

Imagerie Moléculaire optique

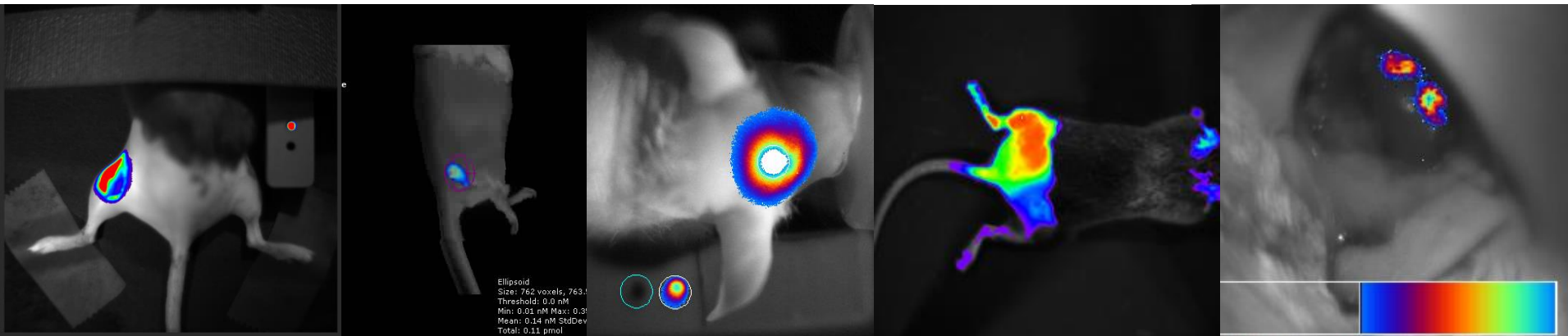
9 Décembre 2016



Franck Couillaud

Université Bordeaux - EA IMOTION

Imagerie Moléculaire et Thérapies Innovantes en Oncologie



L'imagerie a révolutionné la pratique médicale

Rayon X (Röntgen, 1895)

Echographie 1972

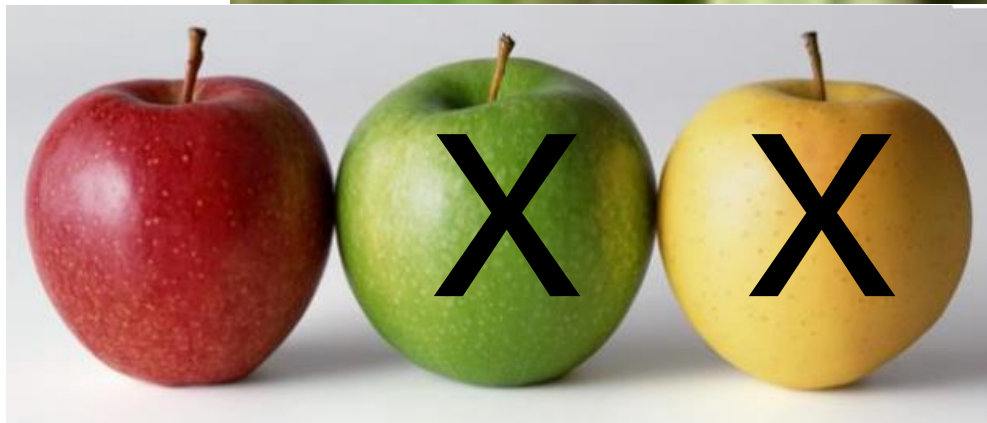
IRM 1980

*Imagerie anatomique basée sur les propriétés
biophysiques des tissus*

La révolution se poursuit avec
l'imagerie moléculaire



?



La couleur, une
information
chimique/biochimique

L'imagerie moléculaire rajoute les informations **chimiques (ou biochimiques)** sur les images basées sur les propriétés physiques des organismes, organes, tissus **vivants**



Protéines, sucre, lipides, ARN, ADN...
Métabolisme (Activité enzymatique)

L'imagerie moléculaire repose sur **différentes modalités** d'imagerie

- rayons X (CT)
- magnétiques (IRM)
- radioactives (TEP/SPECT)
- acoustiques (échographie)
- optiques (BLI, FRI, FMT)



... couplées à des **outils moléculaires**

- traceurs
- sondes (Ac, Aptamères, ligands, récepteur,)
- gènes rapporteurs

Detection Range of Imaging Modalities

Résolution

Sensibilité

Anatomy

Physiology

Metabolism

Molecular

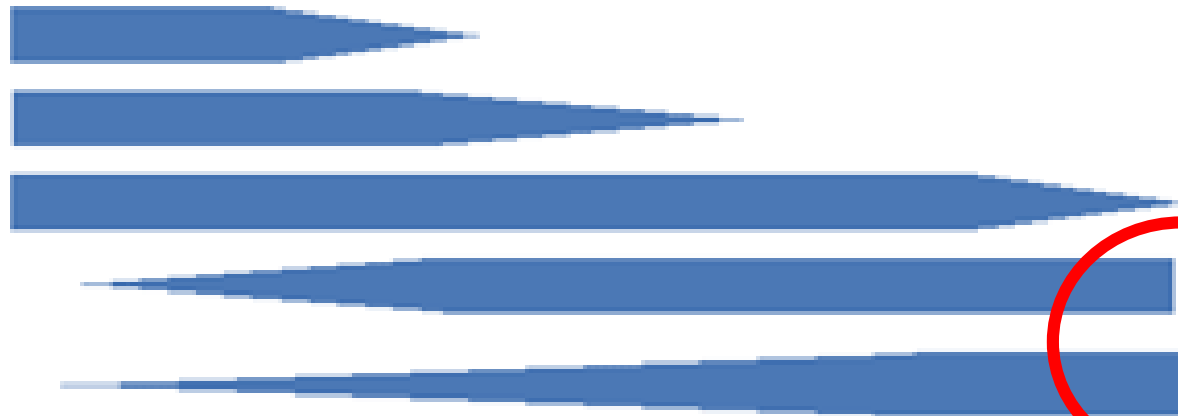
X-Ray/CT

US

MRI

Nuclear

Optical



Weissleder, Radiology 1999; 212: 609–614

Tomographie par Emission de Positons TEP (PET)

Technique	Resolution*	Depth	Time†	Quantitative‡	Multi-channel	Imaging agents	Target	Cost*\$	Main small-animal use	Clinical use
PET	1-2 mm	No limit	Minutes to hours	Yes	No	^{18}F -, ^{64}Cu - or ^{11}C -labelled compounds	Physiological, molecular	\$\$\$	Versatile imaging modality with many tracers	Yes

Single photon Emission computerized Tomography (SPECT) Tomographie d'émission monophotonique (TDM)

Technique	Resolution*	Depth	Time†	Quantitative‡	Multi-channel	Imaging agents	Target	Cost*\$	Main small-animal use	Clinical use
SPECT	1-2 mm	No limit	Minutes to hours	Yes	No	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ - or ^{111}In -labelled compounds	Physiological, molecular	\$\$	Imaging labelled antibodies, proteins and peptides	Yes



Sensibilité
Richesse sondes
Quantitative



Résolution
Temps d'acquisition
Demi vie / chimie / cyclotron
Radioprotection
Coûts

IMAGERIE OPTIQUE *in vivo*

Weissleder R & Pittet MJ (2008). *Nature*.

Technique	Resolution*	Depth	Time†	Quantitative‡	Multi-channel	Imaging agents	Target	Cost*\$	Main small-animal use	Clinical use
Fluorescence reflectance imaging	2-3 mm	<1 cm	Seconds to minutes	No	Yes	Photoproteins, fluorochromes	Physiological, molecular	\$	Rapid screening of molecular events in surface-based disease	Yes
FMT	1 mm	<10 cm	Minutes to hours	Yes	Yes	Near-infrared fluorochromes	Physiological, molecular	\$\$	Quantitative imaging of fluorochrome reporters	In development
Bioluminescence imaging	Several mm	cm	Minutes	No	Yes	Luciferins	Molecular	\$\$	Gene expression, cell and bacterium tracking	No
Intravital microscopy¶	1 µm	<400-800 µm	Seconds to hours	No	Yes	Photoproteins, fluorochromes	Anatomical, physiological, molecular	\$\$\$	All of the above at higher resolutions but limited depths and coverage	In development

Opto-acoustique Imagerie Raman



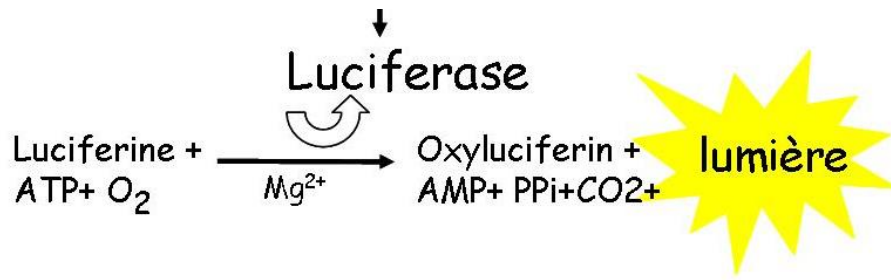
Sensibilité
Coût
Diversité des sondes
Sécurité



Résolution (sauf microscopie)
Profondeur
Quantification

Place majeure en préclinique, quel avenir en clinique ?

BIOLUMINESCENCE



Tk gène rapporteur

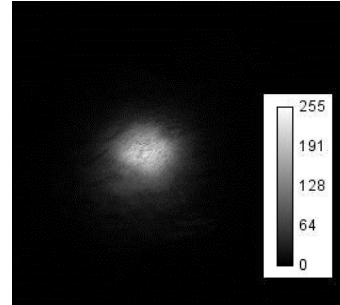
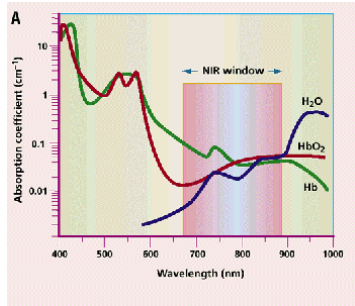
FLUORESCENCE



Tk gène rapporteur

Fluorophores chimiques
Couplages/nanoparticules

Limitations de l'imagerie optique:



Absorption

Dispersion

Autofluorescence

Solution

NIR window

?

NIR window

Conséquences

Perte d'intensité
Limitation
profondeur

Perte Résolution

Bruit

Place majeure en préclinique, quel avenir en clinique ?

Bioluminescence

Fluorescence

BLI

Microscopie
intravitale
Fibrée

Fluorescence
par réflexion

Fluorescence
tomography

OUI

Cell vizio

FRI

FMT
fDOT

Préclinique

Clinique

X

Biopsie
Optique

Per opératoire
Ophtalmologie
Endoscopie

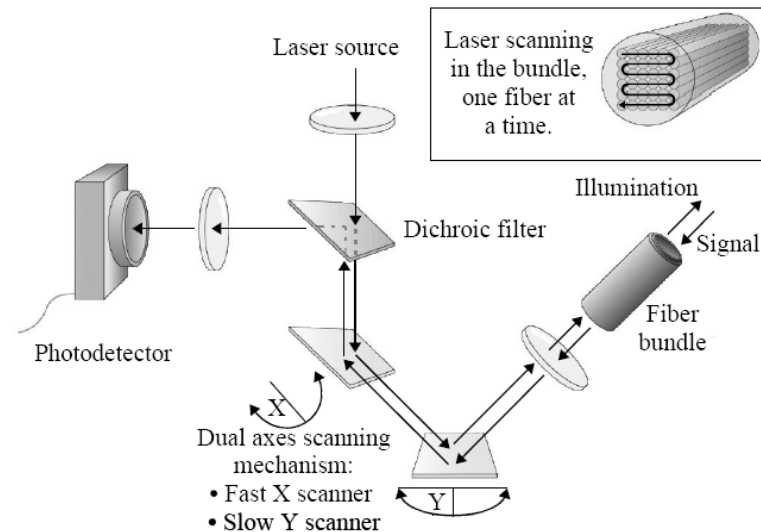
Sein
Prostate

Cell vizio, Mauna Kea

Résolution 10 μm

Champs de vue

200 x 200 - 600x600 μm^2

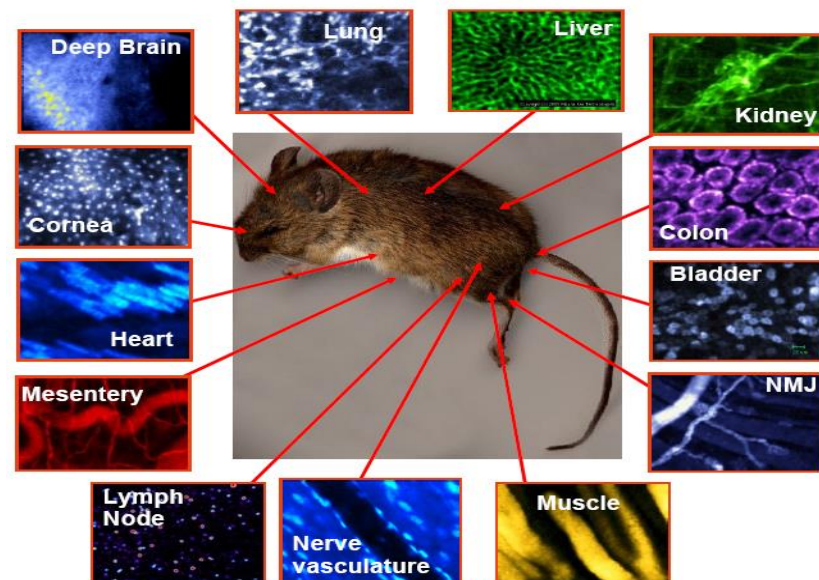


Cell vizio, Biopsie optique



Bronche
Tube digestif
Cerveau

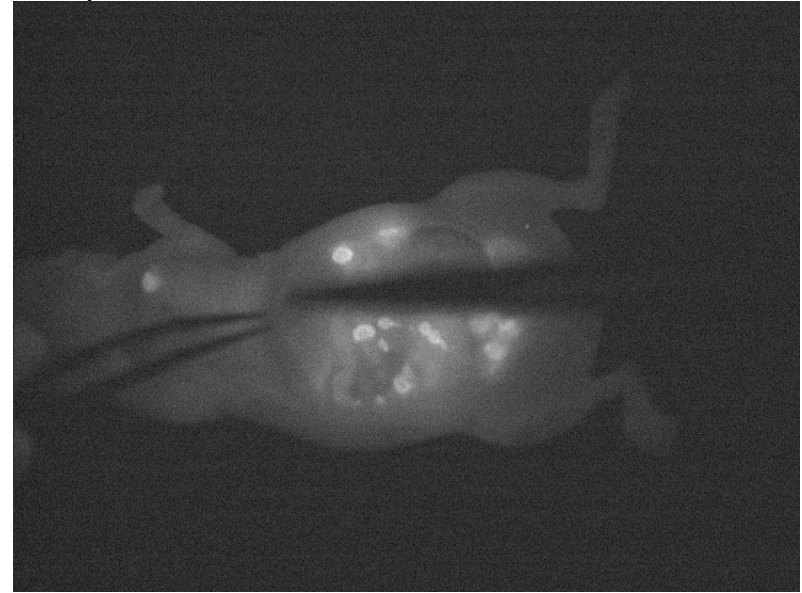
Video sur
www.maunakeatech.com/



Fluobeam – Fluoptic (700 ou 800 nm)



Raft RGD- NIR



Fluoptics imagers are compatible with most of the probes emitting in the near infra-red.

ICG - Bleu patenté

Le cancer de la prostate

- Le cancer le plus fréquent chez l'homme
 - La deuxième cause de mortalité par cancer après le cancer du poumon.
 - La mortalité liée au cancer de la prostate diminue mais le nombre de cas augmente.
- 350 000 nouveaux cas/an en Europe
 - 25% des cancers chez l'homme.
 - 9% des décès par cancer

Problème de prise en charge

Pour les patients dont les PSA sanguins sont entre 4 et 10 ng/mL :
Pas d'imagerie avant prélèvement – Biopsies 6 à 10 prélèvement par lobe
La première série de biopsies est positive dans 22% des cas,
la seconde : 11%, la troisième : 5%, la quatrième : 4%

Comment améliorer l'efficacité des biopsies
pour le cancer de la prostate ?

Biopsies ciblées capables d'identifier et de
localiser des zones suspectes ($\geq 3\text{mm}$)

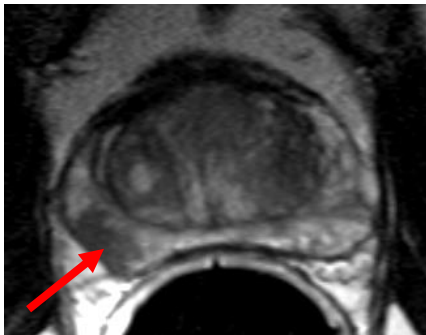
Comment identifier le cancer

Imagerie fonctionnelle en IRM :

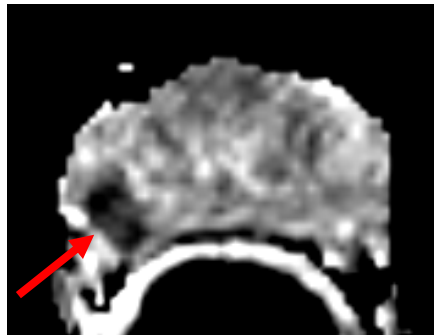
Véritable progrès mais manque de

- Sensibilité (taille des tumeurs détectables)
- Spécificité (adénome versus cancer)
- Couplage Biopsie
- Temps machine /coût

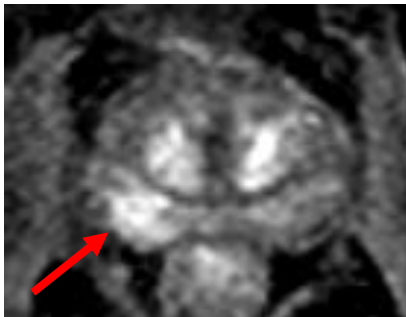
SpT2



Diffusion



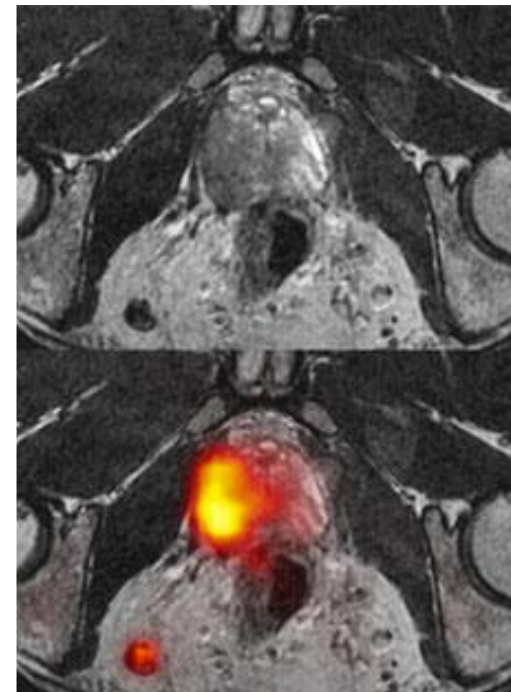
Perfusion



Imagerie moléculaire en TEP-IRM :

Prometteur mais

- résolution spatiale insuffisante
- temps machine / coûts



Comment identifier le cancer et guider la biopsie ?

Le projet :

- Identifier le cancer en imagerie moléculaire en haute résolution
- Avec un dispositif endorectal pour pouvoir guider les biopsies

Tomographe moléculaire de fluorescence couplé à une sonde endorectale ultrasonore



Sonde fluorescente spécifique



cea **leti**



Aixplorer,
Supersonic Imagine,

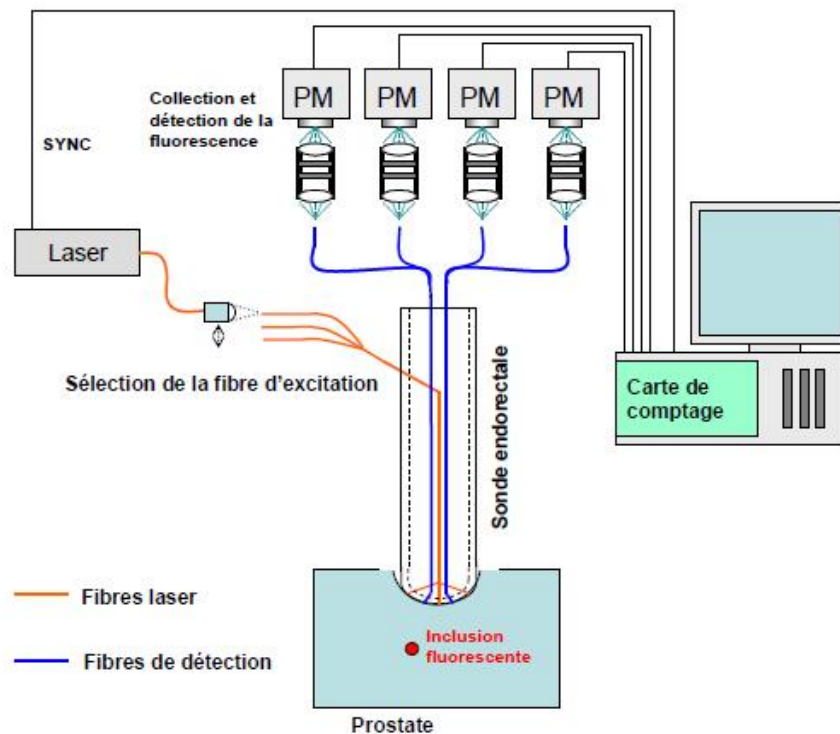


- Détection de l'inclusion jusqu'à 2,5 cm de profondeur
- Précision de 0,15 cm dans chaque direction

ANR Prostafluor (2007) & ANR BITUM (2011)

La tomographie optique résolue en temps

- Exemple d'application : guidage des biopsies de la prostate



- Sorties du laser
- Points de détection

Diapositive retirée / confidentialité

Diapositive retirée / confidentialité

Diapositive retirée / confidentialité

Comment identifier le cancer et guider la biopsie ?

Le projet :

- Identifier le cancer en imagerie moléculaire en haute résolution
- Avec un dispositif endorectal pour pouvoir guider les biopsies

Tomographe moléculaire de fluorescence couplé à une sonde endorectale ultrasonore



Sonde fluorescente spécifique

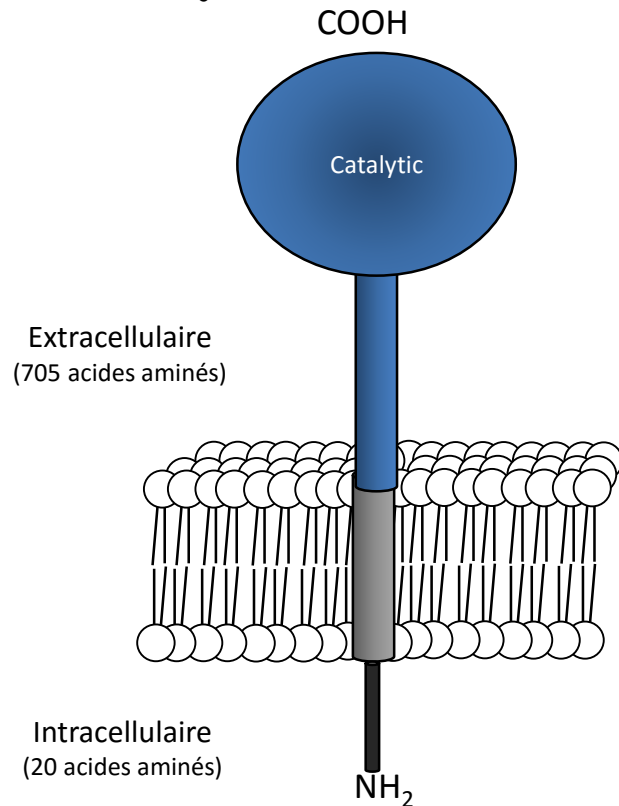


ANR Prostafluo (2007) & ANR BITUM (2011)

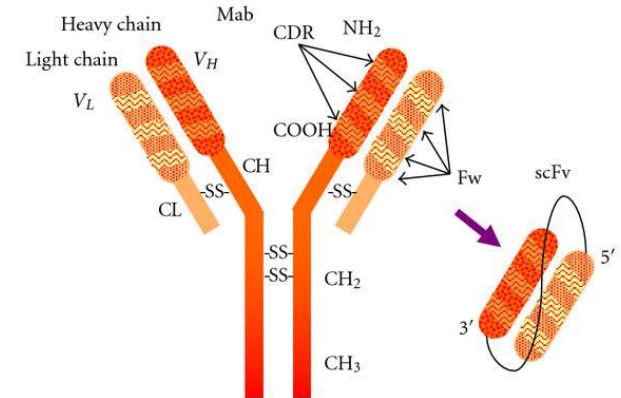
Quelle cible moléculaire , quelle sonde ?

- PSMA (prostate specific membrane antigen), surexprimé dans les cellules cancéreuses prostatiques (100 à 1000 fois > niveau basal)

- Atout majeur, l'internalisation de PSMA



PSMA selon Ayyappan K.
Rajasekaran, American Journal of
Physiology 2005



scFvD2B-Xenolight 770nm

MAEVKLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGSISFDGN
 NNYNPSLRNRISITRDTSKNQFFLKLSVTTEDATYYCAREGDYYGSSFFTYWGQGTTLVT
 VSSGGGGSGGGSGGGGSALDIVMTQSPASLSASVGETVTLTGASENIYGALNWWYQR
 KQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRFSGSGSRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVFRTYTFG
 GGTKLEIKRAAAHHHHHHGAAEQKLISEEDLNGAA

Poly-His tag

25 KD

University of Verona, Italy
 Giulio Fracasso & Marco Colombatti

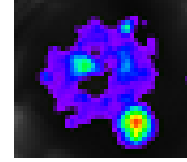


PROTOCOLE *in vivo* ?

Implantation orthotopique



+



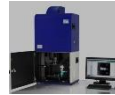
LNCaP-lucF

500 000 cellules/10 μ L/lobe



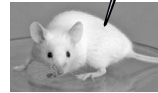
UMS
3428

Suivi pousse tumorale
par imagerie BLI



scFvD2B *

Injection IV scFv*



Biodistribution
+
Cinétique



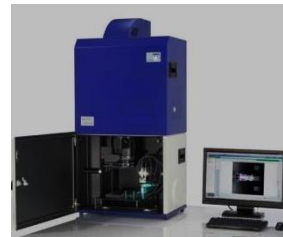
Fluorescence
2D (FRI)



Tomographie
moléculaire de
fluorescence 3D
(FMT)

Excision de la prostate

Imagerie *ex vivo*



BLI



FRI



Scanner Odyssey

Histologie



Injection

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

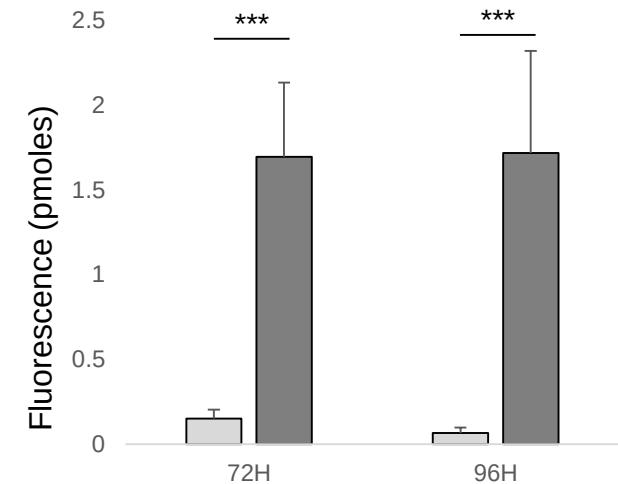
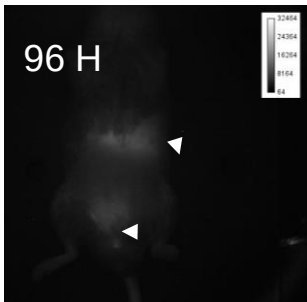
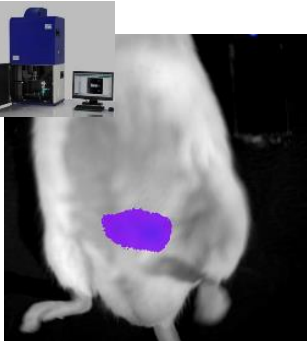
Modèle orthotopique

Suivi croissance tumorale *In vivo*

Imagerie *In vivo*, dissection de la prostate

Suivi de la pousse tumorale
in vivo par imagerie de
Bioluminescence

Détection du cancer de la prostate *in vivo*
par Tomographie Moléculaire de
Fluorescence

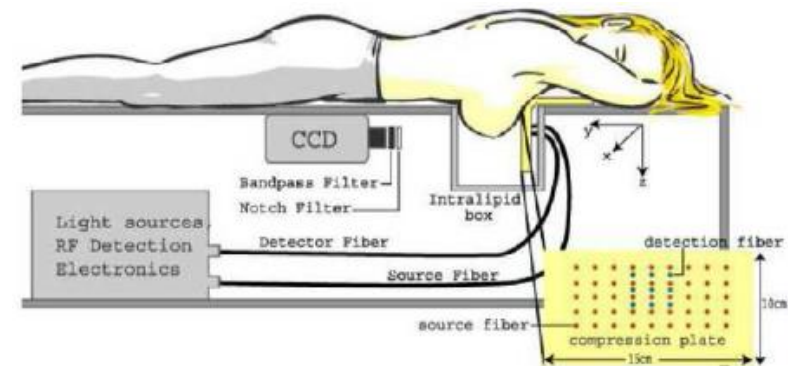
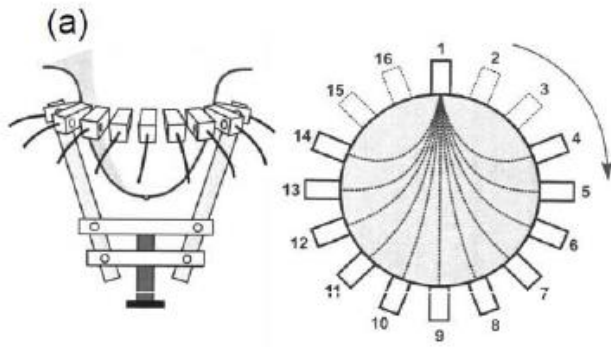
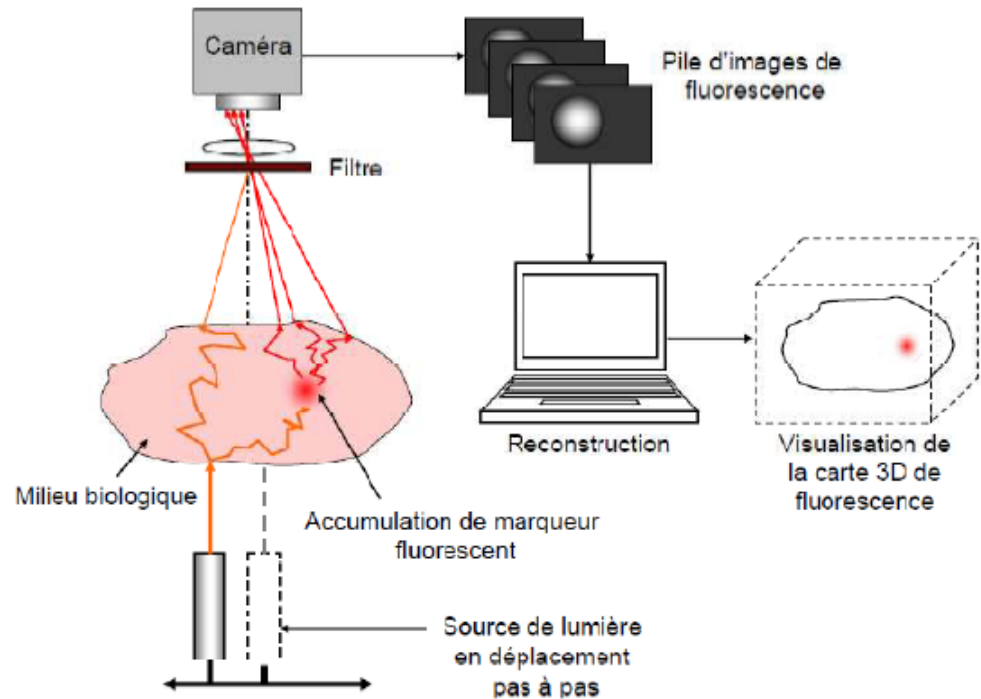


□ scFvD2BGF7.7 ■ scFvD2B

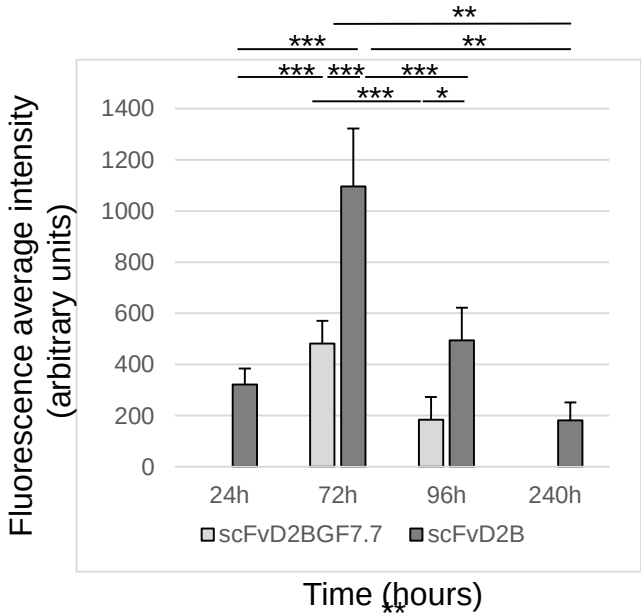
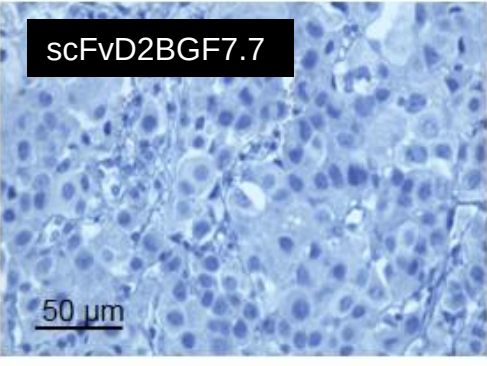
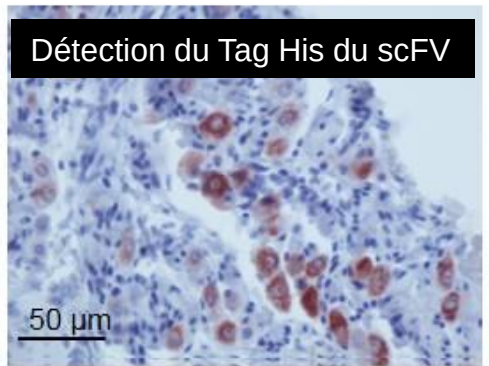
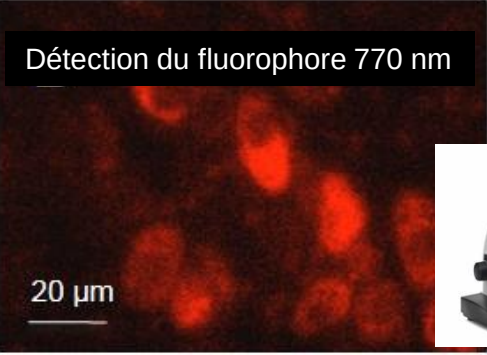
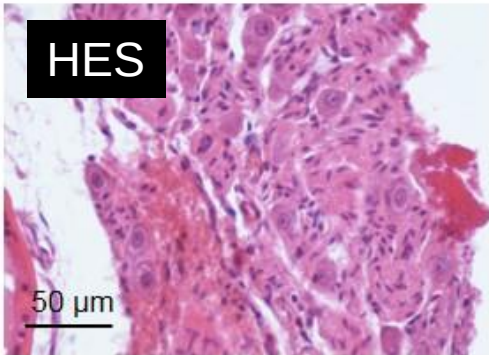
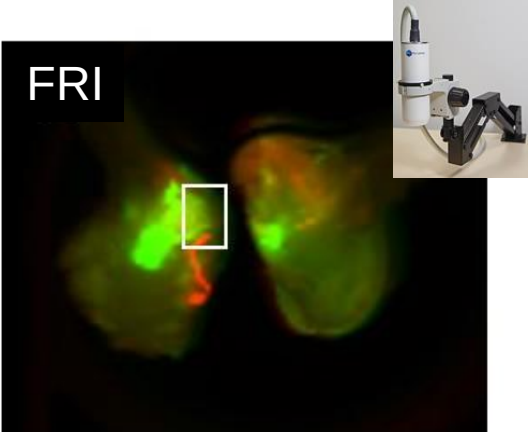
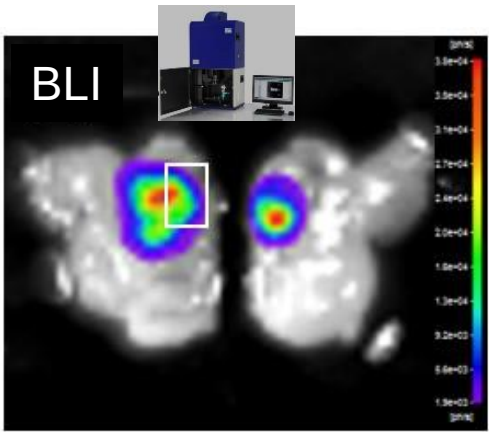
Time (hour)

La tomographie optique continue

■ Principe



Contrôles *ex vivo* et *in vitro*



Tomographe moléculaire de
fluorescence couplé à une sonde
endorectale ultrasonore



Sonde fluorescente spécifique



BESOIN d'une AMM
« médicament »

Dispositif médical

L'imagerie moléculaire est le nouveau challenge de l'imagerie



L'imagerie optique
occupe une place majeure en préclinique,
quel avenir en clinique ?

