

Les exosomes, des vésicules sécrétées par les cellules, peuvent avoir un fort potentiel thérapeutique. (vue d'artiste)



De nouvelles thérapies pour traiter les dommages dus à de fortes irradiations

CONTEXTE

Lors d'accidents de radiothérapie, d'accidents industriels, les personnes exposées à de fortes doses de rayonnements ionisants développent des brûlures cutanées ou des lésions intestinales particulièrement graves. Pour améliorer les traitements actuels, l'IRSN

fonde beaucoup d'espoirs sur la médecine régénérative, sur laquelle ses chercheurs travaillent depuis plus d'une vingtaine d'années avec la perspective d'un transfert clinique et d'une solution thérapeutique à grande échelle.

Cahier partenaire
réalisé avec

IRSN

www.irsnn.fr

Grâce à ses études démontrant l'efficacité de thérapies innovantes basées sur l'administration de cellules souches, l'IRSN a pu apporter un support thérapeutique à des équipes hospitalières pour soigner des patients surirradiés. Les premières cellules souches injectées, bien qu'efficaces ont vite révélé leurs limites. Une autre stratégie basée sur un type de vésicules produites par ces mêmes cellules souches, les exosomes, suscite aujourd'hui beaucoup d'espoirs. Ils révèlent un formidable potentiel thérapeutique.

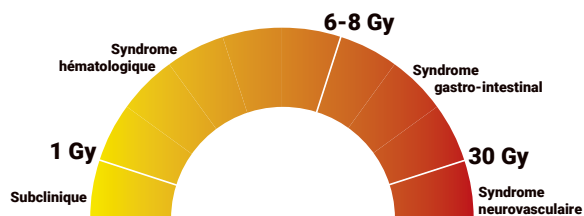
En 2005, vingt-quatre personnes traitées pour un cancer de la prostate à l'hôpital public d'Épinal souffrent de rectites ou de cystites invalidantes. Il s'avère qu'ils ont été surirradiés de 20 % à 30 %. Au total, plus de 5 000 patients traités par radiothérapie dans cet hôpital entre 1987 et 2006 ont été exposés à des surdoses de rayonnements ionisants de 3 % à 30 %, consécutifs à une série de dysfonctionnements techniques et d'erreurs humaines. Cet accident de radiothérapie avec une irradiation très grave mais localisée est le plus important jamais enregistré en France. Heureusement, ce fut un cas unique.

En octobre 2006, le ministre de la Santé sollicite l'IRSN pour assister l'hôpital d'Épinal sur le suivi de plus de 425 de ces patients (1). Pour les plus sévèrement atteints, les traitements conventionnels s'avèrent insuffisants. En étroite collaboration, l'IRSN, les équipes hospitalières

du Centre de transfusion sanguines des Armées (CTSA), les hôpitaux Saint-Antoine et La Pitié-Salpêtrière ont proposé une nouvelle stratégie thérapeutique, à titre compassionnel, basée sur l'administration de cellules souches. Quatre patients ayant été surirradiés de plus de 20 % sont alors traités avec des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) issues de la moelle osseuse. C'était une première. L'efficacité du traitement sur la douleur ainsi que sur les hémorragies a été remarquable.

L'IRSN étudie depuis plus de vingt ans l'intérêt des thérapies cellulaires pour soigner les dommages dus à des irradiations. Avec l'espoir de fournir aux hôpitaux des pistes pour soigner le plus possible de patients, y compris en cas d'irradiations affectant tout le corps. La gravité des syndromes dépend du rayonnement ionisant (rayons X, rayonnements alpha, bêta ou gamma, ou encore flux de neutrons), de la durée d'exposition, de la dose reçue et des organes touchés. La moelle osseuse est atteinte dès 1 gray (Gy)*, un niveau d'irradiation ➤

- > qui déclenche un syndrome hématologique affectant la production des cellules sanguines; puis le système digestif à partir de 6 à 8 Gy, avec un syndrome gastro-intestinal pouvant détruire la barrière intestinale jusqu'à provoquer une septicémie; enfin, le système nerveux central à partir d'environ 30 Gy avec un syndrome neurovasculaire. Au-delà d'un certain seuil (autour de 1 Gy), sans traitement, une irradiation sur tout le corps pourrait être fatale.



Heureusement, dans la plupart des accidents, hormis Tchernobyl, les victimes subissent des irradiations localisées, comme les lésions locales cutanées à la suite d'accidents industriels résultant d'une mauvaise manipulation de sondes de gammagraphie. Ces sondes contiennent une source radioactive émettrice de rayonnements gamma. Elles sont utilisées pour contrôler la qualité de soudures ou l'état de pièces métalliques dans l'industrie. Au contact avec la peau à une exposition de plus de 25 Gy, cela provoque une nécrose du tissu cutané, musculaire et osseux. La lésion se développe en surface et en profondeur et devient incontrôlable. Avant l'application des thérapies cellulaires, les seules solutions jusqu'à récemment reposaient sur une greffe de peau ou une intervention chirurgicale pour enlever les tissus atteints.

LES CELLULES SOUCHES ONT FAIT LEURS PREUVES

Rappelons ce qu'est une thérapie cellulaire: il s'agit d'utiliser des cellules souches, des cellules qui ont la capacité de se renouveler pour générer des cellules spécialisées capables de réparer, restaurer la fonction d'un organe. Prélevées chez le patient ou chez un donneur,

notamment à partir de la moelle osseuse ou encore de tissus adipeux (la graisse corporelle), ces cellules sont mises en culture puis injectées au patient. Les CSM sont une des catégories de cellules souches adultes les plus utilisées en médecine régénérative. Elles font l'objet d'un millier d'essais cliniques dans le monde pour la réparation osseuse, les maladies hématologiques, la réparation cardiaque, la maladie de Crohn ou encore l'ulcère des membres inférieurs pour les diabétiques.

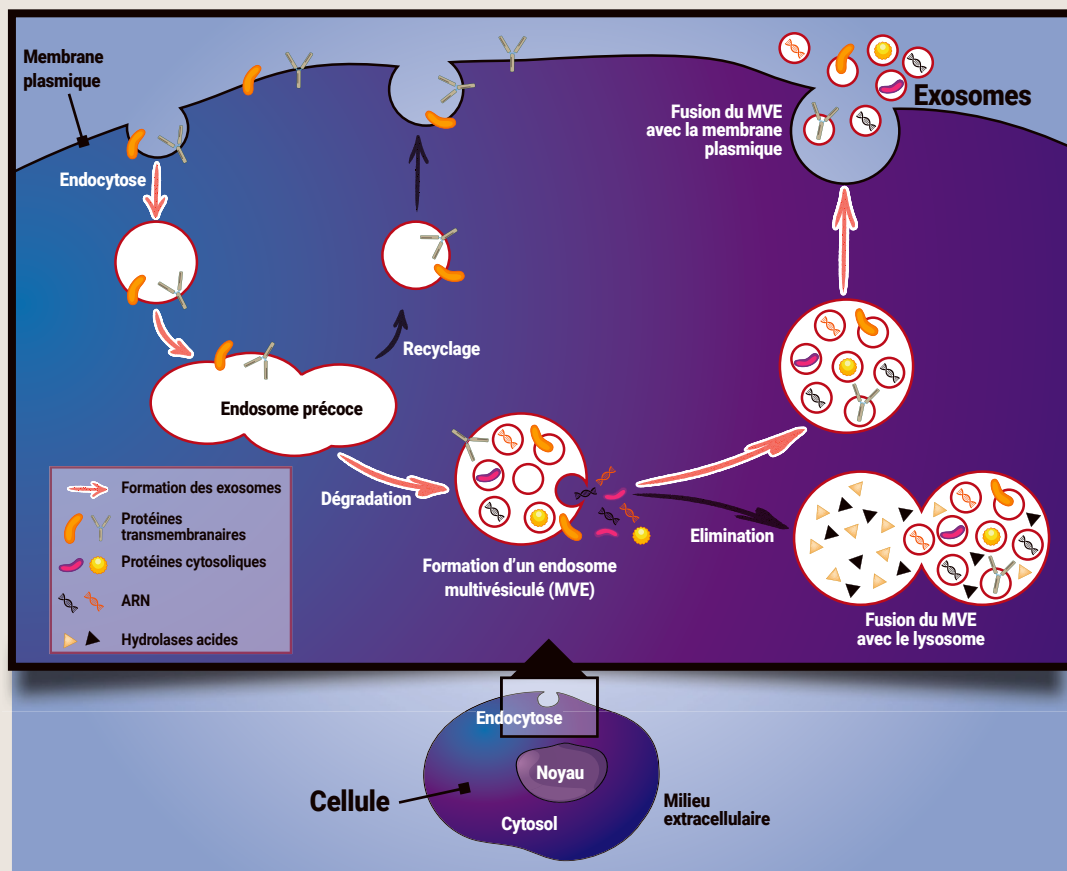
Dès les années 2000, les chercheurs de l'IRSN ont eu l'idée d'utiliser ces cellules souches dans le cas de dommages radio-induits. Depuis, ils ont démontré leur efficacité dans le cadre de nombreuses expérimentations précliniques sur petit animal (souris et rats) d'abord, puis, depuis 2013, sur gros animal (cochons). Ces expérimentations menées dans le strict cadre de la charte française sur l'éthique de l'expérimentation animale sont des passages obligés avant d'envisager un transfert clinique chez le patient.

La recherche suit son cours. En attendant, en l'absence de solution thérapeutique, les victimes de fortes irradiations sont traitées à titre compassionnel comme ce fut le cas en 2006 pour les patients de l'hôpital d'Épinal. C'est également en 2006 que, pour la première fois, deux victimes d'accidents industriels présentant de sévères lésions cutanées ont été soignées par thérapie cellulaire, sur la base d'une stratégie thérapeutique mise en place conjointement par l'hôpital Percy, de Clamart, et l'IRSN. Les résultats ont été spectaculaires et ces patients ont pu retrouver l'usage de leur membre lésé et ont été sauvés de l'amputation. Depuis, une quinzaine d'autres patients, victimes de fortes irradiations à la suite d'accidents industriels, ont bénéficié avec succès de ce même traitement. La thérapie cellulaire se révèle capable de contrôler l'inflammation, de stimuler la vascularisation et de régénérer les tissus.

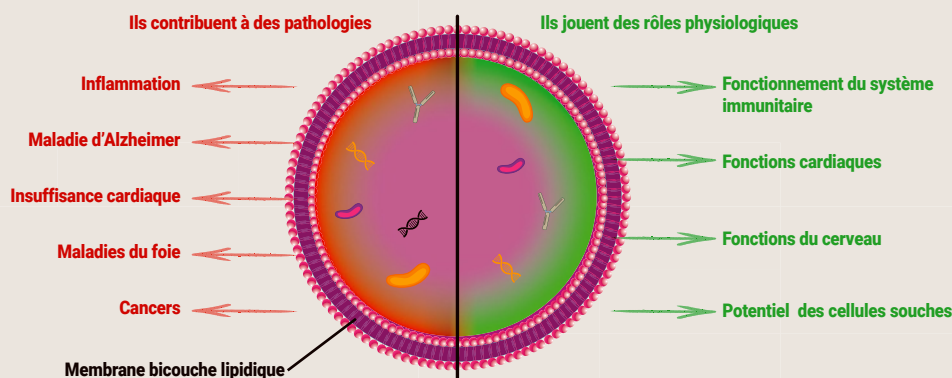
En 2015, l'Agence nationale de sécurité du médicament a délivré une autorisation de mise sur le marché pour la préparation de CSM de moelle osseuse pour le traitement de telles brûlures radiologiques. Aujourd'hui, d'autres équipes dans le monde tentent de suivre cette voie comme en Corée, en Argentine ou au Chili mais l'expérience de l'IRSN

BIOGÈNESE DES EXOSOMES

Décrits pour la première fois en 1981, les exosomes sont des vésicules de 30 à 100 nm déversées par une cellule dans son environnement. Comment se forment les exosomes? Le bon équilibre physiologique d'une cellule est régulé par un trafic intracellulaire faisant notamment intervenir des protéines qui y entrent et en sortent. Elles pénètrent la cellule par endocytose, mécanisme qui leur permet de traverser la membrane plasmique pour rejoindre le cytosol, le milieu liquide où baignent des organites, des structures spécialisées comme les endosomes ou les lysosomes. Quand les protéines atteignent les endosomes précoces, elles sont soit recyclées, soit dégradées. Celles qui sont dégradées sont regroupées dans des vésicules appelées «endosomes multivésiculés» (MVE). Une partie de ces MVE est éliminée, digérée par les lysosomes, l'autre fusionne avec la membrane plasmique et libère dans le milieu extracellulaire les vésicules qu'ils contiennent: les exosomes.



LES MULTIPLES MODES D'ACTIONS DES EXOSOMES



Les exosomes contiennent des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Ils servent, d'une part, de voie d'élimination de ces constituants, d'autre part, de vecteur de communication entre les cellules, car leurs constituants sont capables de modifier la physiologie des cellules qui les reçoivent. Ainsi, ils sont impliqués dans divers processus tant physiologiques, comme le système immunitaire, que pathologiques, comme dans les cancers.

reste à ce jour unique. « *Chaque patient est un cas particulier* », rappelle Radia Tamarat, experte en radiopathologie à l'IRSN. C'est ce qui explique que les experts de l'IRSN sont régulièrement sollicités par l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) pour venir en soutien des médecins dans le cadre de la prise en charge de patients surirradiés.

LES EXOSOMES SONT TRÈS PROMETTEURS

Mais cette stratégie thérapeutique à base de cellules souches a ses limites, notamment si un accident de grande ampleur avec de nombreuses victimes sévèrement exposées survenait comme dans le cas d'un acte terroriste, par exemple. Leur utilisation est en effet soumise à plusieurs contraintes : les CSM ne peuvent pas être produites à grande échelle ; le donneur doit être un parent proche afin d'éviter un rejet ; le délai d'obtention des cellules, lié à leur mise en culture, est de plus de dix jours ; leur qualité est affectée par l'âge du donneur ou ses maladies. « *On ne peut traiter qu'un petit nombre de patients de la sorte. Il fallait trouver une autre solution*, raconte Radia Tamarat. *Lors d'un congrès au Mexique en 2010, j'entends un post-doctorant singapourien présenter ses travaux sur les exosomes, des vésicules issues de CSM. Je travaillais depuis ma thèse sur un autre type de vésicules extracellulaires. J'ai pressenti que ces exosomes pouvaient être une solution pour soigner les brûlures radiologiques.* » Un voyage à Singapour à la rencontre de l'équipe de Sai Kiang Lim (Institute of Medical Biology) achève de la convaincre quand elle découvre que les chercheurs les avaient utilisés pour soigner des brûlures cutanées.

À l'époque, les exosomes commençaient à être utilisés en médecine régénérative. Ces vésicules que l'on retrouve dans les fluides biologiques comme l'urine ou le sang ont longtemps été considérées comme des déchets cellulaires permettant d'éliminer les protéines et les molécules indésirables (voir infographie). En fait, elles font bien plus (2). Sécrétées par la plupart des cellules saines, elles jouent un rôle clé dans la communication entre les cellules ou encore dans le système immunitaire. *A contrario*, lorsque les exosomes sont sécrétés par des cellules malades, ils participent et amplifient les pathologies, comme la propagation du cancer par le développement de métastases. Ils se révèlent néanmoins utiles dans ce cas pour diagnostiquer ces mêmes maladies en tant que biomarqueurs.

Des études récentes ont d'ailleurs montré que l'effet thérapeutique des CSM serait majoritairement lié à la sécrétion de ces vésicules extracellulaires, exosomes en tête. En outre, ceux-ci sont également faciles à manipuler car leur membrane est rigide et ils présentent l'avantage de résister à la congélation. Ainsi, ils pourraient être facilement transportés et stockés pour être utilisés sur le terrain ou en situation d'urgence en cas d'un grand nombre de victimes. De plus, contrairement aux CSM, du fait de leur compatibilité, les exosomes pourraient être injectés à de multiples patients.

« *En 2013, j'ai pu lancer nos premières études précliniques pour traiter des lésions cutanées avec des exosomes issus de CSM, en collaboration avec Sai Kiang Lim, qui produisait les vésicules (4), poursuit la biologiste. Sur un modèle de brûlure radiologique du membre*

inférieur de différentes lignées de souris, nous avons montré que les exosomes sont une alternative aux cellules souches pour la réparation de lésions cutanées radio-induites : ils permettent une revascularisation du tissu irradié et sa cicatrisation par le recrutement de cellules inflammatoires. » Cela ouvre la perspective d'une application clinique à très grande échelle pour ces brûlures radiologiques.

Mais la route est encore longue avant un transfert clinique. Il reste à faire la démonstration préclinique de l'innocuité des exosomes et à préciser leur efficacité thérapeutique par des études précliniques sur des cochons. En parallèle, subsiste un défi de taille : la standardisation du processus de culture de CSM et de production d'exosomes pour assurer une production de grade clinique à grande échelle. « *Aujourd'hui, seule l'équipe de Sai Kiang Lim est capable d'en produire en quantité importante mais pas dans les conditions réglementaires françaises, précise la chercheuse. Pour assurer cette production nationale pour le traitement des brûlures radiologiques, nous sommes engagés dans un projet financé par l'Agence nationale de la recherche baptisé Exocet (2017-2021), en collaboration avec l'Inserm et le CTSA.* » Malgré ces défis, l'avenir des exosomes est assurément prometteur.

UN ESPOIR POUR LE SYNDROME GASTRO-INTESTINAL

En cas d'accident à grande échelle provoquant un syndrome gastro-intestinal, l'IRSN a bon espoir de proposer une thérapie innovante efficace à base d'exosomes issus de CSM. Les études précliniques sont encourageantes.

« *En collaboration avec une équipe américaine financée par les Instituts américains de la santé (National Institutes of Health ou NIH), nous avons évalué le bénéfice des exosomes sur des souris soumises à une irradiation du corps entier à des doses létales de 10 Gy (3), explique Radia Tamarat. Résultat : les exosomes augmentent le temps de survie des animaux, les dommages de la muqueuse intestinale sont réduits, la réparation et la régénération de l'épithélium de l'intestin grêle, le tissu à son interface avec l'organisme, est stimulé, tout comme la vascularisation.* » Reste à montrer que la technique est applicable à l'humain.

*Le gray (Gy) mesure la dose absorbée, c'est-à-dire la quantité d'énergie cédée par les particules radioactives à la matière exposée, par unité de masse. 1 gray correspond à 1 joule cédé par kilogramme de matière.

RÉFÉRENCES

- > (1) R. Tamarat, M. Benderitter, The Medical Follow-up of the Radiological Accident: Epinal 2006, *Radiation Research*, 2019.
- > (2) S. Flamant, R. Tamarat, Extracellular and vascular injury: New insights for radiation exposure, *Radiation Research*, 2016.
- > (3) A. Accarie et al., Extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells mitigate intestinal toxicity in a mouse model of acute radiation syndrome, *Stem Cell Research & Therapy*, 2020.
- > (4) C. Loinard et al., HuMSC-EV induce monocyte/macrophage mobilization to orchestrate neovascularization in wound healing process following radiation injury, *Scientific report* (en cours de soumission).