

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : Biothérapies et prise en charge des douleurs lombaires : de la nanovectorisation de miARN à la preuve de concept.	3 mots-clés : Disque intervertébral, douleurs lombaires, miARN	
Unité/équipe encadrante : RMES UMRS1229		
Directeur de thèse : Pr Johann CLOUET	N° de tél : 0786091129 Mail : johann.clouet@univ-nantes.fr	
Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) : Les lombalgies représentent un véritable problème de santé public dont l'impact socio-économique est majeur. Considéré comme le mal du XXème siècle, par l'OMS, les traitements proposés sont essentiellement symptomatiques. Il s'agit de traitements pharmacologiques ou chirurgicaux (arthrodèse, arthroplastie) pour les stades avancés. Néanmoins, environ 40% des lombalgies peuvent être expliquées par la dégénérescence du disque intervertébral. Les processus de cette dégénérescence sont aujourd'hui mieux connus et montrent le rôle des miARN dans celui-ci, notamment du miR155. Ainsi, les miARN peuvent représenter des cibles et des agents thérapeutiques potentiels [9]. Leur utilisation est néanmoins conditionnée à leur vectorisation au sein de la cellule grâce à des vecteurs adaptés. Parmi ces vecteurs, les systèmes nanoparticulaires sont particulièrement intéressants.		
Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) : Ce projet innovant et unique de par l'association des compétences du laboratoire RMES (notamment pour le miARN), du laboratoire MINT (notamment pour la formulation de nanovecteurs fonctionnalisés) et ONIRIS (notamment pour les expérimentations pré-cliniques et de clinique vétérinaire) consistera au développement de nanocapsules lipidiques fonctionnalisées afin de vectoriser un miARN d'intérêt (miR155). Plusieurs objectifs seront traités : la formulation, caractérisation des nanocapsules fonctionnalisées et chargées en miARN, l'évaluation de leur biocompatibilité et de leur biofonctionnalité, la preuve de concept ex vivo et in vivo (modèle brebis) et enfin le développement des premières approches d'évaluation clinique vétérinaire (essai sur patient canin). Cette dernière partie représente un premier pas vers le changement d'échelle du concept avant un essai clinique humain, et se fera selon les Bonnes Pratiques de Fabrication qui seront définies.		
Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) : WP1 : Formulation et caractérisation de LNC-miR155 fonctionnalisés <ul style="list-style-type: none"> • Formulation de LNC chargées en miARN grâce au processus d'inversion de phase breveté par le laboratoire MINT. • Caractérisation des fLNC par diffusion dynamique et électrophorétique de la lumière, spectroscopie de fluorescence : Détermination du diamètre, de l'homogénéité de la suspension, du potentiel zéta, de l'encapsulation du miR155 et de la capacité de libération du miR155 • Purification par SEC et quantification des peptides sLINK-N adsorbés par LC-MS, HPLC et H NMR • Évaluation de la stabilité des peptides adsorbés Ensuite : <ul style="list-style-type: none"> • Contrôles qualité selon norme NF-EN-ISO13408 concernant les produits de santé soumis à un traitement aseptique • Etude de cytocompatibilité selon norme NF-EN-ISO10993-5 spécifiant les méthodes d'essai d'évaluation de la cytotoxicité in vitro des dispositifs médicaux • Evaluation de l'activité métabolique par un sel de tétrazonium (MTT) et de la viabilité cellulaire par dosage du LDH. WP 2 (in vitro) : Biofonctionnalité de fLNC-miR155 <ul style="list-style-type: none"> • Détermination de la cinétique d'internalisation des fLNC-miR155 par technique d'imagerie confocale et cytométrie en flux (à comparer avec le LNC-miR155 et le LNC vierge). • Evaluation de la spécificité des fLNC-miR155 pour les cellules du NP (à comparer avec le LNC-miR155 et le LNC vierge). • Etude de l'activité biologique in vitro des fLNC-miR155 par évaluation de l'apoptose, de la dégradation de la matrice extracellulaire et de l'inflammation. • Etude de la synergie potentielle entre le sLink-N et le miR155 Puis (Modèle ex vivo de DIV ovin) <ul style="list-style-type: none"> • Evaluation de la localisation et la persistance des fLNC-miR155 par fluorescence • Etude de l'activité biologique par histologie, IHC et étude du contenu en aggrecan et collagène II (étude de l'effet synergique). WP 3- Evaluation de la capacité des fLNC-miR155 à ralentir ou inverser le processus dégénératif dans de grands modèles animaux précliniques et cliniques présentant une dégénérescence discale. <ul style="list-style-type: none"> - Injection intradiscale percutanées aléatoire de fLNC-miR155 ou fLNC vierge ou contrôle sur modèle ovin défini. Puis suivi par IRM sur 6 mois et analyse tissulaire au-delà. o But : Etude de sécurité, de faisabilité et efficacité sur modèle ovin. Essai clinique monocentrique en double aveugle, randomisé et contrôlé, réalisé chez des chiens adultes chondrodystrophiques qui seront traitées par injection intradiscale transannulaire de fLNC-miR155 (bras 1) ou fLNC vierge (bras 2). <ul style="list-style-type: none"> o Examen clinique complet des chiens le jour de l'inclusion o Recensement des EI légers et graves lors de l'injection et post-injection qui seront enregistrés dans le CRF. o Suivi des patients canins par radiographies et IRM au dépistage et durant les 6 mois post-injection. 		

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :

Compétences scientifiques générales, compétences pharmaceutiques générales notamment sur les aspects qualité et BPF.
Accompagnement sur ces aspects scientifiques par le Directeur et le co-directeur de thèse ainsi que par un post-doctorant présent au sein du laboratoire (financement ANR 2022 NEMESIS). Accompagnement technique par les ingénieurs des laboratoires RMeS et MINT.
Accompagnement pour la partie pré-clinique et clinique par le Pr Marion Fusellier au sein d'ONIRIS, 3eme partenaire de l'ANR NEMESIS.

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

L. FRAPIN, J. CLOUET, C. CHEDEVILLE, C. MORARU, E. SAMARUT, N. HENRY, M. ANDRÉ, E. BORD, B. HALGAND, J. LESOEUR, M. FUSELLIER, J. GUICHEUX, C. LE VISAGE. Controlled release of biological factors for endogenous progenitor cells migration and intervertebral disc extracellular matrix remodeling. Biomaterials (2020). IF=8,6

LE MOAL B., FUSELLIER M., HALGAND B., LE VISAGE C., BENOIT J-P., PASSIRANI C., GUICHEUX J., LEPELTIER E., CLOUET J. Lipid nanocapsules for the intracellular delivery of therapeutic nucleic acids: potential application to intervertebral disc regenerative medicine. International Journal of Pharmaceutics. IF=5,7

Micro-RNA-targeting nanomedicines for the treatment of intervertebral disc degeneration. H. GENEDY, P. HUMBERT, B. LAOULAOU, B. LE MOAL, M. FUSELLIER, C. PASSIRANI, C. LE VISAGE, J. GUICHEUX, E. LEPELTIER, J. CLOUET. Advanced Drug Delivery Review. IF=17,8

Collaborations nationales et internationales :

Collaboration nationale avec le laboratoire MINT d'Angers depuis 2017 (1 encadrement de M2, 1 encadrement de thèse de sciences).