

Vésicules Extracellulaires: nouvelles génération de nanovecteurs en thérapie génique

DFASP1

UEL363: Nanomedicine & innovation in drug delivery

2024-2025

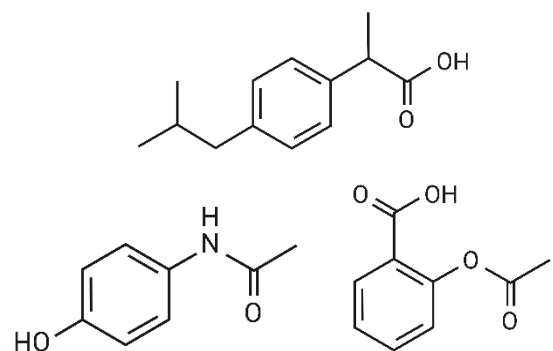
Sommaire

- La thérapie à base d'ARN/AND: introduction
- Les nanovecteurs
- Vésicules extracellulaires: biologie et fonctions
- Potentiel clinique de VEs
- Avantages des VEs comme nanovecteurs
- VEs comme nanovecteurs d'ARN/ADN thérapeutiques
- Production de VEs à grande échelle
- Défis du transfert clinique de VEs

La thérapie à base d'ARN/ADN: introduction

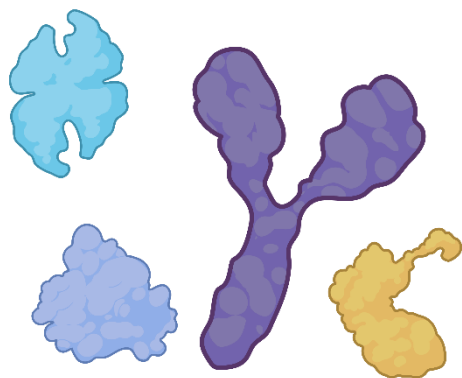
- De petites aux grosses molécules.....

Petites molécules (<500 Da)



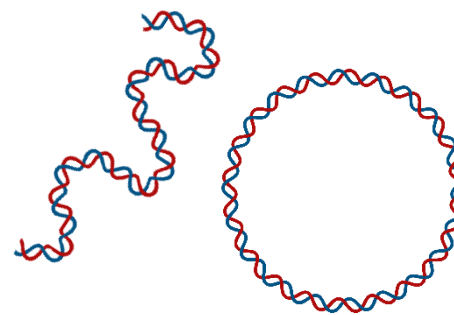
~10% de protéines ont des sites de liaison aux petites molécules

Protéines recombinantes (depuis ~1980's)



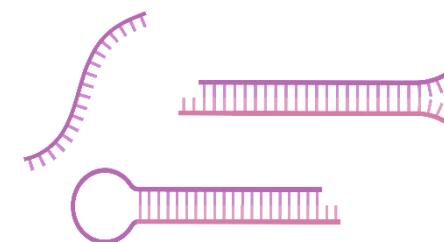
Problèmes de tailles, stabilité, processus de synthèse compliqué

ADN thérapeutiques (pADN, VV..)



Nécessite des nanovecteurs, une localisation nucléaire, risque d'insertion génétique,

ARN thérapeutiques



Nécessite des nanovecteurs

La thérapie à base d'ARN/AND: introduction

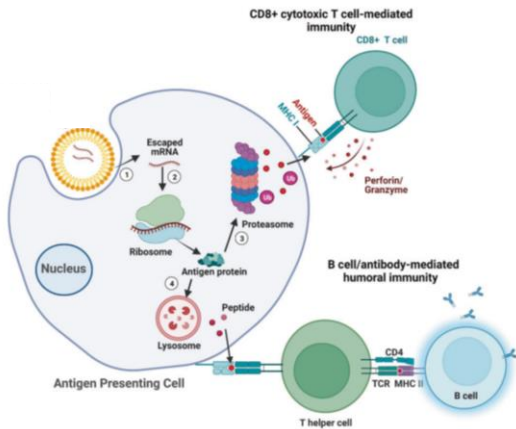
- Introduire du **matériel génétique** (à base d'ADN ou ARN) dans des cellules en vue de **réguler, réparer, remplacer, ajouter ou supprimer une séquence génétique**

Exemples.....

Vaccins à ARNm



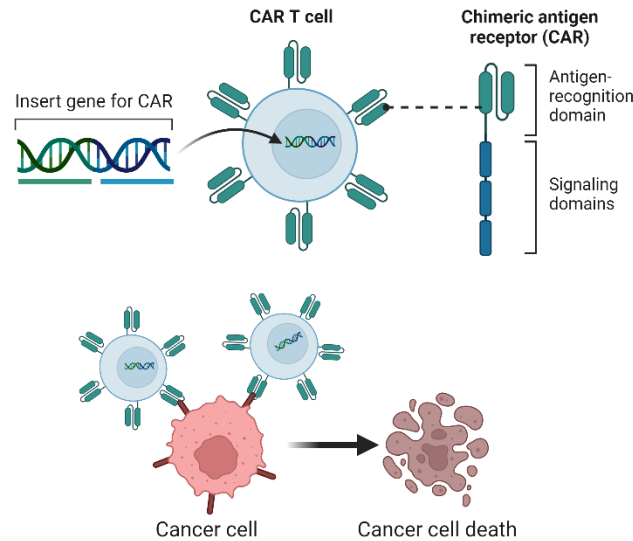
Zhu et al., Cell Death Dis 2022



KYMRIAHTM (Approuvé en 2017 par FDA)

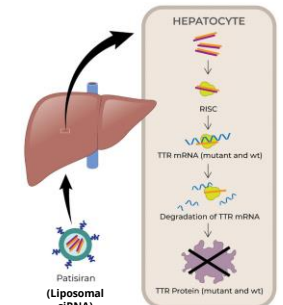


Autologous CD19-targeting CAR T cells to treat Leukemia, lymphoma and pediatric cancer



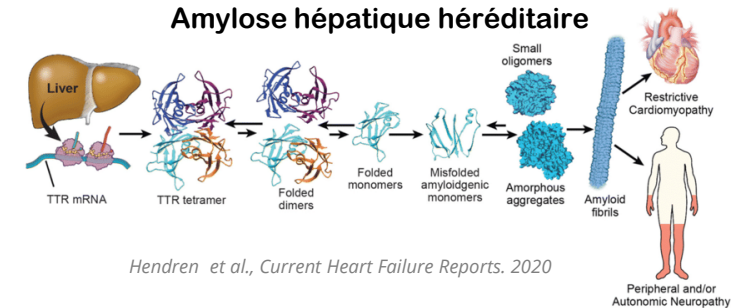
Patrisan (Onpattro) (Approuvé en 2018)

Liposomal siRNA



Damase et al., Front. Bioeng. Biotechnol. 2021

Amylose hépatique héréditaire

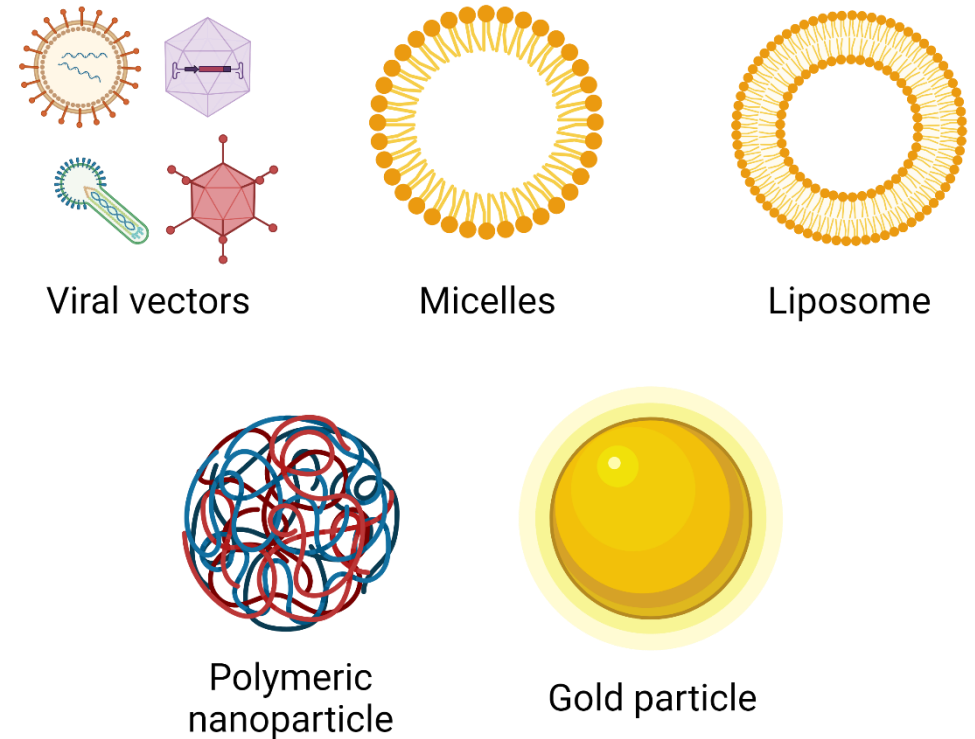


Hendren et al., Current Heart Failure Reports. 2020

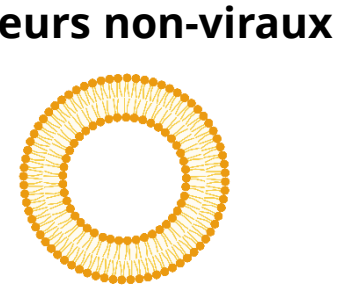
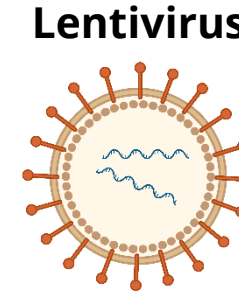
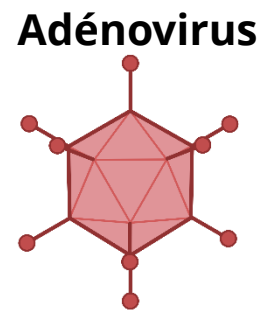
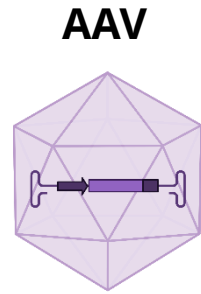
Les vecteurs: clés de succès de la thérapie ADN/ARN

- Vecteur/transporteur doit permettre :
 - Protection du cargo
 - Augmenter leur durée de vie dans la circulation
 - Transfert vers le cible
 - Libération de leur cargaison dans la cellule
- Les vecteurs viraux sont les plus utilisés (75% des essais cliniques)

Delivery nanosystems



Les vecteurs: clés de succès de la thérapie ADN/ARN



Capacité de chargement	! 4.8 kb	30.0 kb	8.0 kb	Illimité
Intégration dans le génome de l'hôte	Rare (< 10%)	Non	! Oui	Rare
Immunogénicité	Relativement faible	! Elevée	Faible	Faible
Avantages	Non pathogène	Transfert efficace dans la plupart des tissus	Expression stable dans les cellules filles	Non virulent
Inconvénients	Transfert de petites séquences d'ADN, cout	Peut induire forte réaction immunitaire	Risque de développer des cancers au moment de l'intégration	Inefficace concernant la transduction, le franchissement de barrières biologiques, élimination rapide

Les vecteurs: clés de succès de la thérapie ADN/ARN

AAV



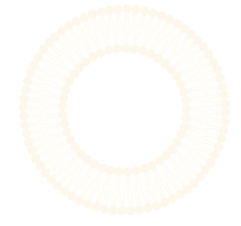
Adénovirus



Lentivirus



Vecteurs non-viraux

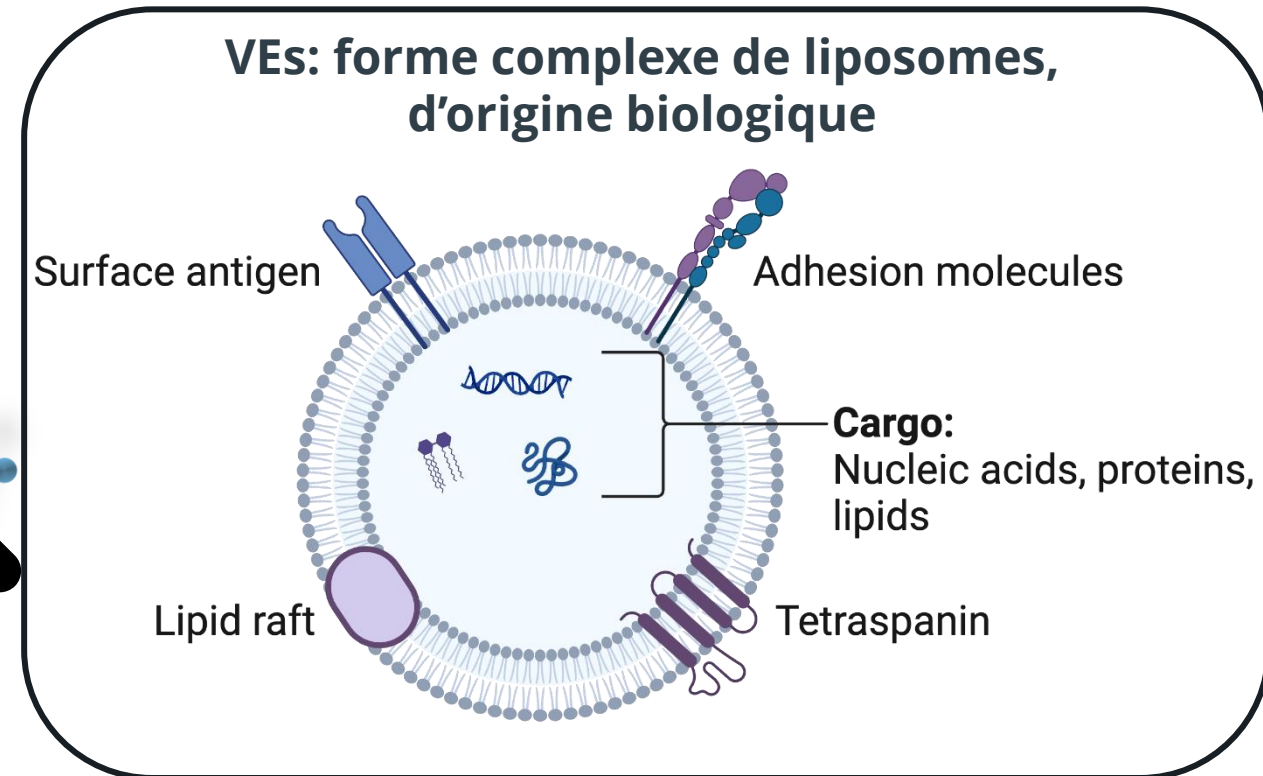
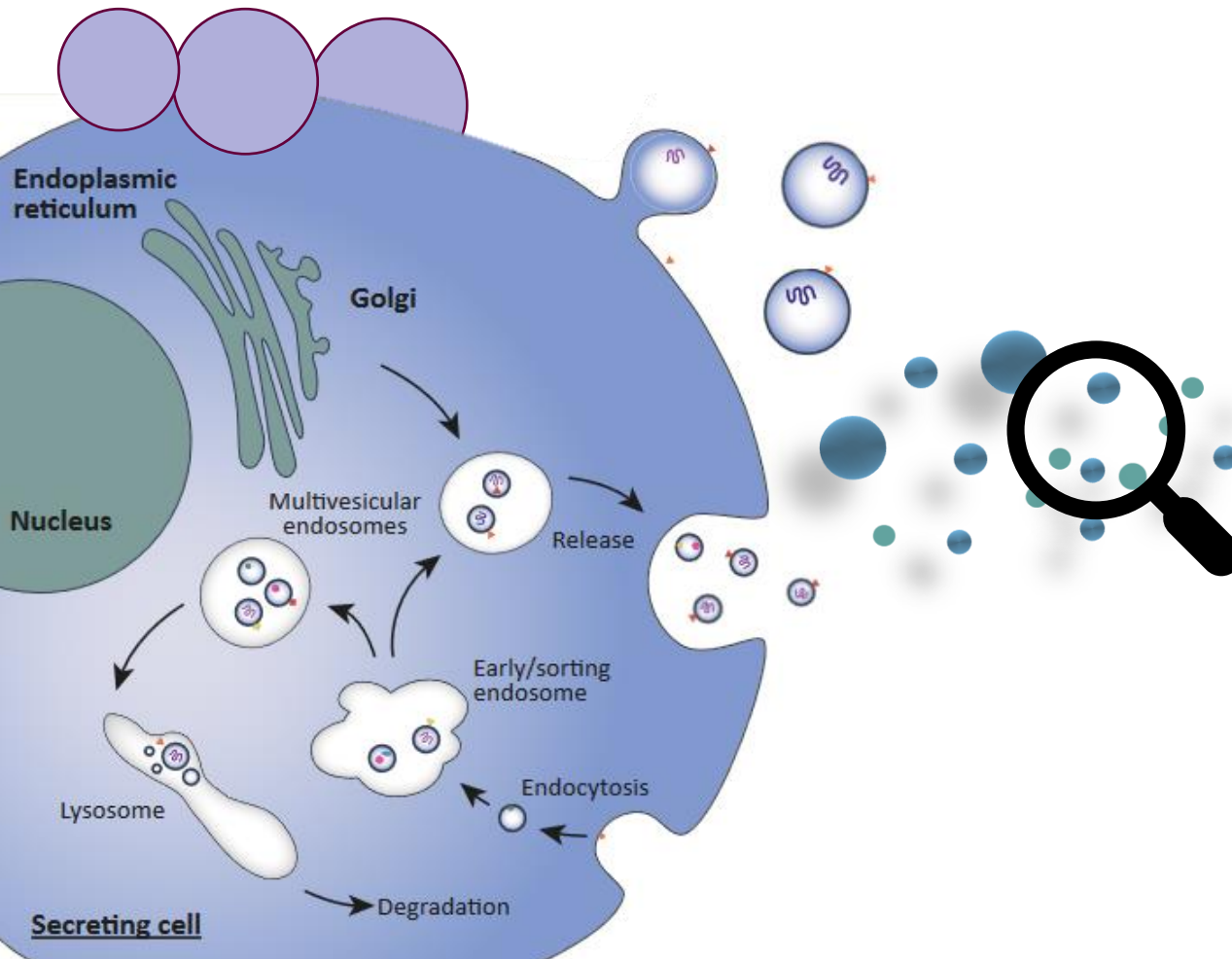


	AAV	Adénovirus	Lentivirus	Vecteurs non-viraux
Capacité de chargement	Illimité	Illimité	Illimité	Illimité
Intégration dans le génome de l'hôte	Rare (< 10%)	Non	Oui	Rare
Immunogénicité	Relativement faible	Elevée	Faible	Faible
Avantages	Non pathogène	Transfert efficace dans la plupart des tissus	Expression stable dans les cellules filles	Non virulent
Inconvénients	Transfert de petites séquences d'ADN, cout	Peut induire forte réaction immunitaire	Risque de développer des cancers au moment de l'intégration	Inefficace concernant la transduction, le franchissement de barrières biologiques, élimination rapide

La recherche se poursuit pour la mise au point de vecteurs non-viraux moins immunogènes, capable de franchir les barrières biologiques et de cibler des cellules spécifiques

Les vecteurs: clés de succès de la thérapie ADN/ARN

- Les vésicules extracellulaires (VEs) suscitent un intérêt considérable en tant que nanovecteurs de médicaments

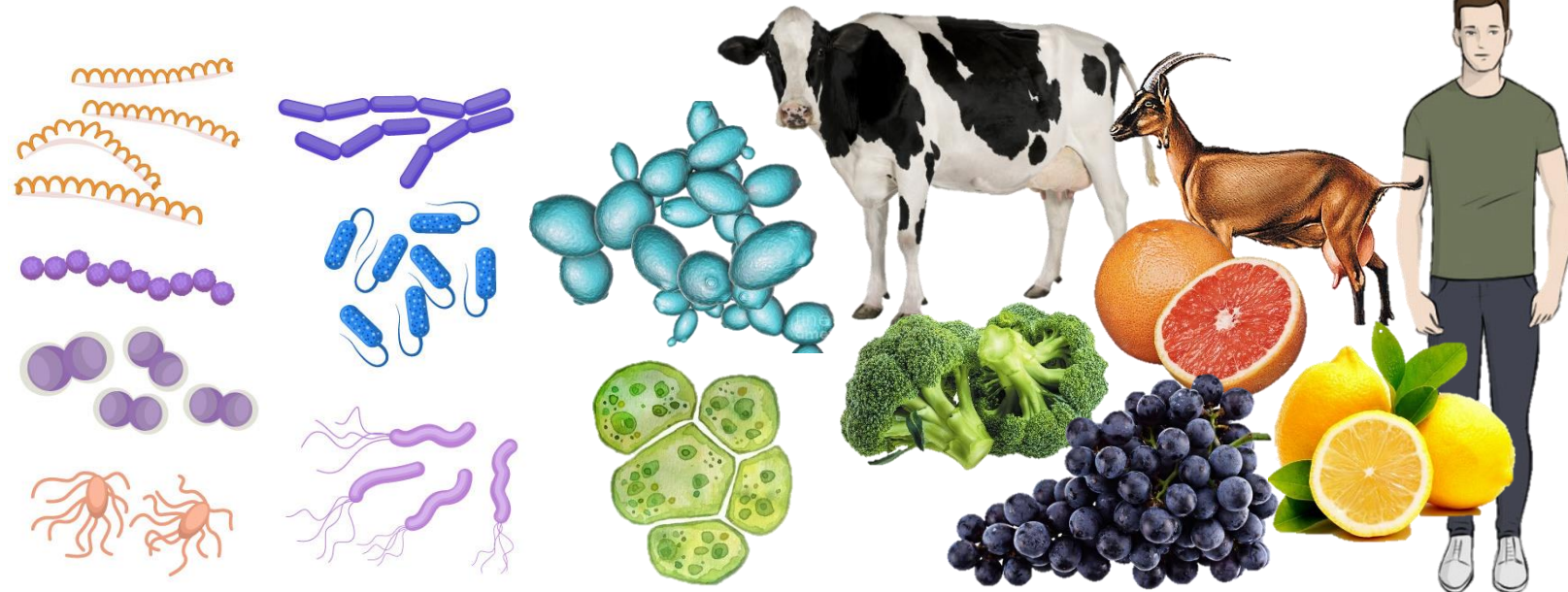
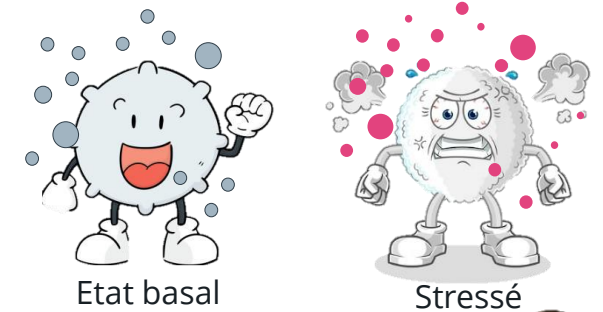
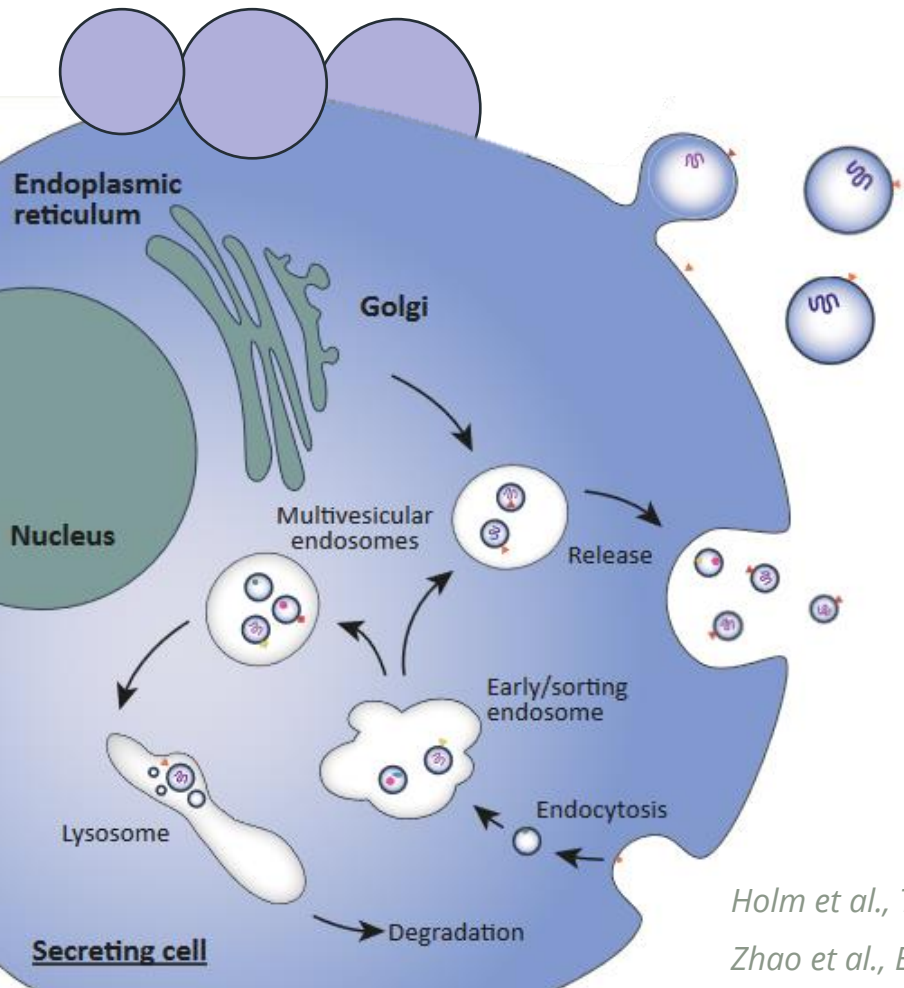


Nouvelle génération de nanovecteurs ???

Vésicules extracellulaires: biologie et fonctions

Vésicules Extracellulaires (VEs)

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

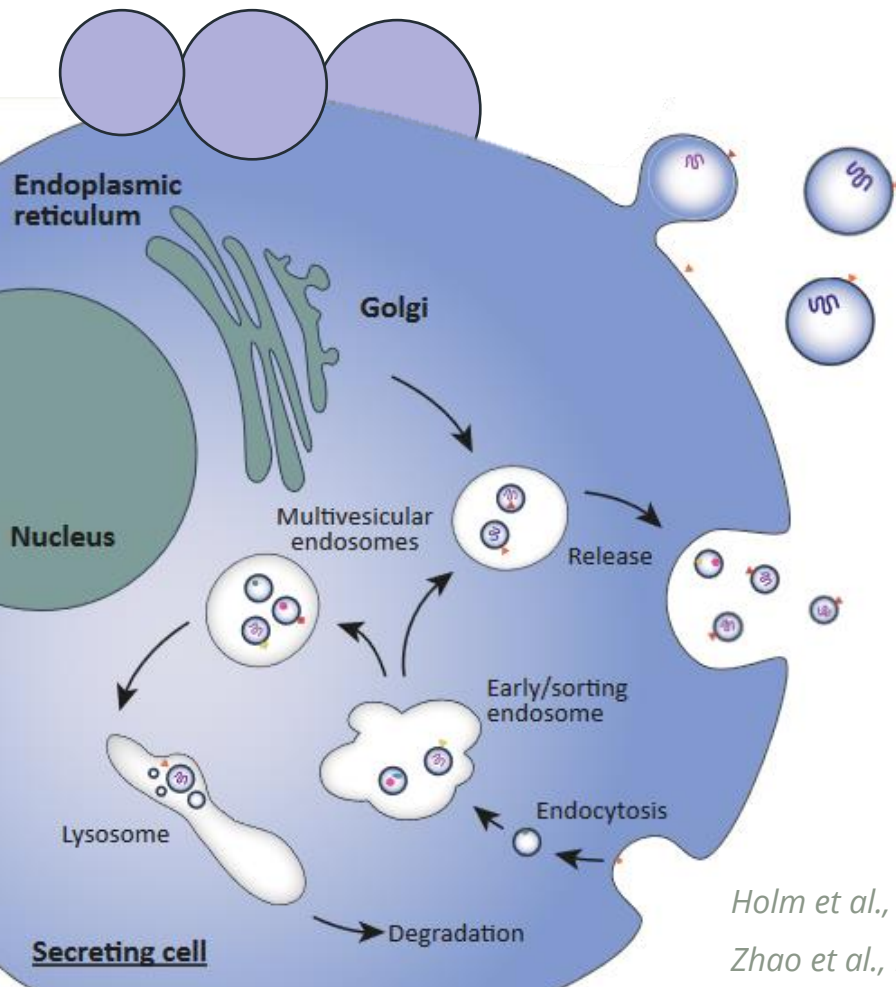


Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021

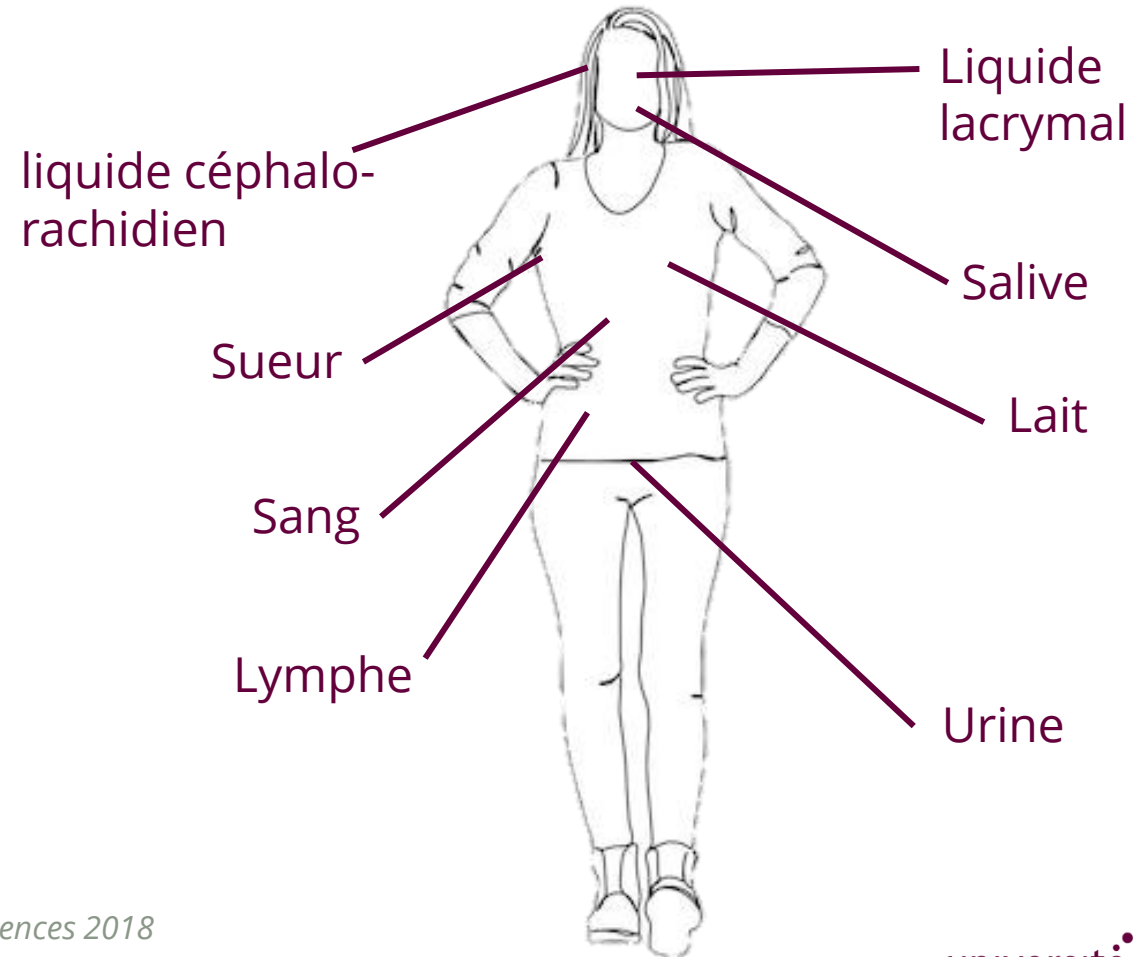
Vésicules Extracellulaires (VEs)

- VEs sont présentes dans les différents bio-fluides



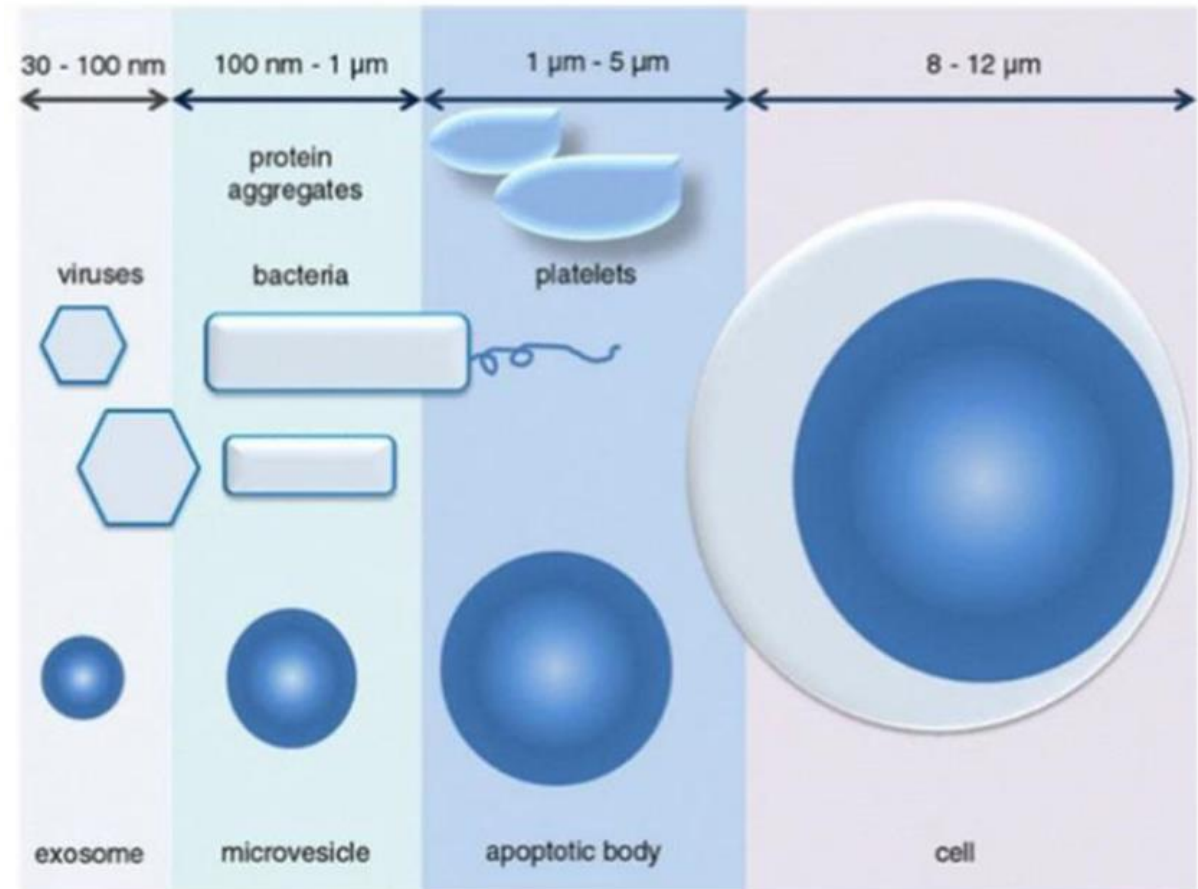
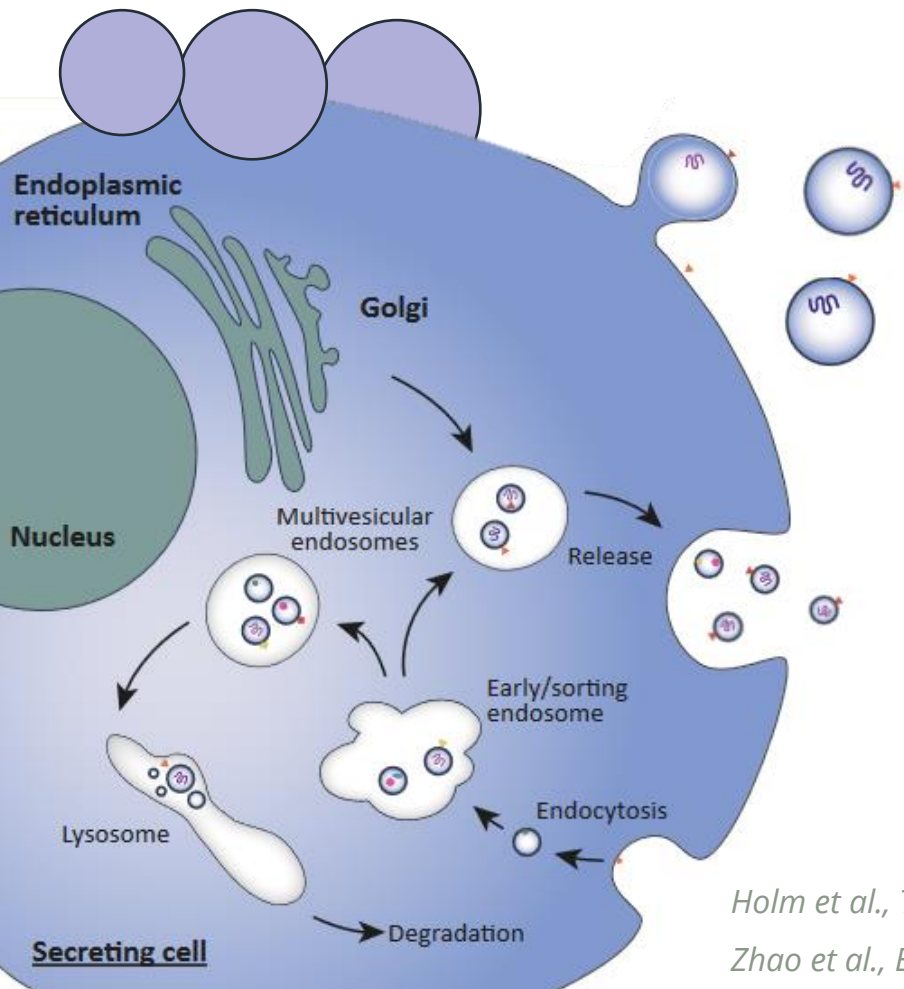
Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021



Vésicules Extracellulaires (VEs)

- Taille nanométrique (30-1000 nm)



Holm et al., Trends in Neurosciences 2018

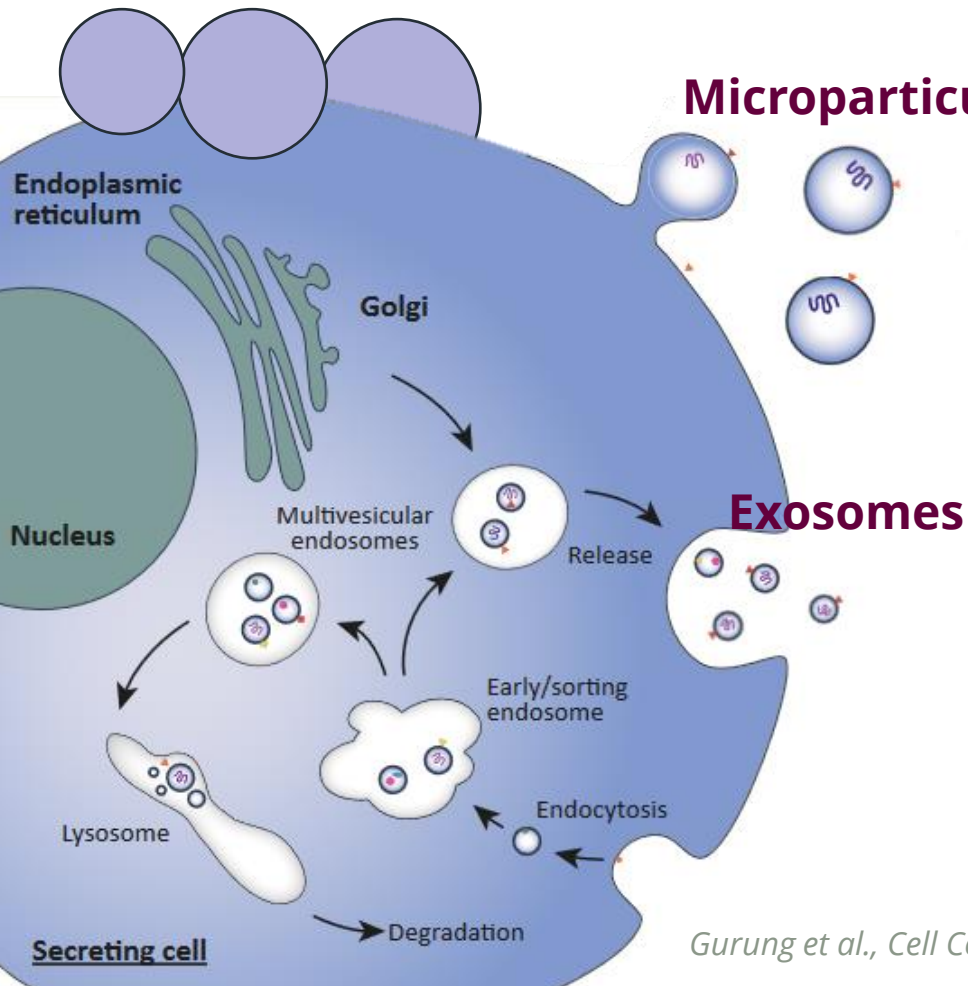
Zhao et al., Extracell Vesicles Circ Nucl Acids 2021

Vésicules Extracellulaires (VEs)

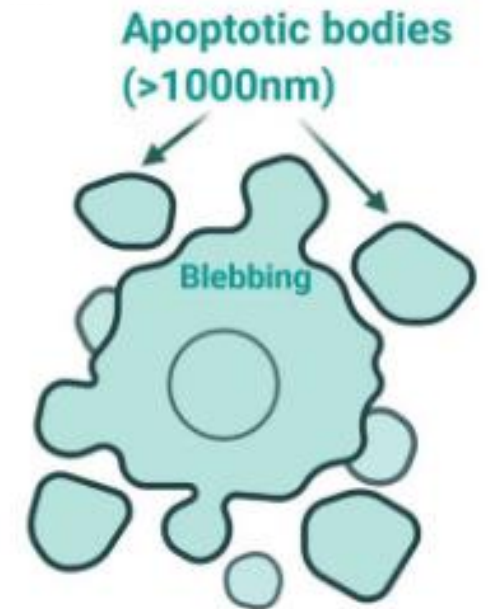
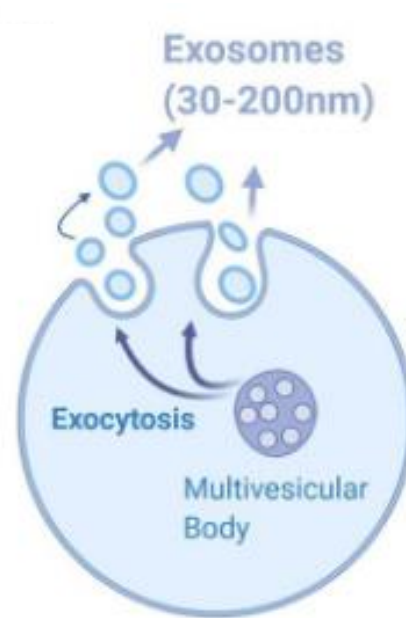


- Différents mode de biogenèse => diverses populations
- Trois grandes familles selon la taille et la biogenèse

Corps apoptotiques



Microparticules



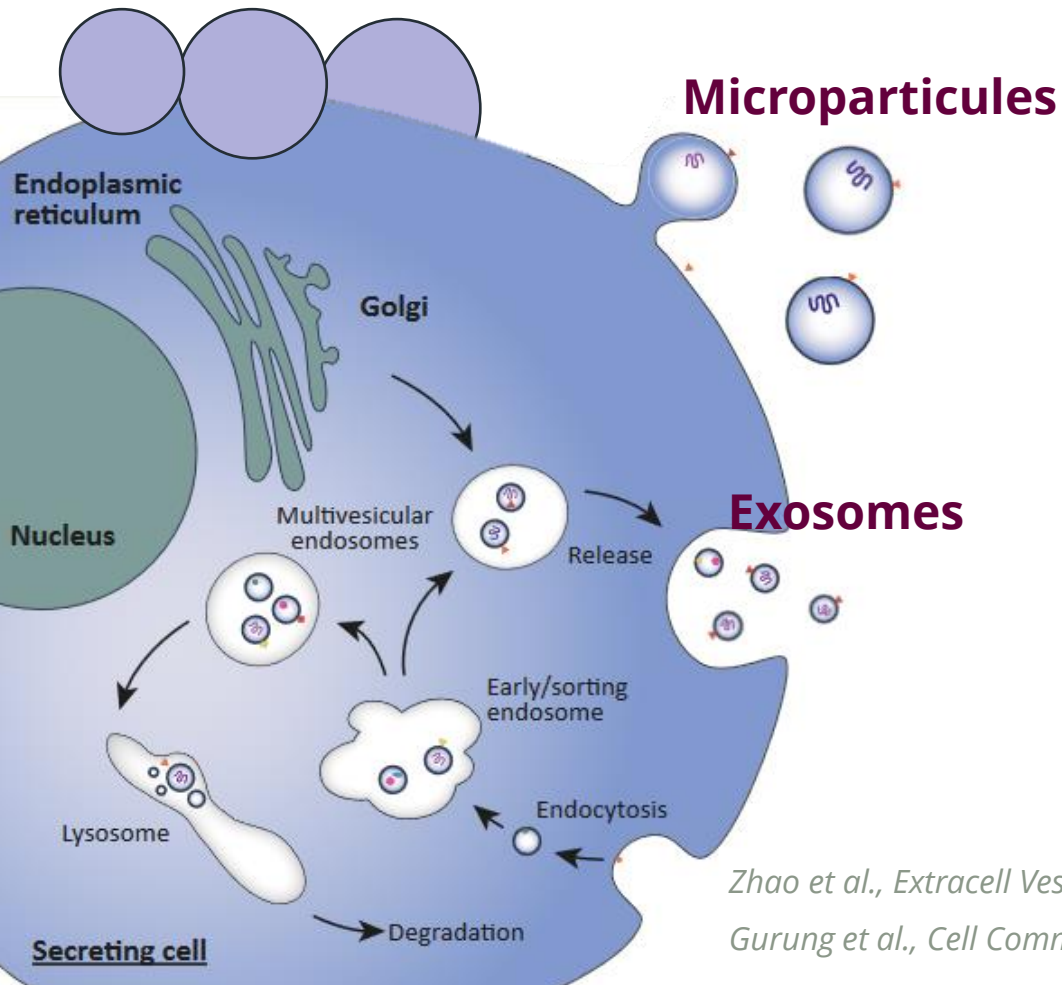
Gurung et al., Cell Communication and Signaling 2021

Biogenèse et classification



- Différents mode de biogenèse => diverses populations

Corps apoptotiques



Microparticules

Exosomes

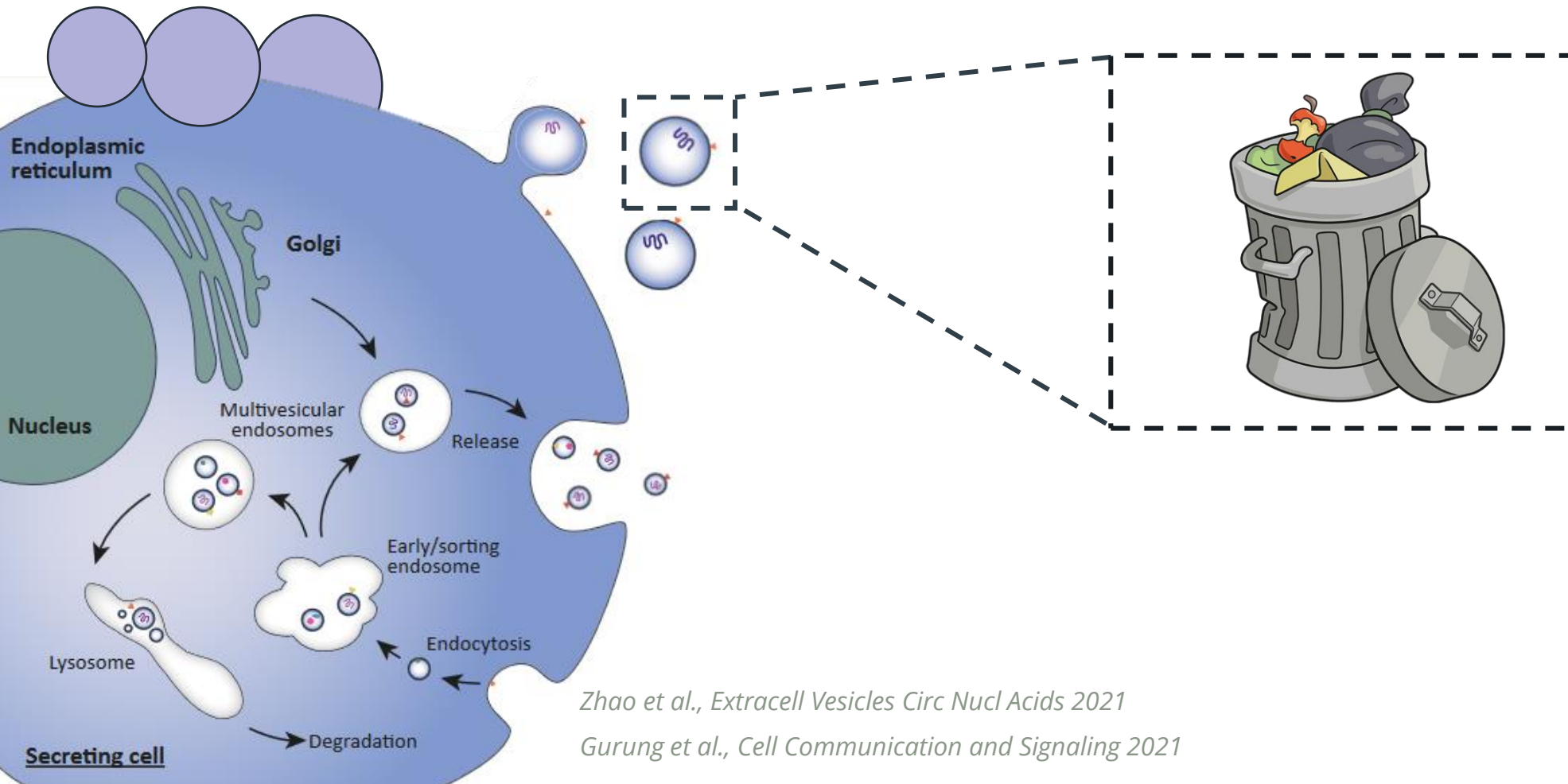
	Exo	MPs	Corps Apo.
Taille	30-200 nm	100-1000 nm	500-5000 nm
Origine	Endosomale	Membranaire	Fragmentation de cellules
Forme	Sphérique	Irrégulier	Variable
Compositions	Protéines, acides nucléiques, lipides et métabolites	Protéines, acides nucléiques, lipides et métabolites	Fragments d'ADN, histones, chromatines, 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

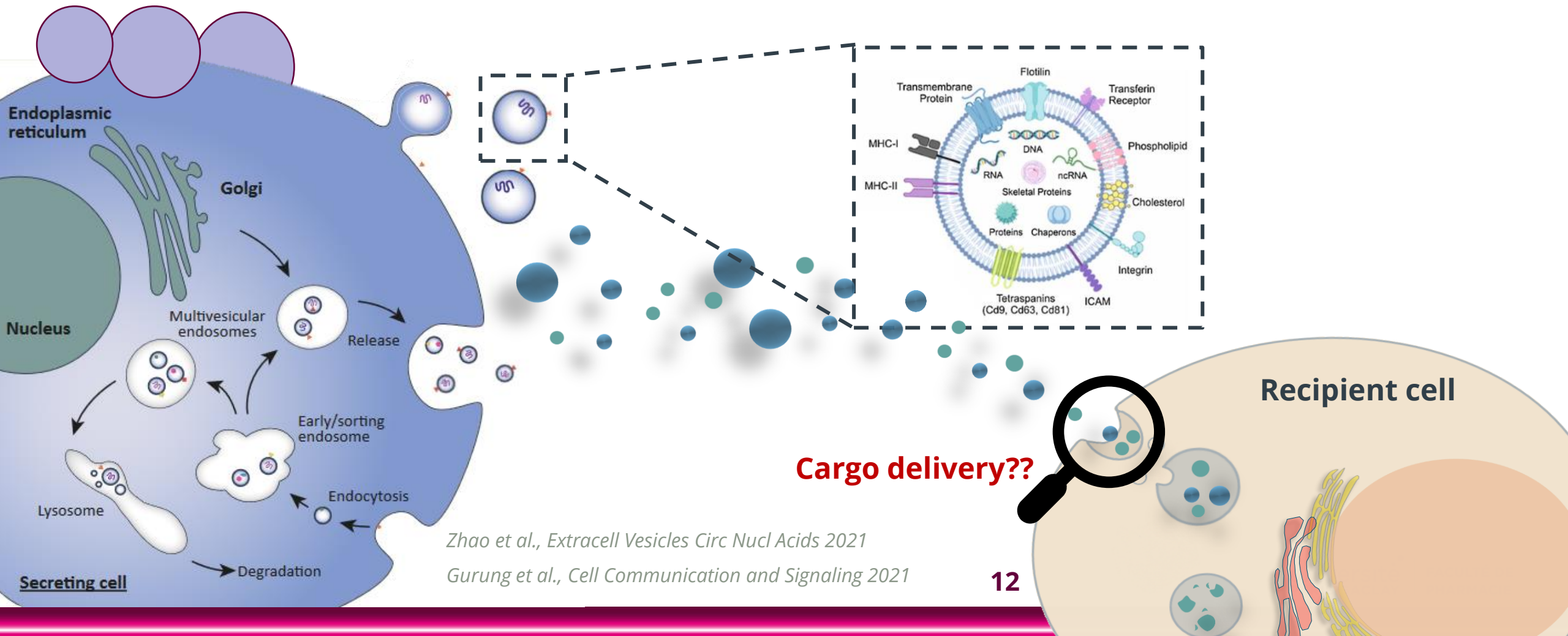
Rôle biologique

- VEs ont été considérées comme des convoyeurs de déchets



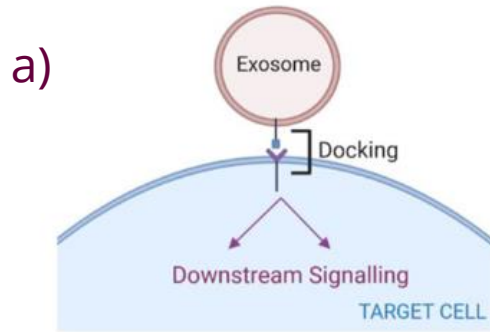
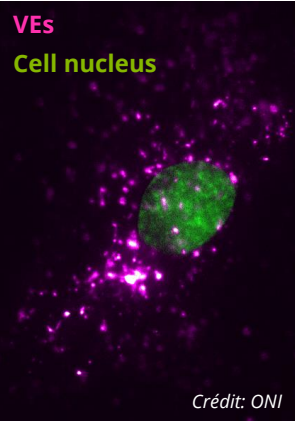
Rôle biologique: communication intercellulaire

- VEs transportent de biomolécules entre cellules

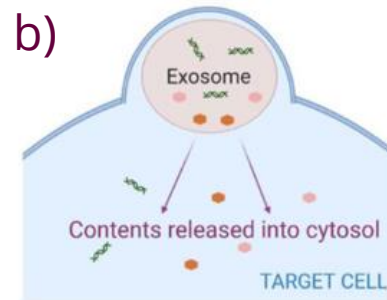


Rôle biologique: communication intercellulaire

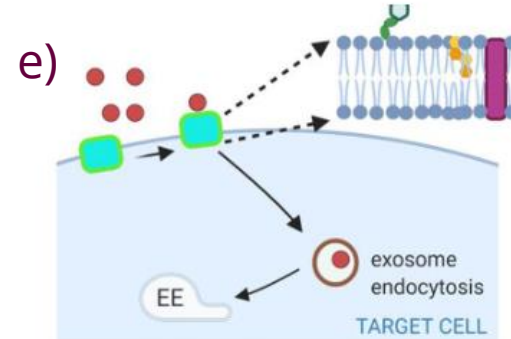
➤ Interactions des VEs avec les cellules cibles via des mécanismes variés



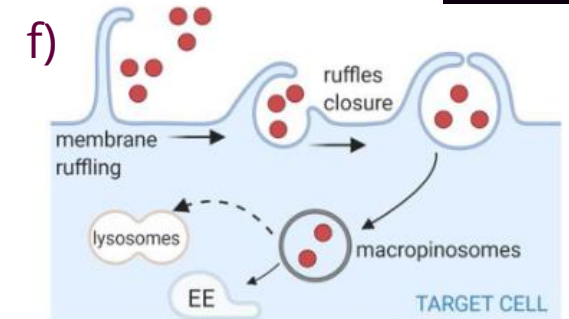
Interaction directe



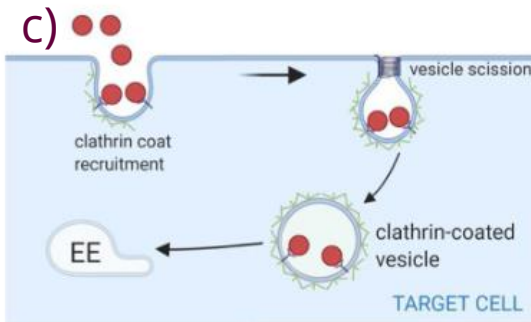
Fusion membranaire



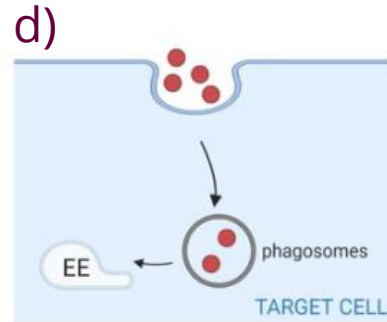
Endocytose dépendante des radeaux lipidiques



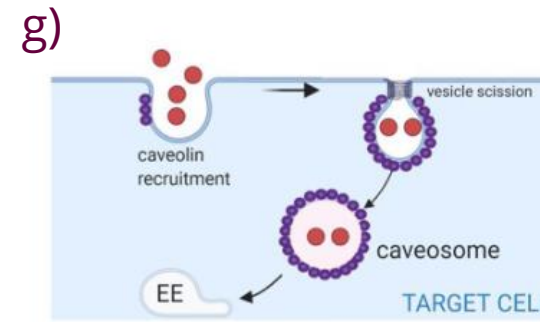
Macropinocytose



endocytose dépendante de la clathrine



Phagocytose

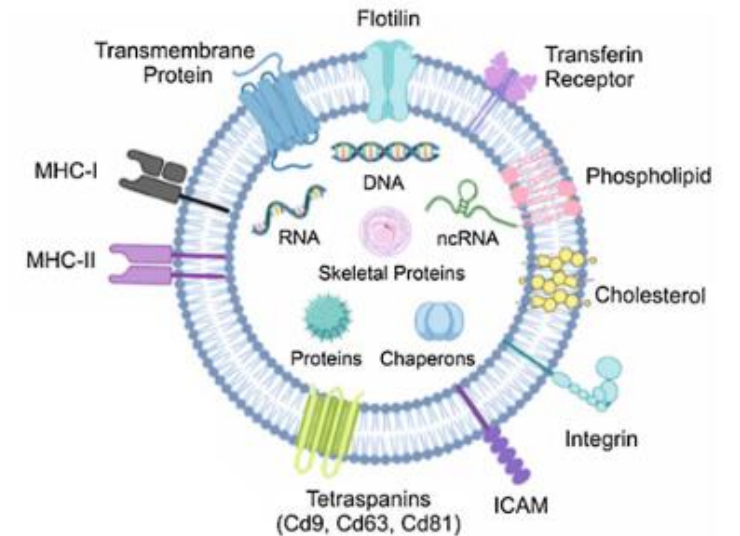


Endocytose dépendante de la cavéoline



Composition 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

ExoCarta

Vesiclepedia

EVpedia

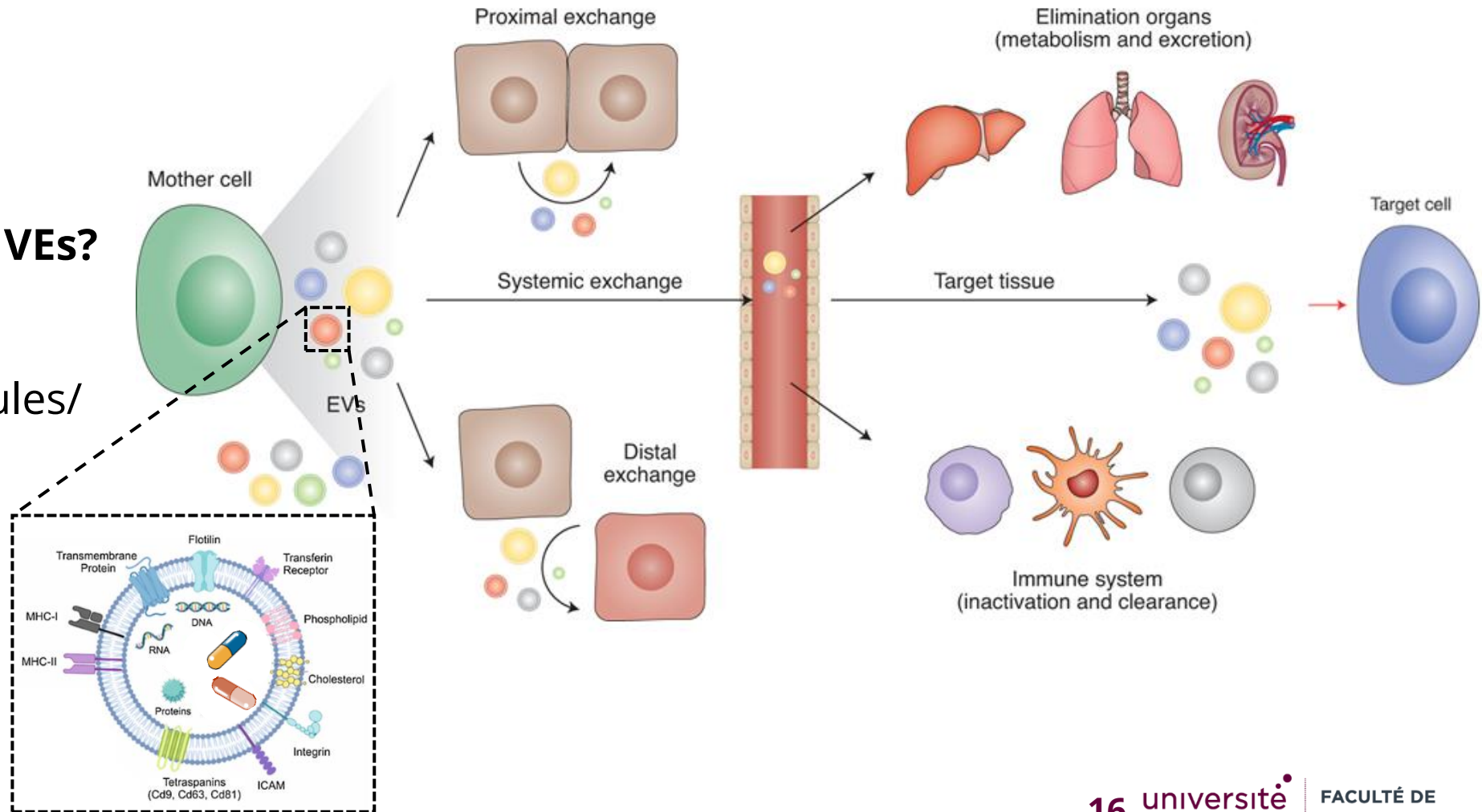
Potentiels cliniques de VEs

Exploiter les VEs ??

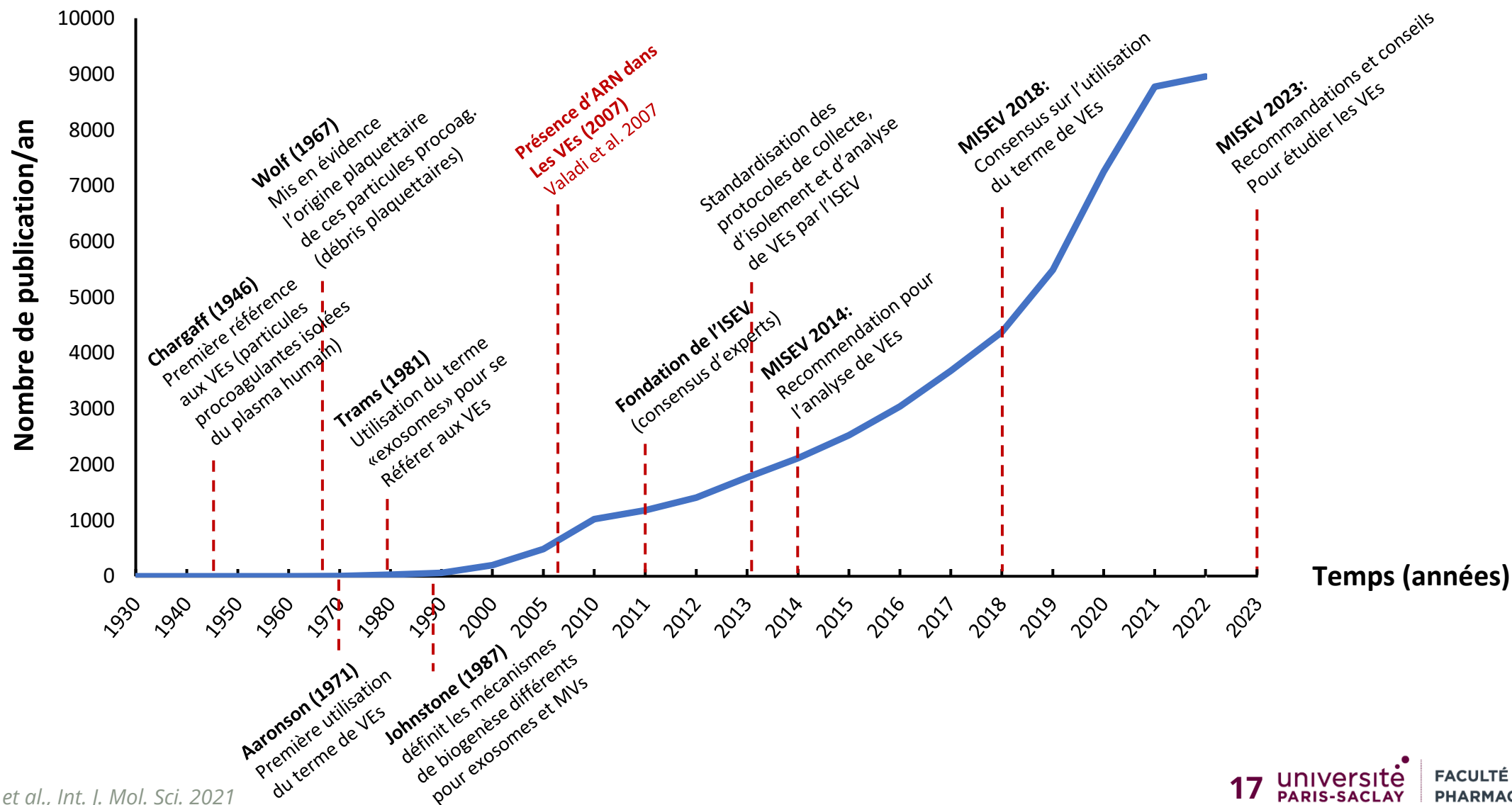


Comment exploiter les VEs?

- Biomarqueurs
- Vecteurs de biomolécules/ médicaments



Intérêt croissant porté à l'étude de VEs



VEs comme biomarqueurs prometteurs.....

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)

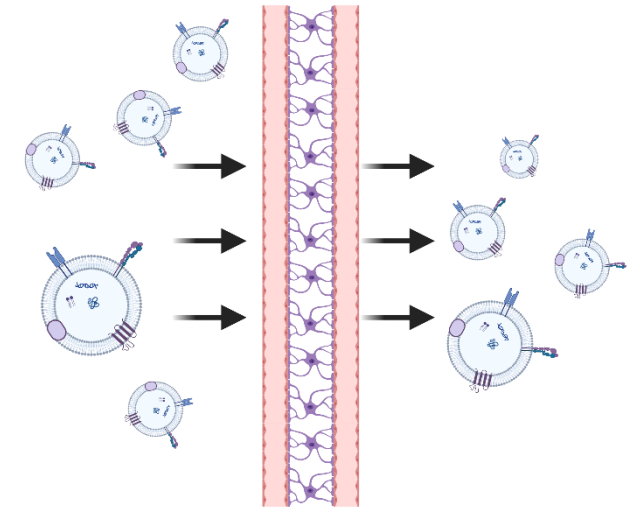
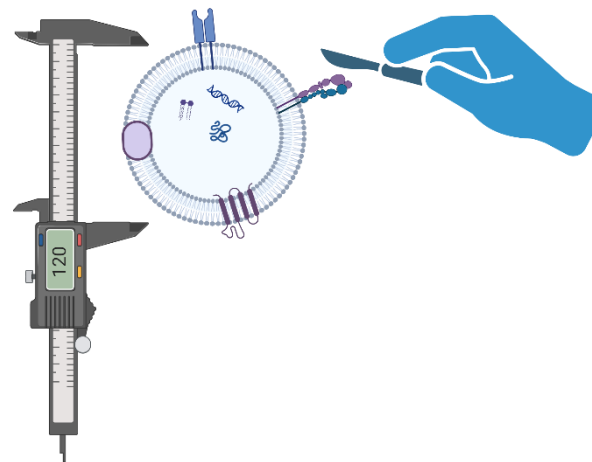
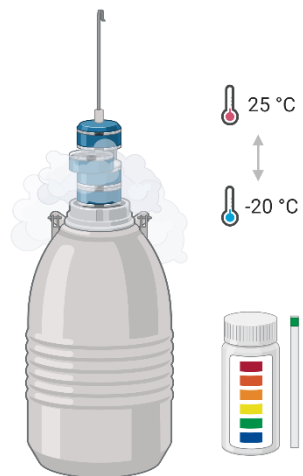
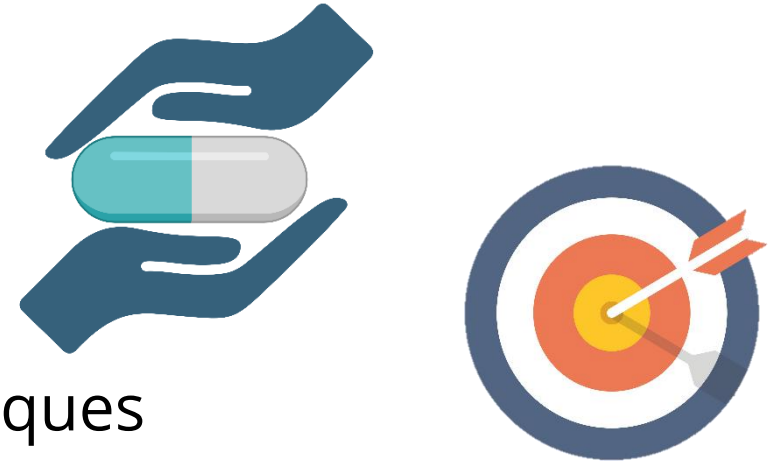
Pathology	Source	EV type	Donor cells	Biomarker	Function	Detection method	References
Coronary artery disease, type 2 diabetes	Plasma	MVs	Endothelial cells	CD144, CD31, CD62E	Leukocyte adhesion, inflammation	Leukocyte adhesion, inflammation Flow cytometry	Flow cytometry Bernal-Mizrachi et al., 2003; Koga 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 cancer 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
Systemic lupus erythematosus	Urine	EXOs	Nephron cells	miR-146a	Renal inflammation, fibrosis	RT-PCR	Perez-Hernandez et al., 2015
Lupus nephritis	Urine	EXOs	Epithelial cells	miR-29c	Renal fibrosis reduction	RT-PCR	Sole et al., 2015
Rheumatoid arthritis	Plasma	MVs	Platelets	CD61	Inflammation, thrombosis	Flow cytometry	Knijff-Dutmer et al., 2002
Rheumatoid arthritis	Synovial fluid	MVs	Platelets	CD41	Inflammation	Flow cytometry	Boilard et al., 2010
Rheumatoid arthritis	Synovial fluid	MVs	Leukocytes	CD66b, CD14	Coagulation	Flow cytometry	Berckmans et al., 2002
Preeclampsia	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



VEs comme nanovecteurs d'agents thérapeutiques

Avantages de VEs comme nanovecteurs

- Biocompatibilité
- Absence de réplication/différenciation
- Capacité de ciblage
- Pénétration de tissus/franchir les barrières biologiques
- Possibilités d'ingénierie
- Atouts logistiques (stockage, stabilité, disponibilité)

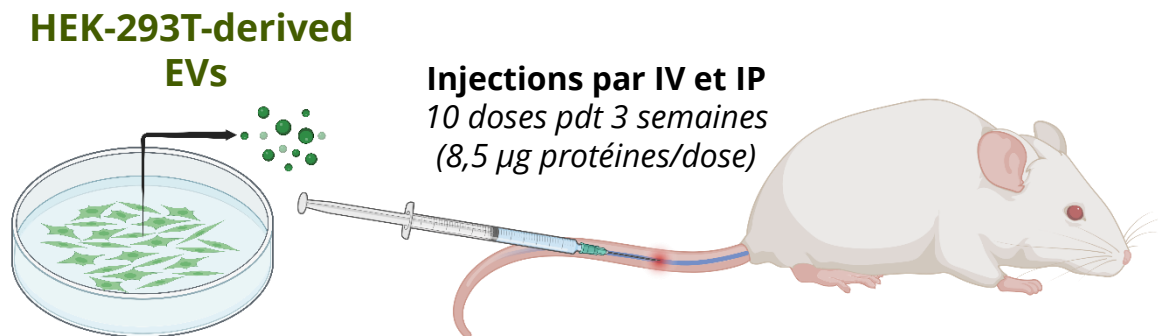


Biocompatibilité

- La majorité des études n'ont signalé **aucun risque de sécurité** lié à l'administration de VEs provenant de divers types cellulaires.
 - que les VEs soient d'origine **allogénique** ou **autologue**
 - **sécurité inter-espèces**

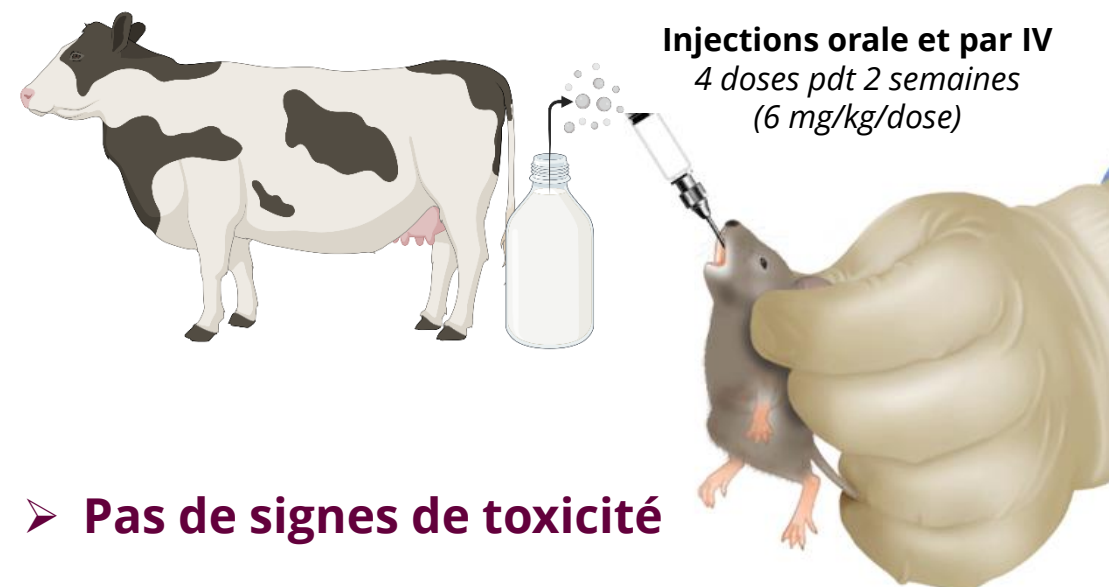


Injection de VEs humaines dans des souris



- **Pas de signes de toxicité**

Injection de VEs bovines dans des souris



- **Pas de signes de toxicité**

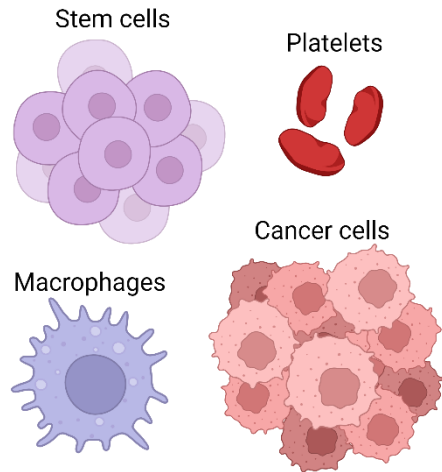
Biocompatibilité

- La majorité des études n'ont signalé **aucun risque de sécurité** lié à l'administration de VEs provenant de divers types cellulaires.
 - que les VEs soient d'origine **allogénique** ou **autologue**
 - **sécurité inter-espèces**



Diverses sources de VEs sont explorées

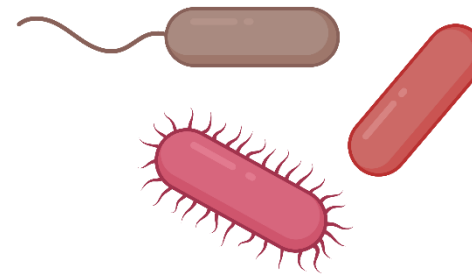
VEs de cellules humaines



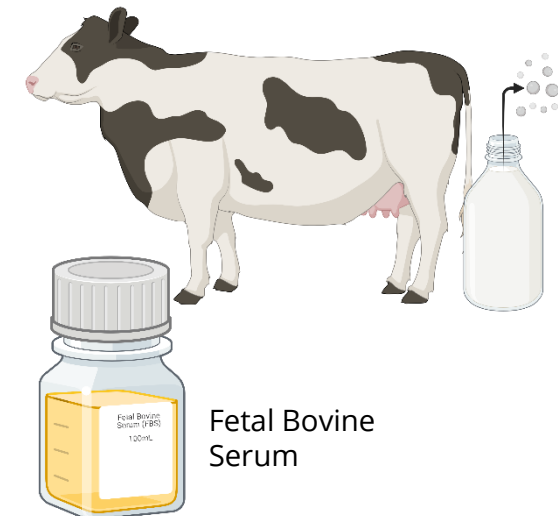
VEs d'origine végétale



VEs de bactéries



Vésicules bovines



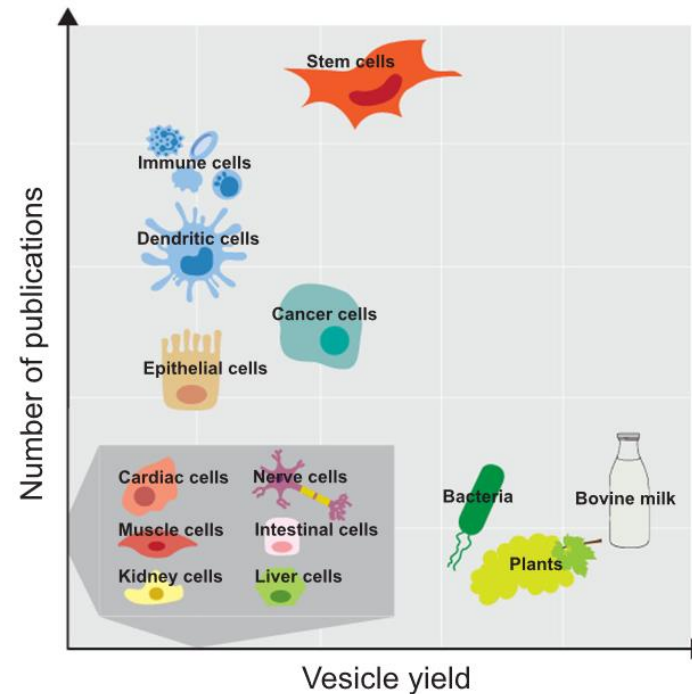
Zhu et al., *J Extracell Vesicles*. 2017
Paganini et al., *Biotechnology Journal* 2019
Herrmann et al., *Nat. Nanotechnol.* 2021

Biocompatibilité

- La majorité des études n'ont signalé **aucun risque de sécurité** lié à l'administration de VEs provenant de divers types cellulaires.
 - que les VEs soient d'origine **allogénique** ou **autologue**
 - **sécurité inter-espèces**



Diverses sources de VEs sont explorées



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

Capacité de ciblage

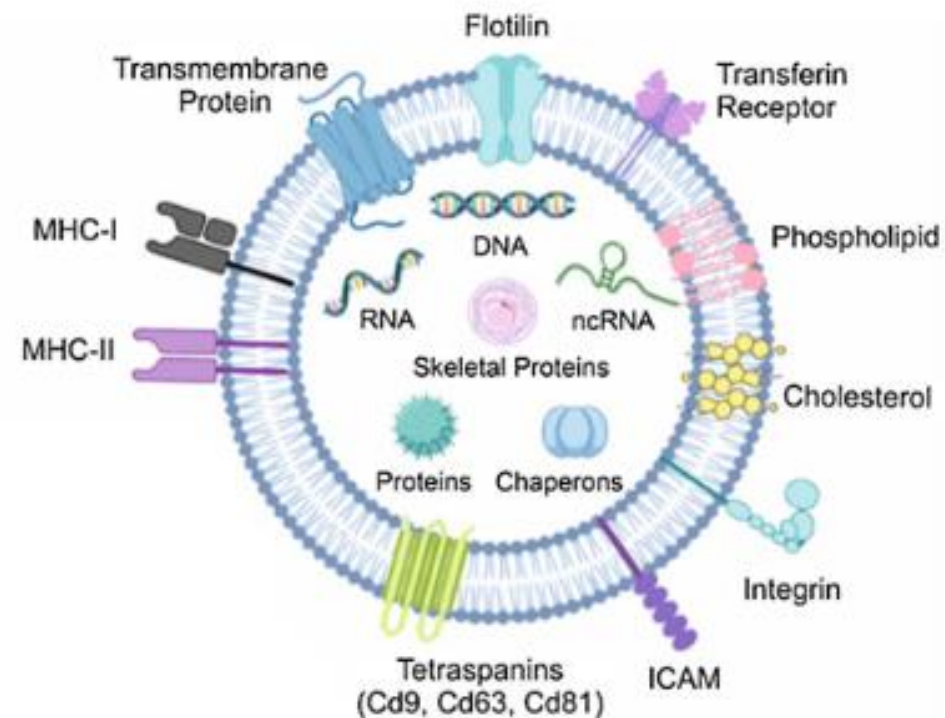
- Les VE expriment des molécules de surface spécifiques aux cellules mères => **capacité de ciblage inhérente** => **Internalisation efficace**



➤ L'origine cellulaire des VE détermine leur tropisme

Exemples:

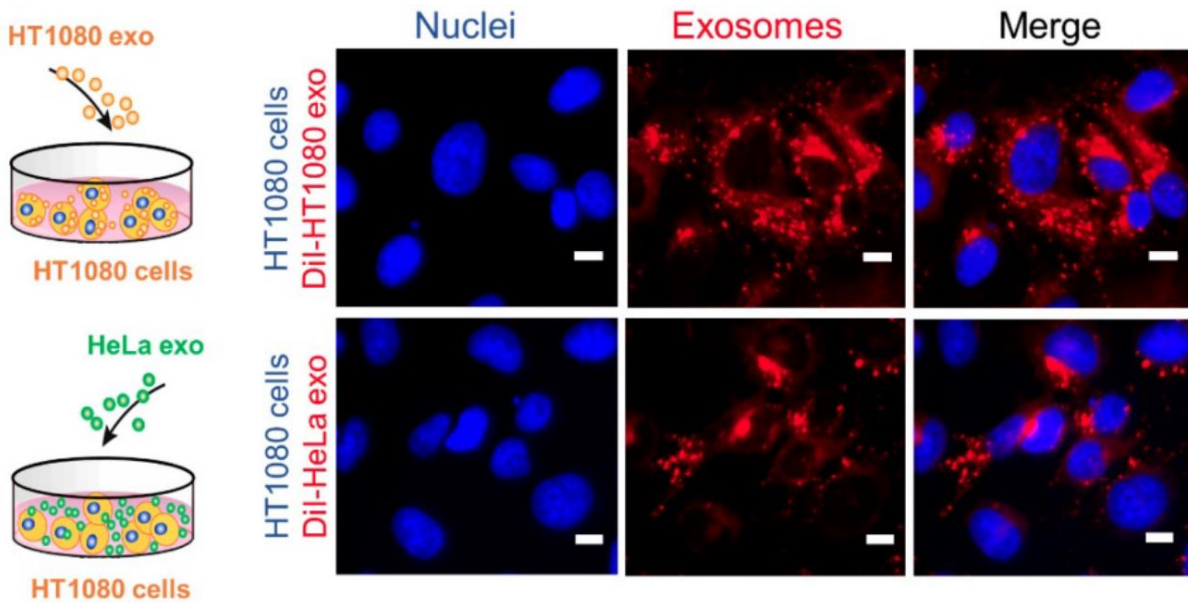
- Les VEs de cellules T ciblent les CPA
- VEs de diverses cellules tumorales ont montré une affinité pour les cellules épithéliales et les fibroblastes
- VEs de cellules sarcomateuses ciblent spécifiquement les tissus tumoraux dont elles sont originaires



Capacité de ciblage

- VEs de cellules sarcomateuses ciblent spécifiquement les tissus tumoraux dont elles sont originaires

In vitro

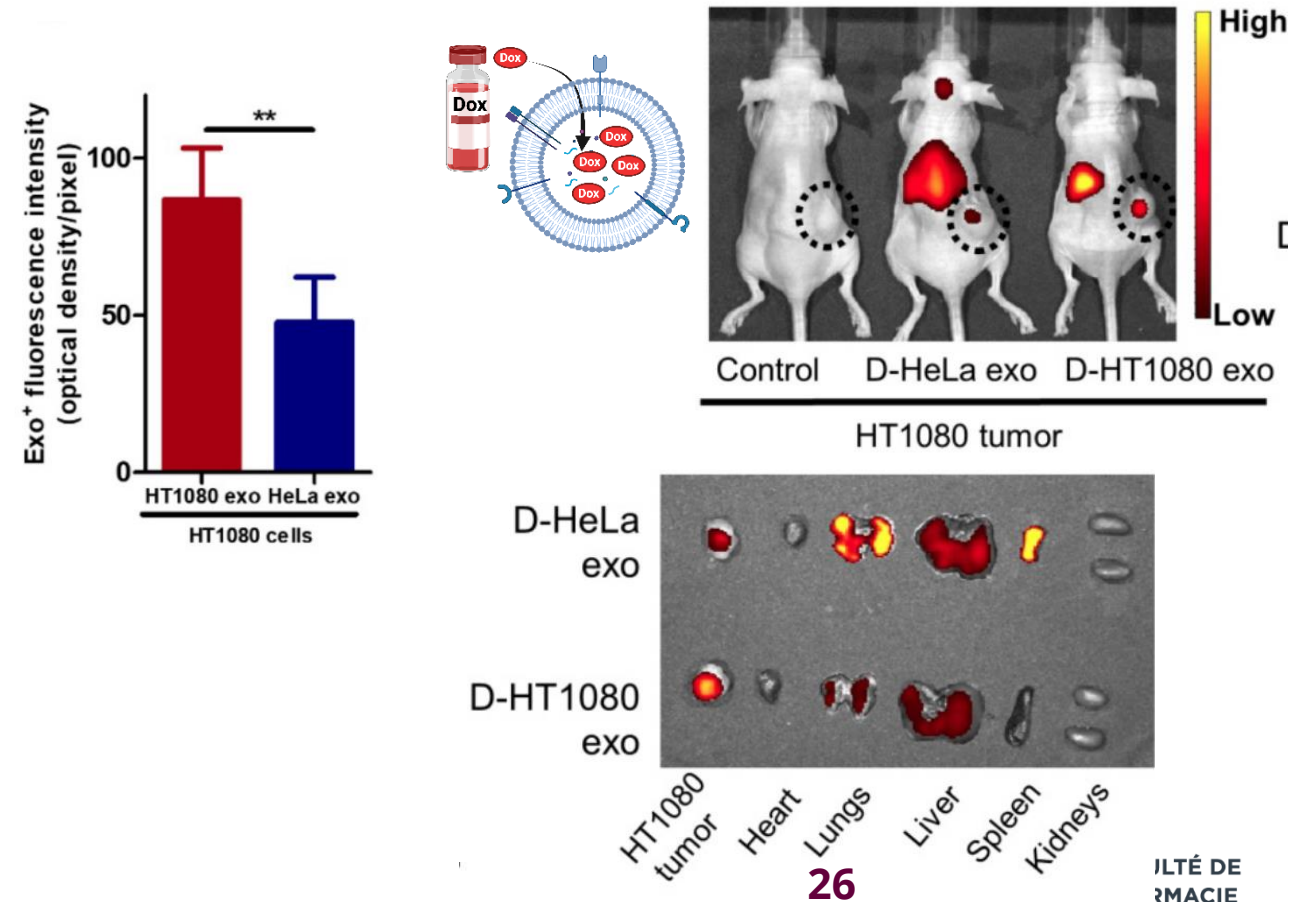


HT 1080: lignée cellulaire de fibrosarcome

HeLa: lignée de carcinome du col de l'utérus

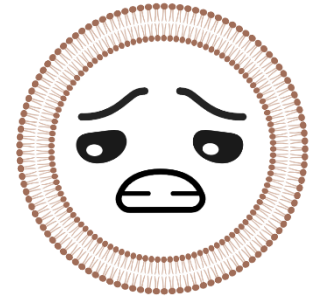
Qiao et al., *Theranostics* 2020

Distribution in vivo de dox-VEs

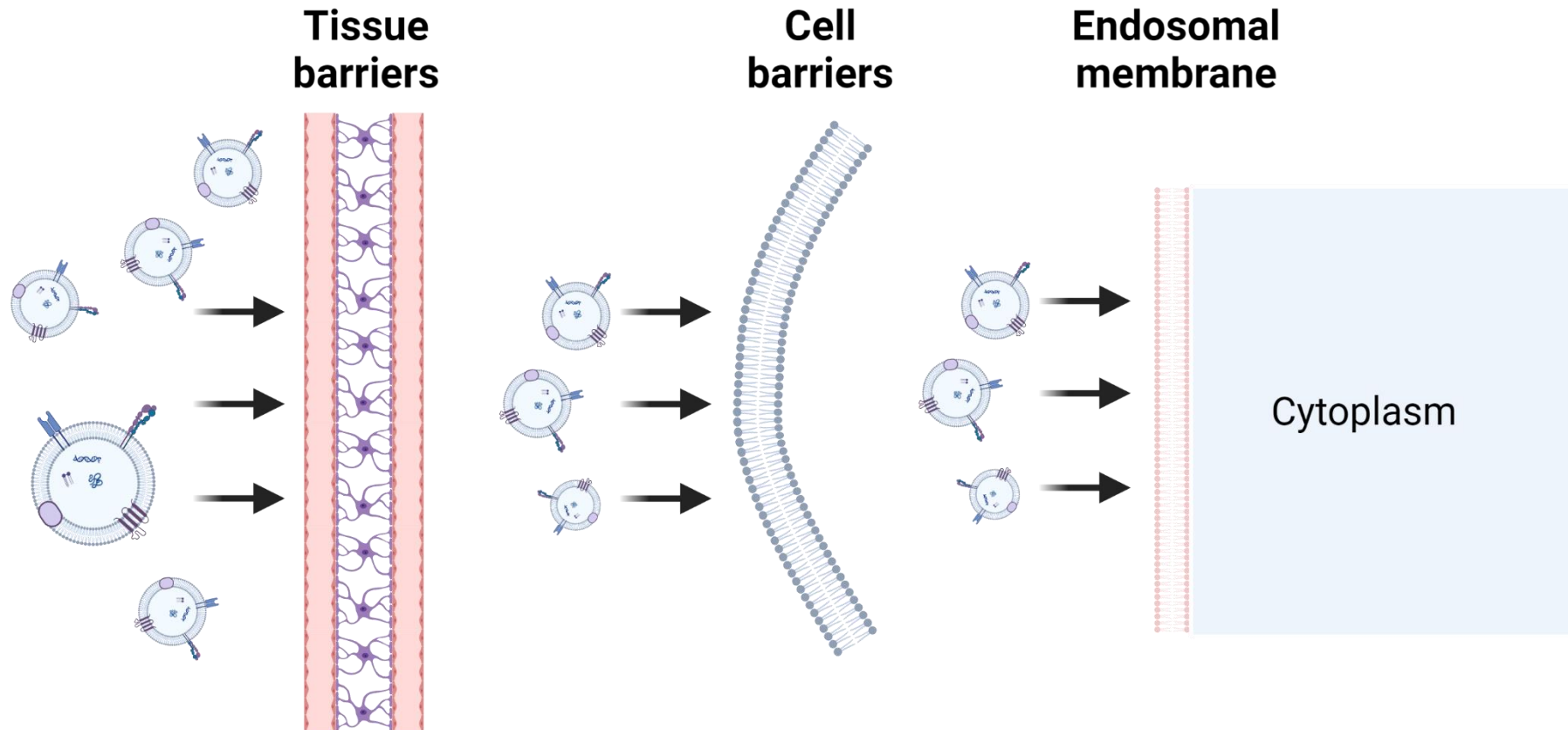


Capacité à franchir les barrières biologiques

- Les VEs ont une capacité intrinsèque à franchir les barrières biologiques (tissulaires, cellulaires et intracellulaires).



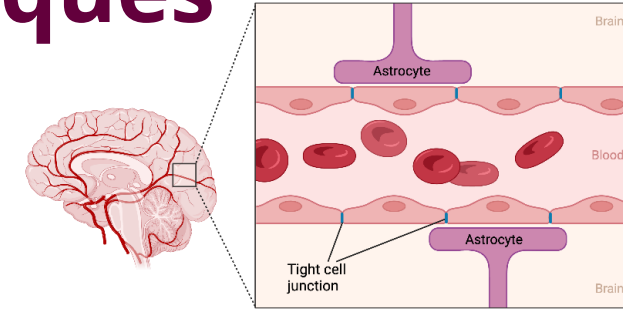
Synthetic NPs



Capacité à franchir les barrières biologiques

- Les VEs ont une capacité intrinsèque à franchir les barrières biologiques (tissulaires, cellulaires et intracellulaires).

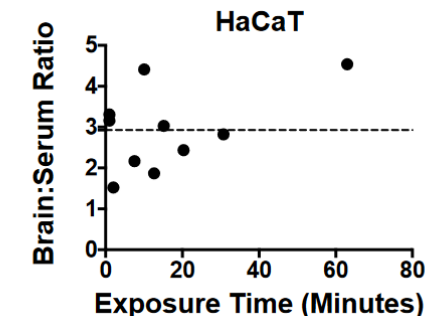
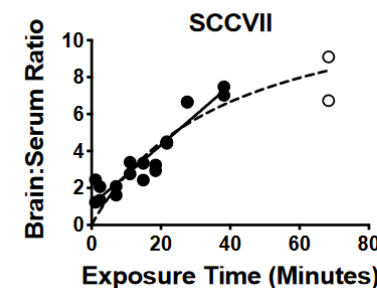
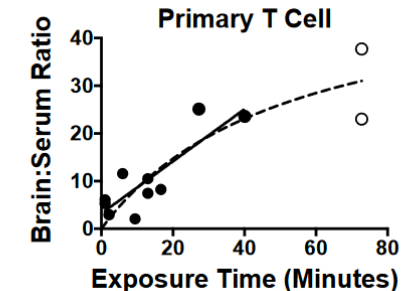
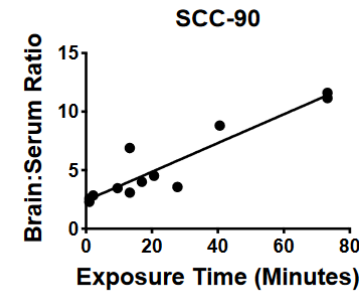
➤ Capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB)



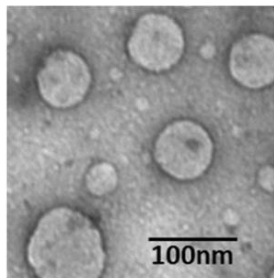
Source of EVs explored

Designation	Species	Tissue	Non-Cancerous/Cancer
J774A.1	Mouse	Macrophage	Non-Cancerous
NIH-3T3	Mouse	Fibroblast	Non-Cancerous
Primary T Cell	Human	T Cell	Non-Cancerous
HaCaT	Human	Keratinocyte	Non-Cancerous
SCCVII	Mouse	Oral Squamous	Cancer
MEL526	Human	Melanoma	Cancer
MDA-MB-231	Human	Breast	Cancer
PCI-30	Human	Head & Neck	Cancer
SCC-90	Human	Head & Neck	Cancer
Kasumi	Human	Leukemia	Cancer

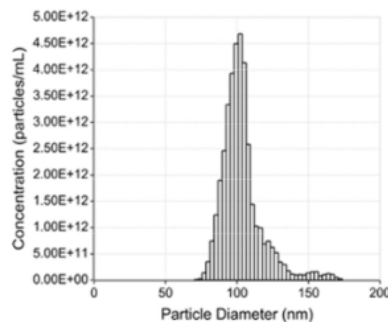
In vivo uptake of EVs by brain



TEM imaging



Size NTA

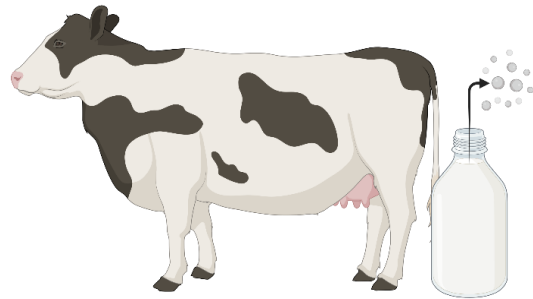


➤ All EV populations were able to cross the BBB

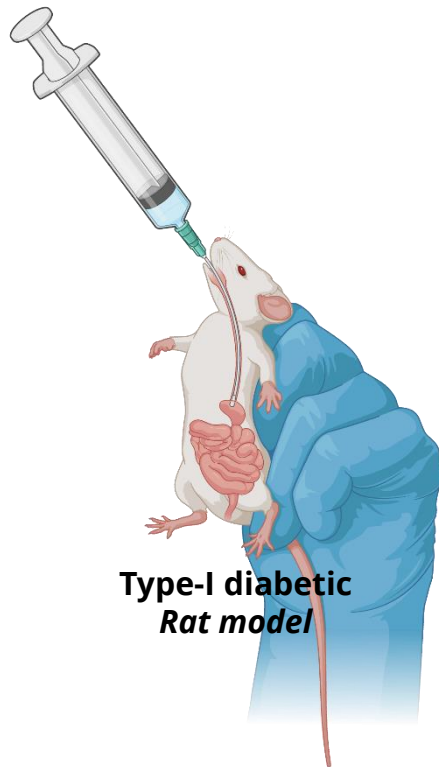
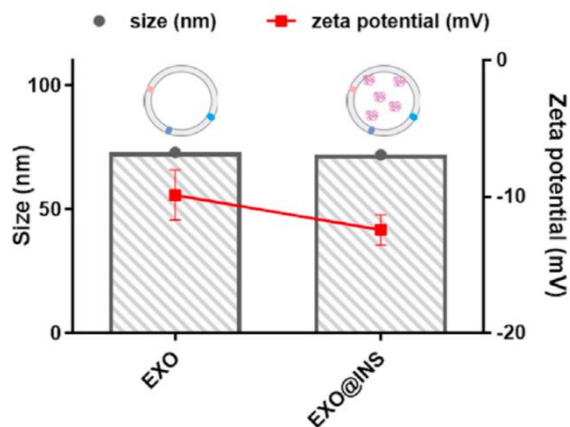
Capacité à franchir les barrières biologiques

- Les VEs ont une capacité intrinsèque à franchir les barrières biologiques (tissulaires, cellulaires et intracellulaires).

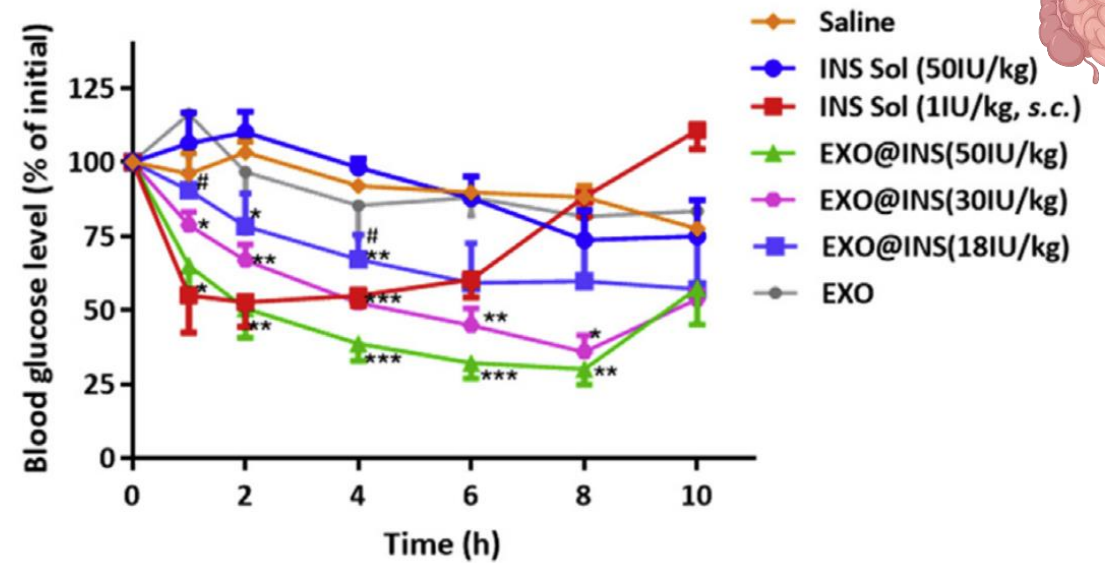
➤ Barrière gastro-intestinale



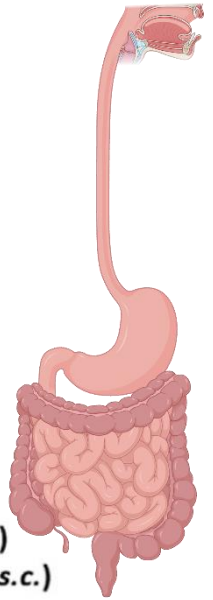
Insuline-loaded EVs



La variation de la glycémie chez les rats diabétiques de type I



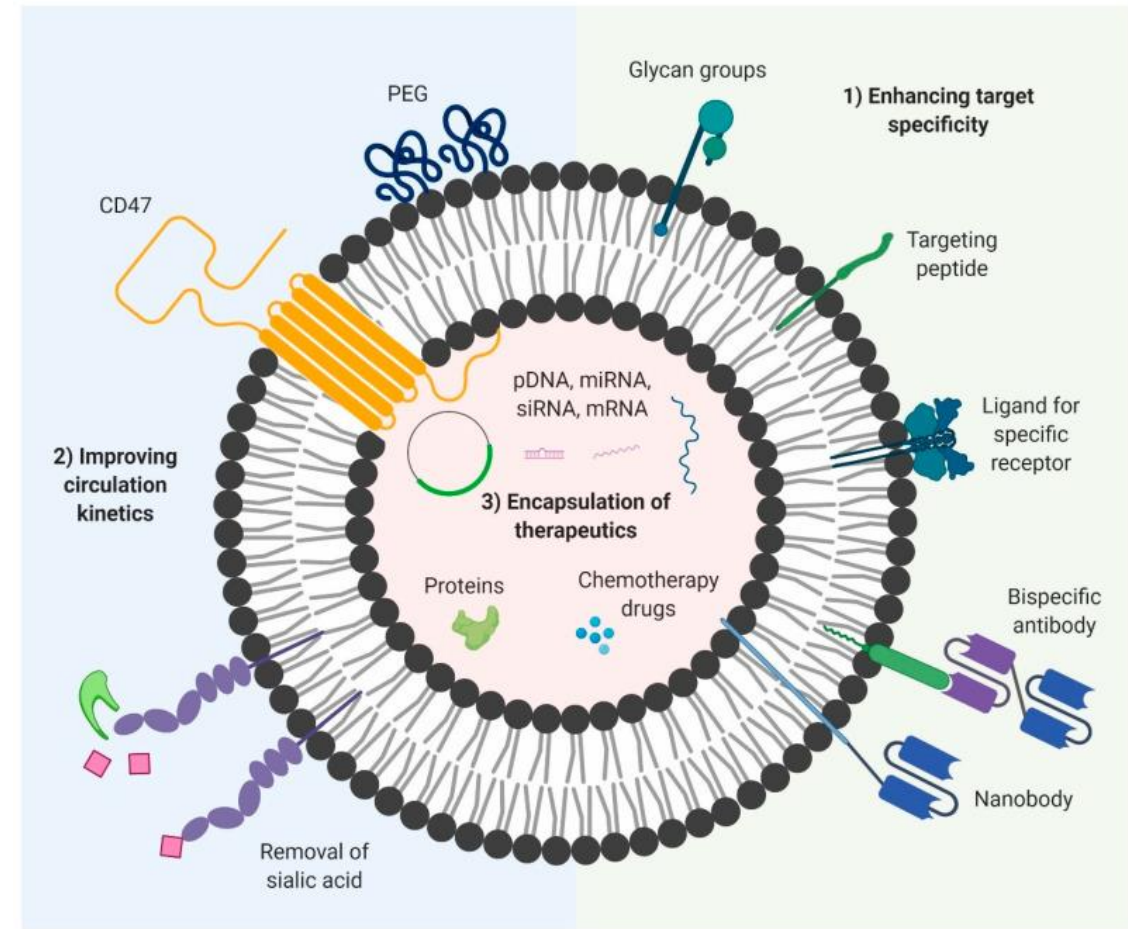
- VEs traversent l'épithélium intestinal jusqu'à la circulation sanguine et améliorent la biodisponibilité de l'insuline.



Ingénierie/modification de VEs

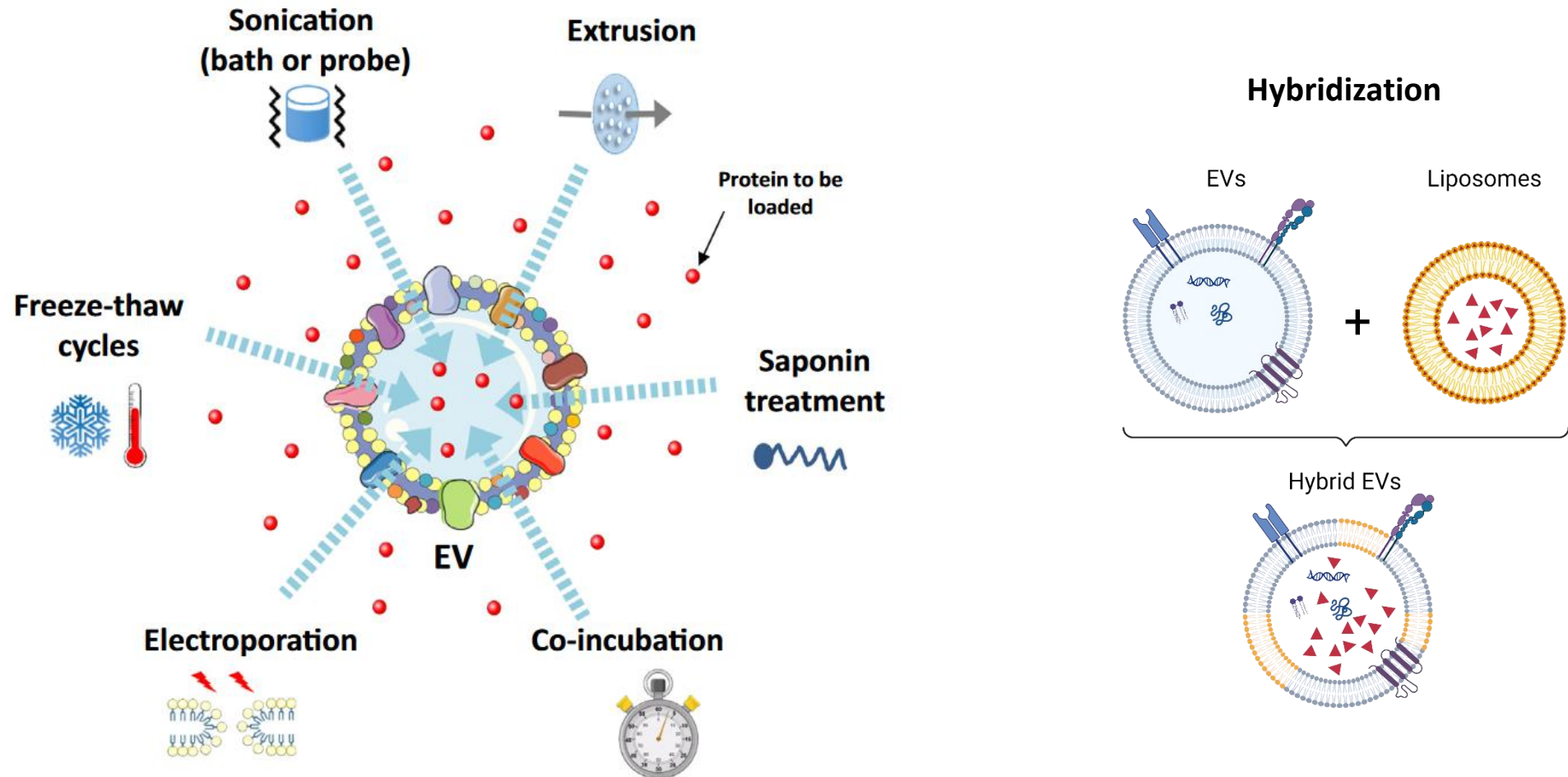
- Nombreuses stratégies ont été développées pour l'ingénierie/modification des VEs
 - Améliorer leur capacité de ciblage
 - Améliorer leur $t_{1/2}$ et biodistribution
 - Chargement d'agents thérapeutiques

Les VEs sont des nanovecteurs
versatiles



Chargement d'agents thérapeutiques

- Différentes stratégies pour l'encapsulation de médicaments dans les VEs

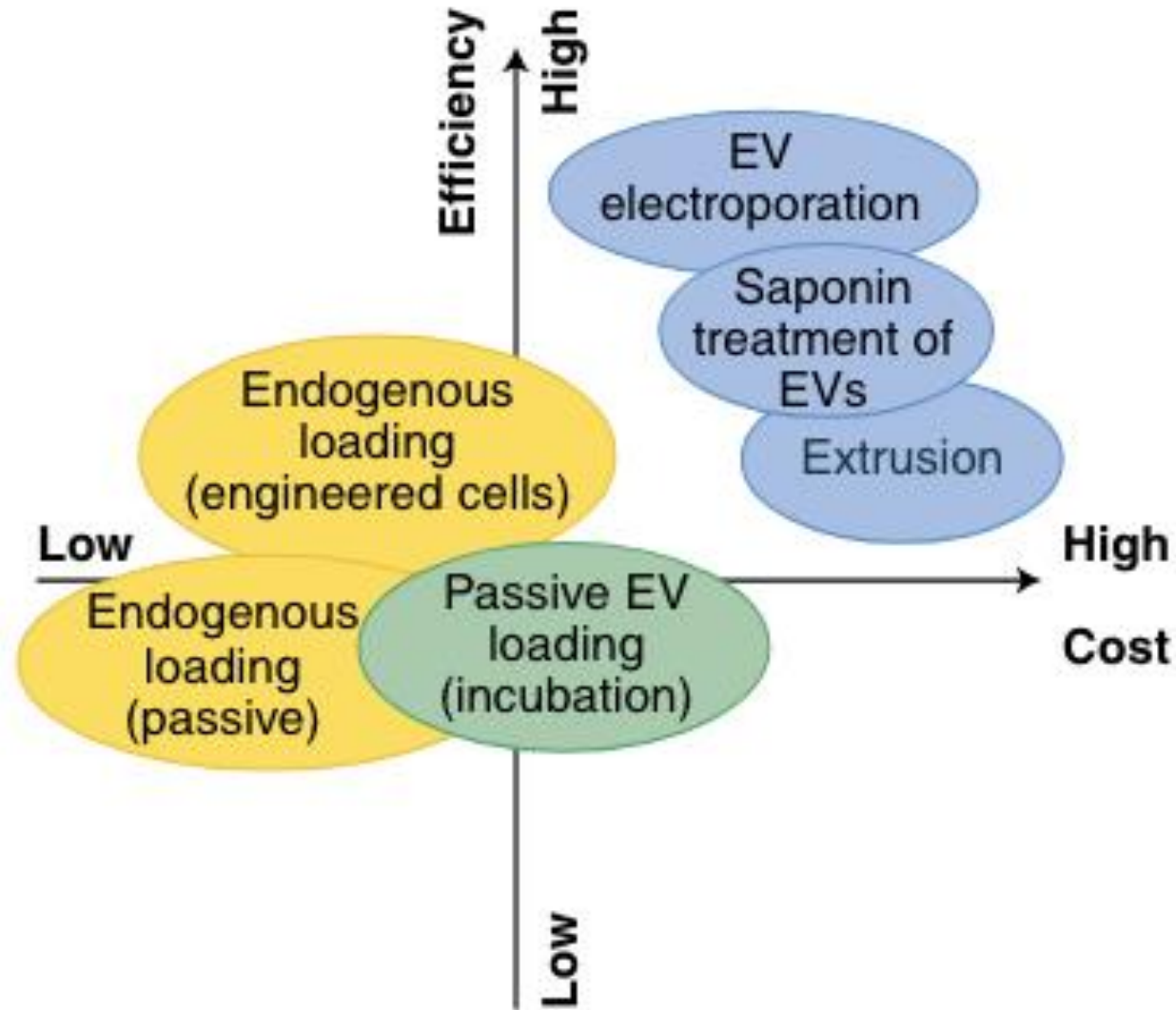


Chargement d'agents thérapeutiques

➤ Différentes stratégies pour l'encapsulation de médicaments dans les VEs

Méthode	Avantages	Inconvénients
Incubation	Simple, no additional equipment required, Not affect the EVs (size and morphology)	Low loading capacity
Sonication	High loading capacity, able to load anticancer drugs, siRNAs and proteins	Not suitable for hydrophobic drugs
Electroporation	Able to load large molecules (nucleic acids) and anticancer drugs, moderate loading capacity	Deformation the EVs, siRNA aggregation, low loading capacity compared to sonication or saponin
Freeze-Thaw	Simple, moderate of loading capacity, membrane fusion is possible: Generation of Hybrid EVMs from EVs and liposomes	Low loading efficiency compared to extrusion and sonication, aggregation of EVs
Transfection reagents	Simple, able to load nucleic acids	Expensive, transfection reagent may associate with siRNA and delivered into recipient cells, mechanism of action not well-known
membrane permeabilizer (saponin)	Simple, higher drug-loading capacity	Saponin is a toxic agent, requires additional washing (affect the integrity of EVs)

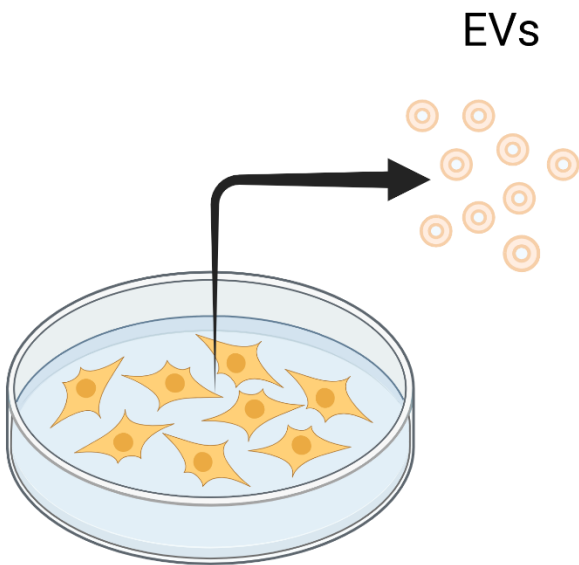
Chargement d'agents thérapeutiques



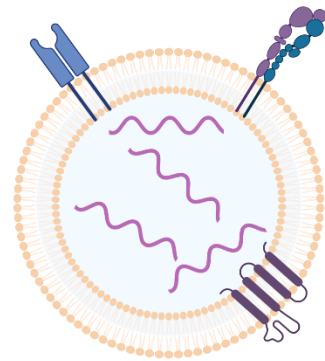
Exemples: exploration de VEs comme nanovecteurs d'ARN/ADN thérapeutiques

VEs-antimiR pour le traitement de la fibrose hépatique

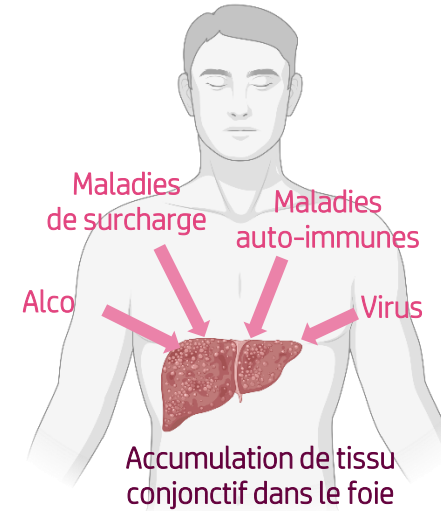
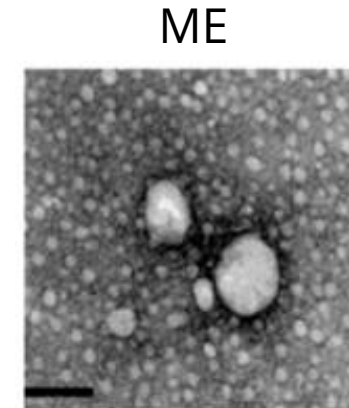
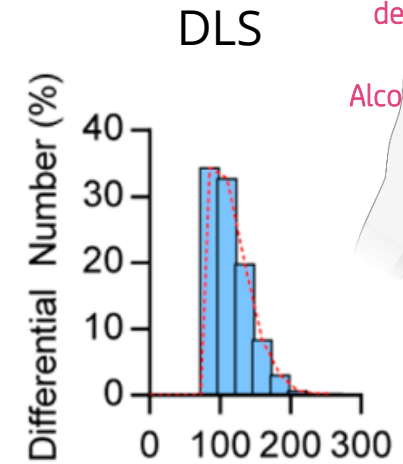
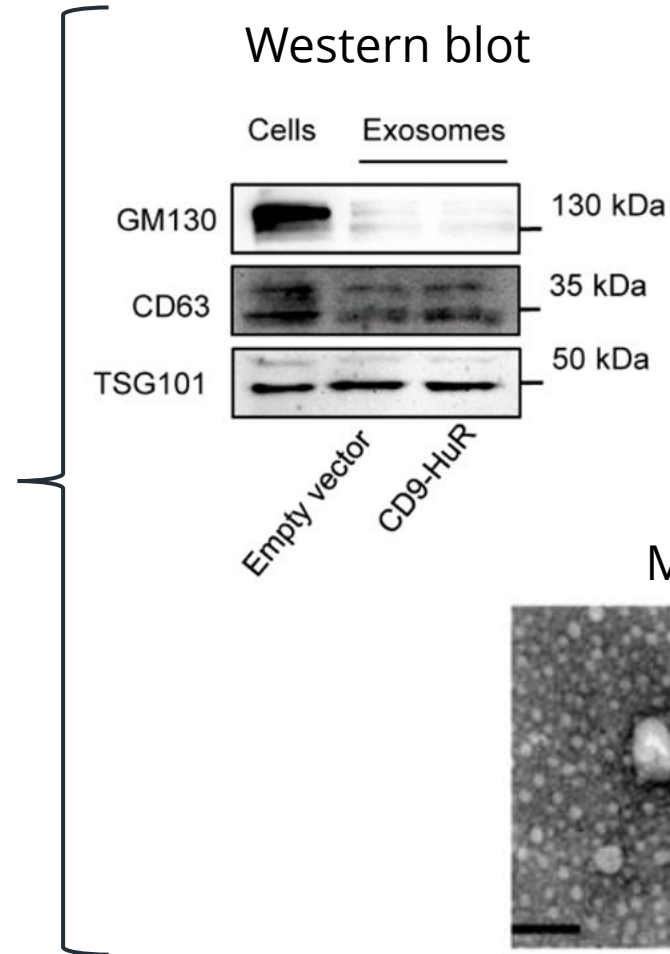
Caractérisation de VEs



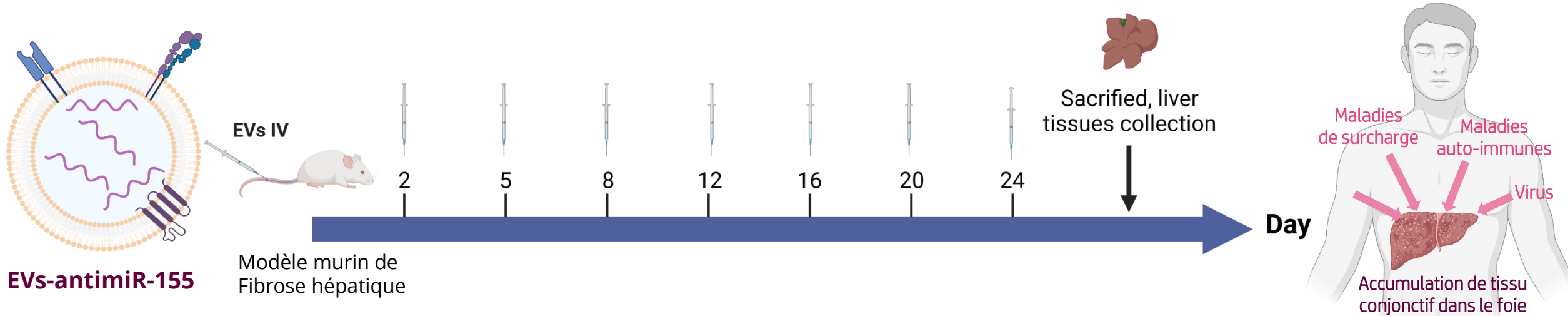
HEK293T
(Cellules rénales embry.)



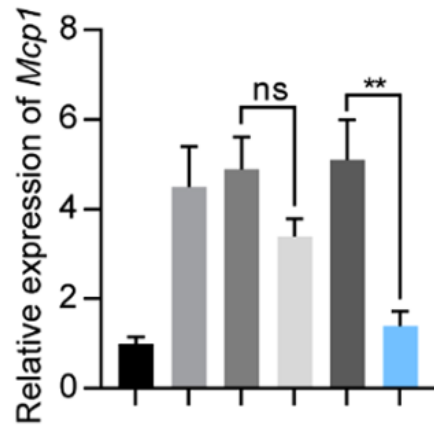
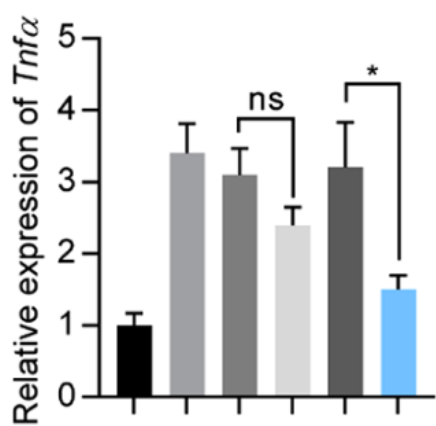
EVs-antimiR-155
(Lipofectamine)



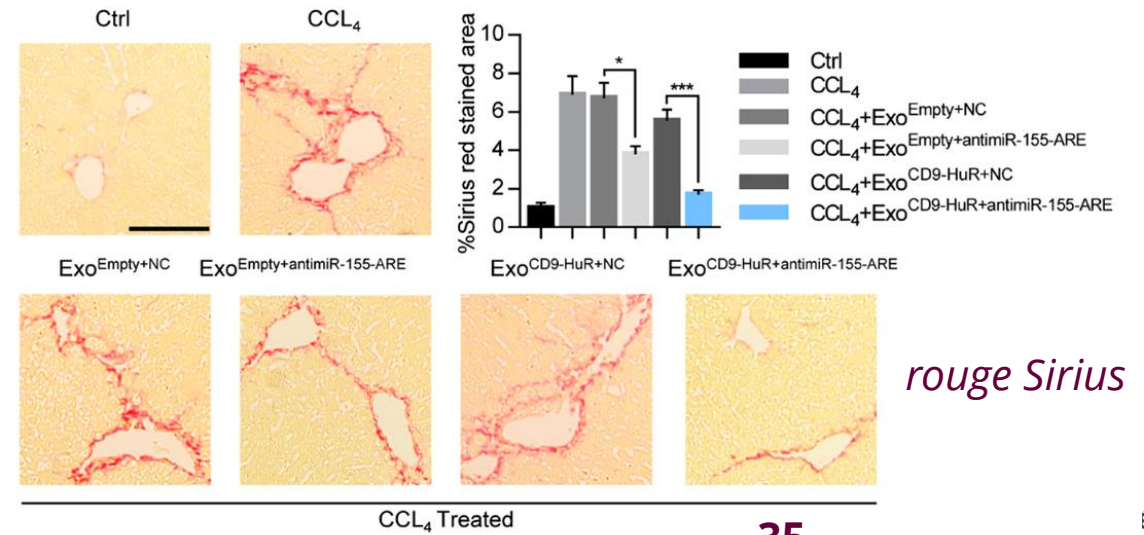
VEs-antimiR pour le traitement de la fibrose hépatique



Diminution de l'expression des gènes pro-inflammatoires

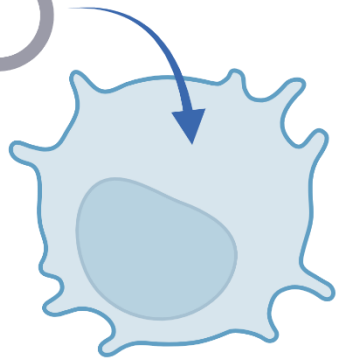


réduction de l'accumulation de fibres de collagène



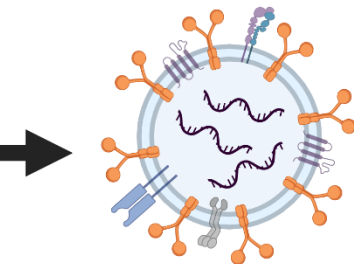
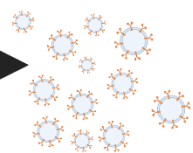
VEs pour la délivrance de siRNA au cerveau

RVG
(glycop. du virus de la rage)



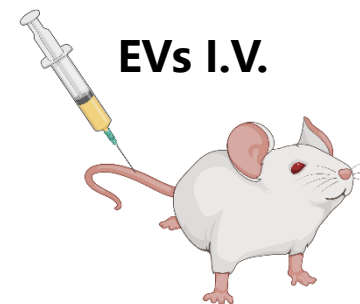
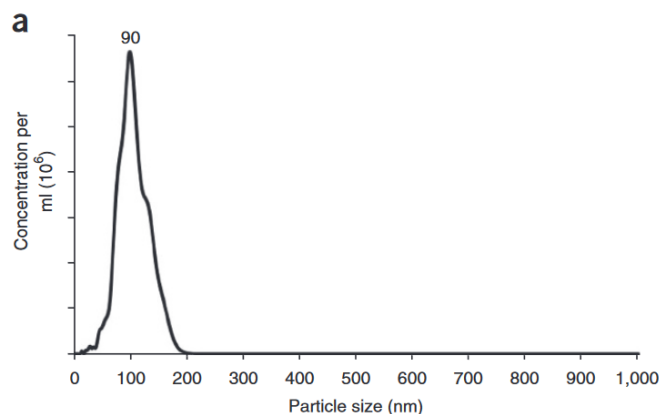
Immature dendritic cells

EVs

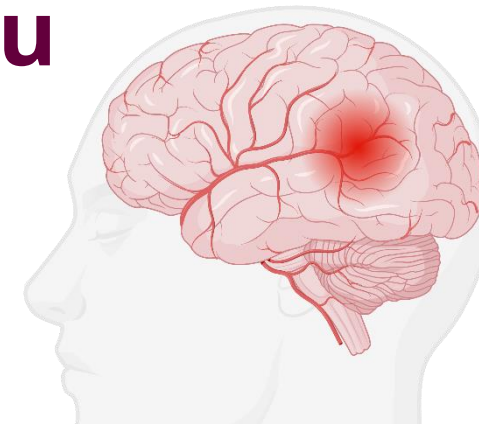


BACE1-siRNA loading by electroporation

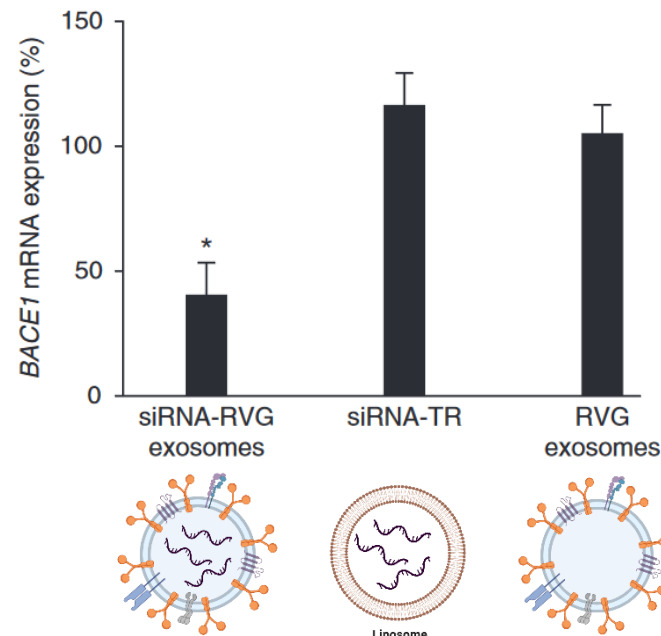
Taille de VEs



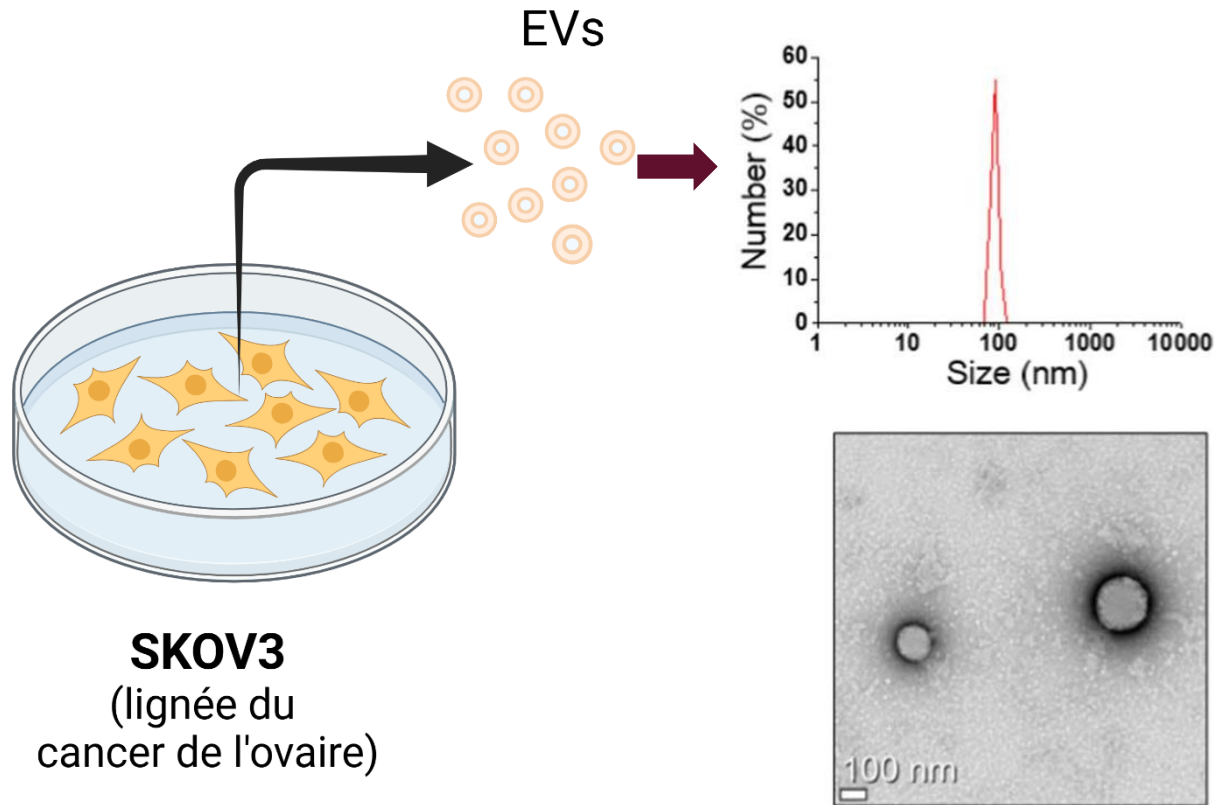
EVs I.V.



Expression de BACE1 dans le cortex cérébral de la souris



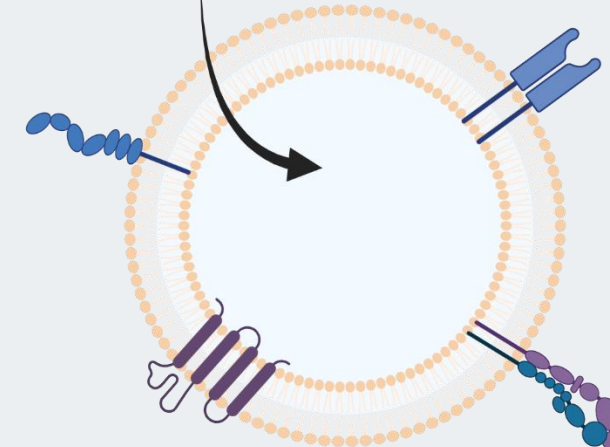
VEs pour la délivrance de CRISPR-Cas9 pour le traitement du cancer de l'ovaire



Loading of EVs with CRISPR/Cas9-targeting **PARP-1**

- Réparation d'ADN
- Cycle cellulaire
- Morts cellulaire

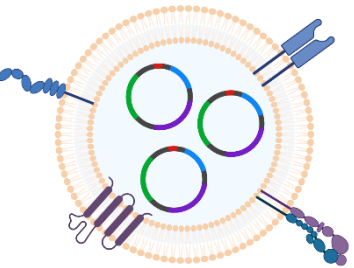
Cas9-/sgRNA-expressing plasmids



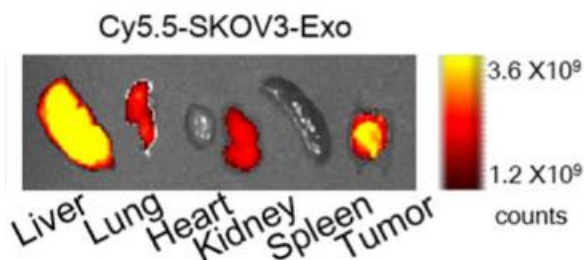
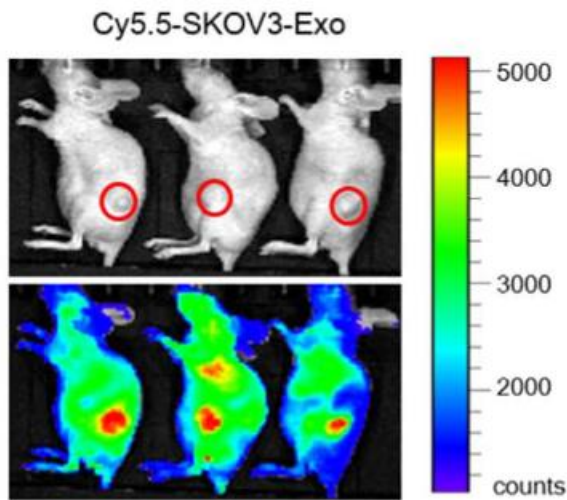
VEs pour la délivrance de CRISPR-Cas9 pour le traitement du cancer de l'ovaire



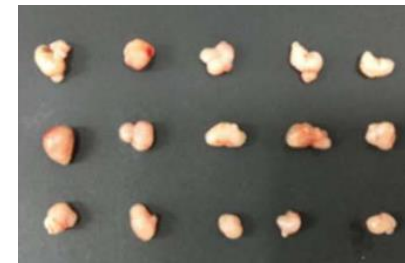
Biodistribution in vivo de VEs marquées par Cy5



Injection i.v.,
2 fois à 3j
d'intervalle



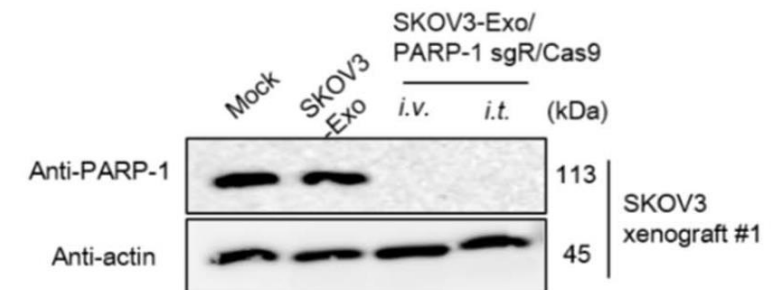
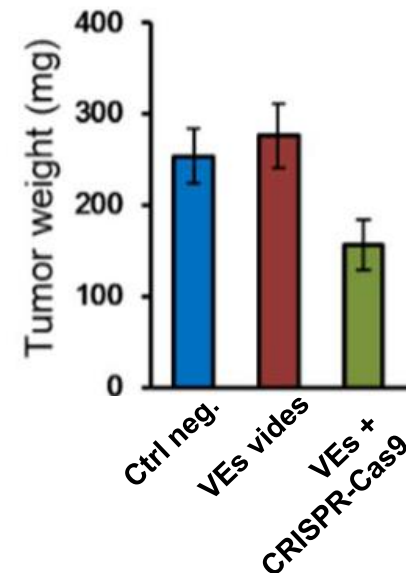
Effet anticancéreux de VEs chargées de CRISPR-Cas9



Ctrl neg.

VEs vides

VEs + CRISPR-Cas9



Production de VEs à grande échelle

Production de VEs à grande échelle

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

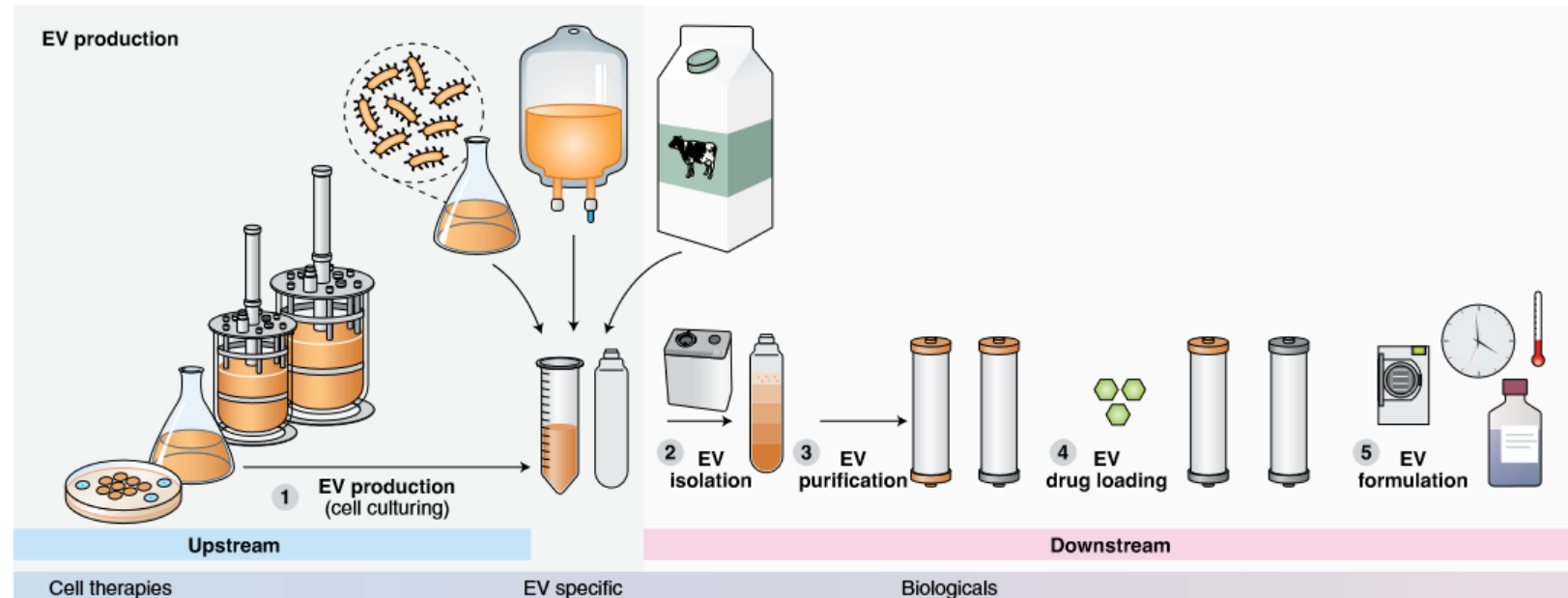
Upstream process

Culture cellulaire, modification des cellules



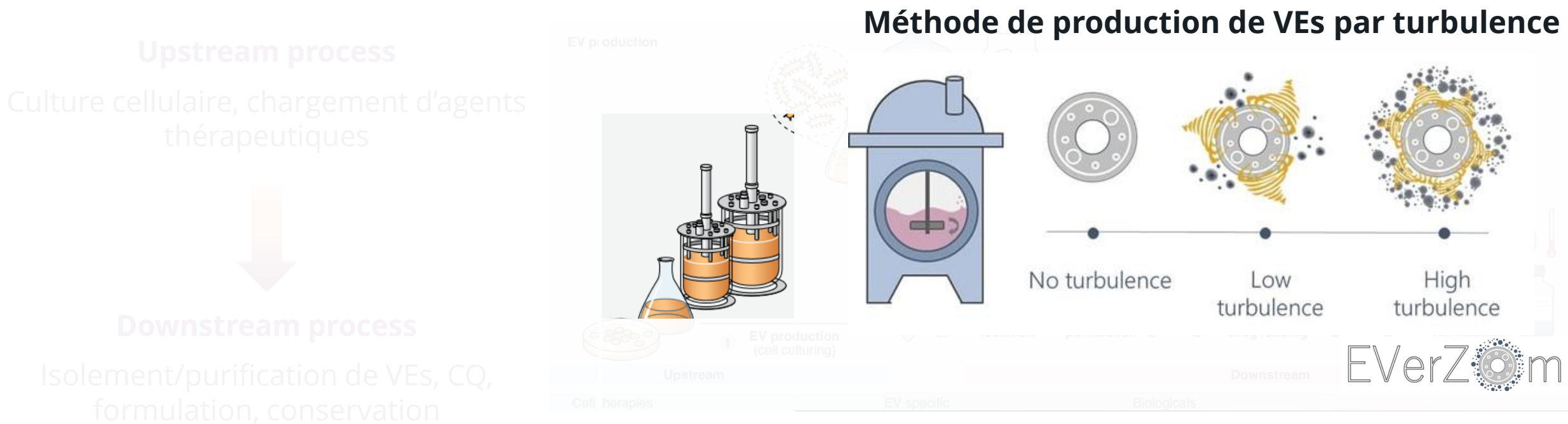
Downstream process

Isolement/purification de VEs, CQ, formulation, conservation



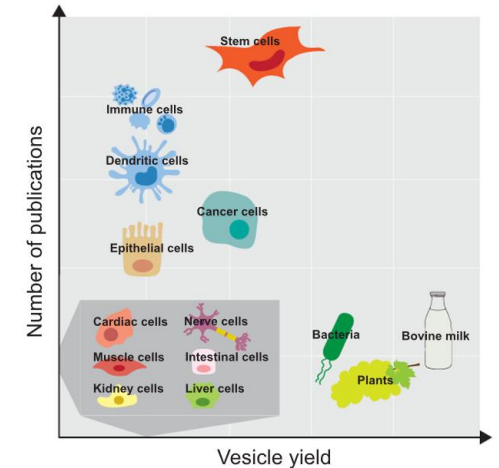
Production de VEs à grande échelle

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

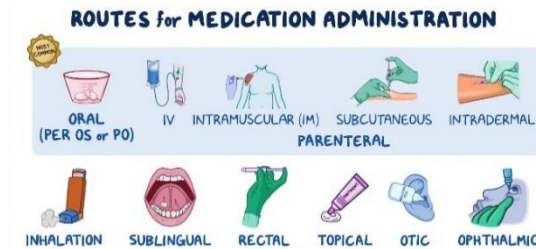
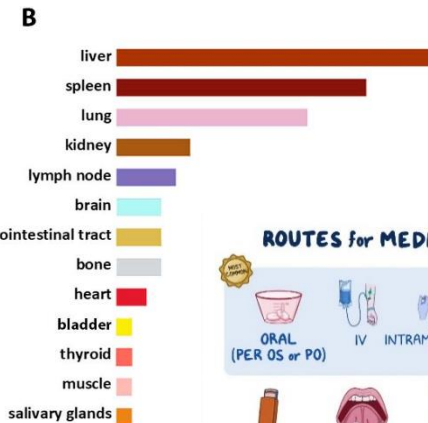
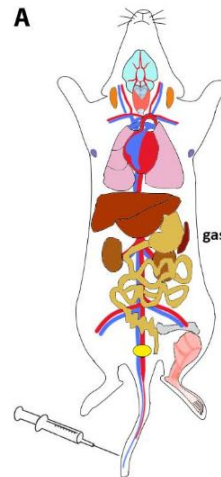


Défis du transfert clinique de VEs

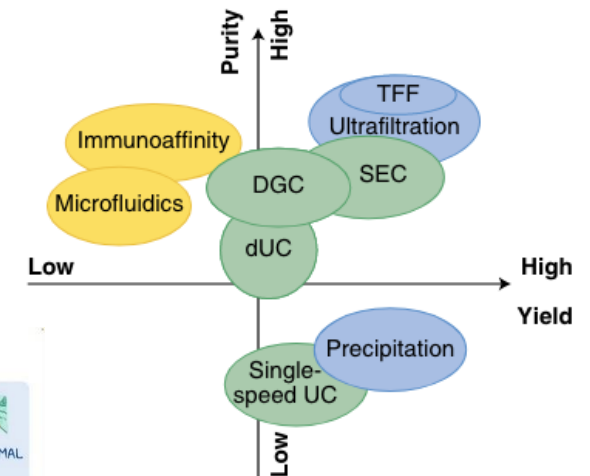
- La production à grande échelle (conditions de culture cellulaire, reproductibilité, rendement, CQ...)
- Choix de cellules productrices
- Isolement et caractérisation de VEs
- Le choix d'un mode d'administration
- Dose utile
- Aspects réglementaires



Biodistribution in-vivo

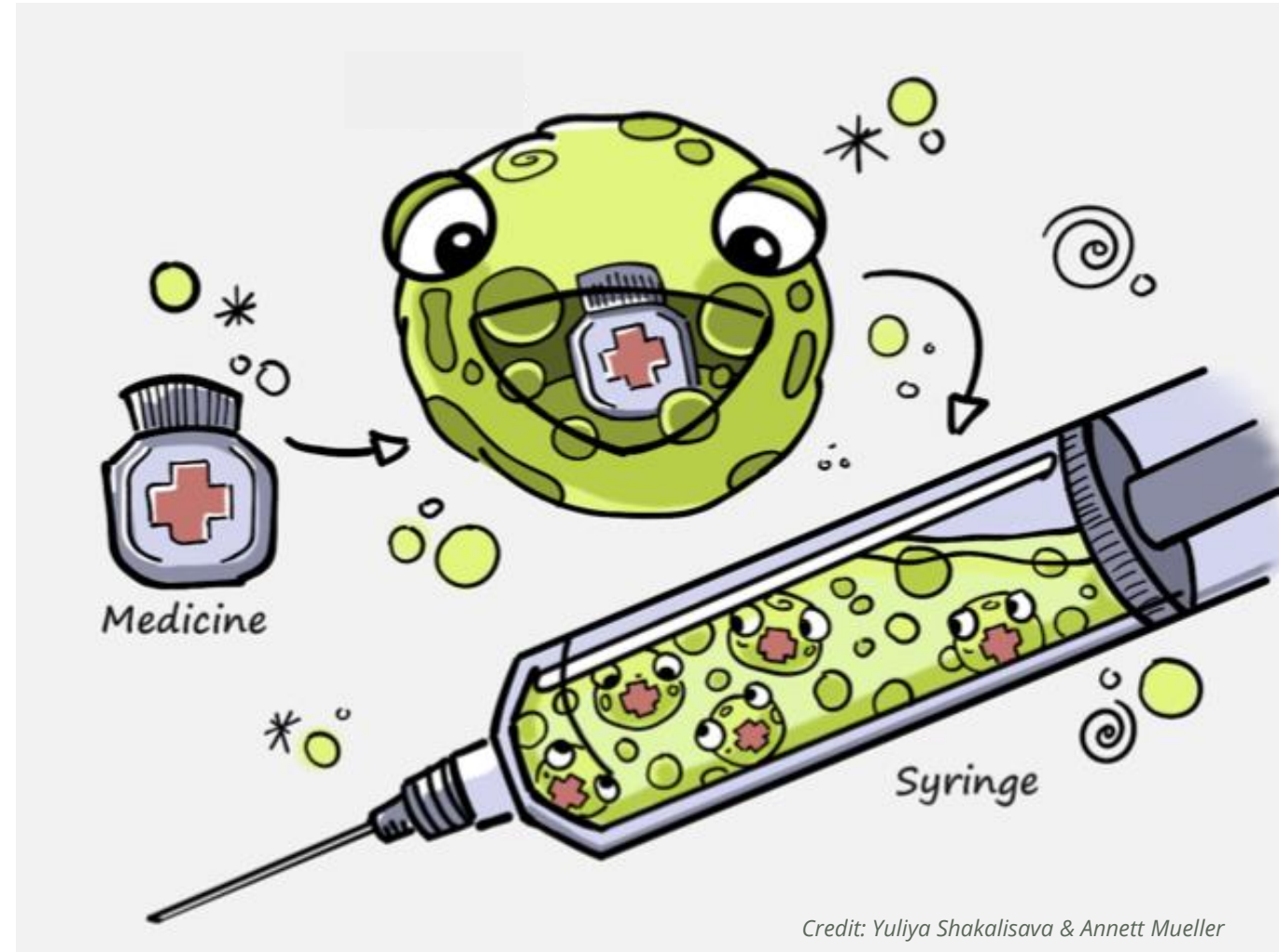


Isolation methods



Huang and Lai, *Ann Transl Med* 2019
 Aubertin et al., *Med Sci* 2021

*Merci pour
votre attention*



Credit: Yuliya Shakalisava & Annett Mueller