NOUVELLE

Encapsulation d'agents chimiothérapeutiques dans des nanoliposomes portés par des bactéries magnéto-aérotactiques

Ciblage des régions hypoxiques tumorales

Ouajdi Felfoul^{1,*}, Mahmood Mohammadi^{1,*}, Samira Taherkhani^{1,2,*},
Dominic de Lanauze¹, Yong Zhong Xu³, Michel Lafleur⁴,
Louis Gaboury⁵, Maryam Tabrizian^{2,6}, Té Vuong⁷, Gerald Batist⁷,
Nicole Beauchemin⁸, Danuta Radzioch^{3,*}, Sylvain Martel¹

► La prolifération accrue de cellules tumorales exige une forte consommation d'oxygène appauvrissant le centre des tumeurs qui contient moins de 0,7 % d'oxygène et devient ainsi hypoxique. En dépit d'améliorations significatives, telles la pégylation¹ des nanovecteurs qui permet une meilleure rétention dans la circulation sanguine et un meilleur ciblage tumoral, les plus récents nanovecteurs pharmaceutiques, comme les liposomes, les micelles et les nanoparticules polymériques ne parviennent cependant pas à rejoindre ces régions hypoxiques. Ainsi, même si 5 % de la dose administrée de nanovecteurs pégylés sont encore présents dans la circulation sanguine douze heures après son administration, seuls environ 2 % de ce médicament atteindront la tumeur [1]. La trajectoire des nanovecteurs est influencée par la circulation systémique [2] (→) et leur manque de propulseur empêche leur pénétration tumorale vers les zones hypoxiques.

(→) Voir la Brève de
L. Coulombel, m/s
n° 10, octobre 2012
page 833

Face à cette problématique, nous avons exploité les caractéristiques et fonctions d'un agent naturel, la bactérie *Magnetococcus marinus* (MC-1), qui utilise la magnéto-aérotaxie² pour se déplacer et se maintenir dans des zones pauvres en oxygène. Nous avons examiné la possibilité que les MC-1, guidées par une source magnétique externe, pourraient exploiter des zones de transition au sein des tumeurs, entre les régions oxiques, c'est-à-dire le réseau angiogénique des vaisseaux sanguins, et les régions anoxiques, donc les zones nécrotiques. La possibilité de guidage magnétique de MC-1 présentait l'avantage de minimiser leur exposition dans la circulation systémique, ce qui représentait une nette amélioration comparée aux thérapies bactériennes précédentes [3]. Ce guidage a été rendu possible grâce aux magnétosomes de MC-1, constitués d'un enchaînement de nanoparticules de tétraoxyde ferrique endogène [4]. En l'absence de champ

magnétique externe, MC-1 adopte un mouvement aléatoire, sauf lorsque la bactérie rencontre un gradient d'oxygène, en particulier au sein d'une tumeur. Nous avons d'abord confirmé que les bactéries MC-1, injectées à la périphérie tumorale, pouvaient pénétrer la tumeur, si un champ magnétique tridimensionnel d'une puissance un peu plus élevée que le champ magnétique terrestre, était appliqué. Après pénétration dans la tumeur, et en l'absence du champ magnétique directionnel, les MC-1, utilisant leurs senseurs d'oxygène, se dirigeaient alors vers les zones hypoxiques (Figure 1). Cette expérience a démontré que les MC-1 pouvaient emprunter des voies normales de circulation, comme le réseau irrégulier et désorganisé des vaisseaux sanguins, les espaces interstitiels et traverser des pores intercellulaires, de rayon de moins de 2 mm, établis entre cellules endothéliales [5]. Plusieurs expériences ont ensuite été réalisées chez des souris immunodéficientes portant des xénogreffes de cellules humaines de la lignée HCT116, établie à partir d'un carcinome colique. À la suite d'une injection péri-tumorale de MC-1, et d'un guidage magnétique directionnel de 30 minutes, nous avons pu localiser, par immunohistochimie grâce à un anticorps spécifique, les bactéries au

¹ La pégylation a pour but d'augmenter la durée d'efficacité en diminuant la cinétique d'élimination d'une molécule par augmentation de sa masse moléculaire. Pour cela, on la lie au polyéthylène glycol (PEG), soluble dans l'eau et rapidement éliminé de l'organisme.

² Les bactéries magnétotactiques (BMT) sont des procaryotes, de type Gram-négatif, caractérisés par leur capacité à produire des magnétosomes. Elles sont anaérobies. On les retrouve principalement dans les sédiments lacustres ou marins, enfouies à l'interface oxiq-anoxique (frontière entre le milieu riche en oxygène et celui dépourvu d'oxygène). Toutes les BMT découvertes à ce jour sont motiles, grâce à la présence de flagelles. Elles peuvent ainsi se déplacer par aérotaxie, c'est-à-dire en réaction à la concentration d'oxygène du milieu, afin de se diriger vers des lieux favorables à leur développement.

¹Laboratoire de nanorobotique - département de génie informatique et génie logiciel, Institut de génie biomédical, Polytechnique Montréal, Montréal H3T 1J4, Canada.

²Département de Génie biomédical, université McGill, Montréal H3A 2B4, Canada.

³Centre universitaire de santé McGill, Montréal H4A 3J1, Canada.

⁴Département de chimie, université de Montréal, Montréal H3C 3J7, Canada.

⁵Département de pathologie et de biologie cellulaire, Institut de recherche en immunologie et cancer (IRIC), université de Montréal, Montréal H3T 1J4, Canada.

⁶Faculté de dentisterie, université McGill, Montréal H3A 1G1, Canada.

⁷Département d'oncologie, Centre du cancer Segal, hôpital général Juif, université McGill, Montréal H3T 1E2, Canada.

⁸Départements de biochimie, médecine et oncologie, Centre de recherche sur le cancer Goodman, université McGill, 1160 avenue des Pins, Montréal H3A 1A3, Canada.

*Ces auteurs ont contribué également.

sylvain.martel@polymtl.ca

nicole.beauchemin@mcgill.ca

Figure 1. Les cellules MC-1 sont recrutées préférentiellement dans les régions hypoxiques des xénogreffes de cellules HCT116. **A.** Des sections adjacentes de xénogreffes HCT116 incubées en présence d'un anticorps spécifique des bactéries MC-1 et d'un anticorps secondaire conjugué à la fluorescéine-isothio-cyanate (FITC) ont permis de localiser ces bactéries. Les bactéries MC-1 (coloration verte, 10x) se retrouvent dans les régions hypoxiques telles que révélées dans les panneaux **B.** (10x) et **C.** (40x). En **B** et **C**, les régions hypoxiques (colorées en brun) proches des régions nécrotiques de la tumeur sont révélées par un anticorps spécifique de l'Hydroxyprobe® couplé à la biotine. Ces images en haute résolution sont acquises à l'aide d'une caméra digitale DP71 couplée à un microscope de fluorescence Olympus BX61 motorisé. Elles sont représentatives de sections obtenues à partir de 10 tumeurs isolées de 10 souris différentes provenant de 3 expériences *in vivo* indépendantes.

niveau des régions hypoxiques centrales des tumeurs (Figure 1). Nous avons ainsi démontré une pénétration plus profonde des bactéries MC-1 magnéto-guidées qu'en présence d'agents passifs (comme les microsphères de polymère) ou des bactéries mortes, ou même qu'en absence de guidage [6] (→). Nous avons ensuite couplé de façon covalente [7] à la surface des bactéries MC-1 des liposomes encapsulant le SN-38, un agent chimiothérapeutique, et un métabolite actif de l'irinotecan (l'un des traitements conventionnels du cancer colorectal). Nous avons choisi d'utiliser des liposomes pour une démonstration de faisabilité car ils sont biocompatibles, flexibles, peu immunogéniques et, également, parce qu'ils protègent des effets systémiques nocifs de SN-38. L'utilisation des liposomes empêche en effet la dégradation prématurée de cet agent chimiothérapeutique et contrôle également la cinétique

(→) Voir la Synthèse de J. Nicolas et P. Couvreur, *m/s* n° 1, janvier 2017, page 11

de libération. Les liposomes peuvent, de plus, encapsuler plusieurs agents pharmaceutiques hydrophiles ou hydrophobes. L'addition de ces liposomes à la surface des MC-1 n'a pas altéré leur efficacité de ciblage au centre des tumeurs dans les régions hypoxiques et nécrotiques.

Les bactéries MC-1 vivantes, chargées d'agents chimiothérapeutiques encapsulés dans des liposomes, et soumises à un guidage magnétique, ciblent le centre des tumeurs. Cette stratégie représente donc un potentiel clinique significatif. La biosécurité de ces bactéries a été vérifiée dans des essais de cytotoxicité chez des souris et des rats, et cette procédure s'est révélée sans danger.

En se fondant sur cette technologie, outre les agents de chimiothérapie conventionnels, d'autres composés, tels des radiosensibilisateurs pourraient donc être délivrés au centre des tumeurs. La combinaison du guidage magnéto-tactique, qui dépend d'un faible champ magnétique avec la capacité motrice

intrinsèque des bactéries MC-1, permet donc de cibler des tumeurs internes de divers organes du corps humain, à la différence des nanoparticules magnétiques ou des transporteurs actuellement utilisés dans la lutte contre le cancer. Ces bactéries possèdent des détecteurs de gradients d'oxygène couplés à un système de propulsion hydrodynamique efficace dans le milieu tumoral permettant à la bactérie de se diriger selon son environnement, le tout enrobé dans un volume de moins de 2 mm. Ces bactéries ont la capacité d'être magnétiquement guidées par une source externe. Elles sont donc des émules de nanorobots médicaux artificiels ou de transporteurs, qui présenteront des caractéristiques et des fonctionnalités bien supérieures à la faisabilité technique actuelle. Les possibilités de modifications génétiques de ces bactéries [8, 9] et le développement de meilleurs algorithmes de guidage magnéto-tactique devraient permettre d'améliorer leur index thérapeutique. Ces données publiées dans la revue *Nature Nanotechnology* [6, 10], renforcent donc non seulement les concepts d'ingénierie et d'interventions médicales, mais elles sont le fondement d'opportunités de développement pour de meilleurs traitements thérapeutiques, d'imageries ou de vectorisations à des fins diagnostiques. ♦

Delivery in hypoxic tumor regions of a chemotherapeutic agent encapsulated in nanoliposomes carried by magnetotactic bacteria

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2011 ; 11 : 393-410.
2. Coulombel L. Nanoparticules thrombolytiques activées par le taux de cisaillement. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 833.
3. Patyar S, Joshi R, Byrav, DS, et al. Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy. *J Biomed Sci* 2010 ; 17 : 21.
4. Schüler D. Formation of magnetosomes in magnetotactic bacteria. *J Mol Microbiol Biotechnol* 1999 ; 1 : 79-86.

RÉFÉRENCES

5. McDonald DM, Baluk P. Significance of blood vessel leakiness in cancer. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 5381-85.
6. Nicolas J, Couvreur P. Les nanoparticules polymères pour la délivrance de principes actifs anti-cancéreux. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 11-17.
7. Taherkhani S, Mohammadi M, Daoud J, et al. Covalent binding of nanoliposomes to the surface of magnetotactic bacteria acting as selfpropelled target delivery agents. *ACS Nano* 2014 ; 8 : 5049-60.
8. Jain RK, Forbes NS. Can engineered bacteria help control cancer? *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 14748-50.
9. Schübbe S, Williams TJ, Xie G, et al. Complete genome sequence of the chemolithoautotrophic marine magnetotactic coccus strain MC-1. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75 : 4835-52.
10. Felfoul O MM, Taherkhani S, de Lanauze D, et al. Magneto-aerotactic bacteria deliver drug-containing nanoliposomes to tumour hypoxic regions. *Nat Nanotechnol* 2016 ; 11 : 941-7.

NOUVELLE

Rôle des réseaux astrocytaires métaboliques dans le maintien de l'éveil

Jérôme Clasadonte^{1,2}

¹Inserm U1172, Équipe « Développement et plasticité du cerveau neuroendocrine », Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, bâtiment Biserte, 1, place de Verdun, 59045 Lille, France.

²Faculté de médecine, université de Lille, projet de recherche fédératif hospitalo-universitaire 1000 *jours pour la santé*, 59045 Lille, France.

jerome.clasadonte@inserm.fr

Gliotransmission et organisation en réseaux : deux modes de communication privilégiés par les astrocytes pour interagir avec les neurones

Depuis ces deux dernières décennies, les travaux portant sur les astrocytes, les cellules gliales majoritaires du cerveau, ont révélé des fonctions essentielles pour ces cellules dans le domaine de la communication cellulaire [1]. Longtemps réduit au simple rôle de cellule de soutien du tissu cérébral, l'astrocyte est aujourd'hui considéré comme un partenaire actif du neurone capable d'influer directement sur le fonctionnement de la synapse [2] (→).

Les astrocytes sont en effet capables de détecter les neurotransmetteurs libérés dans la fente synaptique suite à l'activité neuronale et d'y répondre de manière active par des augmentations intracellulaires de calcium qui initient la libération de substances neuroactives appelées gliotransmetteurs (comme l'ATP, le glutamate, la D-sérine). Par analogie avec la neurotransmission, cette communication bidirectionnelle qui s'établit entre les neurones et les astrocytes est connue sous le nom de gliotransmission. L'autre propriété

majeure des astrocytes est leur capacité à s'organiser en réseaux de cellules connectées entre elles par des jonctions communicantes ou jonctions *gap* [3]. Les jonctions communicantes sont constituées de deux hémicanaux, les connexons, provenant chacun de cellules adjacentes. Chaque connexon est formé de six protéines transmembranaires appelées connexine (Cx) dont il existe plus d'une vingtaine d'isoformes. Les principales isoformes exprimées par les astrocytes sont les Cx43 et Cx30. Ces jonctions communicantes permettent le transfert entre cellules de petites molécules (d'une taille inférieure à 1,2 kDa) telles que les ions potassium, les seconds messagers intracellulaires (calcium, inositol triphosphate) et les substrats énergétiques (glucose, lactate). Les principales fonctions des réseaux astrocytaires sont de dissiper les ions potassium libérés dans le milieu extracellulaire au cours de l'activité neuronale, de fournir des substrats énergétiques aux neurones, et de faciliter la propagation des signaux calciques qui sont essentiels pour induire la libération des gliotransmetteurs [4]. Il est désormais admis que les astrocytes influencent l'activité des neurones non pas en tant que cellule individuelle, mais comme des groupes de cellules connectées qui communiquent

entre elles *via* les jonctions communicantes. Ce réseau de communication inter-astrocytaire renforcerait notamment la synchronisation de populations neuronales distantes afin de moduler les rythmes biologiques dans divers contextes physiologiques et pathologiques [5] (→).

Des travaux pionniers dans le domaine des interactions neurone-glie avaient notamment démontré le rôle des astrocytes dans la régulation d'un rythme biologique clé pour notre organisme, le sommeil [6]. Cependant, ces travaux exploraient la fonction astrocytaire uniquement à l'échelle des cellules individuelles, ignorant le rôle potentiel de ces réseaux dans cette fonction cérébrale vitale. Les réseaux astrocytaires jouent-ils un rôle dans la physiologie du sommeil ? Dans le but de répondre à cette question, nous avons étudié les conséquences fonctionnelles d'une déconnexion des astrocytes sur le sommeil.

Les réseaux astrocytaires jouent un rôle clé dans le maintien de l'éveil

Afin de déconnecter le réseau d'astrocytes, nous avons étudié des souris transgéniques chez lesquelles le gène codant la Cx43, l'une des principales sous-unités protéiques constitutives des jonctions

(→) Voir la Nouvelle de A. Panatier et R. Robitaille, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2012, page 582

(→) Voir la Nouvelle de O. Chever et al., *m/s* n° 10, octobre 2016, page 820