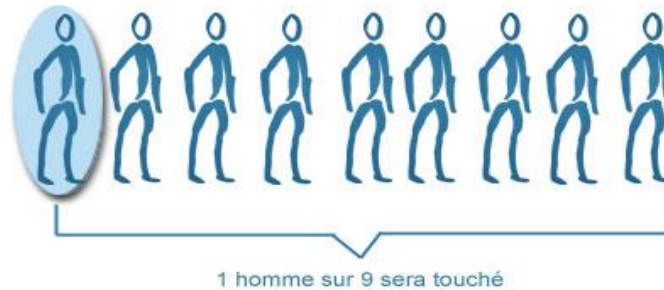


# Journées GSO 16 et 17 octobre 2014

Imagerie *in vivo* du cancer de la prostate par un  
marqueur fluorescent



**Cancer de la prostate** = cancer le plus fréquent chez l'homme, deuxième cause de mortalité par cancer après celui du poumon. La mortalité liée au cancer de la prostate chute mais le nombre de cas lui augmente.



- **Diagnostic précoce : dosage sanguin de PSA (Prostate Specific Antigen)** → **biopsies**

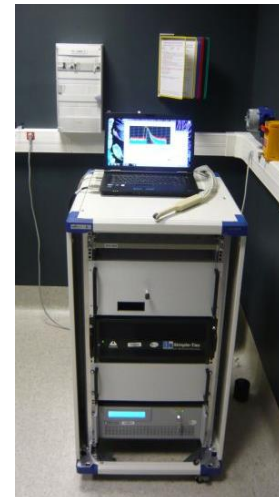
- **Progrès de l'imagerie : échographie couplée aux biopsies**

Mais les biopsies sont réalisées en aveugle (pas de marquage spécifique des cellules cancéreuses) et sont négatives dans 60% des cas .

## Nécessité d'améliorer le dépistage

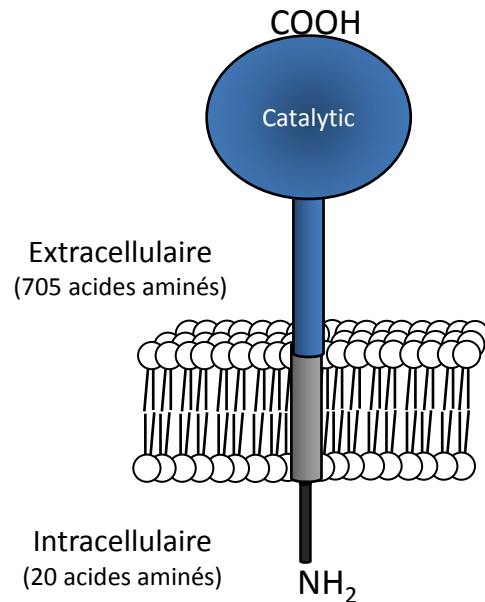
**Développement de l'imagerie bi-modale** (Prototype d'échographe avec laser pour la détection d'une sonde fluo) BiTum Investissement d'Avenir

**Développement d'une sonde fluorescente spécifique**



## Choix de la cible

- PSMA (prostate specific membrane antigen), surexprimée dans les cellules cancéreuses prostatiques (100 à 1000 fois > niveau basal)
- Atout majeur, l'internalisation de PSMA



**PSMA** selon Ayyappan K. Rajasekaran, American Journal of Physiology - Cell Physiology Published 1 May 2005 Vol. 288 no. 5, C975-C981

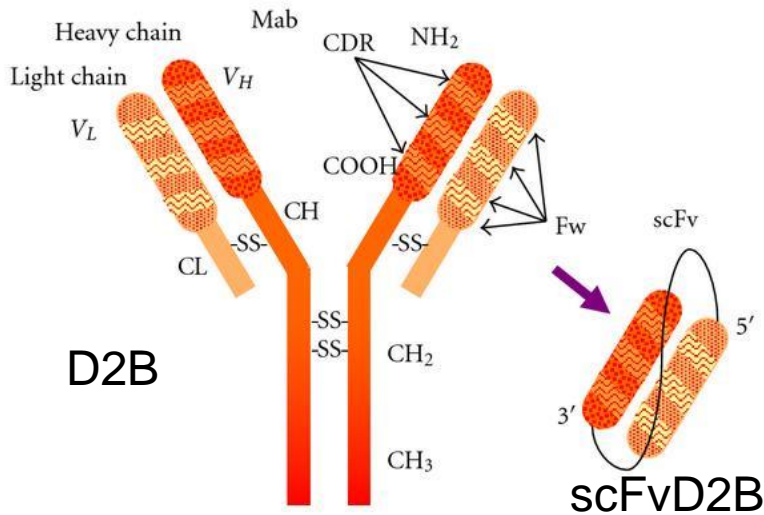


Cible de choix...

# Choix de la sonde

Techniques d'imagerie par un agent spécifique ciblant PSMA :

- Ligand, inhibiteurs
- Aptamère
- Anticorps : Prostatecint (7E11 anticorps intracellulaire) en clinique, J591 phase II
- Fragment d'anticorps scFv

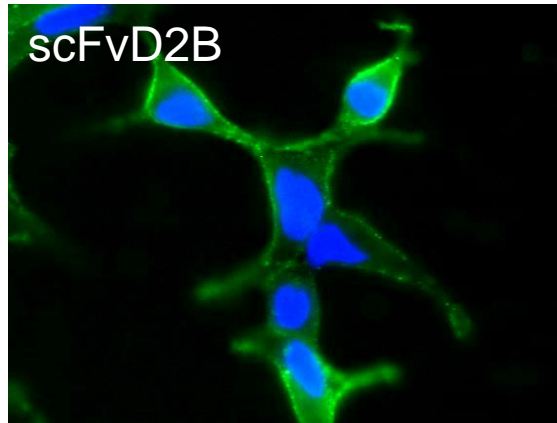
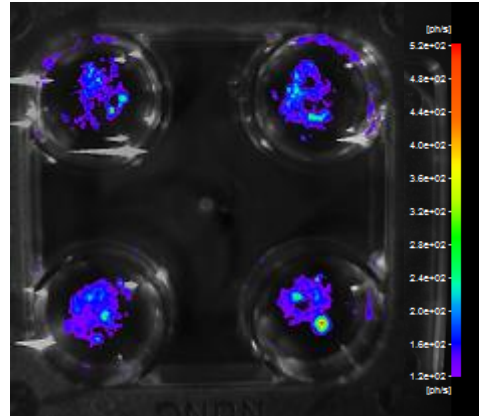
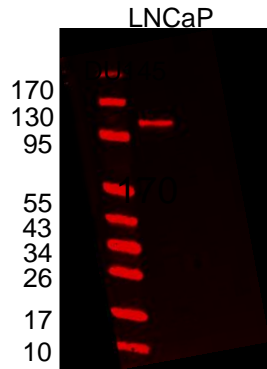


## scFvD2B-Xenolight 770nm

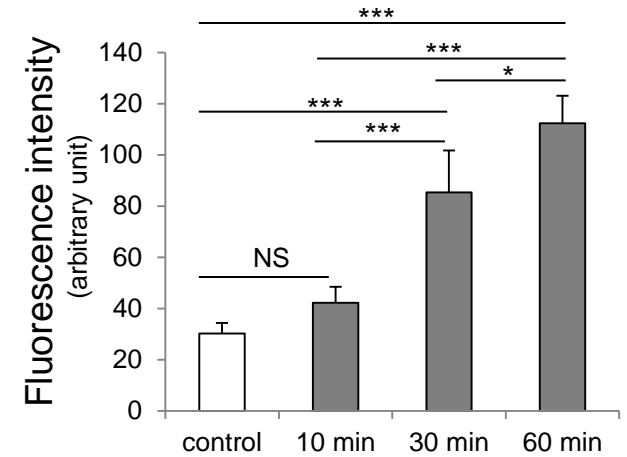
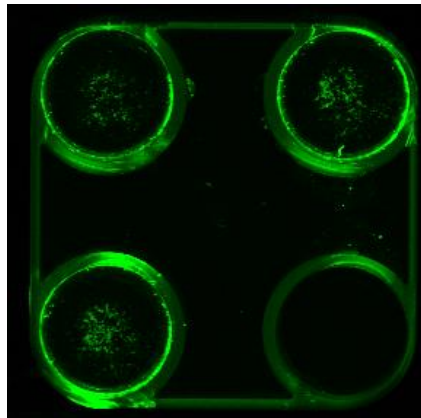


# Le modèle cellulaire

- Cellules LNCaP-lucF
- Souris immuno-déficientes
- Implantation orthotopique



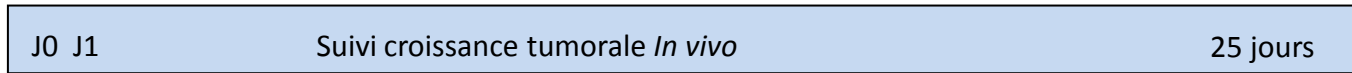
LNCaP marquage sur cellules vivantes



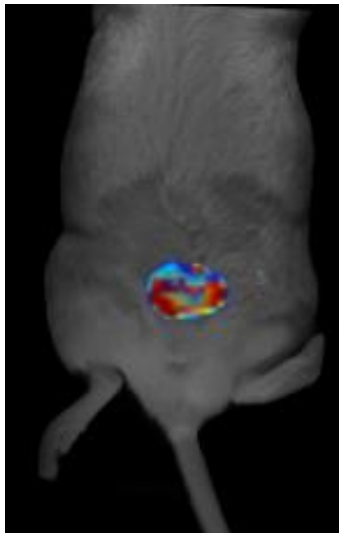
## Internalisation du scFvD2B marqué



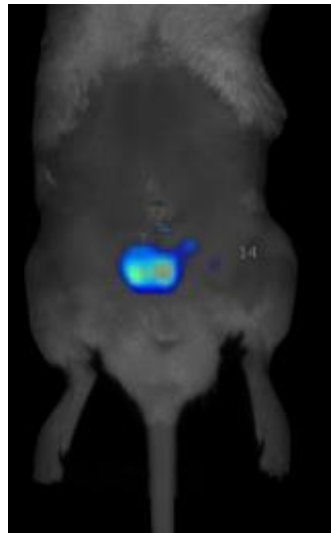
# Peut-on imager un organe petit et profond comme la prostate ?



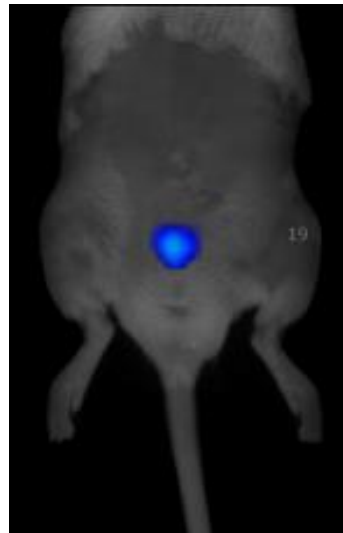
1 jour



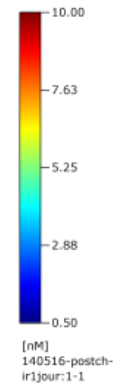
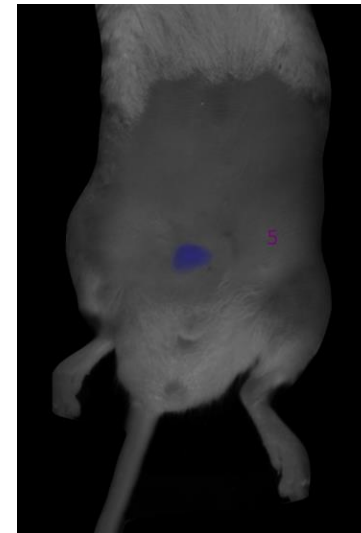
2 jours



4 jours FMT

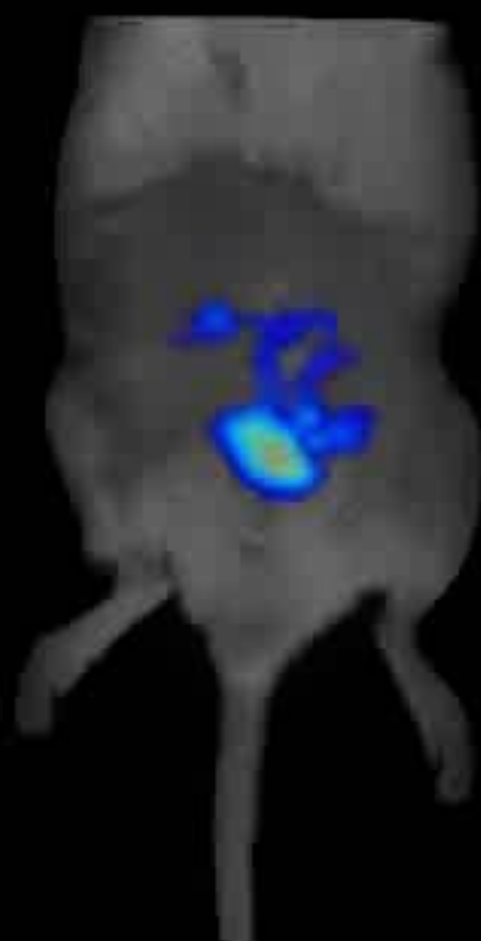


25 jours



(Tomographie moléculaire de fluorescence)

Suivi dans le temps, signal 3D, persistance de la fluorescence



[nM]  
140521-j6p-  
ostchir:2-1  
VivoTag 800  
conjugate

6.2 mm



# Peut-on cibler les cellules cancéreuses dans la prostate avec la sonde injectée en i.v. ?



Injection

J0	4 semaines	J30	24H	96H	240h
----	------------	-----	-----	-----	------

Modèle Orthotopic

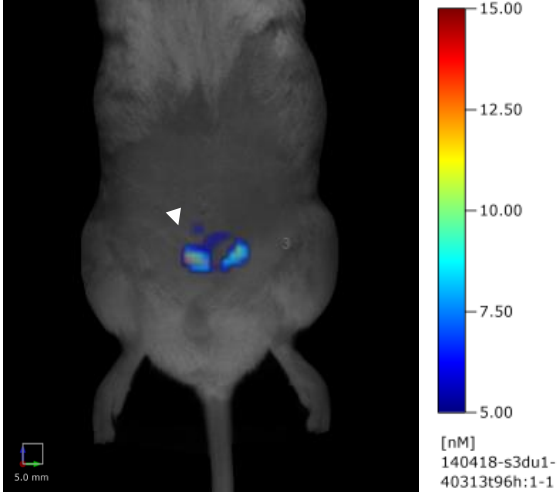
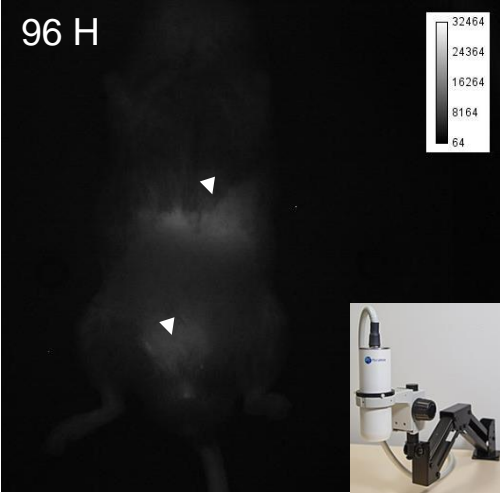
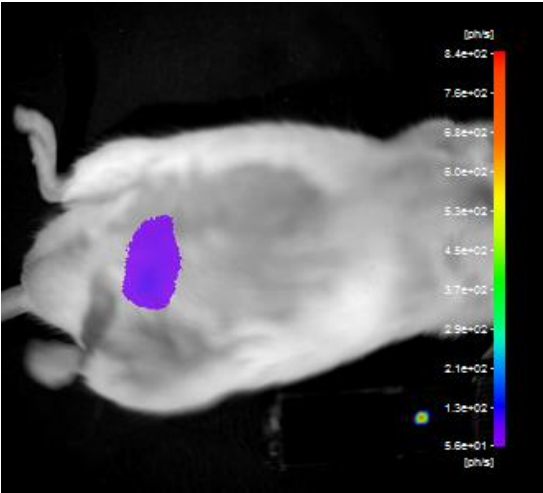
Suivi croissance tumorale *In vivo*

Imagerie *In vivo*, dissection de la prostate

BLI

FRI

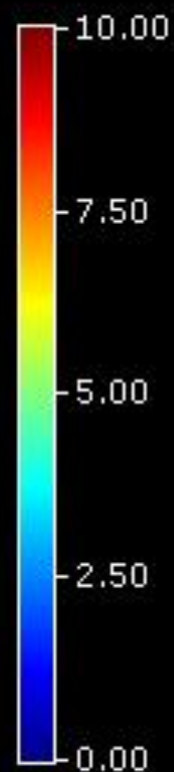
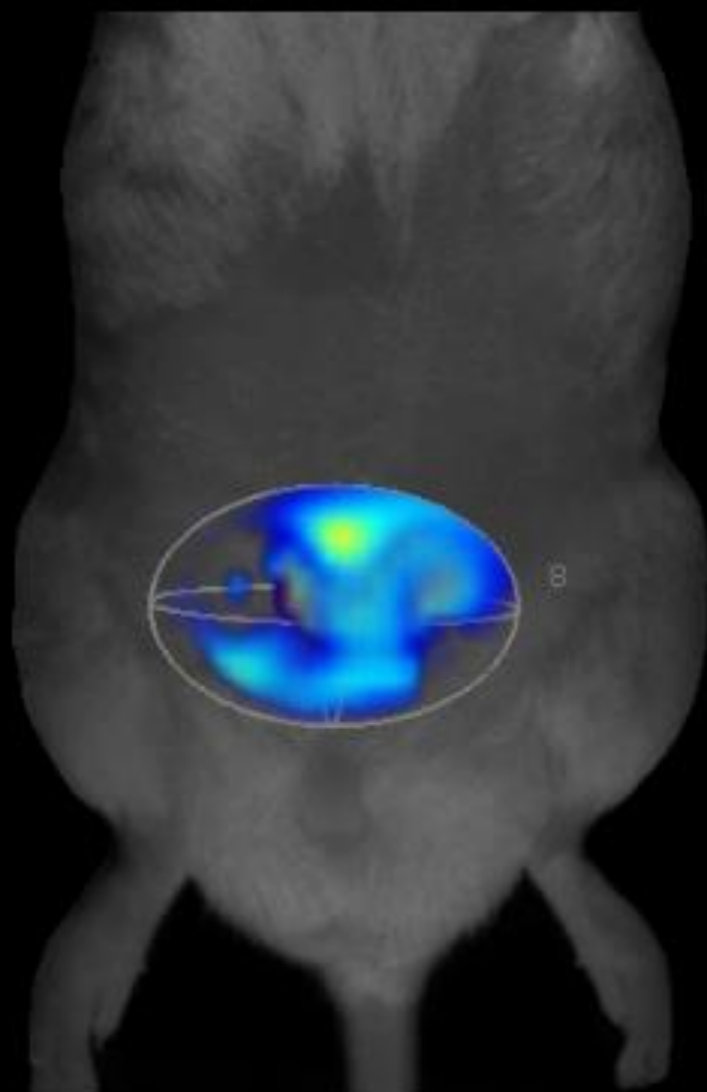
FMT



Détection de la tumeur et localisation de celle-ci après injection de la sonde marquée



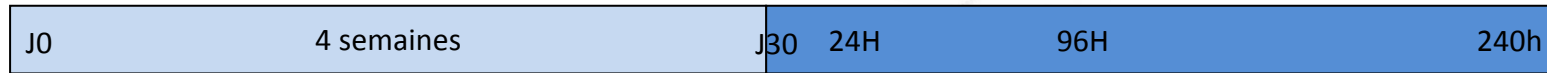
4.1 mm



[nM]  
140418-s3d-  
u140313t96-  
h:1-1  
VivoTag 800  
conjugate

Ellipsoid  
(1-21 1-14 1-13)  
Total: 1.3 pmol

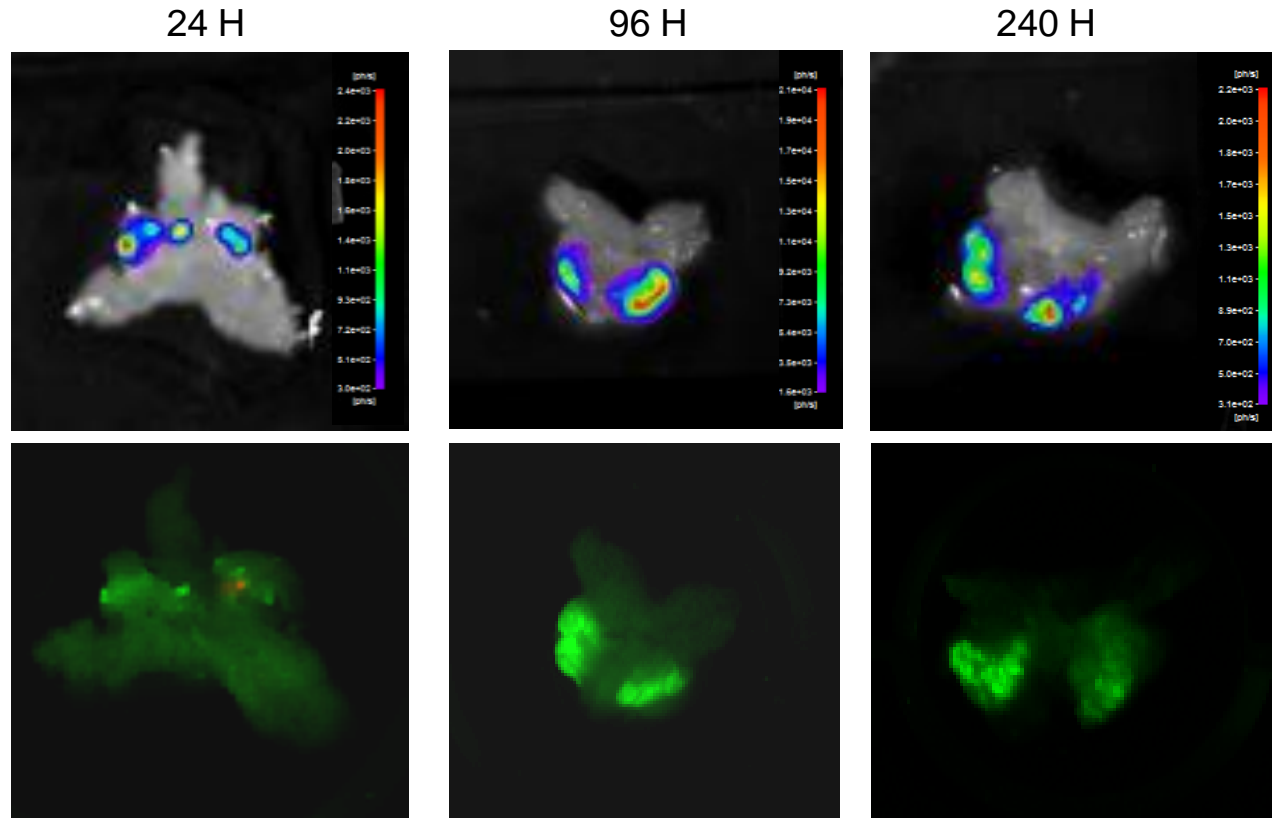
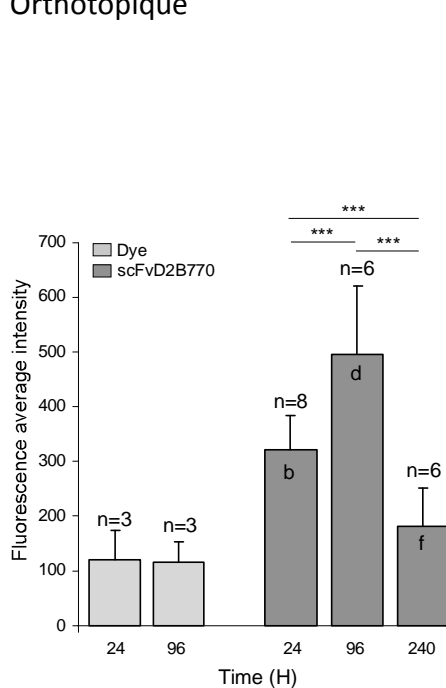
# Peut-on retrouver la sonde dans la prostate *ex vivo* ?



Modèle  
Orthotopique

Suivi croissance tumorale *In vivo*

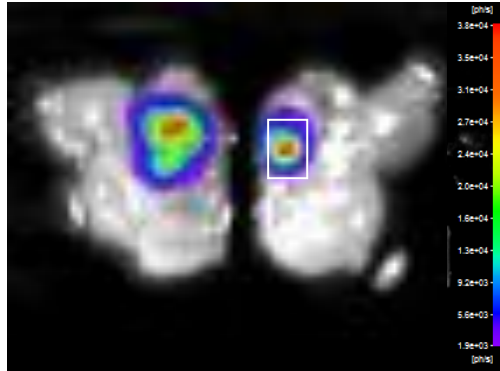
Imagerie *In vivo*, dissection de la prostate



Co-localisation cellules cancéreuses/scFvD2B marqué  
Quantification de la fluorescence correspondante

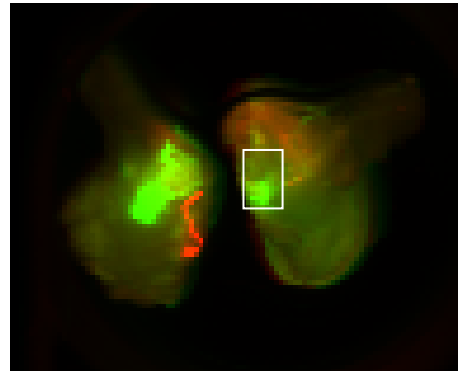
# Peut-on retrouver la sonde dans la cellule cancéreuse ?

Bioluminescence



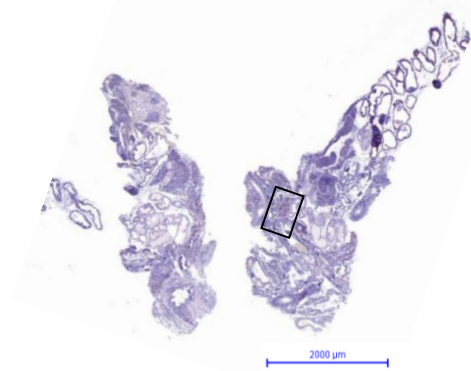
Activité luciférase  
(cellules cancéreuses)

Fluorescence

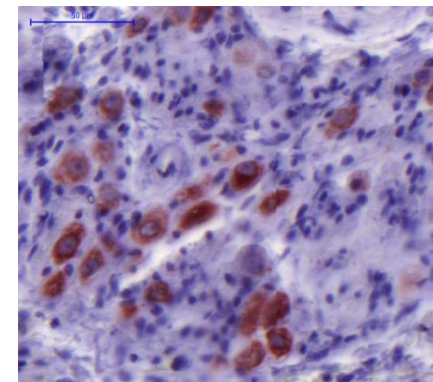


Fluorophore 800 nm  
(scFvD2B)

Immunohistochimie



Marquage du tag Histidine  
(scFvD2B)



**De l'animal à la cellule :**  
**Injection iv de la sonde=détection de celle-ci dans la cellule**  
**cancéreuse=internalisation**

# Conclusions, perspectives

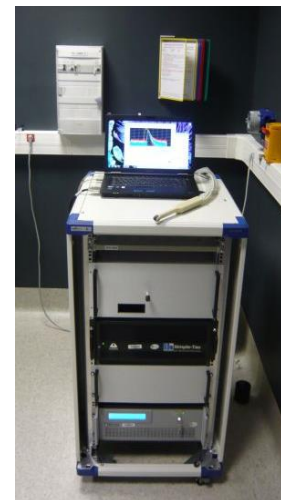
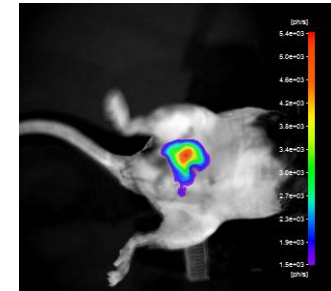
- Un modèle orthotopique de cancer de la prostate avec suivi de la pousse tumorale par imagerie, en bioluminescence
- Utilisation d'un fragment d'anticorps marqué comme sonde spécifique pour l'imagerie *in vivo*
- Ciblage de PSMA et internalisation de la sonde, détection de la sonde par immunohistochimie
- Signal qui perdure jusqu'à 10 jours
- Sensibilité de nos techniques d'imagerie, avec la mise au point de la tomographie moléculaire de fluorescence

## En cours

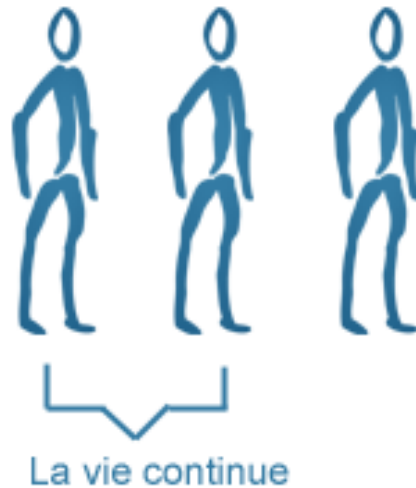
- Lignées RM1 de souris
- Implantation orthotopique à des souris immunocompétentes

## Développement attendu

- Passage en clinique (essais cliniques « ProstaMobile »)
- Autorisation d'injecter le fragment marqué
- Couplage du scFvD2B à un nano-objet en vue d'une utilisation en theranostique



## Conclusion



Les importants progrès thérapeutiques réalisés dans le domaine du cancer de la prostate ont considérablement amélioré le pronostic vital de cette maladie.

La mortalité amorce une diminution dans la majorité des pays occidentaux. Ceci grâce à un dépistage précoce et un diagnostic de plus en plus pointu.

Nous avons démontré avec cette étude pré-clinique que nous sommes à l'aube d'une imagerie bi-modale très sensible et que le développement d'agents de contraste spécifiques représente un réel progrès pour la santé humaine.

Merci à  
Coralie, Nathalie, Muriel, Véronique, Anne-Aurélie, Alban, Franck, Nicolas..

Merci à vous