



Peptide de ciblage de glioblastome adsorbé à la surface de nanocapsules lipidiques : optimisation du procédé et efficacité de ciblage

Submitted by Claire Gazaille on Fri, 12/21/2018 - 11:36

Titre	Peptide de ciblage de glioblastome adsorbé à la surface de nanocapsules lipidiques : optimisation du procédé et efficacité de ciblage
Type de publication	Communication
Type	Communication par affiche dans un congrès
Année	2018
Langue	Français
Date du colloque	28-29/11/2018
Titre du colloque	Journées Jeunes Chercheurs
Auteur	Gazaille, Claire [1], Akiki, Marthe [2], Eyer, Joël [3], Bastiat, Guillaume [4]
Pays	France
Ville	Paris

Contexte et Objectifs. Malgré sa faible prévalence, le glioblastome (GBM), tumeur maligne du cerveau, présente un fort taux de mortalité : médiane de survie de 14 mois avec les traitements standards actuels (résection chirurgicale si elle est possible, suivie d'une radiothérapie et une chimiothérapie adjuvante) (Stupp R et al., N. Engl. J. Med, 2005 ; Stupp R et al., Lancet Oncol., 2009). Les cellules de GBM infiltrées à la périphérie de la résection sont la principale cause des récurrences entraînant le mauvais pronostic des patients. L'objectif d'un des projets soutenu par la Fondation ARC (n° PJA 20161204860), porté par Dr Guillaume Bastiat, est de combiner 2 technologies existantes pour le développement d'un hydrogel de nanocapsules lipidiques (NCLs) (Moysan E et al., Mol. Pharm., 2013 ; Bastiancich C et al., J. Control. Release, 2016) ciblant spécifiquement les cellules de GBM résiduelles, grâce à la présence d'un peptide de ciblage, le NFL-TBS.40-63 (NFL) (Berges R et al., Mol. Ther., 2012 ; Balzeau J. et al., Biomaterials, 2013), à la surface des NCLs. Cet hydrogel de NCLs chargées en actifs anticancéreux, implantable directement après la résection tumorale, comblera le gap thérapeutique entre l'acte chirurgical et l'initiation du traitement standard. L'objectif du présent travail a été de confirmer et d'optimiser l'adsorption du NFL à la surface des NCLs afin qu'elle soit totale, et de vérifier le ciblage spécifique sur différentes lignées cellulaires de GBM.

Méthodes. Des NCLs ont été formulées selon un procédé d'inversion de phases largement utilisé par le laboratoire MINT (Heurtault et al., WO2001/064328, 2001), pour aboutir à une nanoparticule de type nano-émulsion à cœur lipophile (Labrafac® WL 1349) stabilisé par un assemblage structuré de tensioactifs (Span® 80 et Kolliphor® HS 15). Dépendamment de la composition initiale, différentes tailles de NCLs ont été réalisées. L'acide stéarique et le bromure de didodécyltriméthylammonium ont été ajoutés jusqu'à 5% (m/mLabrafac) pour modifier la charge de surface des NCLs. La composition en tensioactif Span® 80 a aussi été modifiée pour en étudier son impact. Les NCLs à différentes concentrations (de 0,001 à 275 mg/mL) ont été incubées à température ambiante pendant 12h avec des concentrations fixes de NFL (de 50 à 200 µg/mL). L'adsorption du NFL à la surface des NCLs a été quantifiée en utilisant une méthode de chromatographie d'exclusion stérique qui a l'avantage de s'affranchir de la séparation physique préalable du NFL libre et du NFL adsorbé à la surface des NCLs. Finalement, les meilleurs candidats NCLs (préalablement chargés en sonde fluorescente DiO) ont été testés sur cultures cellulaires de GBM (lignées F98 et RG2), avec différents temps d'incubation (de 1h à 24h) afin de vérifier l'efficacité de ciblage par cytométrie de flux, avec la présence du NFL en surface. Les NCLs sans peptide NFL ont été utilisées comme contrôle.

Résultats. Une nanothèque de NCLs a été formulée avec des caractéristiques physicochimiques parfaitement contrôlées : distribution de taille monomodale et monodisperse (Z-Ave de 30 à 100nm, PDI < 0,1), charge de surface (illustrée par un Pz variant de -10 à +40mV) et une composition en Span® 80 variant de 0 à 15% (m/mNCLs). L'incubation de ces NCLs avec le NFL a permis de mettre en évidence une adsorption totale du NFL sous certaines conditions de concentrations limites. Par exemple, avec des NCLs de 50nm de diamètre, neutres et composées en surface de 15% (m/mNCLs) de Span® 80, l'adsorption du NFL est totale pour un couple de concentrations NFL : NCLs de 100µg/mL : 9mg/mL. Pour des concentrations en NCLs plus importantes, l'adsorption reste totale mais il y a moins de peptide NFL en surface des NCLs. Pour des concentrations en NCLs plus petites, l'adsorption du NFL est partielle : présence de NFL libre et de NFL adsorbé à la surface des NCLs, montrant un effet de saturation de la surface des NCLs. De plus, l'adsorption du NFL dépend de ses propriétés. Ce peptide légèrement cationique va s'adsorber de manière plus efficace sur les NCLs chargées négativement que sur les NCLs neutres. Avec des NCLs chargées positivement, il y a quand même une adsorption totale du NFL mais à des concentrations limites plus importantes, montrant que le processus d'adsorption n'est pas seulement de nature électrostatique. En effet, le NFL est aussi capable de former des liaisons H par la présence du Span® 80 à la surface des NCLs. En effet, une augmentation de la composition en Span® 80 permet une adsorption préférentielle du NFL. Finalement, la taille des NCLs influence également cette adsorption. Le processus dépend de la surface disponible et celle-ci varie avec la modification de la taille des NCLs. Les candidats NCLs présentant une adsorption totale en NFL ont été testés sur culture cellulaire. L'efficacité du ciblage a été montrée, comparativement aux NCLs nues. L'internalisation des NCLs est plus rapide lorsque le peptide NFL est présent en surface. Par exemple, pour des NCLs de 50nm de diamètre, neutres et composées en surface de 15% (m/mNCLs) de Span® 80, l'efficacité de ciblage est de 90% avec le peptide NFL, alors qu'elle est de 57% sans NFL (lignée cellulaire RG2, incubation de 6h). Néanmoins, cette efficacité dépend de différents paramètres : la nature des NCLs, la quantité de NFLs en surface et également la nature des modèles cellulaires (phénotypes différents).

Conclusions et perspectives. Le peptide NFL est capable sous certaines conditions de concentration de s'adsorber de manière totale à la surface des NCLs. Les conditions de concentration sont corrélées à la nature des NCLs et notamment leurs propriétés de surface. Grâce à la présence du NFL en surface des NCLs, le ciblage spécifique de certaines lignées cellulaires de GBM a été montré, restant cependant dépendant de la nature et certainement du phénotype cellulaire. La prochaine étape du projet consiste à optimiser la formulation de l'hydrogel avec les NCLs d'intérêt chargées en actifs thérapeutiques et fonctionnalisées avec le peptide NFL. L'adsorption du NFL sur les NCLs doit rester totale, sans empêcher l'auto-assemblage des NCLs permettant la formation de l'hydrogel. Un suivi de la libération progressive des actifs, des NCLs et du NFL dans un milieu céphalorachidien simulé sera réalisé. Le ciblage spécifique et l'efficacité cytotoxique des NCLs chargées en actif, modifiées en surface par le NFL, et libérées de l'hydrogel seront testés sur des cultures 2D et 3D de cellules de GBM in vitro. Par la suite, un modèle murin de résection de GBM déjà obtenu au laboratoire MINT (Bianco J et al., Neurosci. Methods, 2017 ; Bastiancich C et al., J. Control. Release, 2017) sera utilisé pour établir la preuve de concept de cette nouvelle stratégie thérapeutique dans la prise en charge des GBM opérables.

URL de la notice <http://okina.univ-angers.fr/publications/ua18483> [5]

Liens

- [1] <http://okina.univ-angers.fr/claire-gazaille/publications>
- [2] <http://okina.univ-angers.fr/publications?f%5Bauthor%5D=32210>
- [3] <http://okina.univ-angers.fr/joel.eyer/publications>
- [4] <http://okina.univ-angers.fr/guillaume.bastiat/publications>
- [5] <http://okina.univ-angers.fr/publications/ua18483>

Publié sur *Okina* (<http://okina.univ-angers.fr>)