

De la thérapie cellulaire à la thérapie sub-cellulaire: vésicules extracellulaires

DFGSP3

UEL 340 – De biomatériaux à l'ingénierie tissulaire: défis actuel

2024-2025

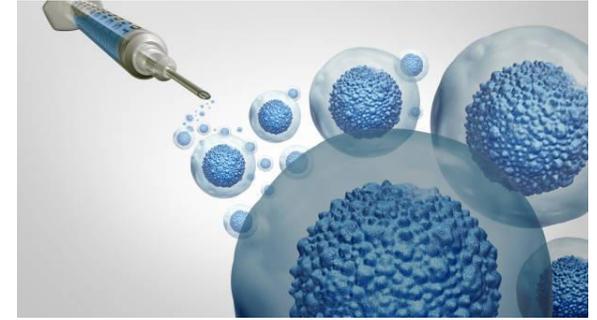
Plan

- La thérapie cellulaire somatique
- Exemples de produits de thérapie cellulaire
- Défis liés aux thérapies cellulaires
- Vers une thérapie acellulaire
- Les vésicules Extracellulaires
- Composition des VEs
- Potentiels cliniques de VEs
- Applications thérapeutiques de VEs (VEs natives ou modifiées)
- Production de VEs à grande échelle

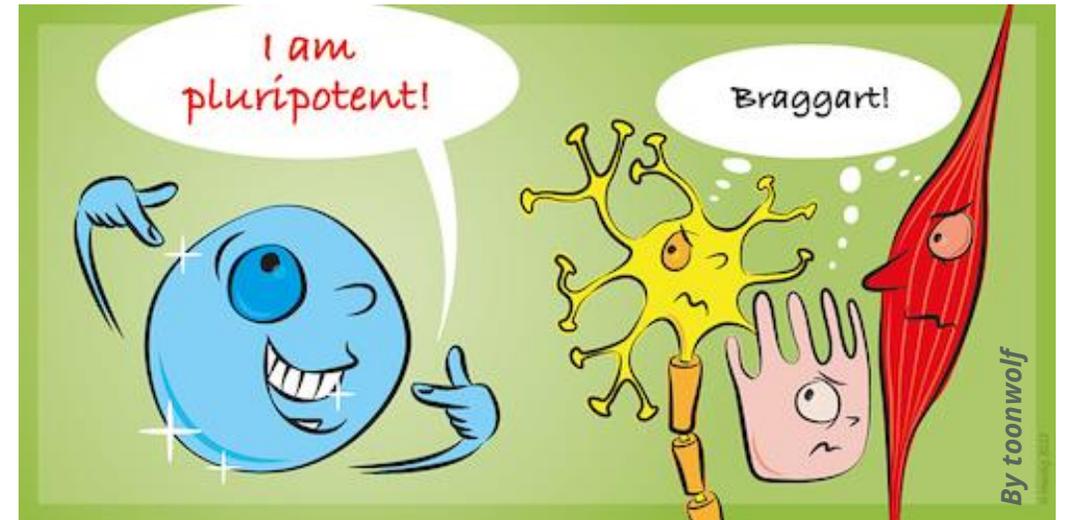
Thérapie cellulaire somatique

Thérapie cellulaire somatique

- Traitement des pathologies humaines par **administration de cellules vivantes**
 - Cellules vivantes à action thérapeutique in-vivo



- **Pour quoi faire ?**
 - **Médecine régénérative**
 - Immunothérapie
 - Oncologie



Thérapie cellulaire somatique

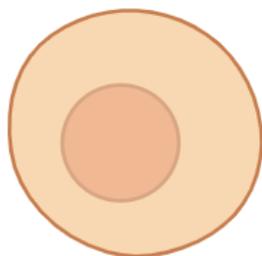
- Les cellules utilisées sont principalement classées **en fonction de leur origine...**

- **Autologues:** c'est-à-dire provenant du patient lui-même
- **Allogénique:** c'est-à-dire provenant d'un donneur

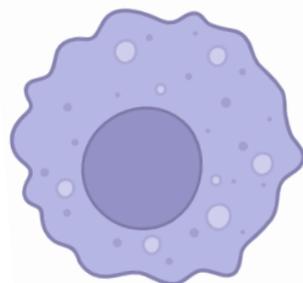
...et **leur niveau de différenciation**

- **Cellules souches**
- **Cellules différenciées**

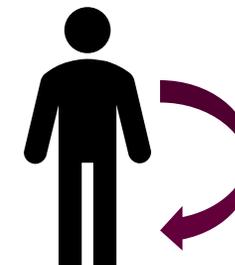
Cellules souches



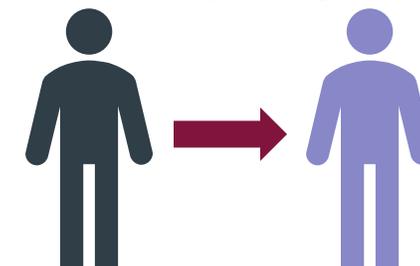
Cellules différenciées



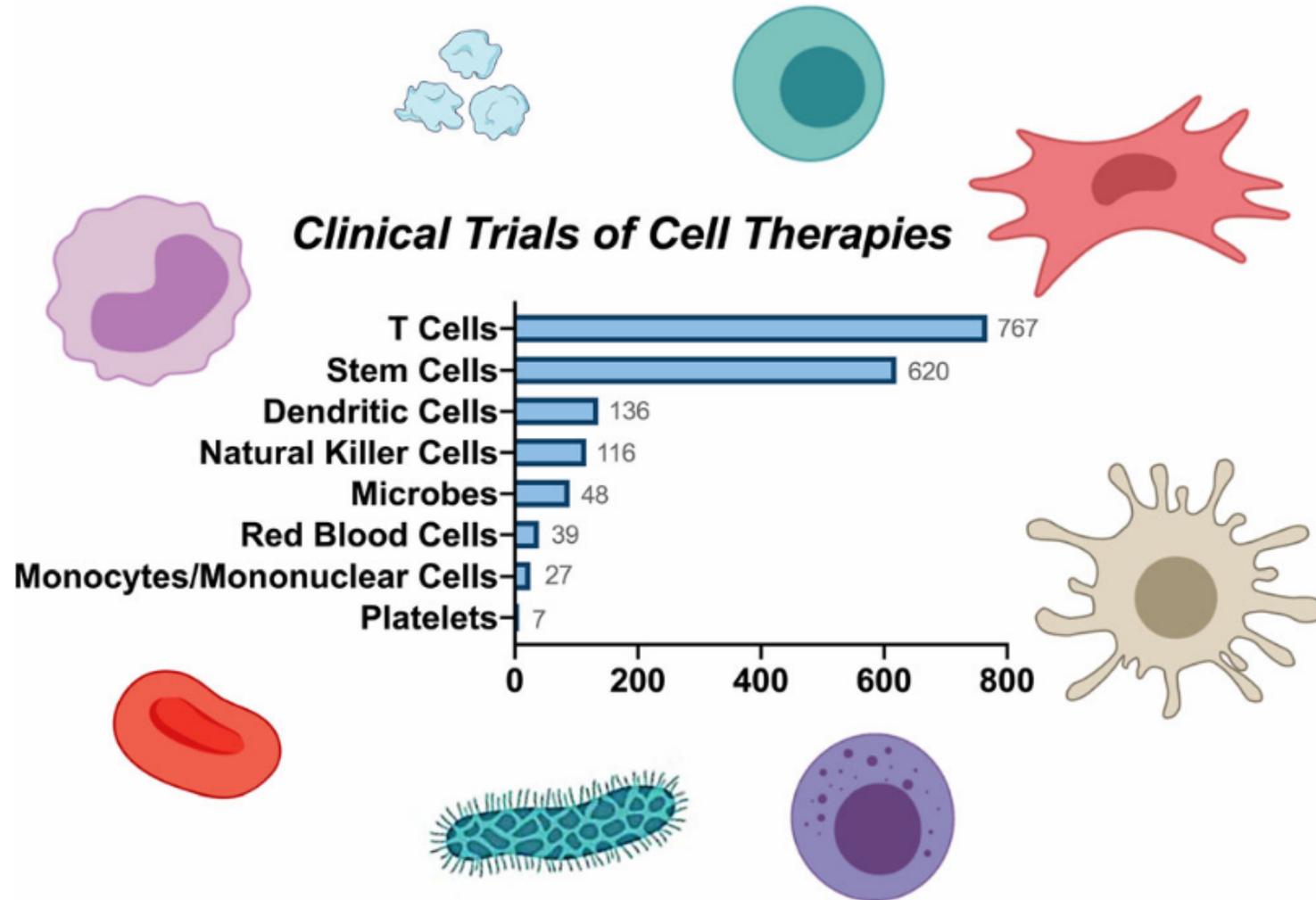
Autologues



Allogénique



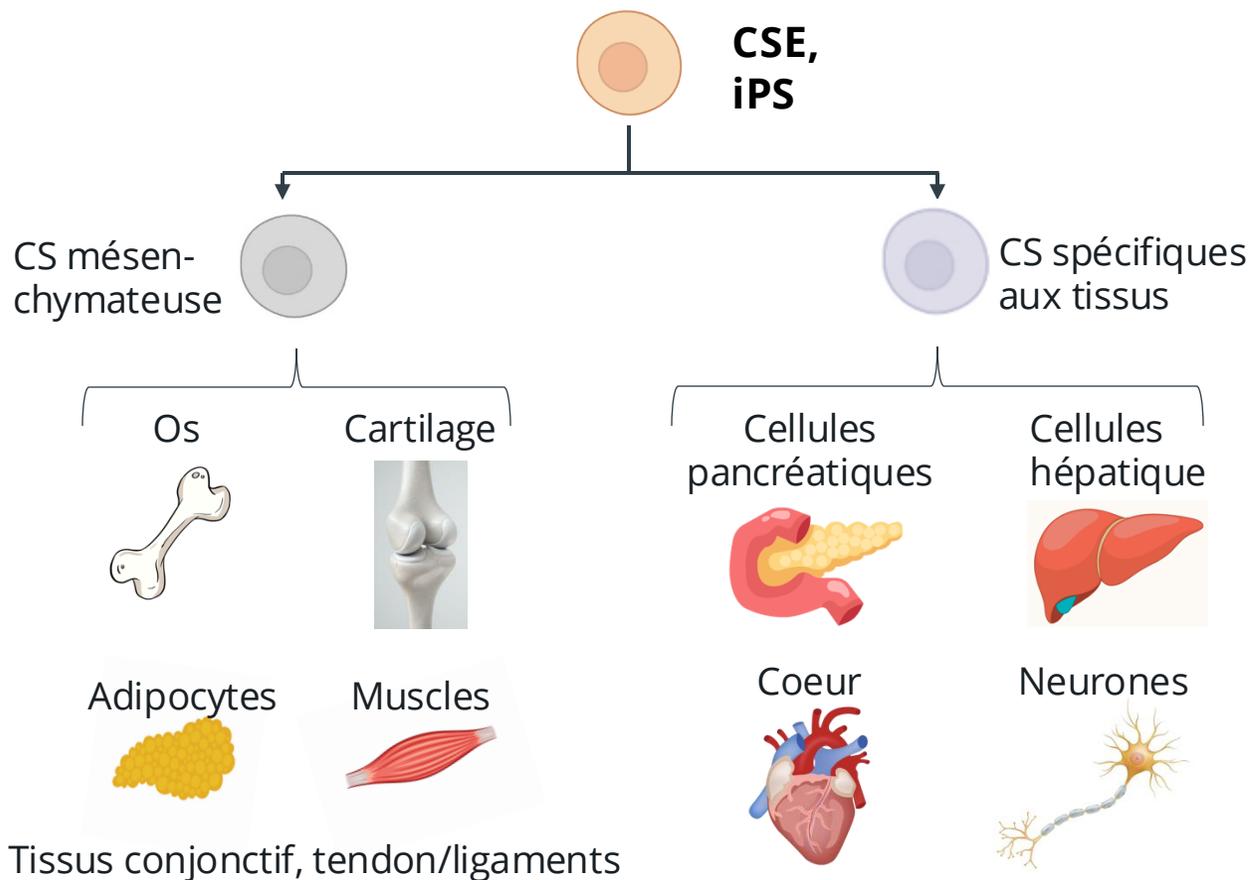
Thérapie cellulaire somatique: études cliniques



Thérapie cellulaire somatique: cellules souches

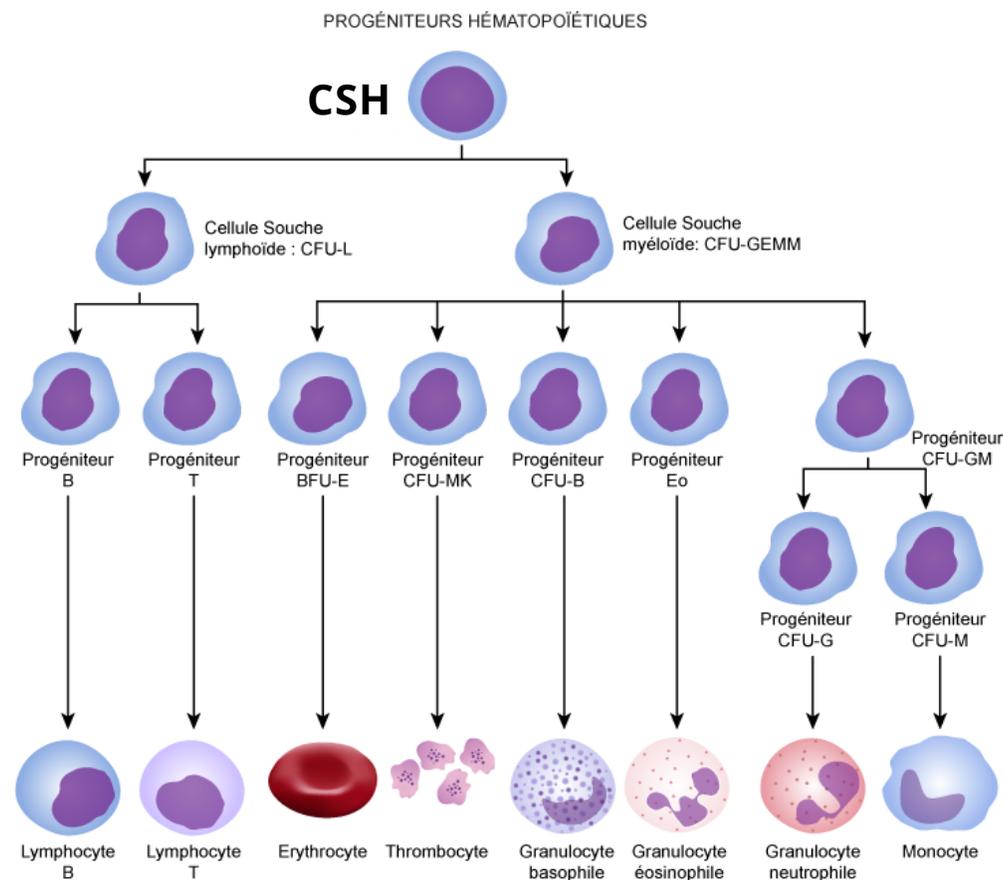
Cellules souches pluripotentes

Cellules souches capables de produire tous les types de cellules d'un organisme



Cellules souches multipotentes

capables de produire un grand nombre de types de cellules d'un organe ou tissu donné



Exemples de produits de thérapie cellulaire

Exemples de produits de de thérapie cellulaire (PTC)

• Greffe de CSH

➤ Traitement des hémopathies malignes



- Nombre total de greffes de CSH est ~ 5000/an
- ~340 000 volontaires inscrits



Exemples de produits de de thérapie cellulaire (PTC)

• Greffe de CSH

➤ Traitement des hémopathies malignes

Donneur/patient

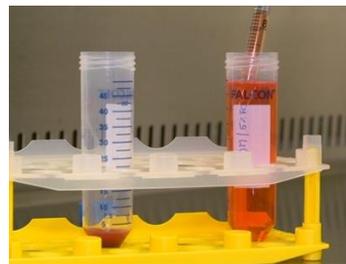


Collecte de CSH



Traitement des cellules

Lavage,
concentration de
cellules, Ficoll....



Cryoconservation



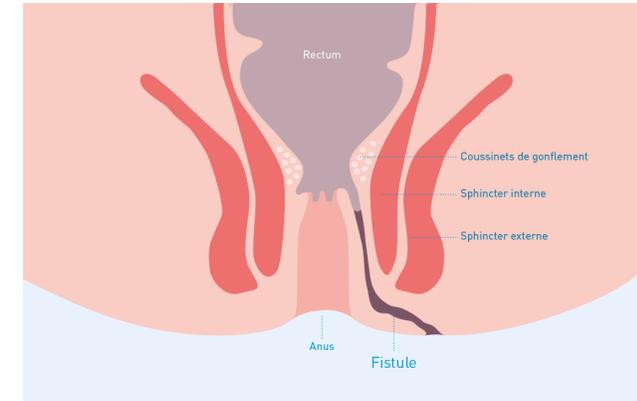
Administration



Exemples de Médicaments de thérapie cellulaire (MTI)

• ALOFISEL® , Darvadstrocel

- CS mésenchymateuses adultes allogéniques humaines extraites du tissu adipeux
- Traitement des **fistules péri-anales complexes** chez les patients adultes atteints de la maladie de Crohn



Donneur



Collecte de CS

Aspiration graisse



Traitement des cellules

Digestion enzymatique, ultracentrifugation, culture et expansion de cellules...



Cryoconservation



Administration

Voie intralésionnelle



5 millions de cellules/ml

Exemples de Médicaments de thérapie cellulaire (MTI)

- **ALOFISEL® , Darvadstrocel**

➤ Non remboursé en France



Donneur



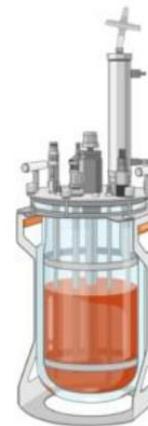
Collecte de CS

Aspiration graisse



Traitement des cellules

Digestion enzymatique, ultracentrifugation, culture et expansion de cellules...



Cryoconservation



Administration

Voie intralésionnelle



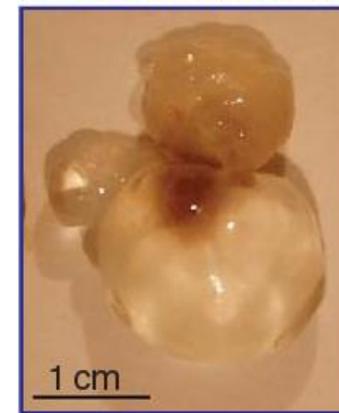
5 millions de cellules/ml

Les défis liés aux thérapies cellulaires

- Contraintes éthiques
- Disponibilité
- Prélèvement
- Sénescence en culture
- Stabilité après implantation
- Tumorigénicité
- Immunogénicité
- Risque d'occlusion vasculaire
- Contraintes logistiques (conservation, transport...)
- Coût

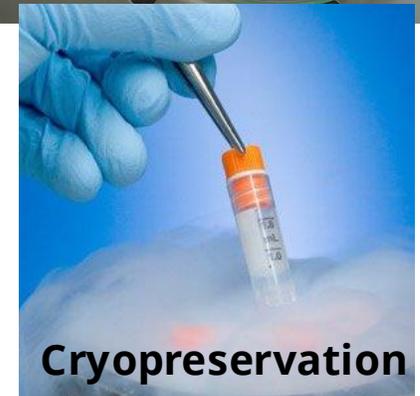
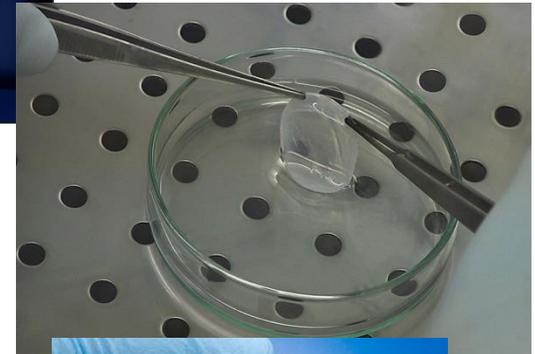


In vivo differentiation



Teratoma

Blum & Benvenisty, Adv
Cancer Res. 2008



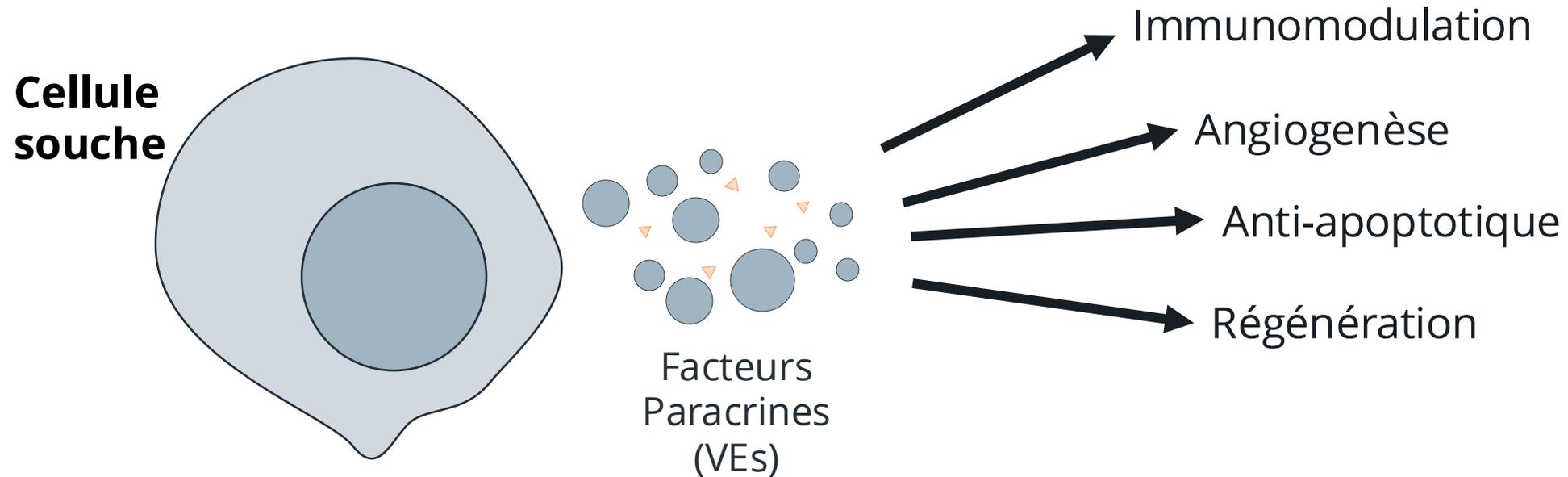
Cryopreservation



Vers une thérapie acellulaire

Vers une thérapie acellulaire

- Effet thérapeutiques de cellules largement attribués aux **facteurs paracrines**
 - Demi-vie courte
 - Infiltration limitée dans les tissus cibles



(1) Timmers et al., *Stem Cell Res.* 2007

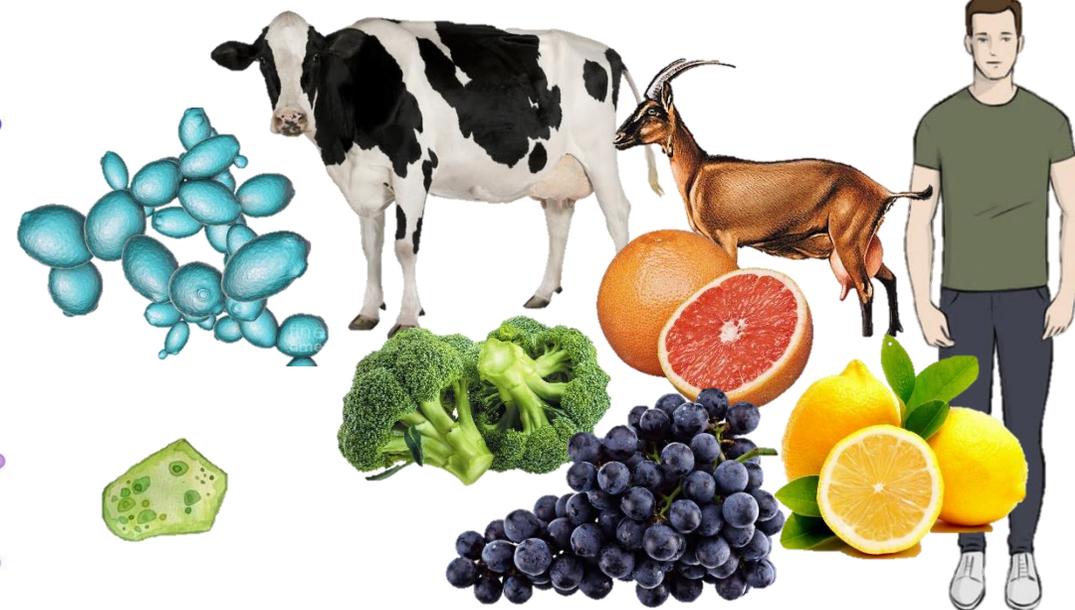
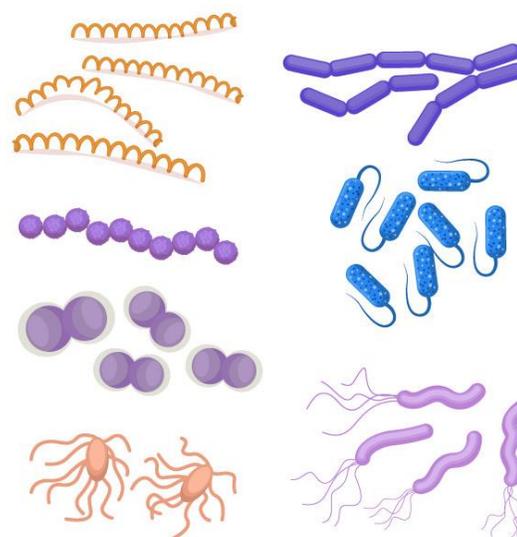
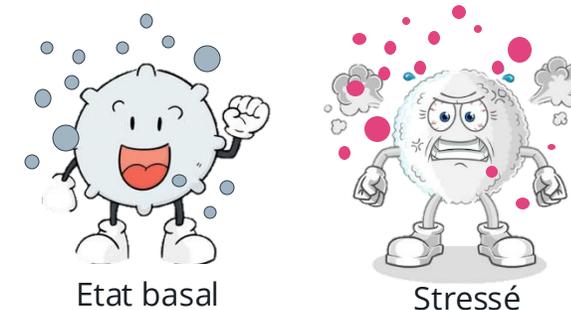
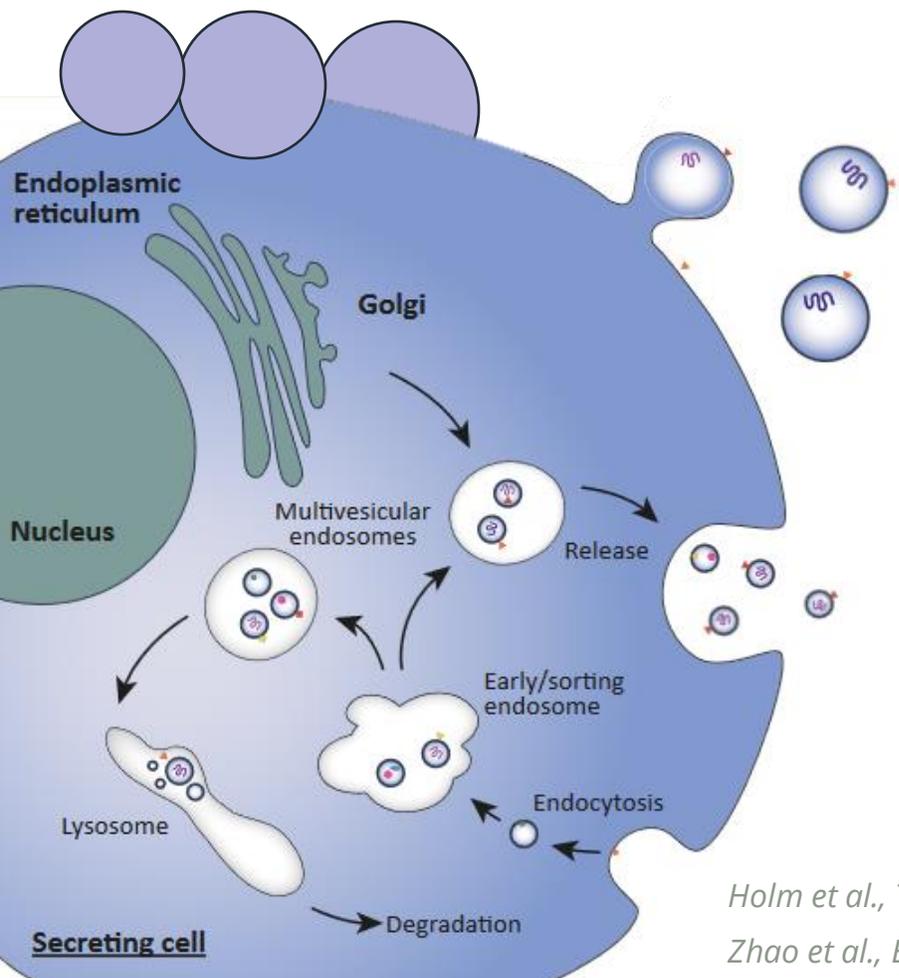
(2) Li et al., *Cell Transplant* 2008

(3) van Koppen et al., *PLOS ONE* 7 2012

Les Vésicules Extracellulaires (VEs)

Vésicules Extracellulaires (VEs)

- VEs sont des **nanoparticules** sécrétées par toutes les cellules eucaryotes et procaryotes

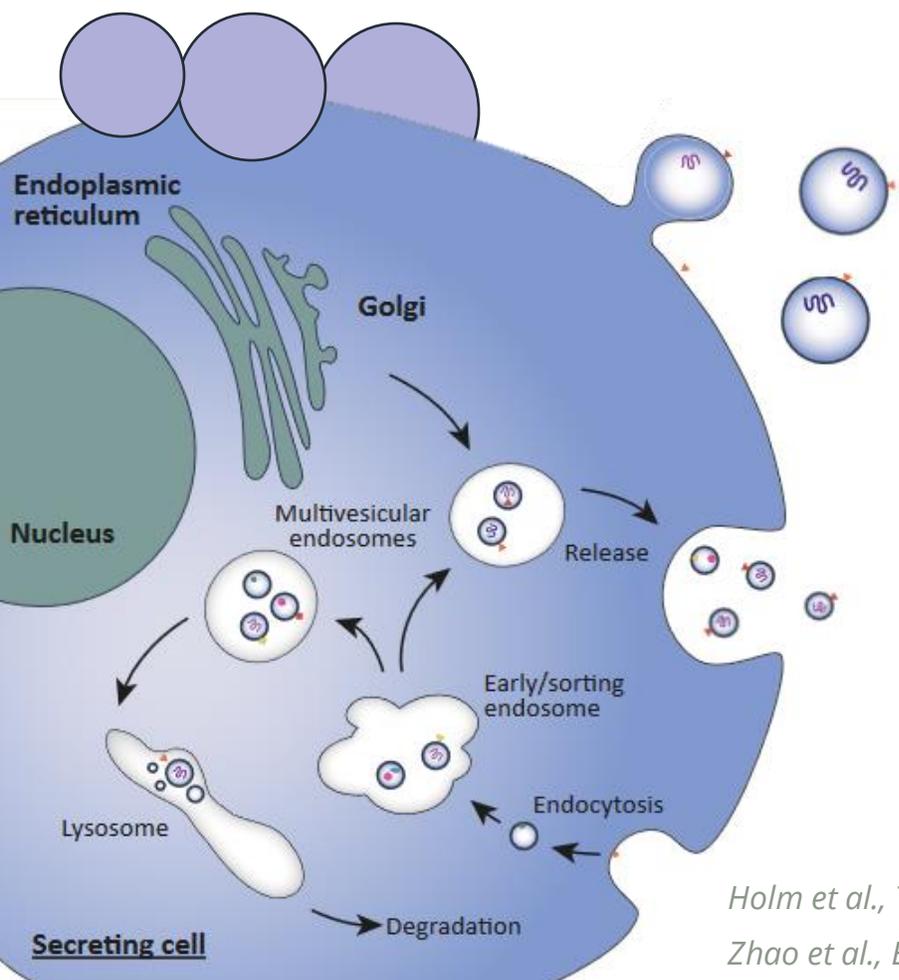


Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021

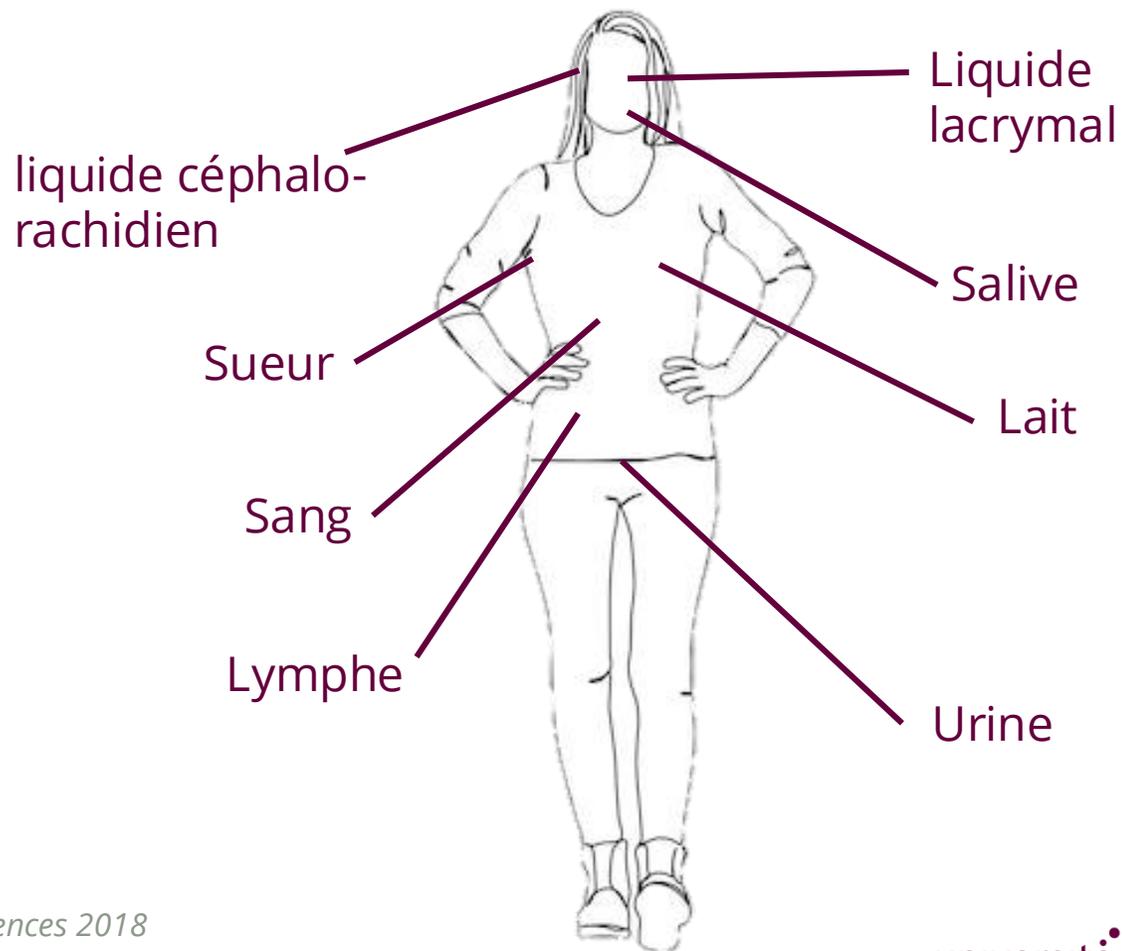
Vésicules Extracellulaires (VEs)

- VEs sont présentes dans les différents bio-fluides



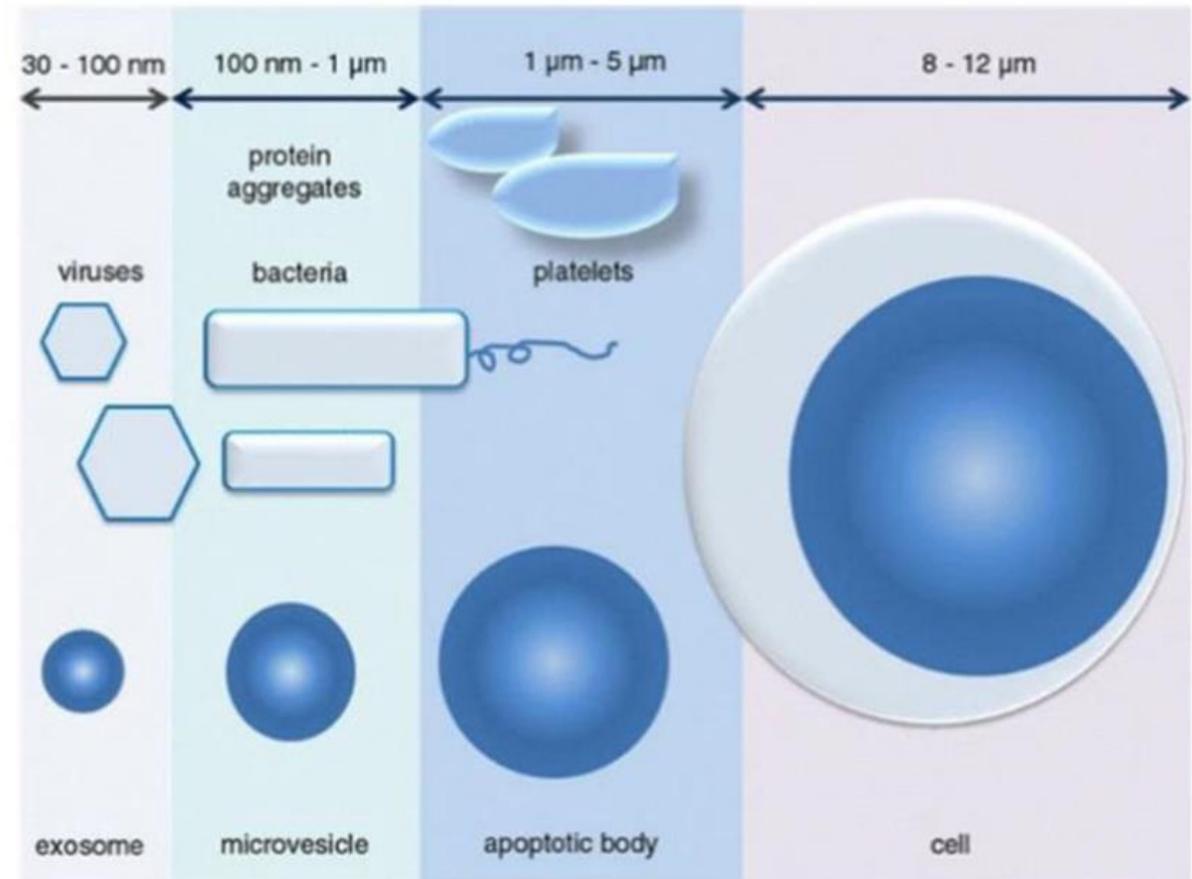
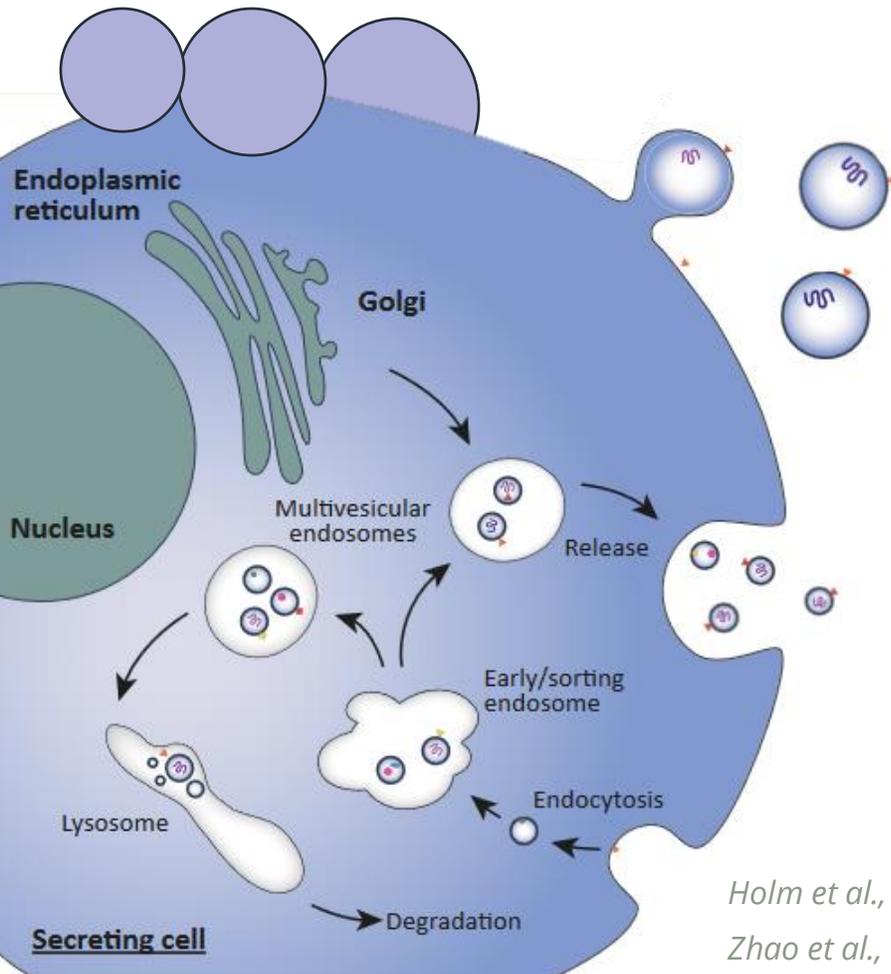
Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021



Vésicules Extracellulaires (VEs)

- Taille nanométrique (30-1000 nm)



Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

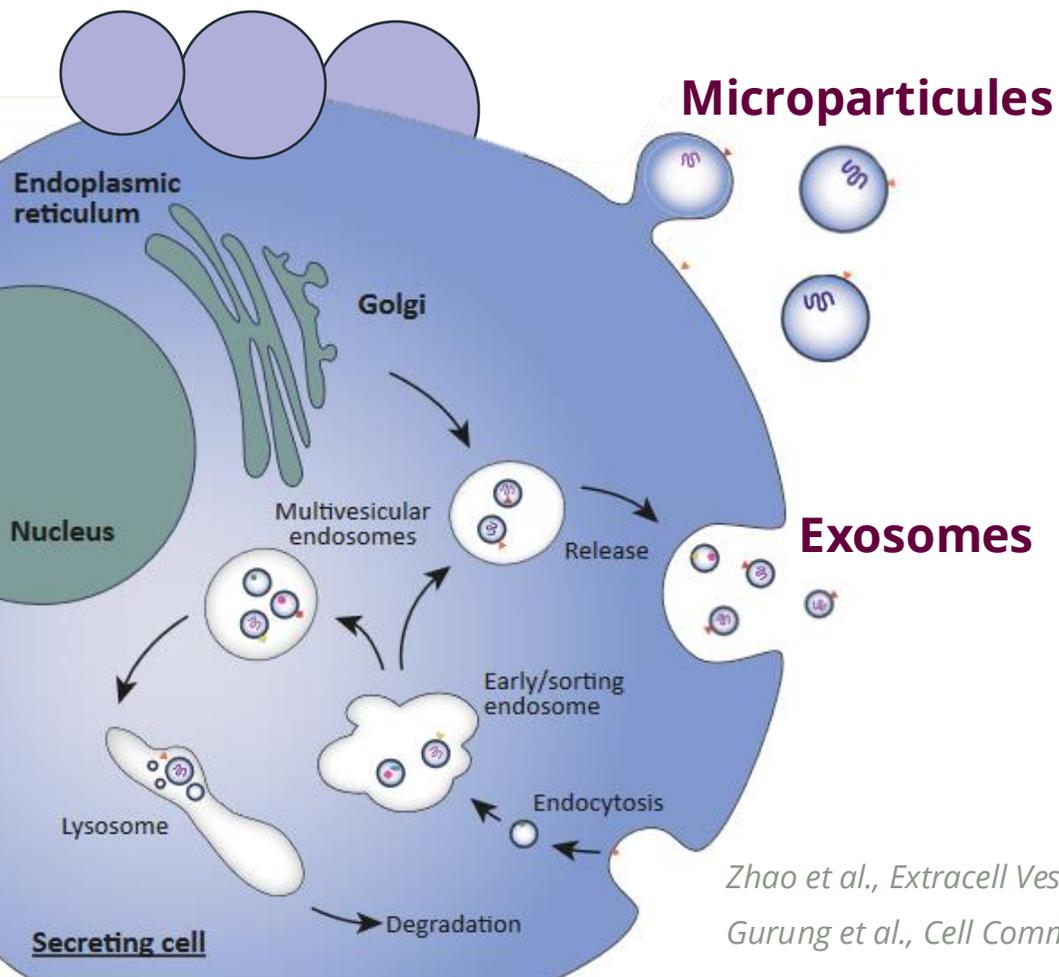
Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021

Vésicules Extracellulaires (VEs)



➤ Différents mode de biogenèse => Diverses populations de VEs

Corps apoptotiques



Microparticules

Exosomes

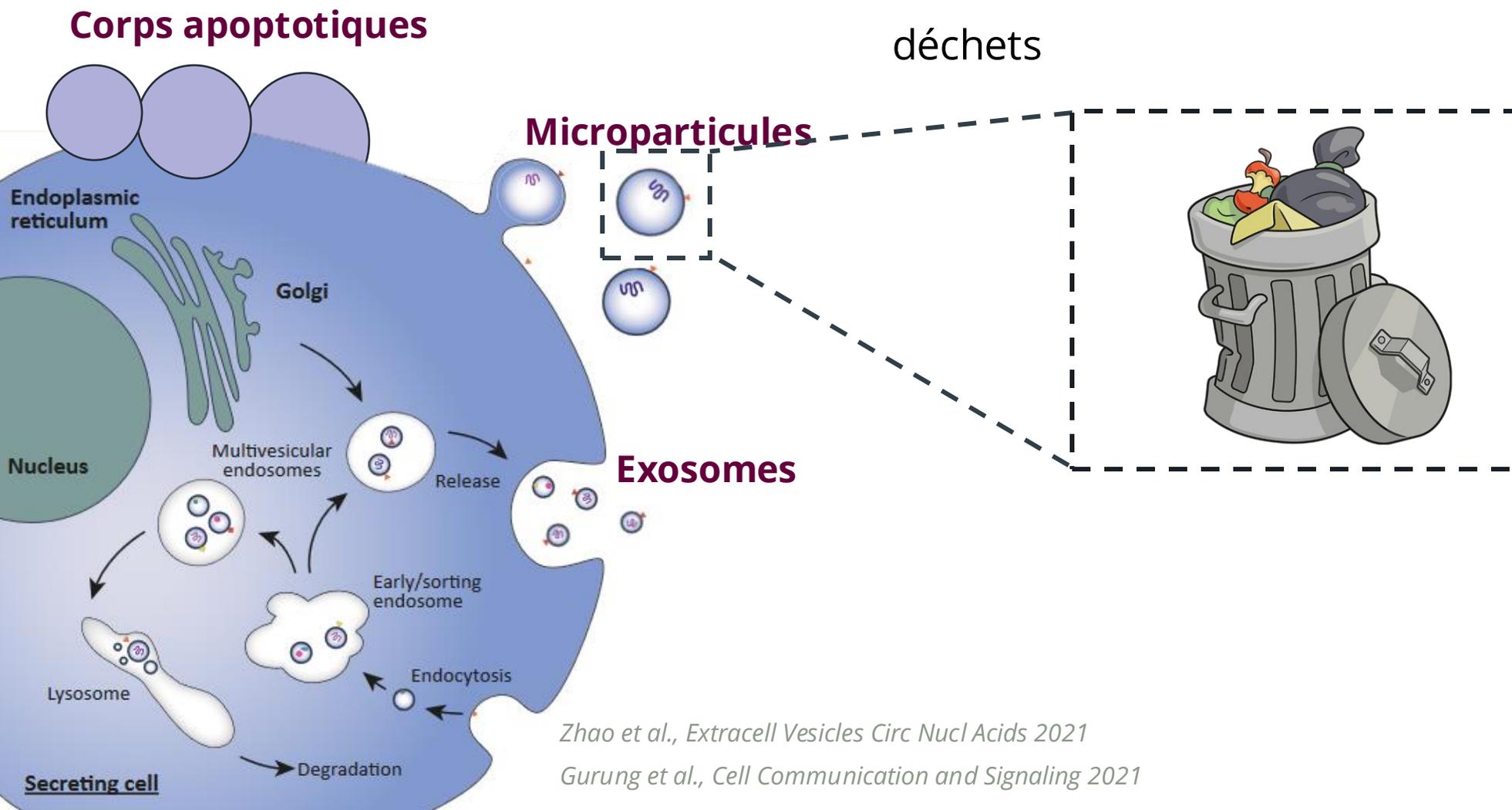
	Exo	MPs	Corps Apo.
Taille	30-200 nm	100-1000 nm	500-5000 nm
Origine	Endosomale	Membranaire	Fragmentation de cellules
Forme	Sphérique	Irrégulier	Variable
Compositions	Protéines, acides nucléiques, lipides et métabolites	Protéines, acides nucléiques, lipides et métabolites	Fragments d'ADN, histones, chromatines, organites
Marqueurs	Tétraspandines, protéines ESCRT (Alix, TSG101), Rabs, HSP	Intégrines, sélectines, facteur tissulaire, flotilline-2, Phosphatidyl-sérine	Annexine V, phosphatidyl-sérine

Zhao et al., *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids* 2021

Gurung et al., *Cell Communication and Signaling* 2021

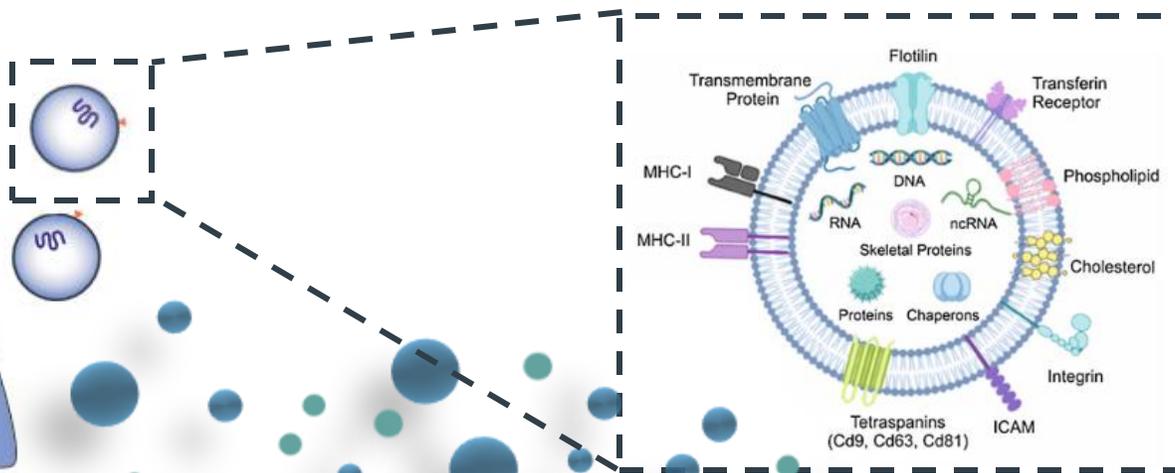
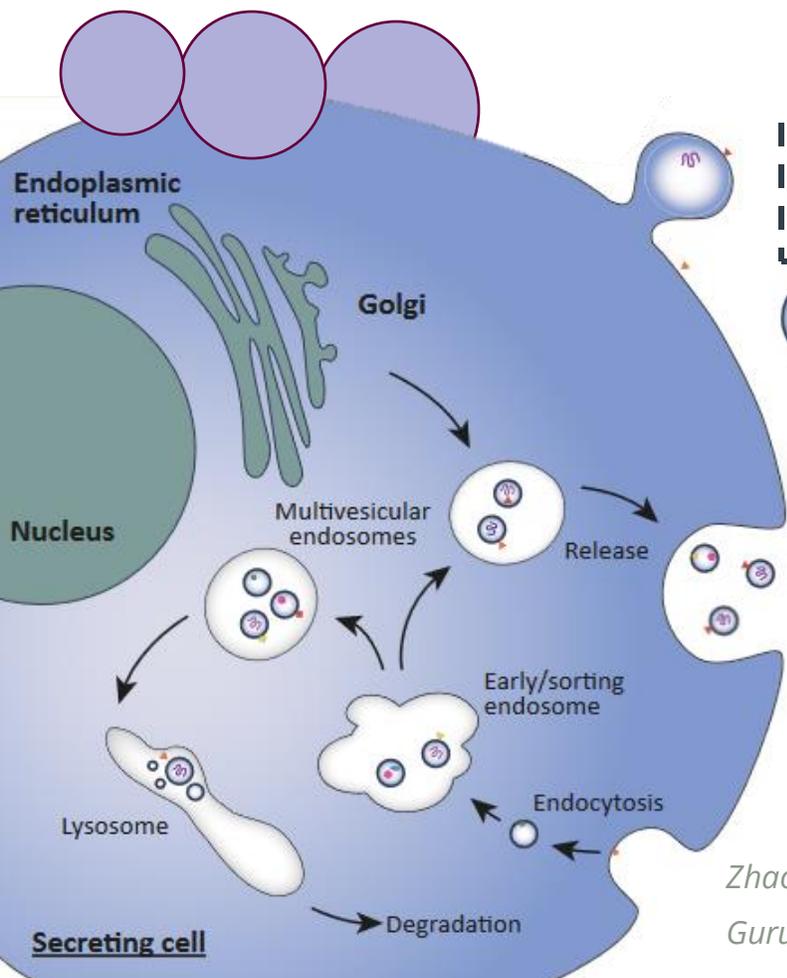
Vésicules Extracellulaires (VEs)

- VEs ont été considérées comme des convoyeurs de déchets



Vésicules Extracellulaires (VEs)

- VEs transportent de biomolécules actives
- Rôle crucial en communication intercellulaire



Délivrance
de leurs cargos



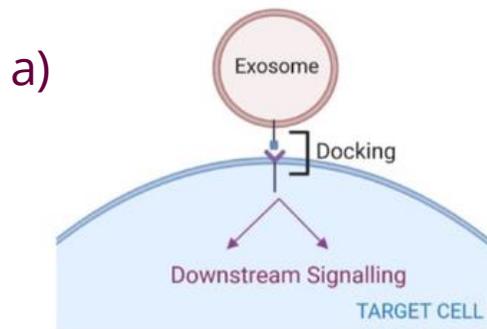
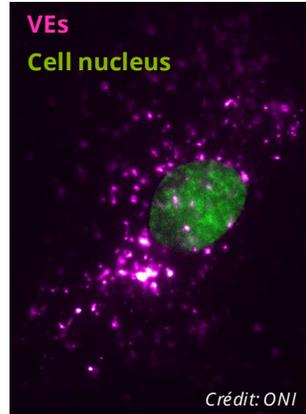
Cellule réceptrice

Zhao et al., *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids* 2021

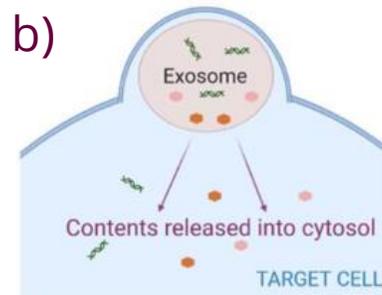
Gurung et al., *Cell Communication and Signaling* 2021

Vésicules Extracellulaires (VEs)

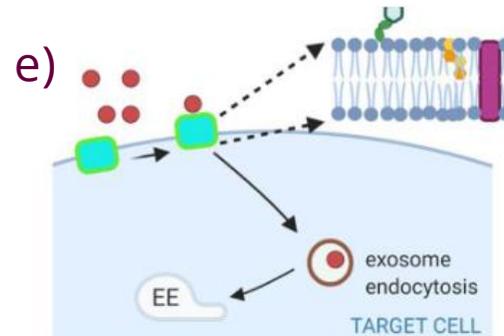
➤ Interactions des VEs avec les cellules cibles via des mécanismes variés



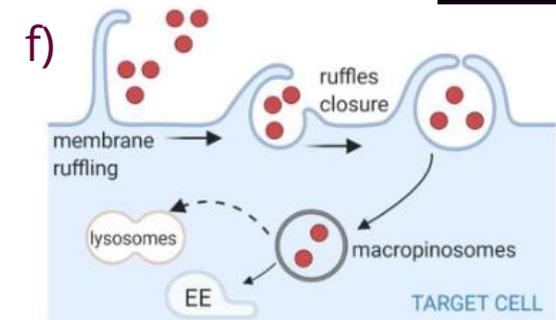
Interaction directe



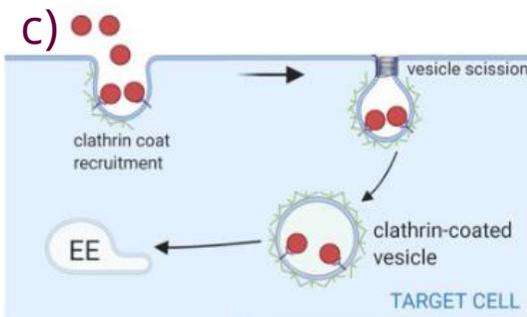
Fusion membranaire



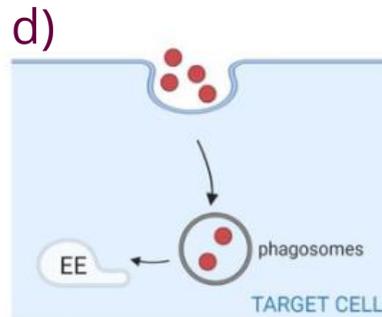
Endocytose dépendante des radeaux lipidiques



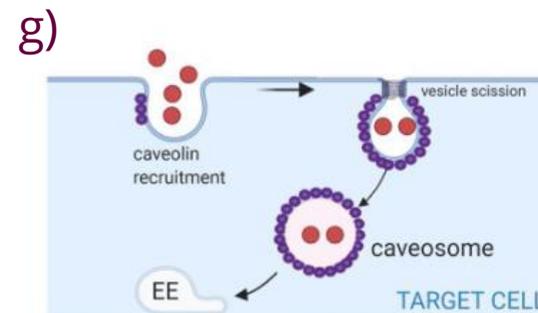
Macropinocytose



endocytose dépendante de la clathrine



Phagocytose



Endocytose dépendante de la cavéoline

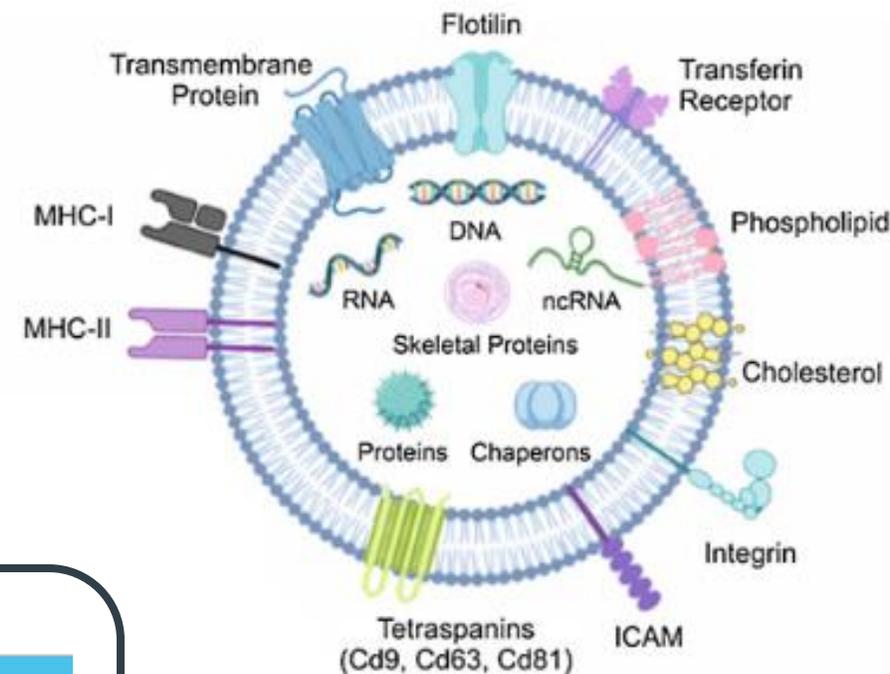


Composition des VEs

Composition moléculaire de VEs

- Composées de **protéines, lipides** et **acides nucléiques**
- Compositions différentes selon:
 - **origine cellulaire**
 - **modes de biogenèse**
 - les **stimulus**

Bases de données sur la composition de VEs



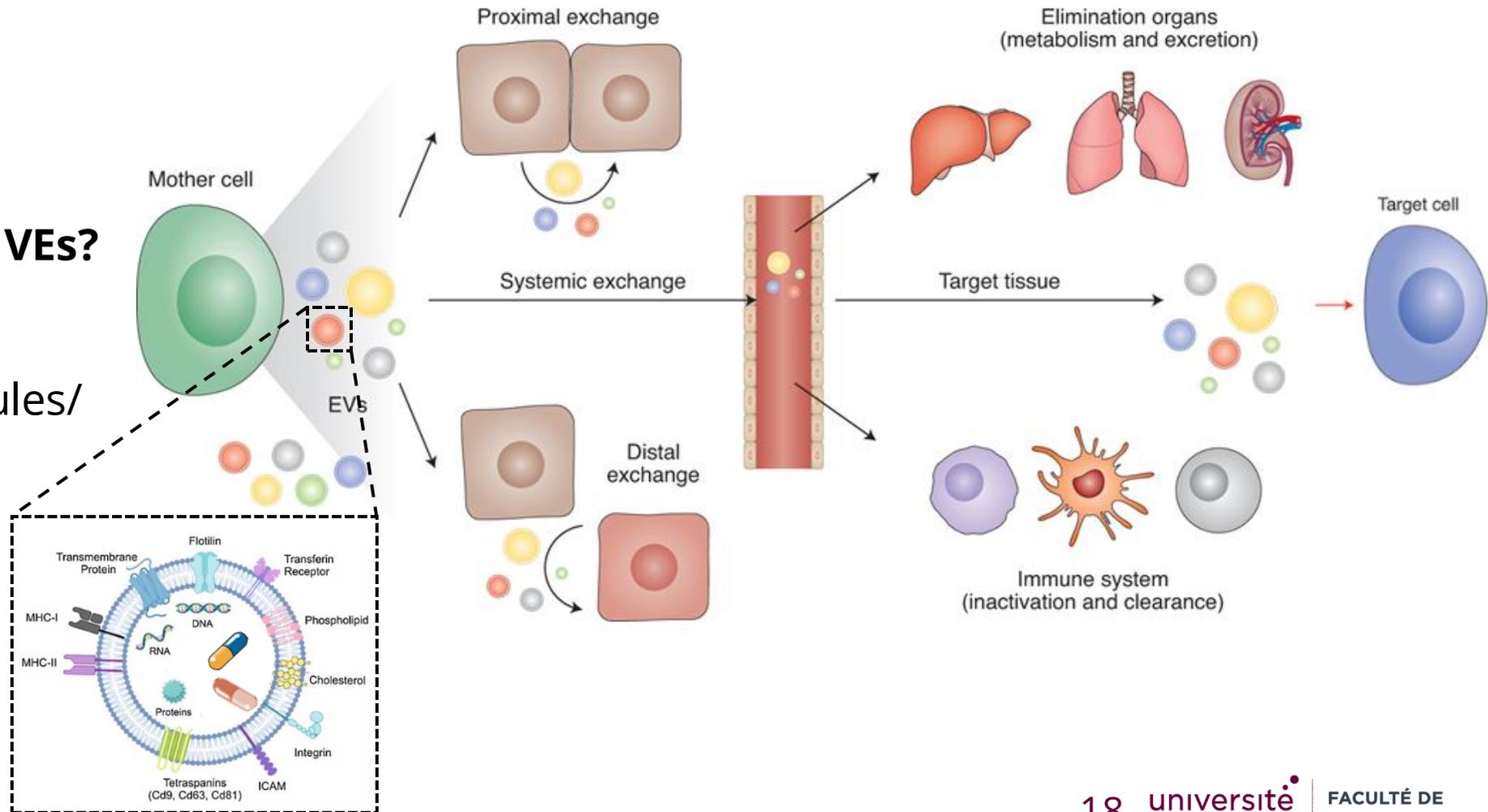
Potentiels cliniques de VEs

Exploiter les VEs ??

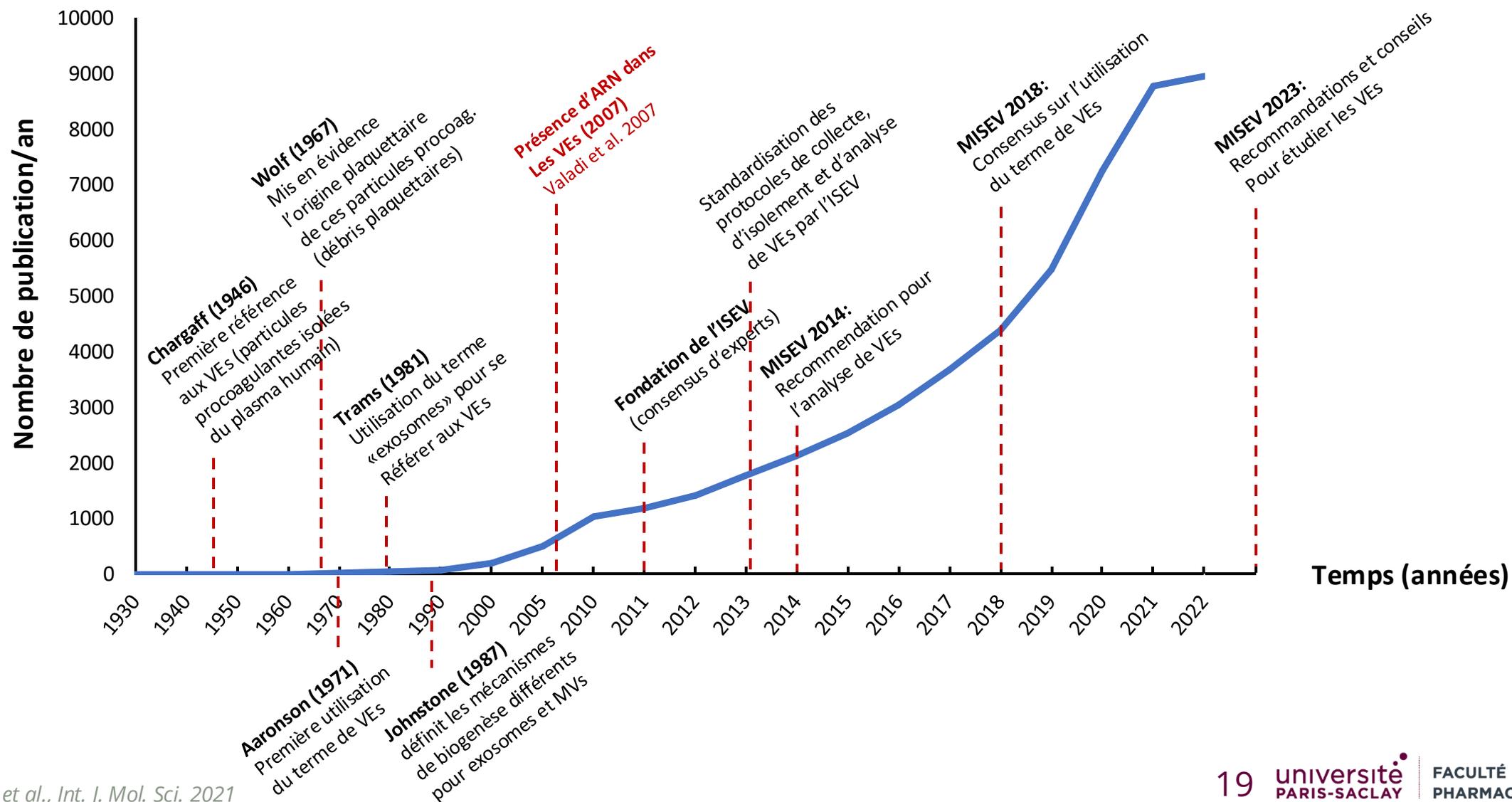


Comment exploiter les VEs?

- Biomarqueurs
- Vecteurs de biomolécules/ médicaments



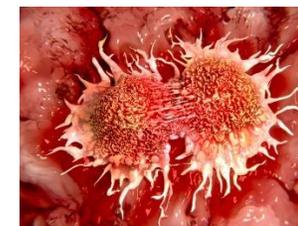
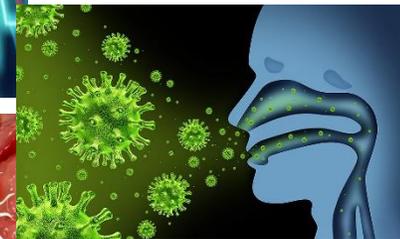
Intérêt croissant porté à l'étude de VEs



Vésicules Extracellulaires (VEs)

Condition clinique	Origine cellulaire	Taux de VEs
Individu sain		
Fumeurs	Cellules endothéliales	↑
Grossesse	Tous	↑
Exercices physiques	Cellules endothéliales	↓
	Plaquettes	↑
Pathologies cardiovasculaires et thrombose		
Hypertension	Cellules endothéliales et plaquettes	↑
Syndrome coronarien aigu	Cellules endothéliales et plaquettes	↑
Athérosclérose	Macrophages, érythrocytes, muscles lisses et plaquettes	↑
Thromboembolie veineuse	Cellules endothéliales et plaquettes	↑
Syndrome de Scott	Plaquettes	↓
Purpura thrombotique et thrombocytopénique	Cellules endothéliales et plaquettes	↑
Cancer		
Cancer de l'estomac	Plaquettes	↑
Cancer du poumon	Monocytes et plaquettes	↑
Cancer colorectal	Cellules épithéliales cancéreuses	↑
Mélanome	Cellules de mélanome	↑
Maladies infectieuses		
Choc septique	Monocytes	↑
VIH	Lymphocytes T	↑
Malaria	Plaquettes	↑

Variation du taux de VEs dans certaines conditions physio(patho)logiques



VEs comme biomarqueurs prometteurs non invasifs

➤ sources de biomarqueurs pertinents dans diverses pathologies (tumorales)

Pathology	Source	EV type	Cargo	Biomarkers	Application	Detection method	References
Breast Cancer	Plasma	EVs	Protein	Del-1, Fibronectin	Distinguish BC from benign breast tumors and noncancerous diseases	ELISA	Moon et al., 2016a,b
	Serum	EXOs	Protein	Survivin 2B	Discriminates early stage patients from high stage patients and controls	Western Blot	Khan et al., 2014
	Plasma	MVs	Protein	EGFR	Association with in situ and stage I	Western Blot	Galindo-Hernandez et al., 2013
	Serum Plasma	MVs MVs	Protein Protein	EMMPRIN FAK	Differences between BC patients and healthy controls FAK present in BC patients, mainly in stage III	Flow cytometry Western Blot	Menck et al., 2015 Galindo-Hernandez et al., 2013
Prostate Cancer	Serum	EXOs	RNA	<i>GSTP1</i>	Chemoresistance marker	RT-PCR	Yang et al., 2017
	Urine	EXOs	RNA	<i>ERG, PCA3, and SPDEF</i>	Distinguish high-grade (GS7) from low-grade (GS6) cancer and benign disease	RT-PCR	McKiernan et al., 2016
Colorectal Cancer	Plasma and serum	EXOs	Protein	Survivin	Discriminates PC patients from BPH and healthy controls	Western Blot	Khan et al., 2012
	Plasma	EXOs	RNA	<i>PTEN</i>	Distinguish between PC patients and healthy controls	RT-PCR	Gabriel et al., 2013
	Serum	EXOs	RNA	<i>KRAS</i>	Matches mutations in EXOs and tissue with sensitivity 73,5%; specificity 100%	PCR and gene sequencing	Hao et al., 2017
Lung Cancer	Serum	EXOs	RNA	<i>BRAF</i>	Matched mutations in EXOs and tissue with sensitivity 75%; specificity 100%	PCR and gene sequencing	Hao et al., 2017
	Plasma	EXOs	Protein	<i>GPC1</i>	Discriminates CRC patients from controls	Flow cytometry	Li et al., 2017
	Plasma Plasma	EXOs EXOs	Protein RNA	<i>EGFR</i> <i>EML4-ALK</i>	Discriminates NSCL patients from healthy controls EML4-ALK rearrangements detection	ELISA qPCR	Yamashita et al., 2013 Brinkmann et al., 2015
Pancreatic Cancer	Urine	EXOs	Protein	<i>LRG1</i>	LRG1 higher levels in NSCLC patients	Western Blot	Li et al., 2011
	Plasma	EXOs	DNA	<i>KRAS</i>	KRAS mutations in metastatic PDAC patients	Droplet digital PCR	Allenson et al., 2017
	Serum	EXOs	Protein	<i>GPC1</i>	Increased levels of GPC1-positive EVs in 100% of patients with PDAC	Flow cytometry	Melo et al., 2014
Brain tumors	Serum	EXOs	RNA	<i>EGFR VIII</i>	Detection of EGFR VIII	RT-PCR	Venkata Manda et al., 2017
	Serum	EVs	DNA	<i>IDH1</i>	Detection of <i>IDH1</i> ^{G395A}	Cold-PCR and gene sequencing	Garcia-Romero et al., 2017
Melanoma	Serum	EXOs	Protein	<i>S100, MIA</i>	Relation with patient survival	ELISA	Alegre et al., 2016
	Plasma	EXOs	Protein	<i>TYRP, VLA-4, HSP70, HSP90 MET</i>	Relation with metastatic patients survival	Western Blot	Peinado et al., 2012
Ovarian Cancer	Ascitic fluid	EXOs	Protein	<i>EpCam, CD24</i>	Relation with treatment response	Nano-plasmonic exosome	Im et al., 2014



VEs comme biomarqueurs prometteurs non invasifs

➤ sources de biomarqueurs pertinents dans diverses pathologies (non tumorales)

Pathology	Source	EV type	Donor cells	Biomarker	Function	Detection method	References
Coronary artery disease, type 2 diabetes	Plasma	MVs	Endothelial cells	CD144, CD31, CD62E	Leukocyte adhesion, inflammation	Leukocyte adhesion, inflammation Flow cytometry	Flow cytometry Bernal-Mizrachi et al., 2003; Koga et al., 2005
Risk of cardiovascular events	Plasma	MVs	Lymphocytes; Smooth muscle cells	CD45, CD3; SMA- α	Inflammation; thrombus formation	Flow cytometry	Chiva-Blanch et al., 2016
Type 2 diabetes	Plasma	MVs	Platelets	Fibrinogen, Tissue factor, P-selectin	Thrombosis, inflammation, vascular dysfunction	Flow cytometry	Zhang et al., 2014
Coronary artery disease	Plasma	MVs	Endothelial cells; Platelets	miR-126; miR-199a	Cardioprotective	RT-PCR	Jansen et al., 2014
Atherosclerosis	Plasma	MVs	Leukocytes	CD11b, CD66	Plaque instability	Flow cytometry	Sarlon-Bartoli et al., 2013
Cardiac surgery	Plasma	EXOs	Cardiomyocytes	miR-1, miR133a, miR-24, miR-210, miR-133b	Biomarkers of myocardial damage	RT-PCR	Emanuelli et al., 2016
Acute coronary syndrome	Serum	EXOs	Cardiomyocytes	miR-208a	Early diagnosis and prognosis of the disease	RT-PCR	Bi et al., 2015
Atherosclerosis	Aorta	EXOs	Smooth muscle cells; Endothelial cells	EXOs	Intercellular communication	Transmission electron microscopy	Perrotta and Aquila, 2016
Venous thromboembolism	Plasma	MVs	Endothelial cells	CD31, E-selectin	Thrombosis, vascular dysfunction	Flow cytometry	Chirinos et al., 2005
Venous thromboembolism in cancer patients	Plasma	MVs	Platelets	CD41	Coagulation, thrombosis	Flow cytometry	Bucciarelli et al., 2012
Venous thromboembolism in GBM patients	Plasma	MVs	Platelets, endothelial cells	Tissue factor, CD146, CD61	Coagulation, inflammation	Flow cytometry	Campello et al., 2011
Venous thromboembolism in GBM patients	Plasma	MVs	Glial cells	Tissue factor, GFAP	Coagulation, thrombosis	Flow cytometry	Sartori et al., 2013
Systemic lupus erythematosus	Plasma	MVs	Endothelial cells	CD31, Annexin V	Endothelial damage and dysfunction	Flow cytometry	Parker et al., 2014
Lupus nephritis	Urine	EXOs	Nephron cells	miR-146a	Renal inflammation, fibrosis	RT-PCR	Perez-Hernandez et al., 2015
Rheumatoid arthritis	Urine	EXOs	Epithelial cells	miR-29c	Renal fibrosis reduction	RT-PCR	Sole et al., 2015
	Plasma	MVs	Platelets	CD61	Inflammation, thrombosis	Flow cytometry	Knijff-Dutmer et al., 2002
	Synovial fluid	MVs	Platelets	CD41	Inflammation	Flow cytometry	Boilard et al., 2010
	Synovial fluid	MVs	Leukocytes	CD66b, CD14	Coagulation	Flow cytometry	Berckmans et al., 2002
	Plasma, urine	MVs	T cells, B cells, monocytes, platelets, endothelial cells	CD3, CD19, CD14, CD41, CD62E	Inflammation	Flow cytometry	Viñuela-Berni et al., 2015
Preeclampsia	Plasma	MVs	Platelets, leukocytes	CD61, CD62-P, CD45, tissue factor	Coagulation, inflammation	Flow cytometry	Campello et al., 2015
Pregnancy	Plasma	MVs	Platelets, endothelial cells, leukocytes	CD61, CD62P, CD62E, CD45, CD142	Coagulation, inflammation	Flow cytometry	Radu et al., 2015
Tuberculosis	Blood, urine	EXOs	Infected macrophages	LAMP1, MHC-II, Hsp70	Stimulate proinflammatory response	Flow cytometry	Bhatnagar et al., 2012; Kruh-Garcia et al., 2012
Alcoholic hepatitis	Plasma	EXOs	Liver cells, heart cells	miRNA-192, miRNA-30a	Liver injury, Inflammation	RT-PCR	Momen-Heravi et al., 2015
Chronic obstructive pulmonary disease	Plasma	MVs	Pulmonary capillaries	CD144, CD31, CD62-E	Endothelial damage	Flow cytometry	Takahashi et al., 2012



Applications thérapeutiques des VEs

VEs : applications thérapeutiques

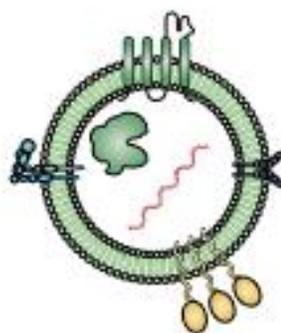
- Deux classes de VEs thérapeutiques:

1. VEs natives
2. VEs modifiées

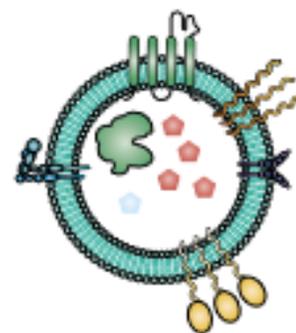
Cellules



VEs natives



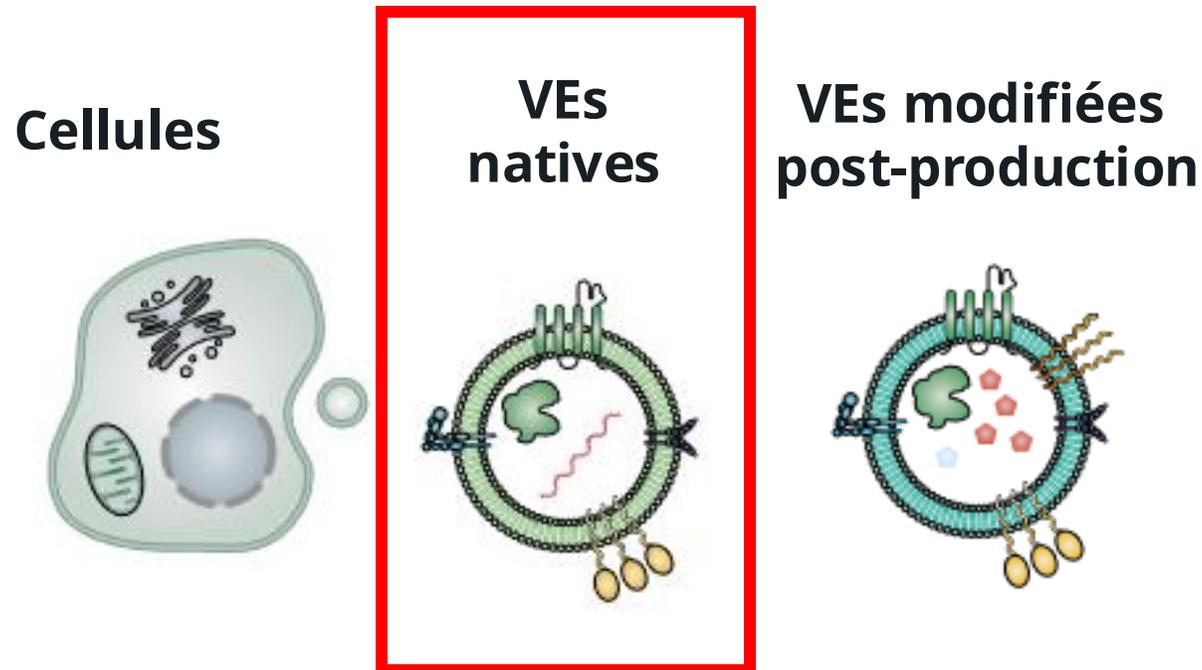
VEs modifiées post-production



VEs : applications thérapeutiques

- Deux classes de VEs thérapeutiques:

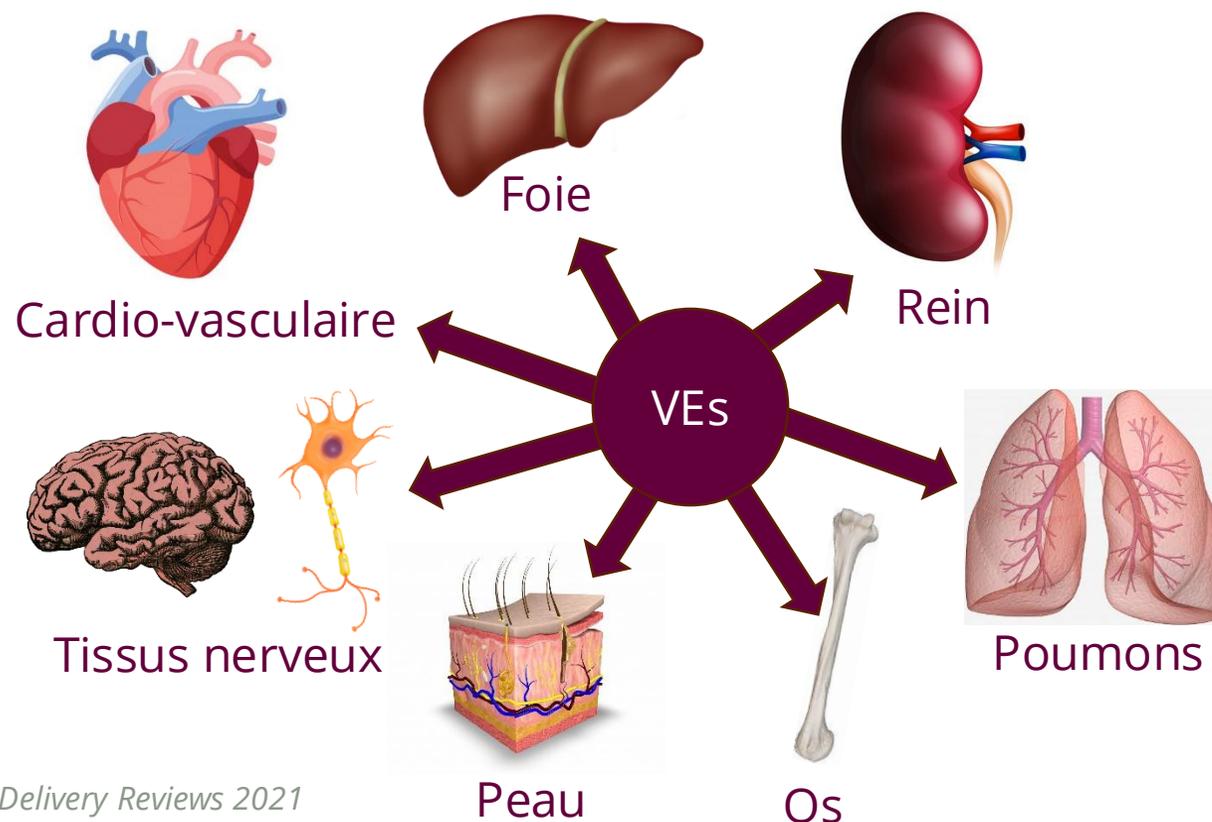
1. VEs natives
2. VEs modifiées



VEs natives: médecine régénérative

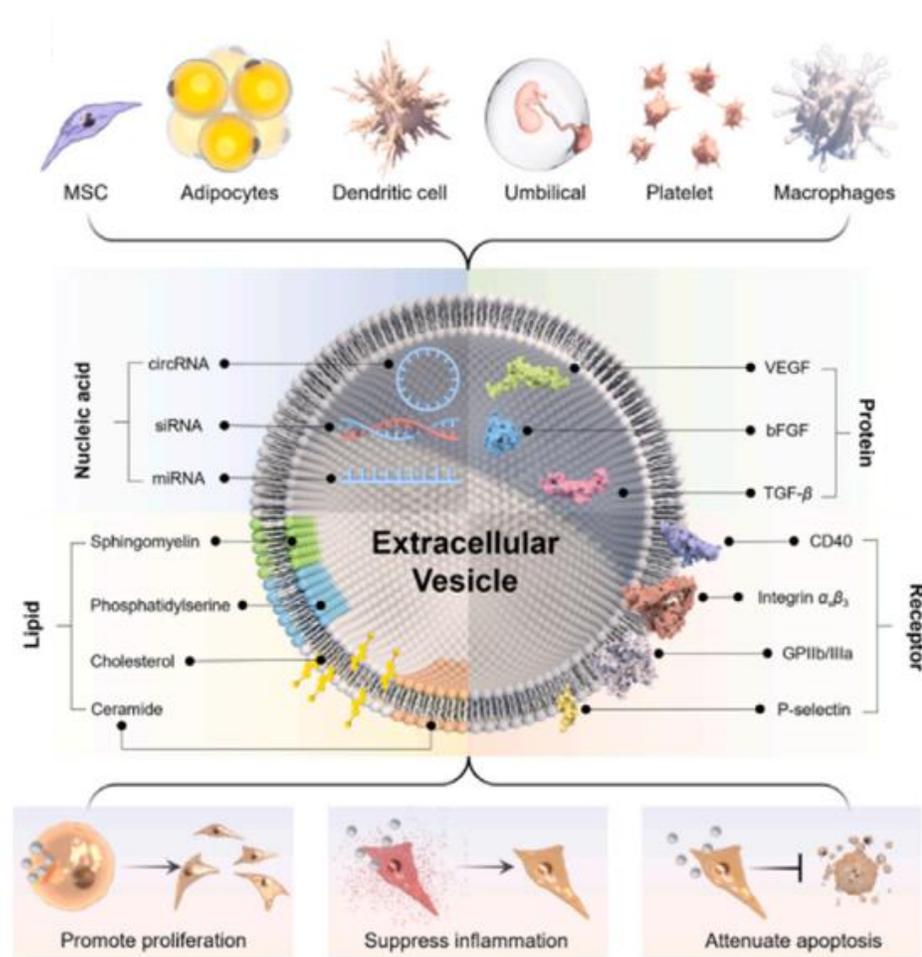
- **Grande variété de sources cellulaires**

- CSM, CSH, CS pluripotentes induites, macrophages, plaquettes...
- CSM de la moelle osseuse, tissus adipeux ou du sang sont des sources de choix



VEs natives: médecine régénérative

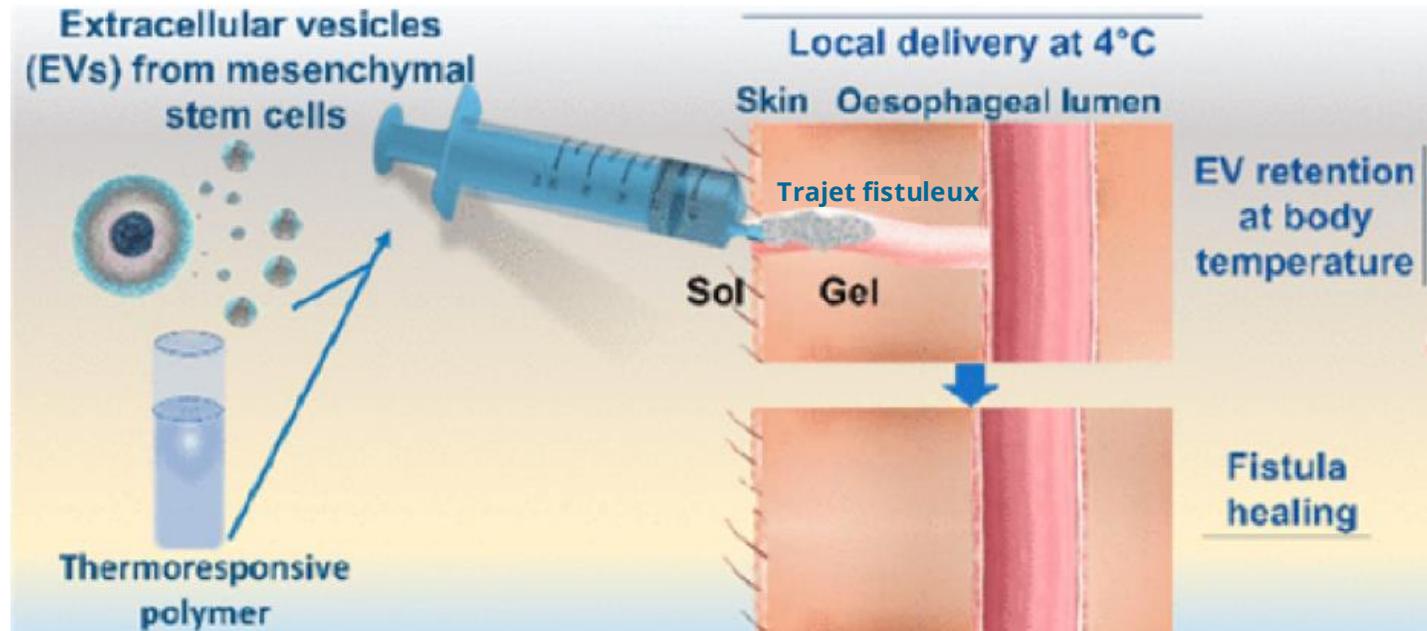
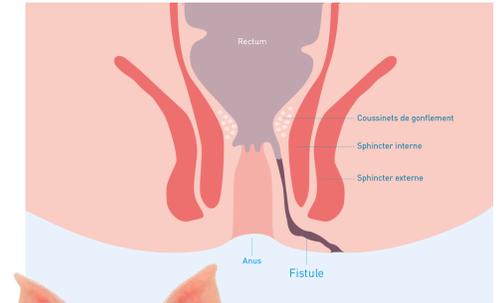
- Activités régénératives via le transfert de protéines, ARNm et miRNA



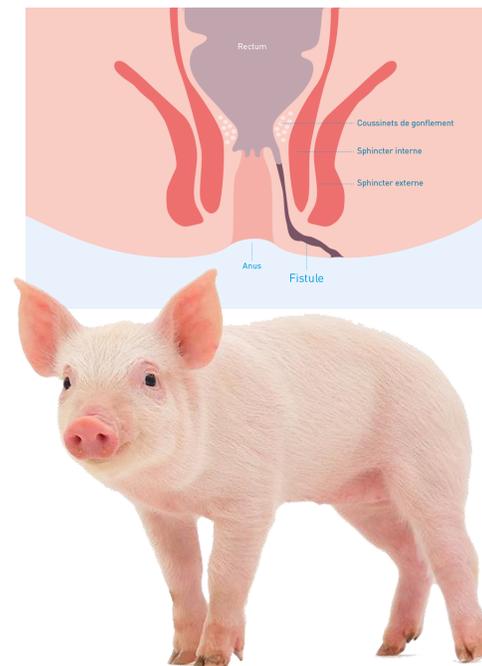
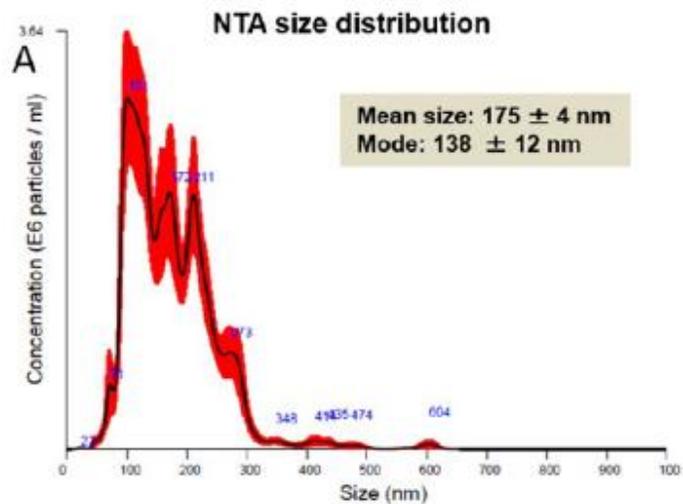
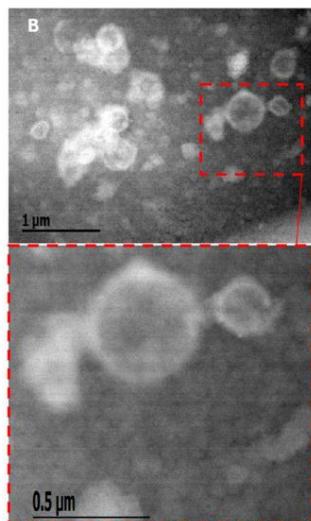
Exemples...

VEs de CSM: traitement de fistules digestives

- VEs de CSM issues de tissu adipeux
- Traitement de **fistule œsophago-cutanée chez le porc**
- **Gel thermosensible (PF-127) chargé de VEs**



VEs de CSM: traitement de fistules digestives



Injection du gel PF-127 chargées de VEs, à 4°C, dans le trajet fistuleux



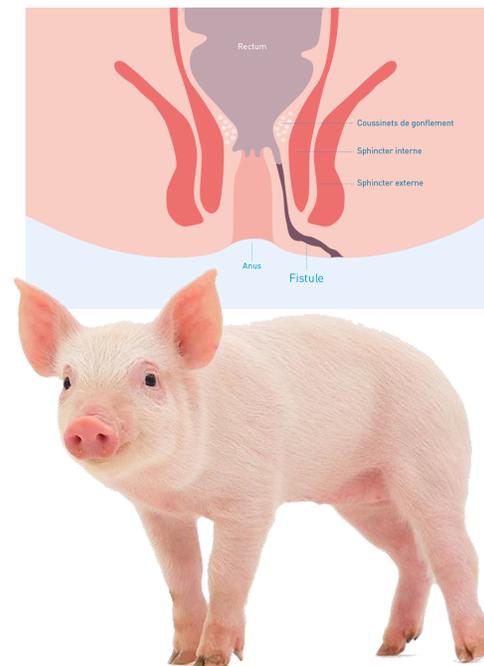
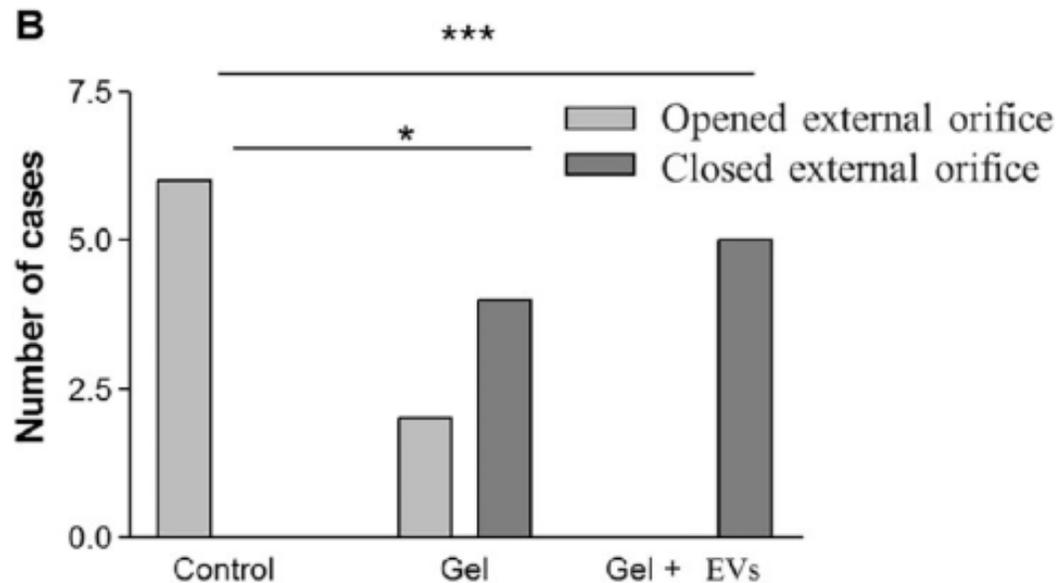
VEs de CSM: traitement de fistules digestives

Traitement



D30

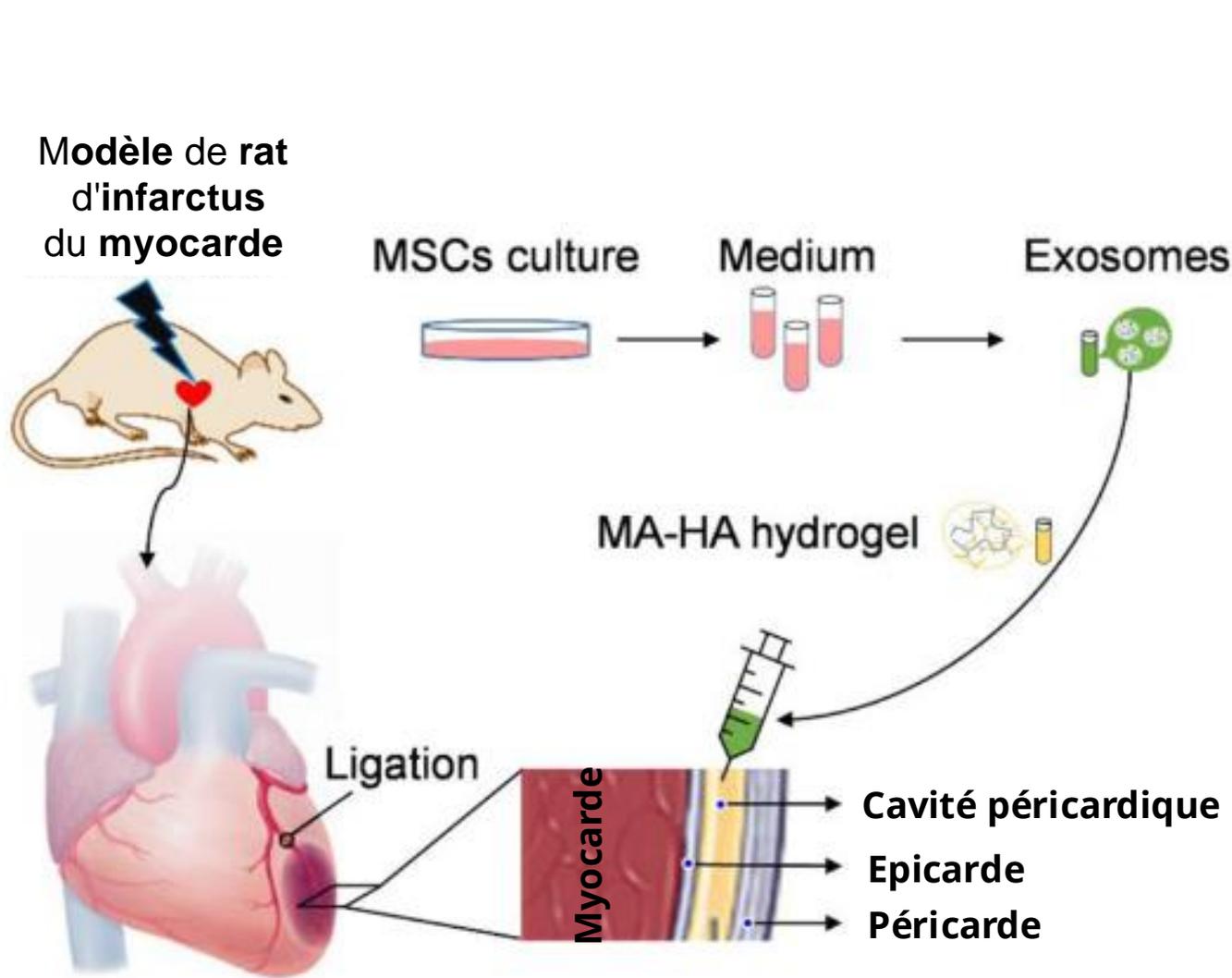
D45



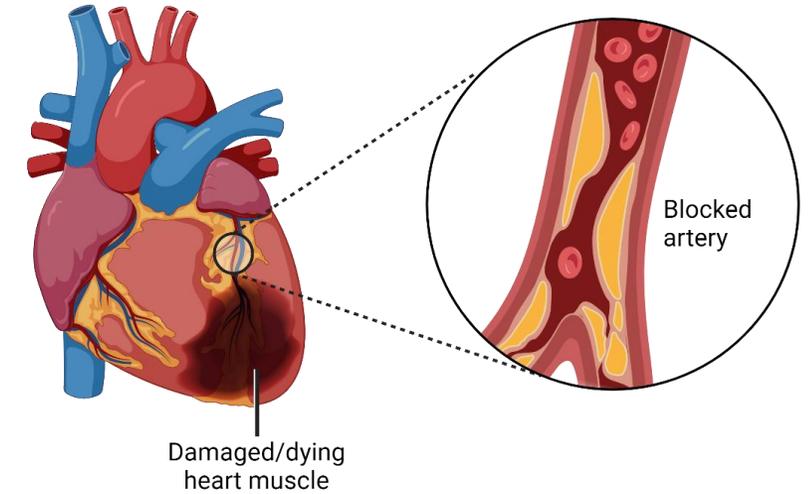
Cicatrisation de tous les trajets fistuleux après traitement avec gel + EVs

- VEs: alternatives avantageuses à la thérapie cellulaire (Alofisel) ???

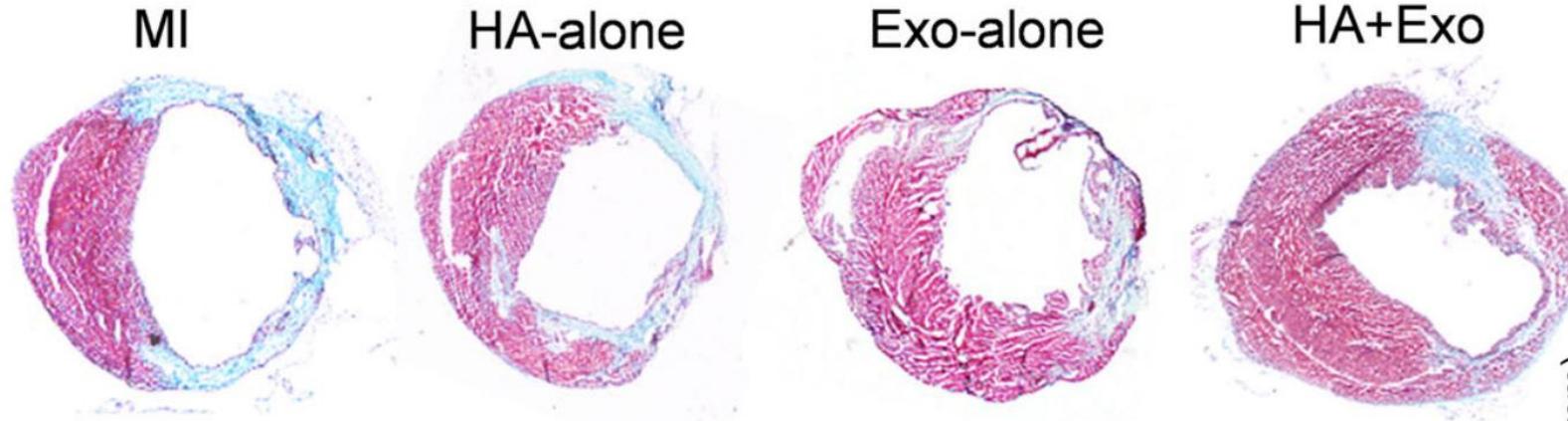
VEs de CSM: traitement des myopathies cardiaques



Ischémie cardiaque

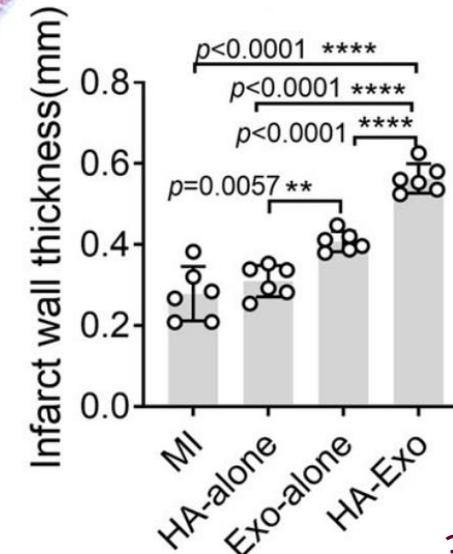
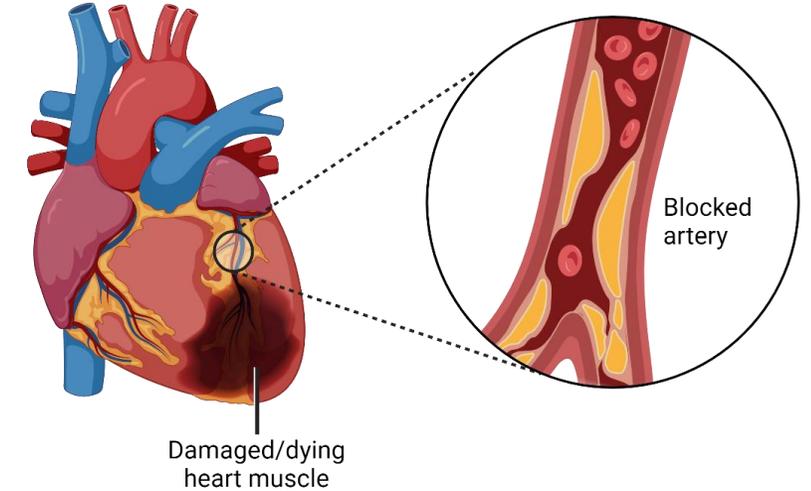


VEs de CSM: traitement des myopathies cardiaques



Réparation de la lésion ischémique

Ischémie cardiaque



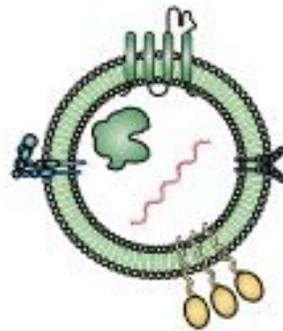
VEs : applications thérapeutiques

- Deux classes de VEs thérapeutiques:
 1. VEs natives
 2. VEs modifiées

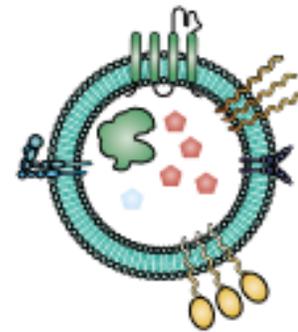
Cellules



VEs natives



VEs modifiées post-production

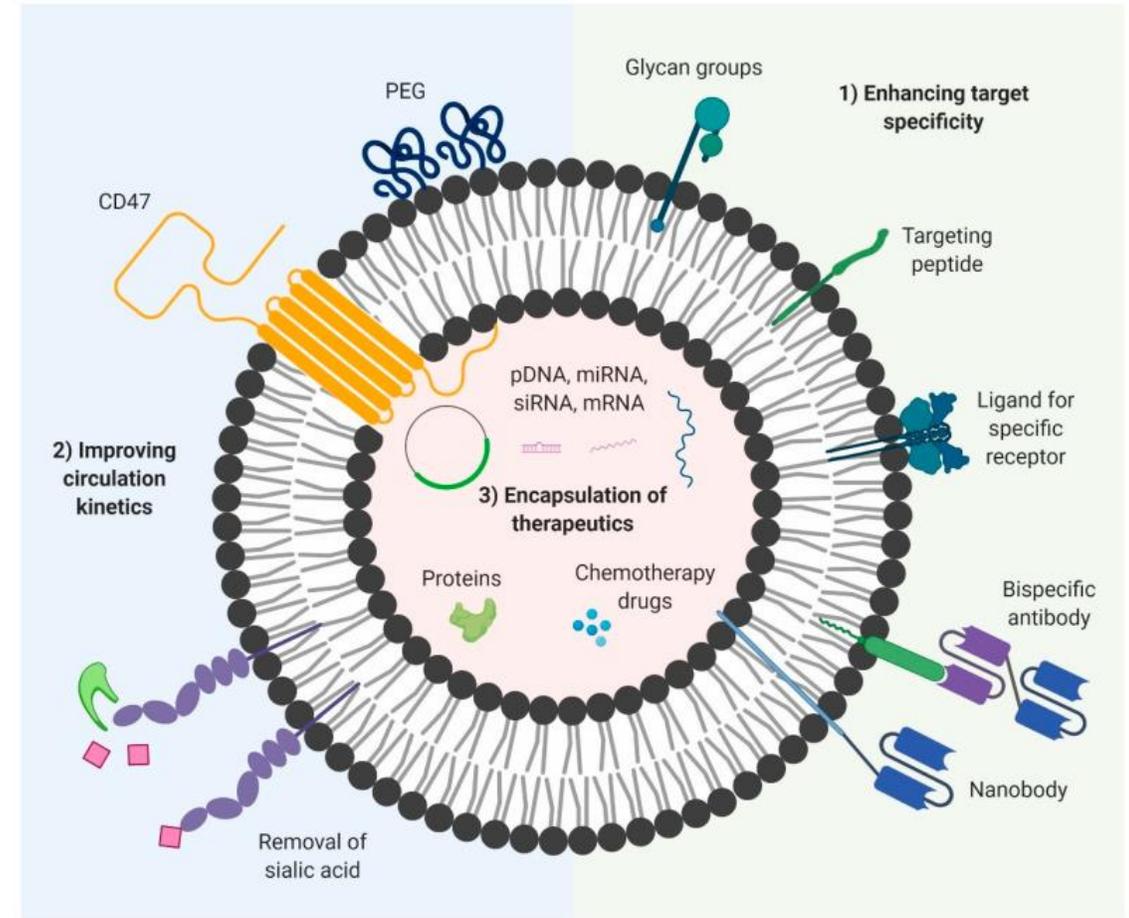


Ingénierie/modification des VEs

- **Plusieurs approches pour modifier les VEs:**

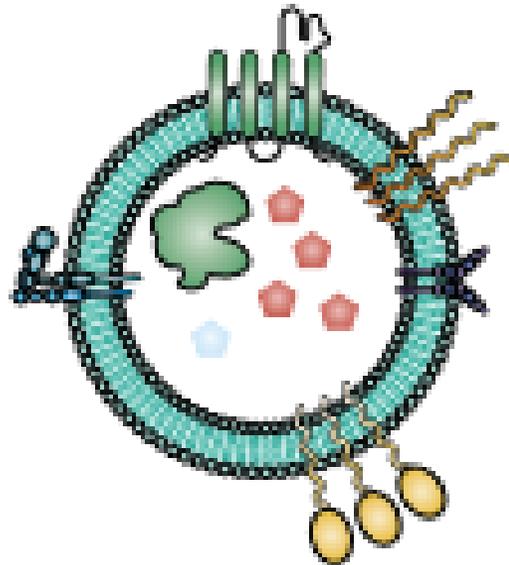
1. Améliorer leur capacité de ciblage
2. Moduler leur t1/2 et leur biodistribution
3. Chargement d'agents thérapeutiques

VEs comme des nanovecteurs prometteuses et versatile



Applications thérapeutiques: VEs modifiées

- Chargement d'agents thérapeutique dans les VEs:
 - 1- Chargement par ingénierie de la cellule d'origine (pré-production)
 - 2- Chargement après la production de VEs (post-production)

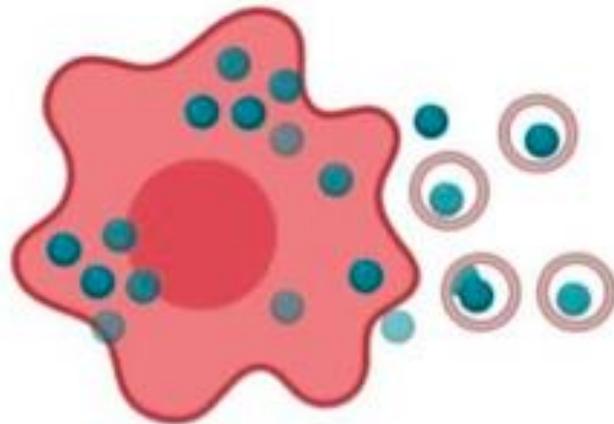


Applications thérapeutiques: VEs modifiées pré-production

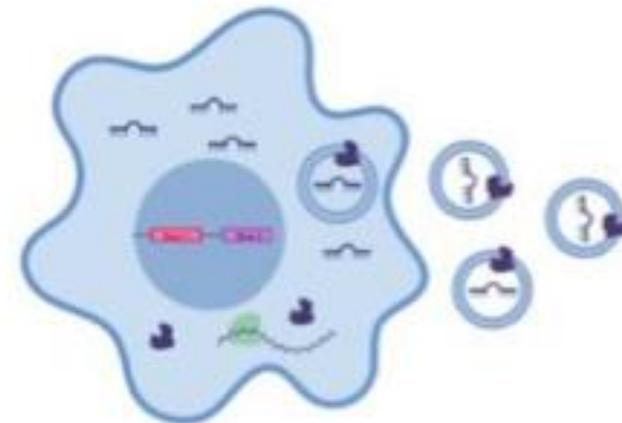
• Chargement pré-production

- Agent thérapeutique est exprimé, surexprimé ou incorporé dans les cellules productrices avant d'initier la production de VE
- Chargement d'ARN et de protéines
- Traitement de cellules avec le principe actif d'intérêt

Drug Treatment of Parental Cells

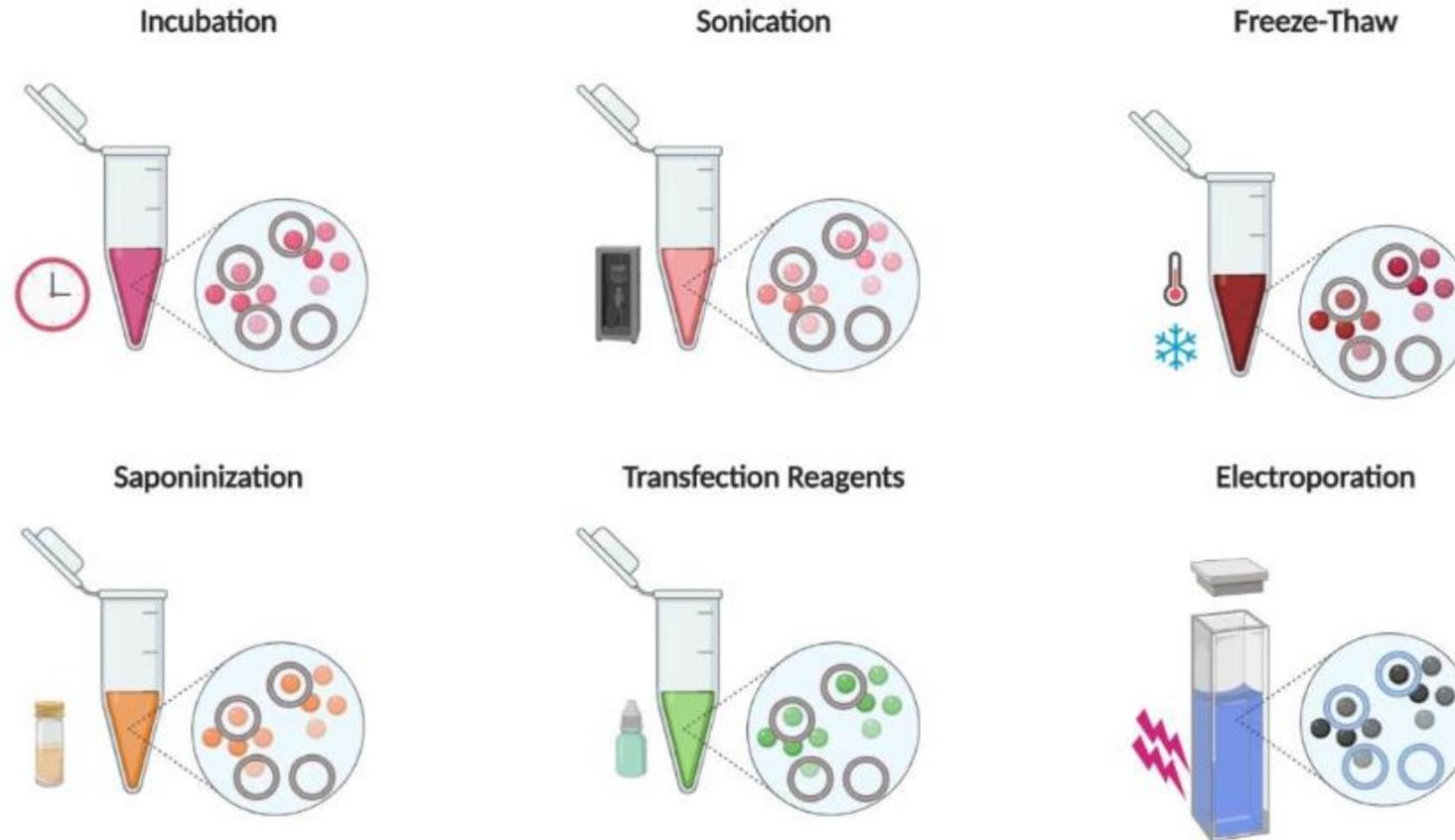


Gene Engineering of Parental Cells



Applications thérapeutiques: VEs modifiées post-production

- **Chargements post-production** d'agents thérapeutiques dans VEs



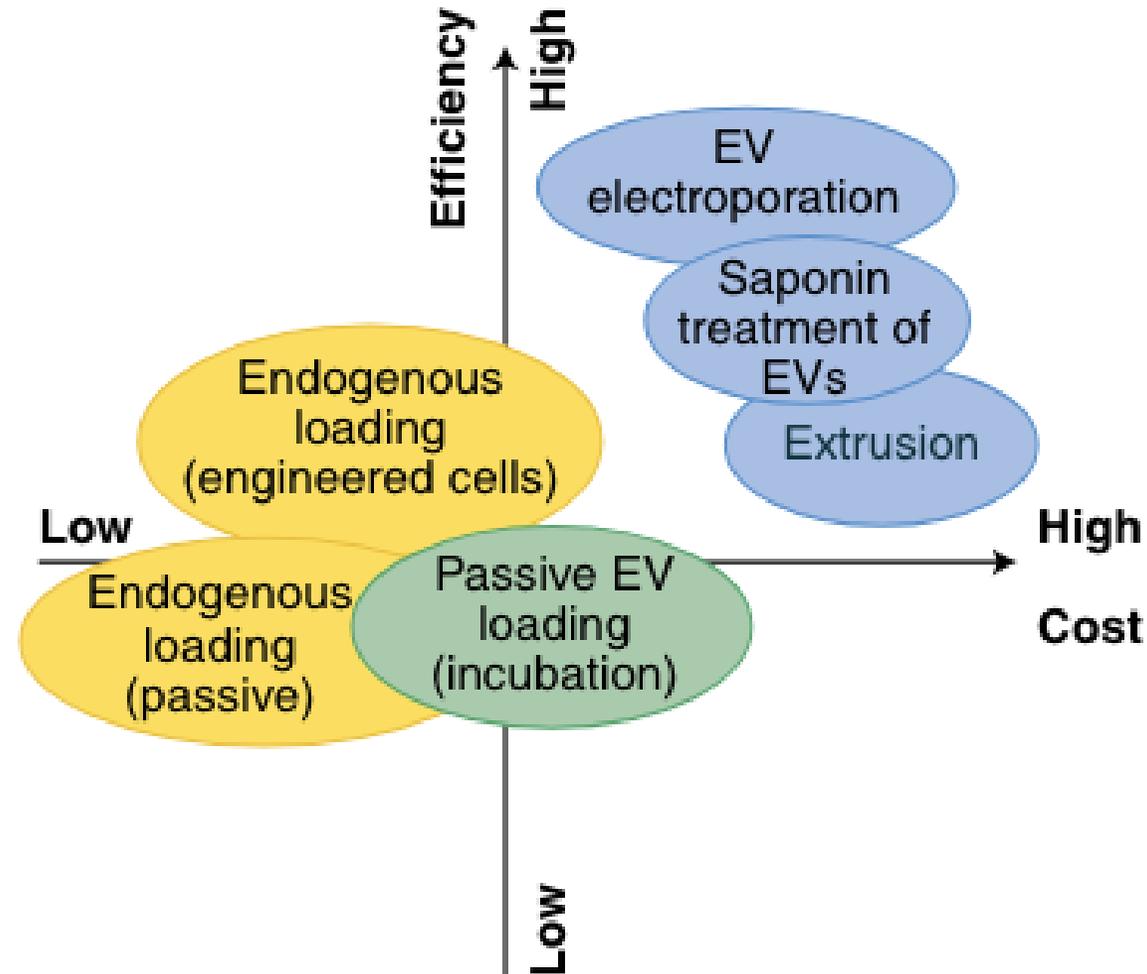
Applications thérapeutiques: VEs modifiées post-production

- **Chargements post-production** d'agents thérapeutiques dans VEs

Méthode	Avantages	Inconvénients
Incubation	Simple, pas d'effet sur VEs	Faible capacité de chargement
Sonication	Capacité de chargement élevé, chargement d'anticancéreux, siARN et protéines	Ne convient aux molécules hydrophobes
Electroporation	Chargement de grosses molécules (ex. acides nucléiques) et d'anticancéreux, capacité de chargement modérée	Déformation de VEs, agrégation de molécules (ex. siRNA), capacité de chargement plus faible par rapport à la sonication et la saponine
Congélation/décongélation	Simple, capacité de chargement modérée	Agrégation de VEs, efficacité d'encapsulation plus faible que la sonication
Transfection	Simple, chargement d' acides nucléiques	Cout, mécanisme de chargement inconnu, résidus de réactifs de transfection
Surfactant (saponine)	Simple, capacité de chargement élevée	Agent toxique, lavage de VEs, altération de l'intégrité de VEs

Applications thérapeutiques: VEs modifiées post-production

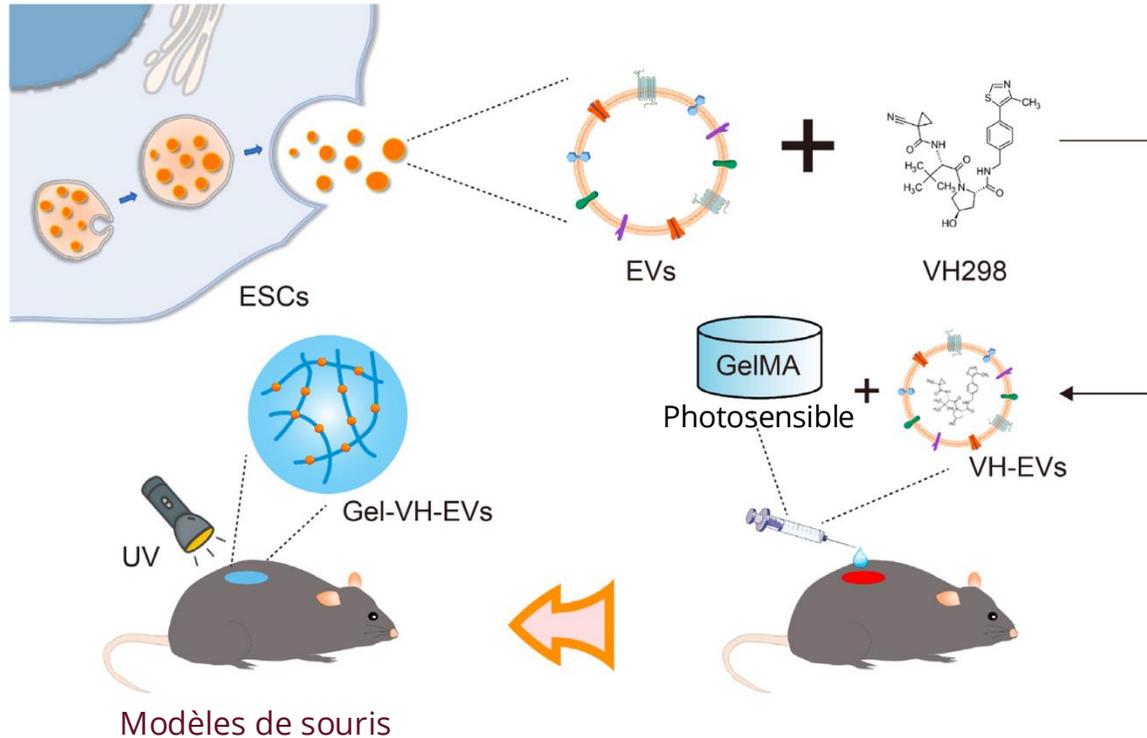
- **Chargements post-production** d'agents thérapeutiques dans VEs



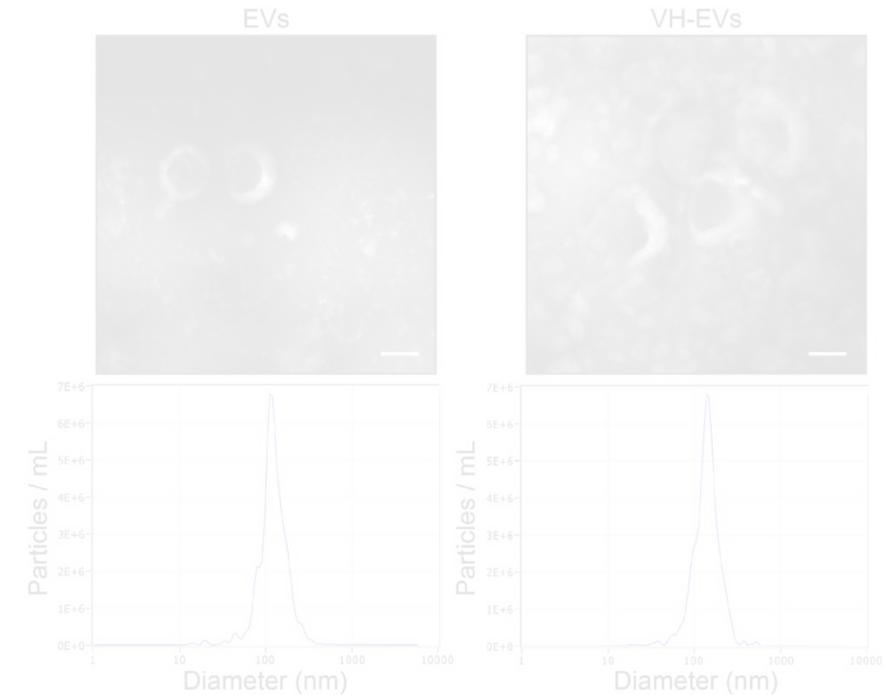
Exemples...

VEs de CSE chargées en VH298: traitement de plaies chroniques associées au diabète

- VEs de CSE chargées
- VH298: induit l'angiogenèse

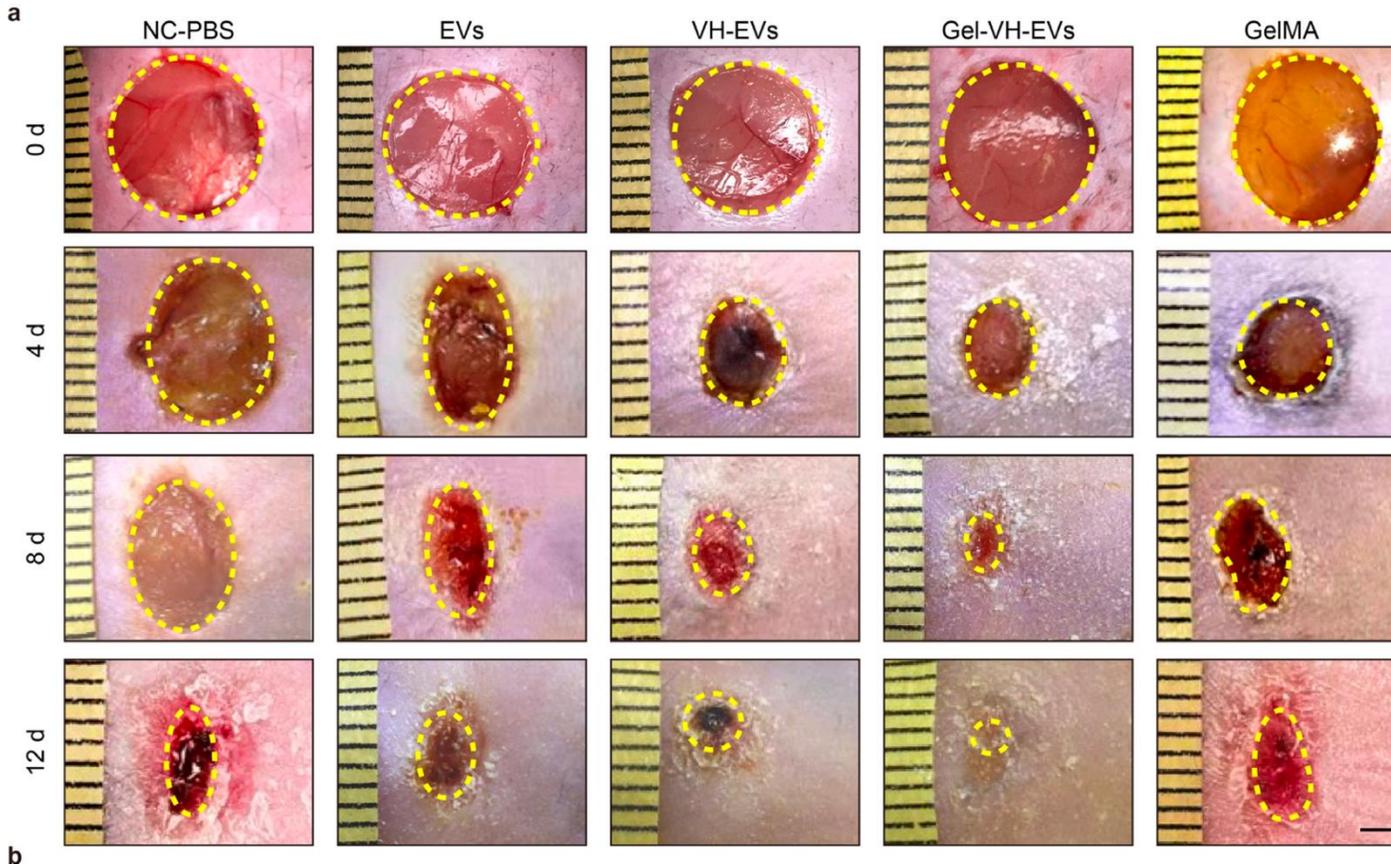


Characterization of BMSC-EVs

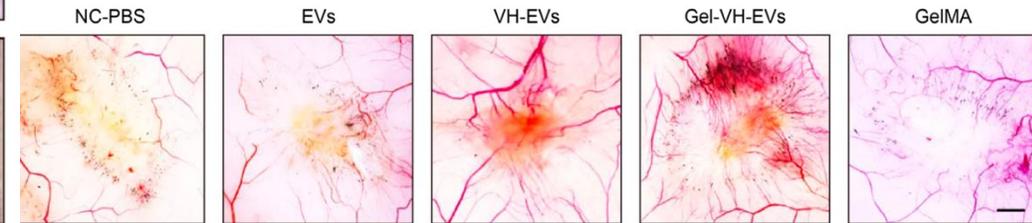


VEs de CSE chargées en VH298: traitement de plaies chroniques associées au diabète

- VEs de CSE chargées
- VH298: induit l'angiogenèse



Néovascularisation au J8



Essais cliniques: VEs en médecine régénérative

Maladie (Nombre de patients)	Essai clinique Phase	Source cellulaire de VEs	Agent thérapeutique	Voie d'administration
Insuffisance rénale chronique (40)	inconnu II/III	MSC - cordon ombilical (allogène)	aucun	inconnues
Mucite post-traitement chimio- et radiothérapeutique (60)	NCT01668849 I	Origine végétale (raisin)	aucun	Voie orale
Diabète de type 1 (20)	NCT02138331	MSC (allogène)	aucun	IV
Ulcère gastroduodéal (5)	NCT02565264	Plasma (autologue)	aucun	Application locale
Trou maculaire (44)	NCT03437759 I	MSC (allogène)	aucun	Application locale
Covid-19	NCT04657458	MSC - moelle épinière	aucun	inconnues
Covid-19 (60)	NCT04493242 II	DB-001	aucun	IV
Pneumopathie associée à la Covid-19 (90)	NCT04602442 II	EXO 1 EXO 2	aucun	Inhalation
Pneumopathie associée à la Covid-19 (30)	NCT04491240 I/II	MSC	aucun	Inhalation
Pneumopathie associée à la Covid-19 (24)	NCT04276987 I	MSC	aucun	Inhalation
Pneumopathie associée à la Covid-19 (60)	NCT04389385 I	Lymphocyte T (Covid-19 spécifique)	aucun	Inhalation
Ulcère veineux (10)	NCT04652531	Sérum (autologue)	aucun	Injection péri- ulcéreuse

Cancer

Inflammation

Dégénérescence
tissulaire

Covid-19

Autres

Essais cliniques: VEs en médecine régénérative

Maladie (Nombre de patients)	Essai clinique Phase	Source cellulaire de VEs	Agent thérapeutique	Voie d'administration
Syndrome de détresse respiratoire aiguë (169)	NCT04602104 I/II	MSC	aucun	Inhalation
Démence liée à Alzheimer (9)	NCT04388982 I/II	MSC	aucun	Administration nasale
Défaillance d'organes multiples (60)	NCT04356300	MSC	aucun	IV
Infarctus aigu du myocarde (18)	NCT04327635 I	PEP	PEP	IV
Inflammation chronique de l'os temporal post- chirurgical (25)	NCT04281901	Plaquette et plasma	aucun	Application locale
Parodontite (10)	NCT04270006 I (phase précoce)	MSC - tissu adipeux	aucun	inconnue
Sécheresse oculaire (27)	NCT04213248 I/II	MSC - cordon ombilical	aucun	Application locale
Névralgie (100)	NCT04202783	Cellules souches néonatales	aucun	IV
Dépression, anxiété, démence (300)	NCT04202770	MSC	aucun	IV
Épidermolyse bulleuse dystrophique (10)	NCT04173650 I/II	MSC (isolement AGLE-102)	aucun	Application locale

Cancer

Inflammation

Dégénérescence
tissulaire

Covid-19

Autres

Production de VEs à grande échelle

Production de VEs thérapeutiques à grande échelle

- Devrait bénéficier des connaissances acquises dans les domaines de productions de protéines thérapeutiques et de thérapie cellulaire

Upstream process

Culture cellulaire, chargement d'agents thérapeutiques



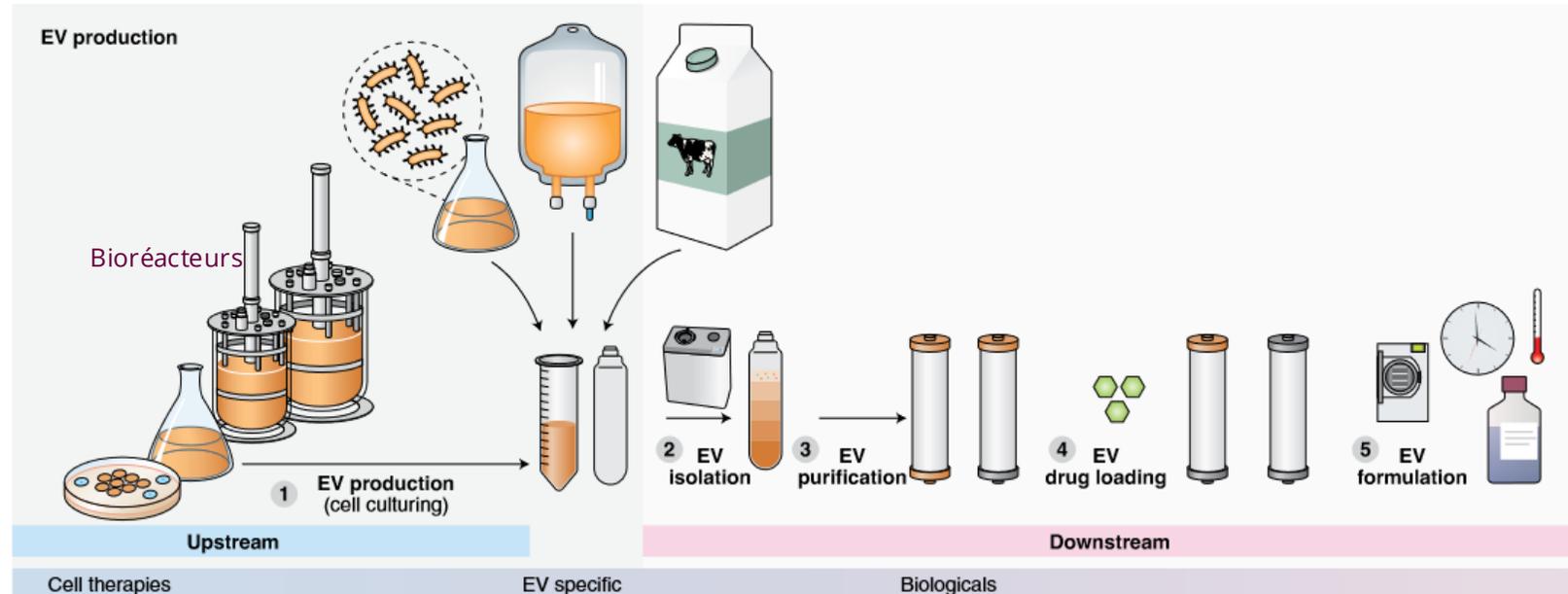
Collection de VEs

Isolement de VEs, ingénierie de VEs



Downstream

Purification de VEs, CQ, formulation, conservation



Production de VEs thérapeutiques à grande échelle

- Devrait bénéficier des connaissances acquises dans les domaines de productions de protéines thérapeutiques et de thérapie cellulaire

Upstream process

Culture cellulaire, chargement d'agents thérapeutiques



Collection de VEs

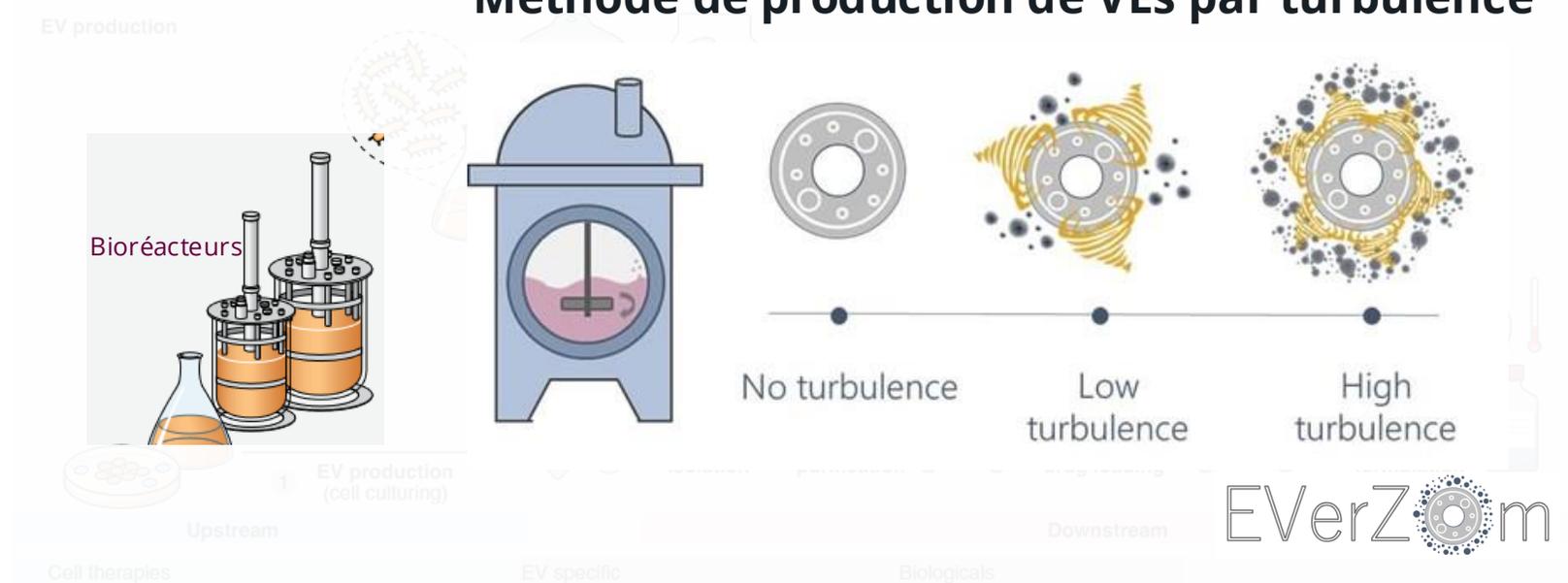
Isolement de VEs, ingénierie de VEs



Downstream

Purification de VEs, CQ, formulation, conservation

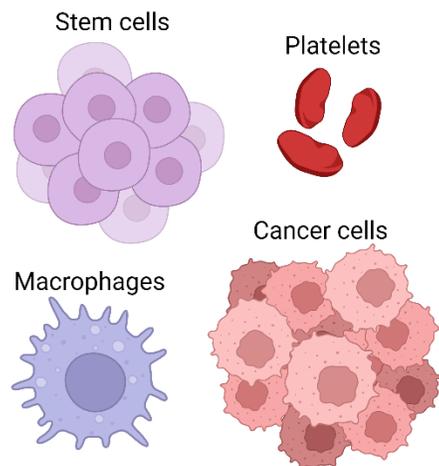
Méthode de production de VEs par turbulence



VEs de différentes sources en thérapie

- Une grande variété de sources cellulaires est explorée (humaine, végétale, bactérienne..)

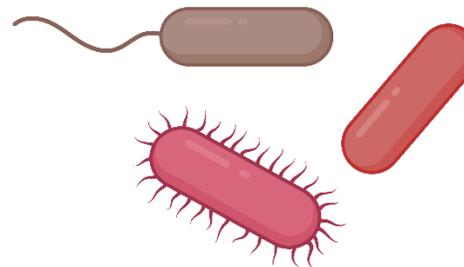
Human cell-derived EVs



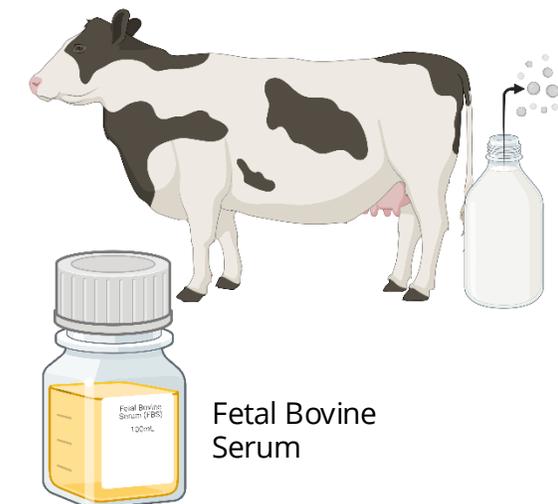
Plant-derived EVs



Bacterial EVs

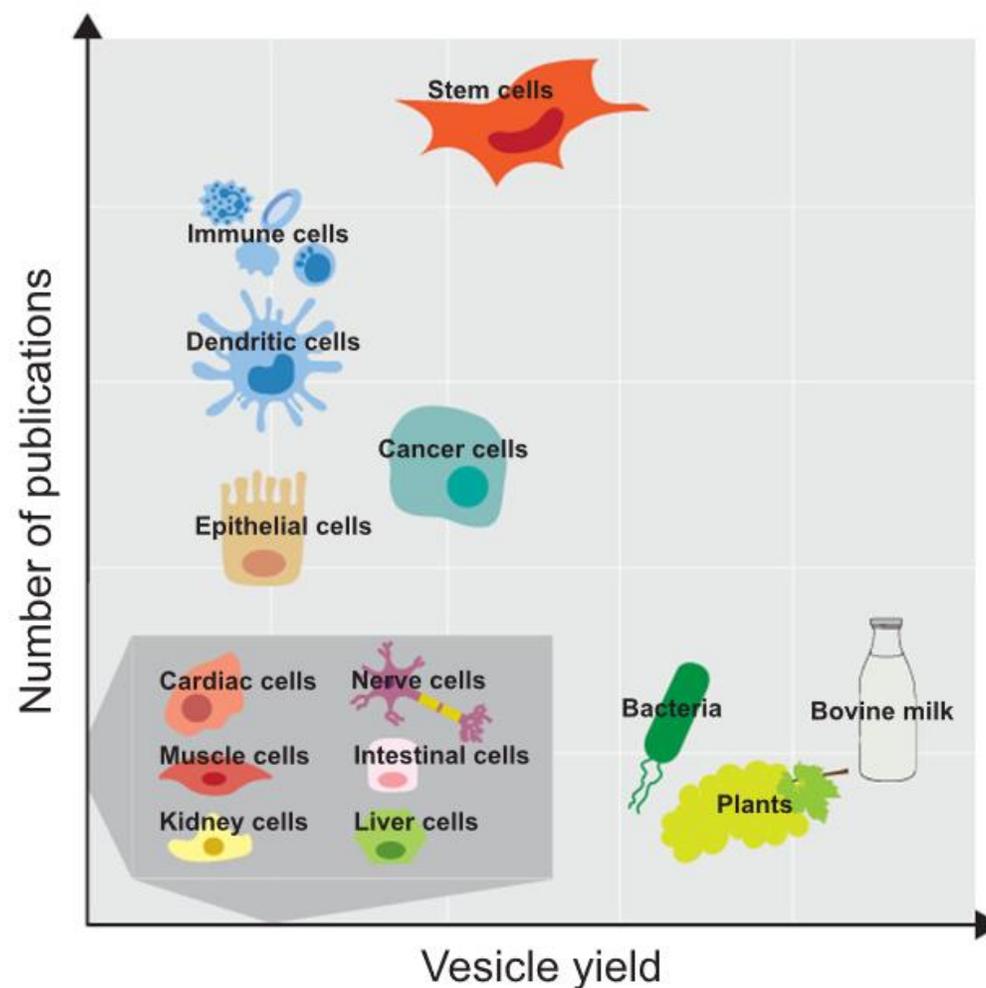


Bovine-derived EVs



VEs de différentes sources en thérapie

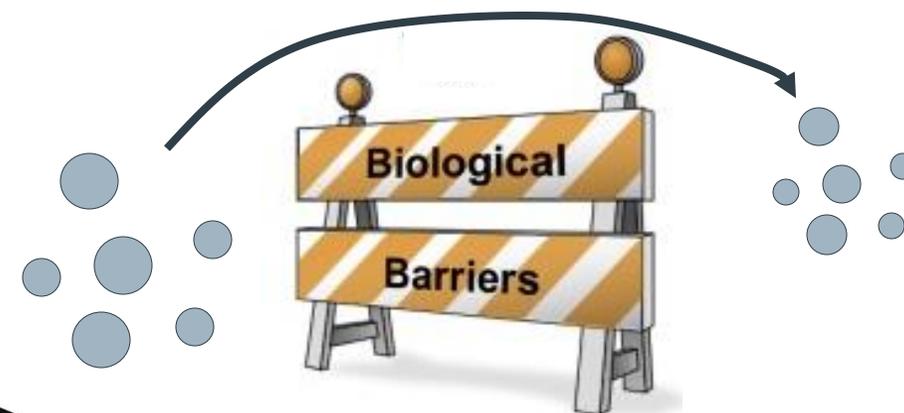
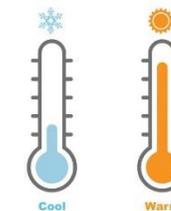
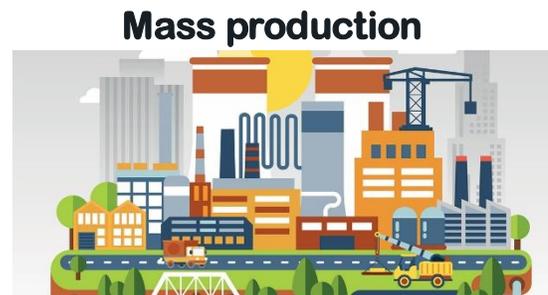
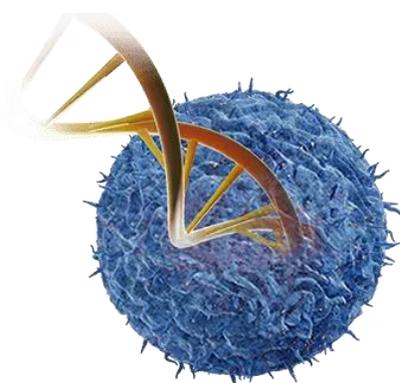
- Une grande variété de sources cellulaires est explorée



Zhu et al., *J Extracell Vesicles*. 2017
Paganini et al., *Biotechnology Journal* 2019
Herrmann et al., *Nat. Nanotechnol.* 2021

Avantages des biothérapies vésiculaires

- Logistiques (disponibilité, stockage, stabilité)
- Capacité de ciblage tissulaire
- Capacité à franchir les barrières biologiques
- Absence de réplication/différenciation
- Diminution du risque d'occlusion vasculaire
- Faible immunogénicité
- Possibilité d'ingénierie
- Coût

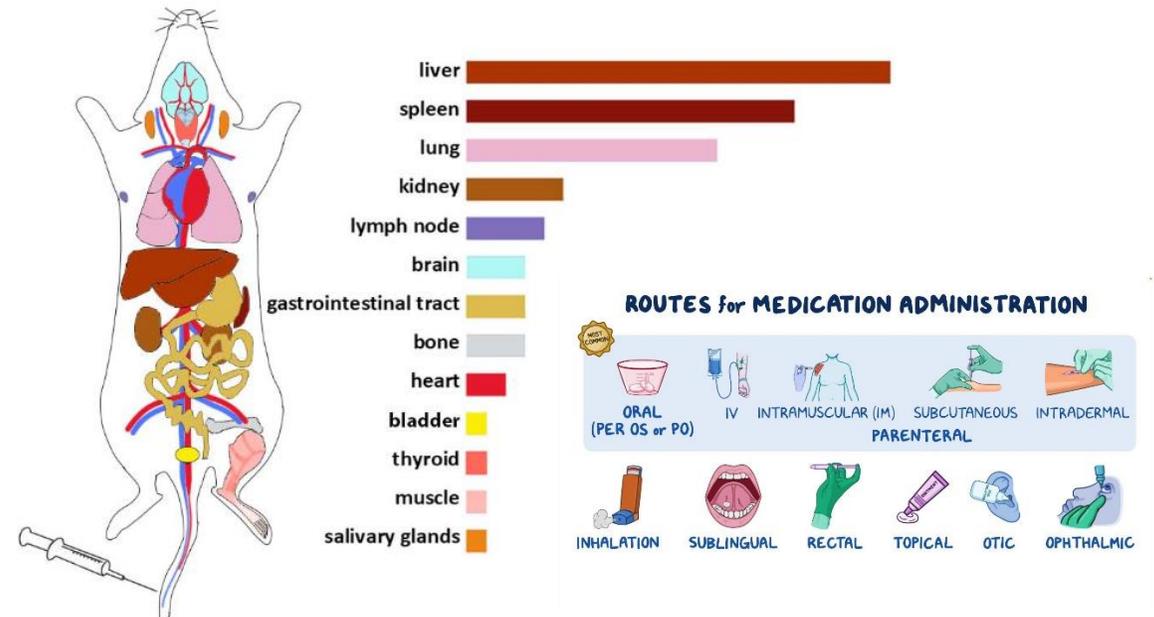


Défis du transfert clinique de thérapie vésiculaires

- La production à grande échelle (conditions de culture cellulaire, reproductibilité, rendement, CQ...)
- Choix de cellules productrices
- Isolement de VEs
- Caractérisation de VEs
- Le choix d'un mode d'administration
- Dose utile
- Aspects réglementaires



Biodistribution in-vivo



Merci...

