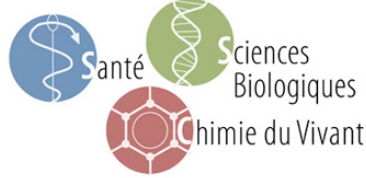




ECOLE DOCTORALE SSBCV



**Année 2017-2018 - Demande d'allocation doctorale
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

1. Informations administratives :

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : [Laurent Plantier](#)

Unité : [CEPR-INSERM U1100](#)

Equipe (*si unité multi-équipes*): 3

Email de l'encadrant : laurent.plantier@univ-tours.fr

Co-encadrant éventuel :

2. Titre de la thèse : Développement et validation expérimentale d'un nanomédicament original pour le traitement de la fibrose pulmonaire

3. Résumé :

Contexte. La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est une pathologie habituellement fatale à un terme de quelques années malgré les traitements actuels. La FPI est caractérisée par la destruction du poumon par l'accumulation en excès d'une matrice extracellulaire riche en collagène de type 1 (COL1). Le mécanisme central de la FPI est l'acquisition par les cellules mésenchymateuses pulmonaires (fibroblastes) d'un phénotype profibrosant associant une différenciation myofibroblastique caractérisée par l'expression de l' α -actine du muscle lisse (α -SMA), une synthèse accrue de COL1, une invasivité accrue, et une résistance à l'apoptose. En complément de l'activation de voies profibrosantes telles que celle du Transforming Growth Factor- β (TGF- β), la mécano-transduction liée au cytosquelette d'actine joue un rôle important dans l'acquisition d'un phénotype profibrosant par les fibroblastes au cours de la FPI. Par un criblage protéomique réalisé en partenariat avec l'unité U1152 (Paris), l'équipe 3 du CEPR a identifié une cible thérapeutique originale pour la FPI. Ce facteur est ici nommé CIBLE du fait d'une demande de brevet en cours. CIBLE est une protéine associée au cytosquelette, dont l'expression est requise pour l'expression du procollagène-1 et de l' α -SMA dans les fibroblastes pulmonaires humains in vitro (non publié). Les deux axes du projet de thèse sont : 1) de préciser le rôle de CIBLE au cours de la FPI, et 2) de développer une nouvelle thérapie reposant sur l'administration par voie inhalée d'un nanomédicament combinant un nanovecteur peptidique et des oligonucléotides antisens (ASO) visant CIBLE. Cette seconde partie s'intègre dans le projet EuronanoMed III INAT, récemment obtenu par l'équipe (porteurs : Nathalie Heuzé-Vourc'h et Laurent Plantier).

Axe 1 : Participation de CIBLE à la physiopathologie de la fibrose pulmonaire

Dans ce volet, nous déterminerons le niveau d'expression de CIBLE dans le poumon des patients atteints de FPI en comparaison avec des sujets témoins (collaboration avec l'UMR1152), et dans le modèle de fibrose pulmonaire induite par la bléomycine chez la

souris. Par ailleurs, nous décrirons plus en détail les modifications du phénotype des fibroblastes pulmonaires humains (voies de synthèse de COL1 et α -SMA, invasivité, apoptose) associées à la répression de CIBLE par des ARN interférents ou ASO, y compris en présence de TGF- β , in vitro. Cette partie est intégrée dans une demande de financement à l'ANR.

Axe 2 : Développement d'un nanomédicament inhalé visant CIBLE

Cette partie s'intègre dans le projet public-privé INAT-EuroNanoMed. Nous combinerons des ASO (collaboration société SECARNA, Munich) visant les formes murines et humaines de CIBLE, avec un nanovecteur peptidique original (collaboration société Div'Incell, Nîmes), afin de générer le nanomédicament. Compte-tenu 1) du caractère limité au poumon de la FPI et 2) de l'index thérapeutique optimal de l'administration par inhalation des médicaments à visée pulmonaire, nous développerons prioritairement l'administration du nanomédicament sous forme aérosolisée. La résilience du nanomédicament aux stress de l'aérosolisation et les propriétés aérodynamiques des aérosols seront déterminés in vitro. La capacité des aérosols de nanomédicament à réduire l'expression de CIBLE sera évaluée dans un modèle cellulaire du poumon (co-culture épithélium-fibroblastes à l'interface air-liquide). Les aérosols de nanomédicament seront administrés à des souris naïves et exposées à la bléomycine à l'aide d'un dispositif spécifique (collaboration Otmar Schmid, Helmholtz Zentrum München, Munich), afin d'en déterminer la toxicité (collaboration Rita Vanbever, Université de Louvain) et l'efficacité thérapeutique anti-fibrosante.

Conclusion. Dans ce projet, nous attendons de faire la preuve du rôle de CIBLE dans la pathogénie de la FPI, et du potentiel thérapeutique du nanomédicament pour le traitement de la FPI. Le potentiel de transfert vers la clinique de cette thérapie est soutenu par 1) le fait que l'ASO et les composants du nanovecteur sont validés pour une utilisation humaine et 2) par le développement dans l'équipe d'un projet complémentaire visant à développer les technologies nécessaires à la distribution des aérosols inhalés dans les régions atteintes du poumon chez les patients atteints de FPI.

4. Résumé en anglais :

Aerosolized nanovectored interfering oligonucleotides for the treatment of lung fibrosis in mouse models

Background. Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a lethal chronic lung disease without disease-modifying treatments despite recent progress. IPF is characterized by accumulation of excess extracellular matrix rich in collagen-1 (COL1). A key aspect of IPF pathogenesis is pro-fibrotic differentiation of lung fibroblasts comprising myofibroblastic differentiation (expression of α -smooth muscle actin- α SMA), increased COL1 secretion, increase invasivity, and apoptosis resistance. In addition to soluble mediators such as Transforming Growth Factor- β (TGF- β), mechanotransduction pathways associated with the actin cytoskeleton play key roles in profibrotic differentiation of lung fibroblasts in IPF. Proteomics screening conducted in collaboration with Inserm U1152 (Paris) allowed Team3 to identify a novel actin-associated protein regulating both COL1 and α SMA expression in lung fibroblasts, herein named TARGET due to ongoing patenting. The 2 main axes of this project are 1) to characterize the role of TARGET in IPF and 2) to develop, as mentioned in the INAT-EuroNanoMed III project, a therapy for lung fibrosis based on the inhaled delivery of a novel nanomedicine combining antisense oligonucleotide (ASO) and an original peptide nanocarrier to repress TARGET in the lungs.

Axis 1. Role of TARGET in IPF pathogenesis.

The expression levels of TARGET will be determined in the lungs of patients with IPF in comparison with unaffected lungs (collaboration with Inserm U1152), and in the bleomycin-induced lung fibrosis model. Also, we will describe the phenotypic changes associated with knockdown of TARGET (using either interfering RNAs or ASO) in human lung fibroblasts in vitro, both in the absence or presence of TGF- β . This part of the project has been submitted to ANR for financial support.

Axis 2. Development of an inhaled nanomedicine for repression of TARGET in the lungs.

Axis 2 corresponds to the European grant EuroNanoMed (INAT) recently obtained by Team 3 and supervised by Nathalie Heuzé-Vourc'h and Laurent Plantier. In this private-public partnership, TARGET-specific ASO (collaboration with SECARNA Pharmaceuticals, Munich) will be combined with an original peptide nanocarrier (collaboration with Div'Incell, Nîmes) to generate the nanomedicine. Since 1) IPF is a lung-limited disease and 2) the inhaled route offers an optimal therapeutic index for lung disease, nanomedicine will be delivered in aerosol form. In this aim, the resilience of nanomedicine to the stresses of aerosolization and the aerodynamic properties of the aerosols will be assessed in vitro. The ability of nanomedicine aerosols to repress TARGET expression will be assessed in a cellular model of the lung (epithelium-mesenchyme coculture at air liquid interface). Nanomedicine aerosols will be delivered to naïve mice and in the bleomycin-induced lung fibrosis mouse model using a custom-built exposure system (collaboration Otmar Schmid, Helmholtz Zentrum München, Munich), to assess toxicity (collaboration Rita Vanbever, Leuven University) and therapeutic efficacy.

Conclusion. We expect to demonstrate the role of TARGET in IPF pathogenesis, and to make proof of concept of aerosolized nanomedicine for the treatment of IPF. The potential for transfer to the clinic is supported by 1) the fact that all components of the nanomedicine are certified for clinical use, and 2) by complementary ongoing projects aiming at development of technologies for the delivery of therapeutic aerosols to the diseased regions of IPF lungs.