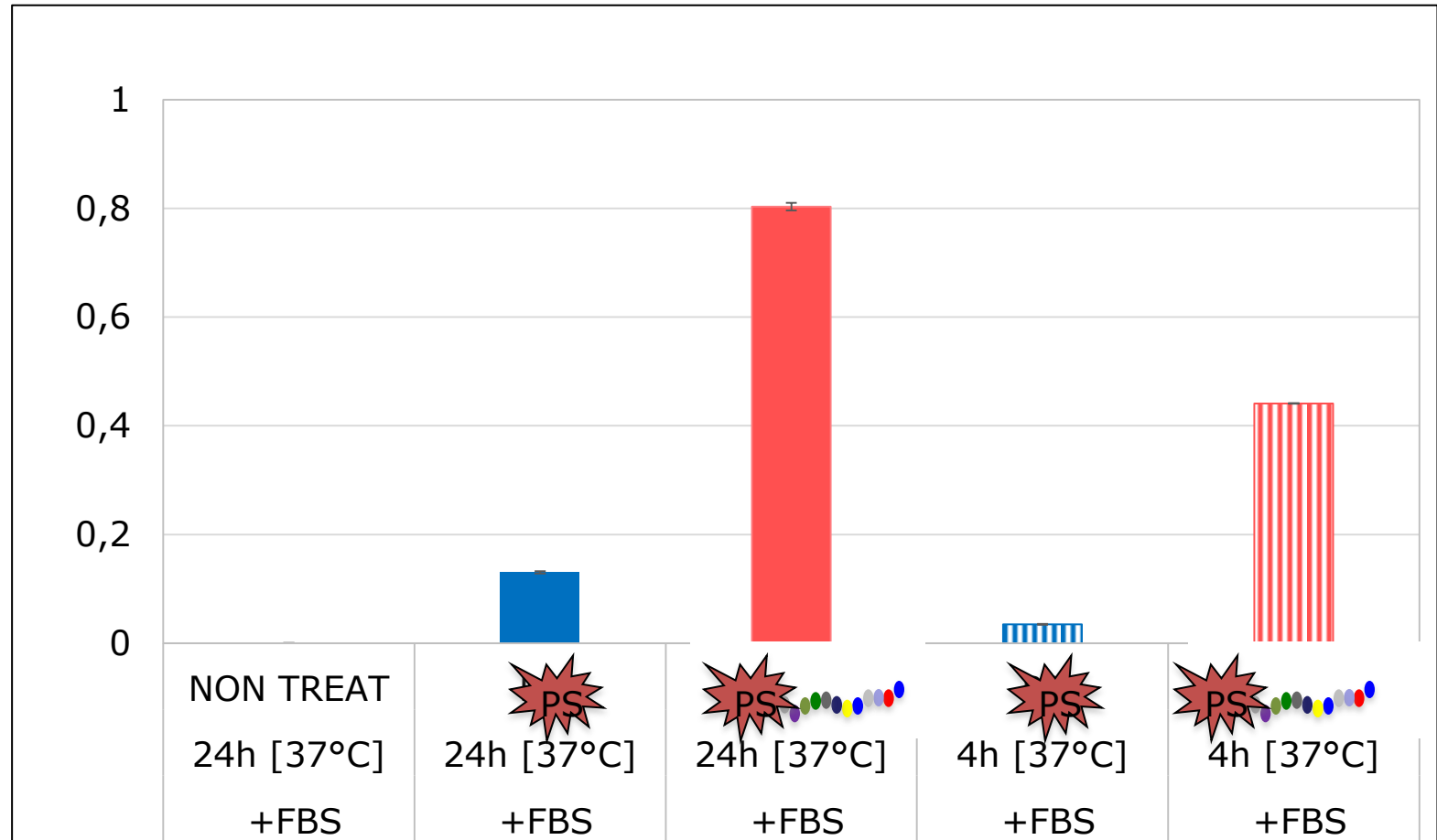
Cytotoxicité à l'obscurité

MTT



10000 cellules/cm² - 24h ou 48h après traitement (N=3)

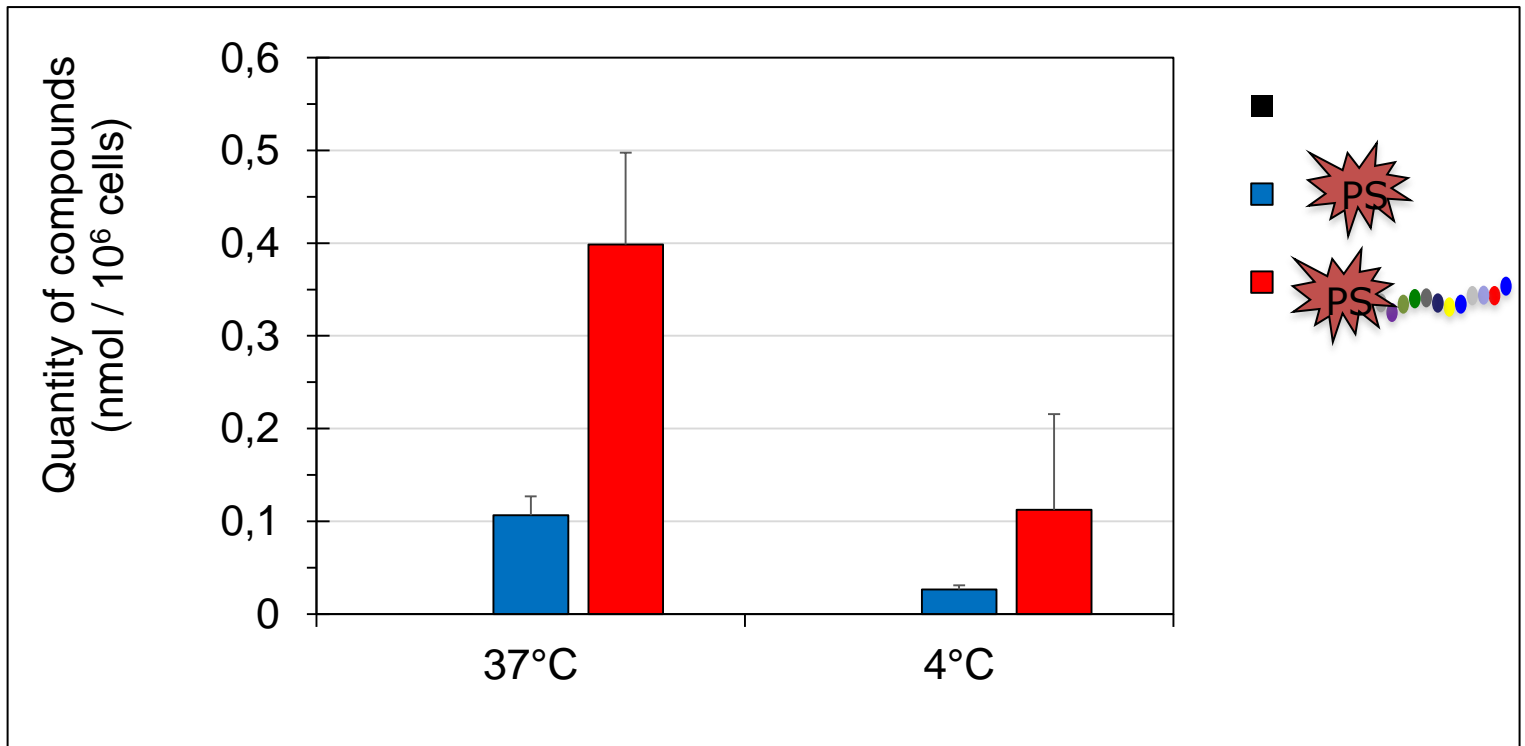
Incorporation cellulaire



15000 cellules/cm²

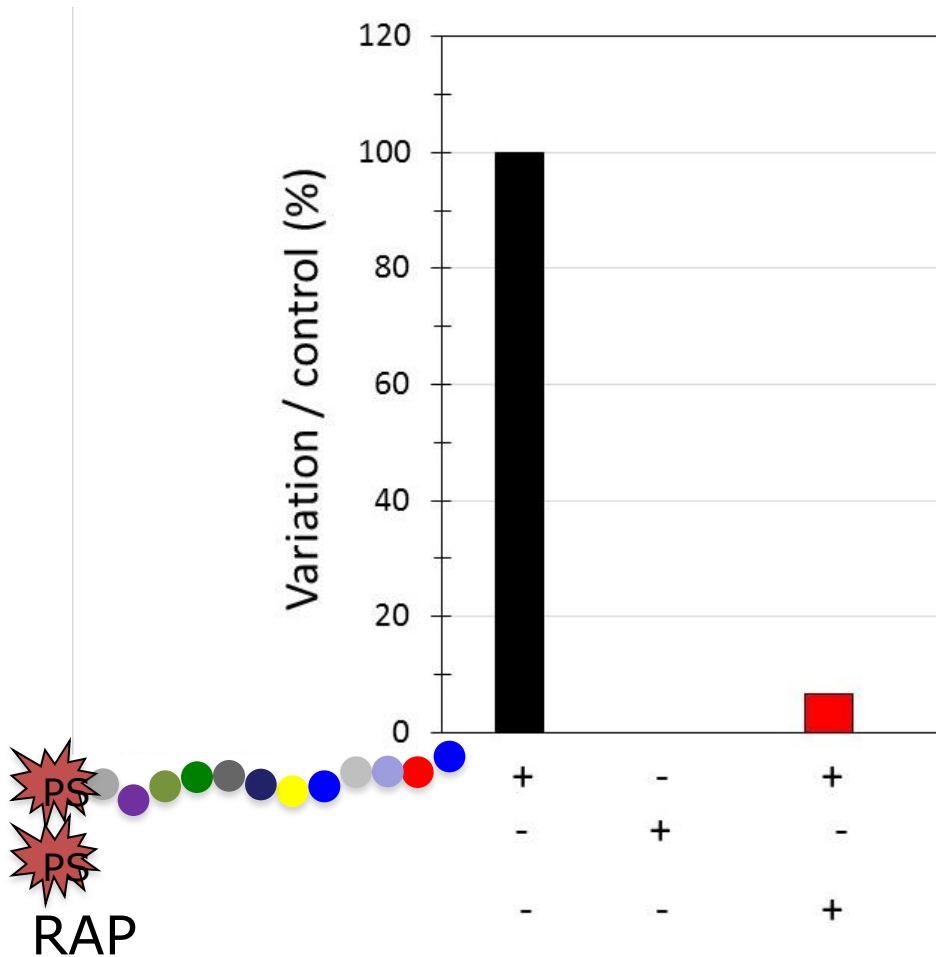
Incorporation cellulaire

Effet de la température



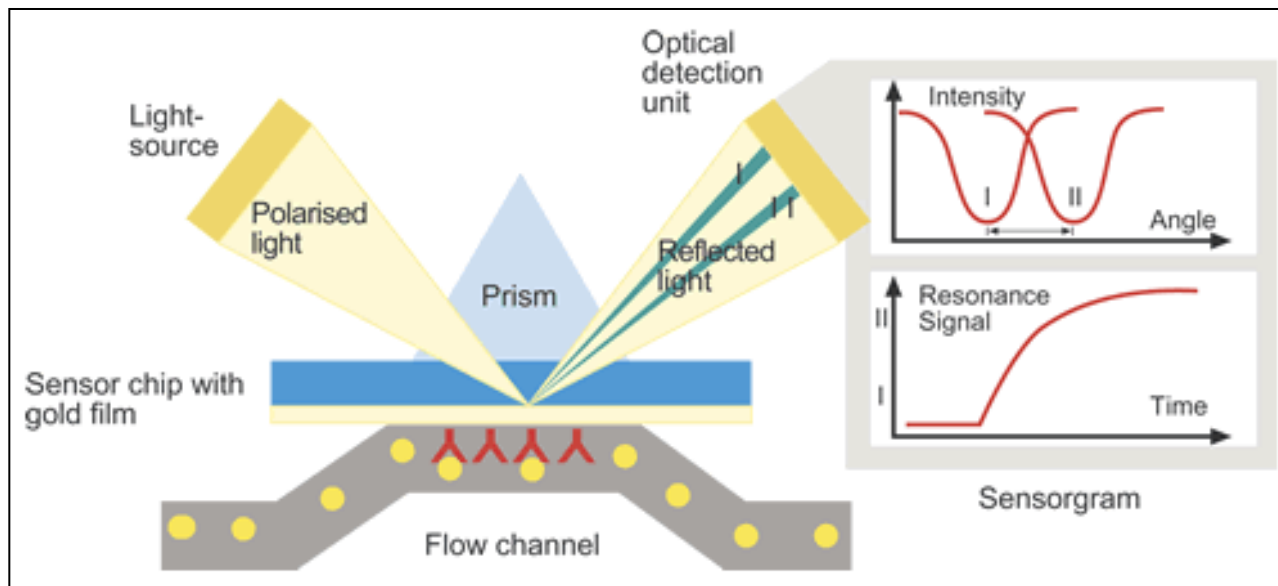
Spécificité de l'incorporation

Compétition avec le RAP

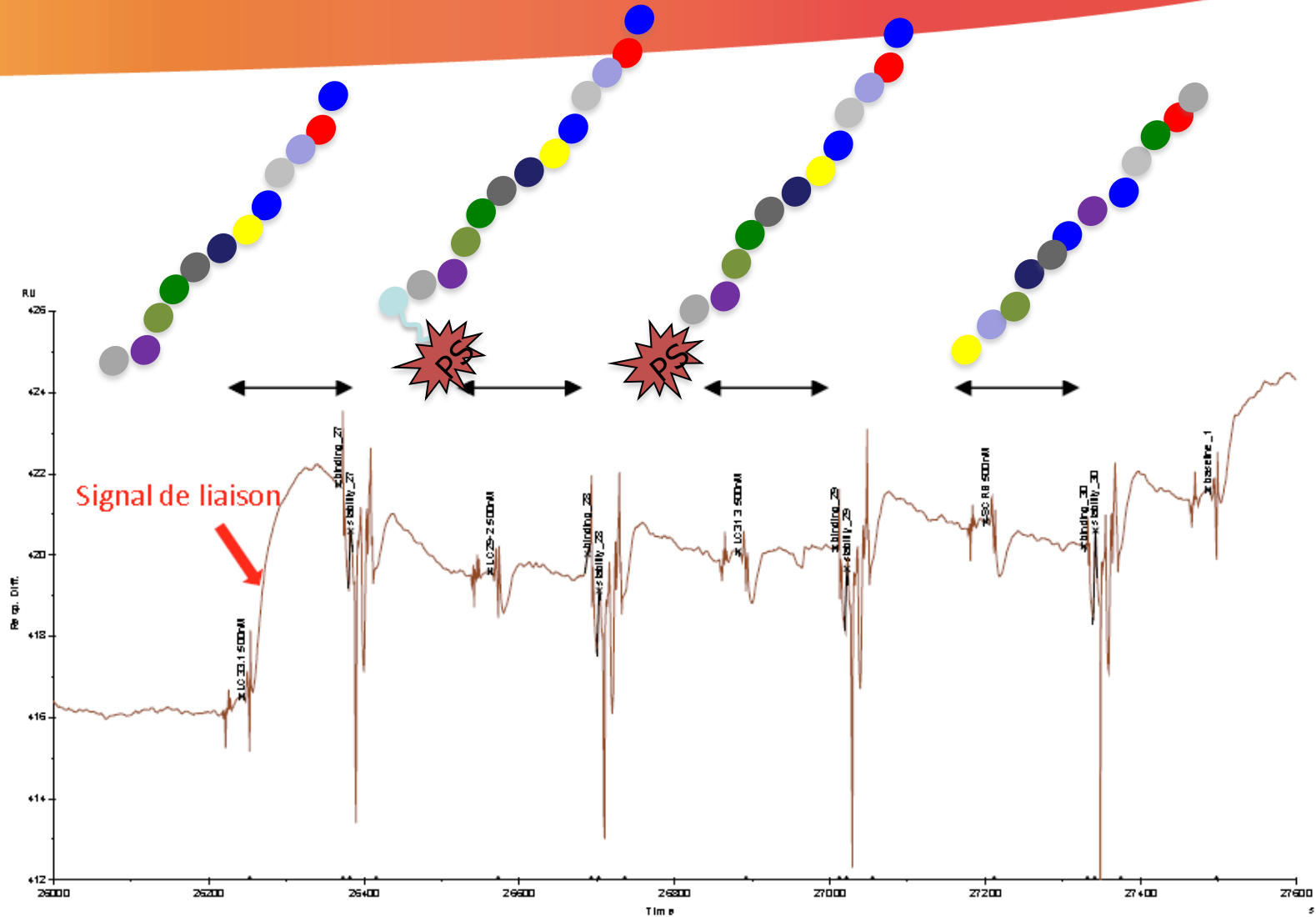


Spécificité de l'incorporation Technique *biacore*

Automate qui utilise la Résonance Plasmonique de Surface (SPR) pour mesurer en temps réel l'interaction entre biomolécules dans un débit continu de tampon



Spécificité de l'incorporation Biacore, domaine DII



Liaison du peptide seul à DII

« Auto-critique » du projet

FAIBLESSES

- Interdisciplinarité
- PDT controversée
- **Projet encore dans sa phase amont**

FORCES

- Localisation extrême du traitement
- Projet novateur
- Résultats préliminaires encourageants
- **Interdisciplinarité déjà menée avec succès**

MENACES

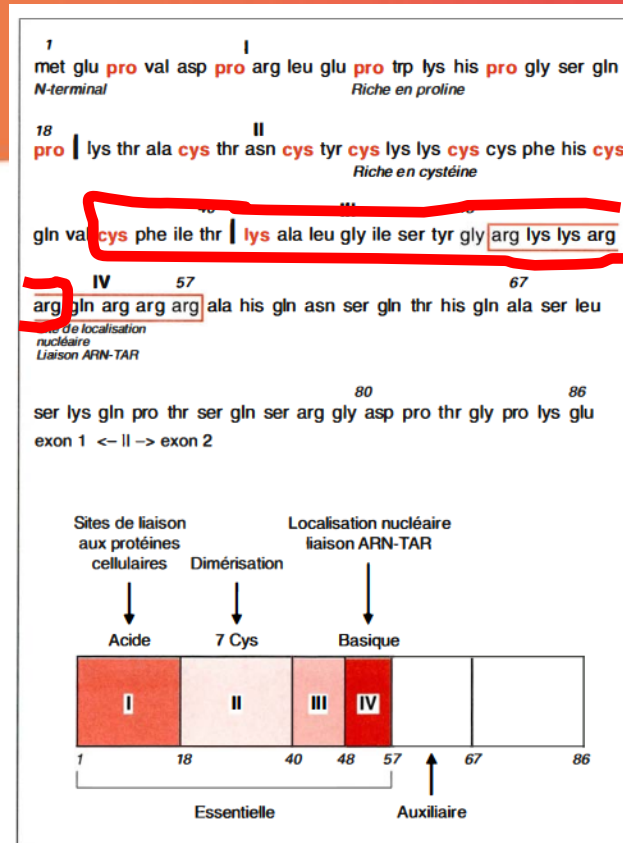
- Evolution du contexte réglementaire
- Dépendance vis-à-vis des industriels pour le développement clinique des applications

OPPORTUNITES

- **Nouvelle stratégie de ciblage**
- Aspect socio-économiques favorables (coûts faibles des lasers)
- Survie améliorée déjà prouvée avec PDT

Les perspectives

Recherche d'un peptide plus hydrosoluble



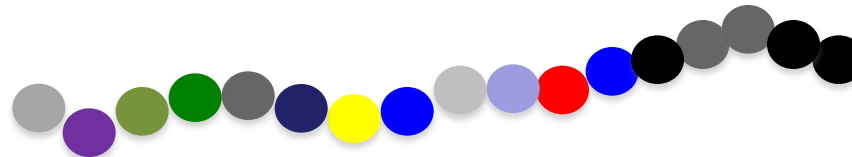
TAT (37-48)

TAT (37-53)

Projet ligue
2015-2016

Figure 1. *Structure primaire de la protéine Tat et ses différentes régions fonctionnelles.*

CFITKALGISYGRKKRR

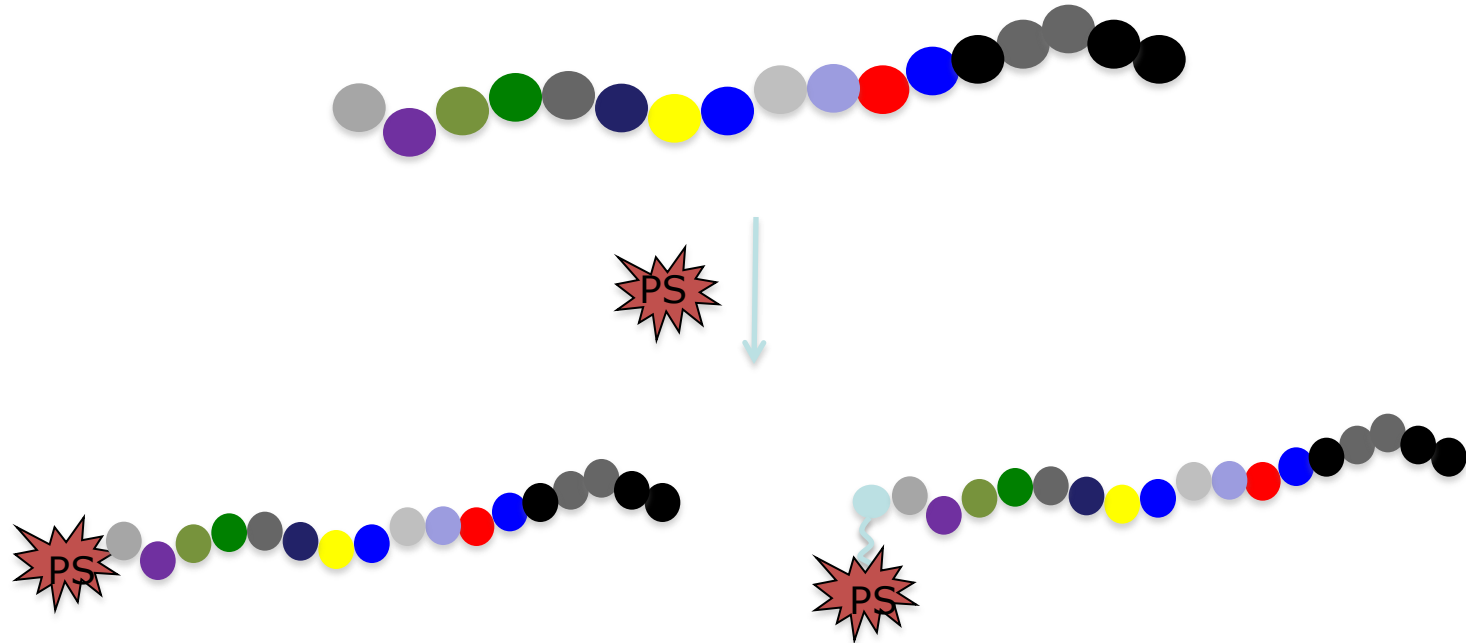


CFITKALGISYGRKKRR : $t_R = 8,43$ min
 FITKALGISYGRKKRR : $t_R = 7,48$ min
 CFITKALGISYGRKKRR : $t_R = 7,17$ min



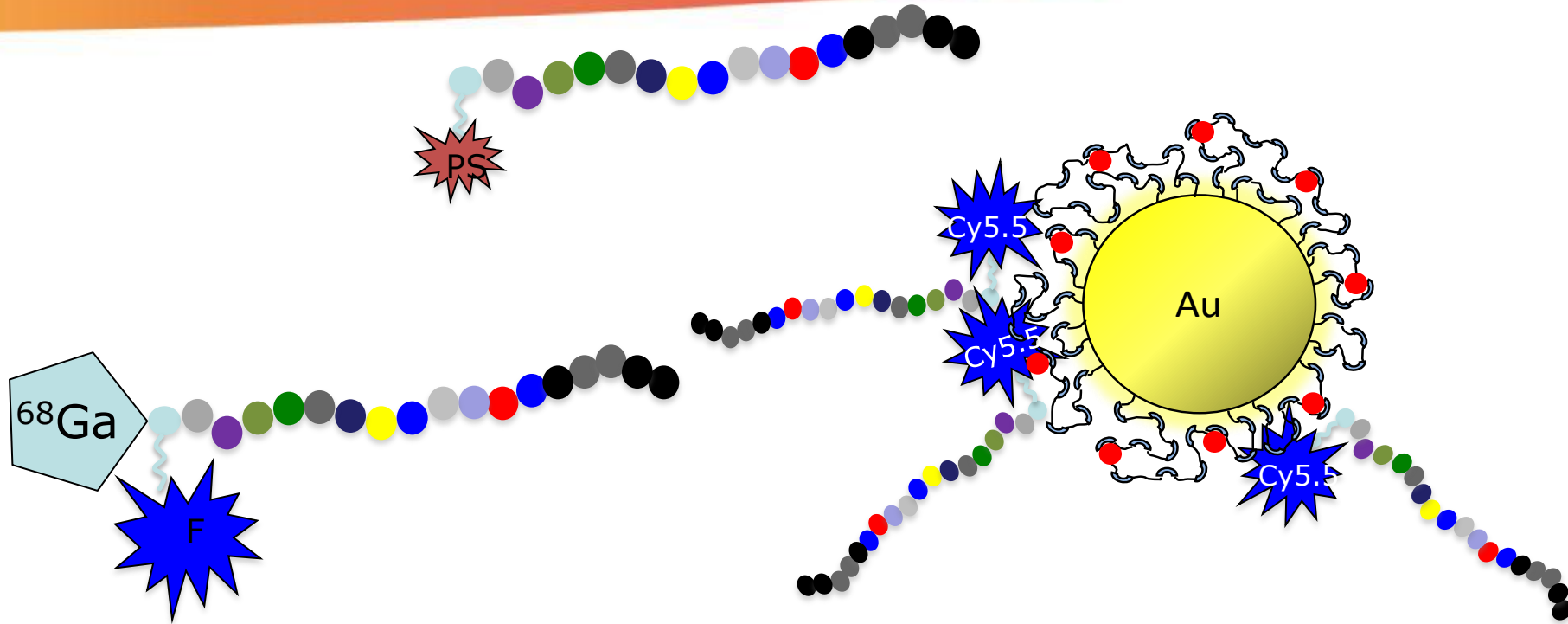
Recherche d'un photosensibilisateur-peptide plus hydrosoluble

CFITKALGISYGRKKRR



 = P1 porphyrine hydrosoluble

Thérapie et/ou détection



Demande

- ANR jeunes chercheurs
- Mirabelle +

Demande CGE

« Emergence structurante »



LRGP

Jean-Claude André
Philippe Arnoux
Francis Baros
Ludovic Colombeau
Céline Frochot
Albert Moussaron
Pramual Sasivimon
Zahraa Youssef



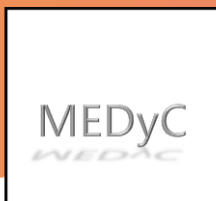
LCPM

Samir Acherar
Mathilde Achard
Amirah Mohd Gazzali
Régis Vanderesse



MEDyC

Jérôme Devy
Nicolas Belloy



CRAN

Muriel Barberi-Heyob
Thierry Bastogne
Cédric Boura
Valérie Jouan-Hureau
Sophie Pinel
Paul Rétif
Noémie Thomas
Magali Toussaint



LPIM

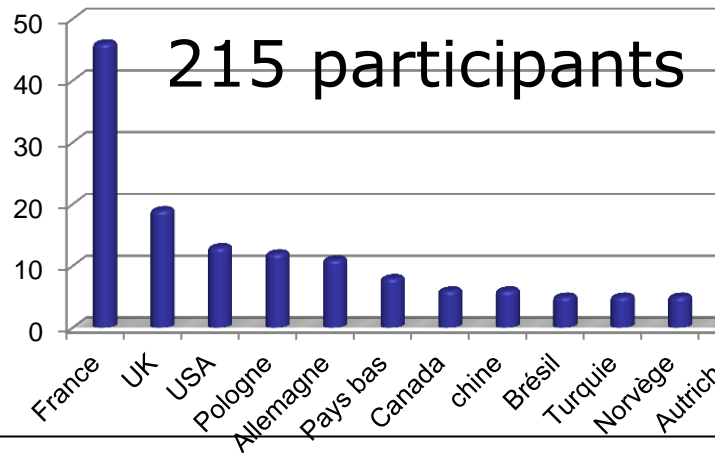
Xavier Allonas
Christian Ley





Nancy, France

October 24-28, 2016





Merci pour votre attention

