

3D MigMag: Outils magnétiques pour les thérapies cellulaires

BIOLOGIE & SANTÉ 2011 ANR PCV 2006



Le nanomagnétisme au service des thérapies cellulaires

Claire Wilhelm, Florence Gazeau, *MSC, CNRS Université Paris Diderot*
Catherine Le Visage, Didier Letourneur, *Inserm U698, Université Paris Diderot, Université Paris Nord*
Christine Ménager, *PECSA, CNRS Université Pierre et Marie Curie*

Des cellules magnétiques pour construire un tissu

L'objectif était de développer des méthodes physiques – basées sur le nanomagnétisme – pour améliorer les méthodes d'ingénierie tissulaire et de thérapie cellulaire. Notre approche consiste à rendre magnétiques des cellules d'intérêt thérapeutique grâce à l'endocytose de nanoparticules d'oxyde de fer. Ces **nano-aimants** se concentrent dans des organites intracellulaires sans affecter le fonctionnement de la cellule (1). En conférant des propriétés magnétiques à la cellule, ils permettent (2):

- la **détection et le suivi non invasif** *in vitro* ou *in vivo* des cellules par **IRM**
- la **manipulation des cellules par des forces magnétiques** appliquées à distance.

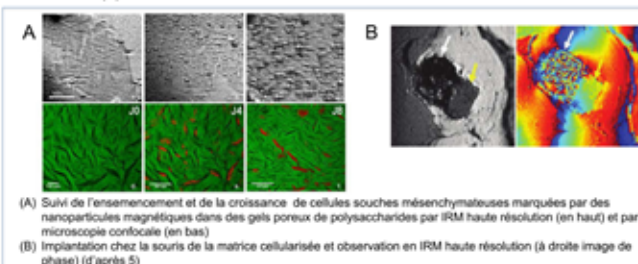
L'idée du projet était d'utiliser ces deux fonctionnalités pour **contrôler l'ensemencement et l'organisation de cellules souches** destinées à la régénération tissulaire.

Contrôle magnétique de l'organisation cellulaire 3D

A partir d'attracteurs magnétiques disposés sous un substrat, des arrangements tridimensionnels de cellules souches ont pu être construits en contrôlant d'une part leur géométrie et d'autre part leur compacité (3). Nos expériences ont mis en évidence que le paramètre de compaction était un facteur déterminant pour l'évolution future de l'agrégat cellulaire. Le comportement dynamique de l'agrégat reflète macroscopiquement (à l'échelle tissulaire) des processus d'interactions à l'échelle cellulaire. D'un point de vue fondamental, ce type d'expérience vise à comprendre les paramètres physiques (densité, diffusion des nutriments, contrainte mécanique ...) gouvernant la différenciation cellulaire et la construction d'un tissu fonctionnel.

Matrice de soutien pour l'ingénierie tissulaire

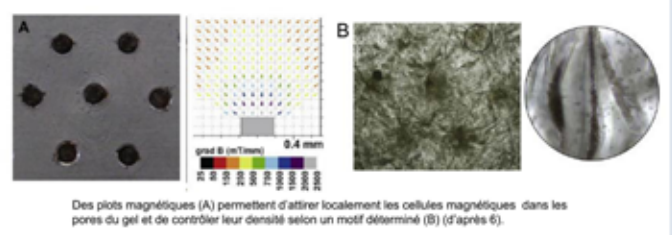
La deuxième étape était de contrôler l'organisation cellulaire au sein de matrices tridimensionnelles. L'objectif est d'y introduire de grandes densités de cellules et ce de manière ordonnée, afin de remplir les exigences d'organisation que requiert le développement tissulaire. Des **réseaux tridimensionnels de polysaccharides (pullulane et dextrane), de porosité contrôlée** ont été développés dans cet objectif (4). L'architecture interne et la cellularisation de ces matrices ont été caractérisées par des techniques de microscopie (confocale et électronique) et de manière non invasive par IRM haute résolution. Un **suivi IRM *in vitro* puis *in vivo*** après l'implantation chez l'animal a été possible grâce au marquage magnétique des cellules (5).



Manipulations magnétiques dans les matrices 3D: vers un tissu organisé

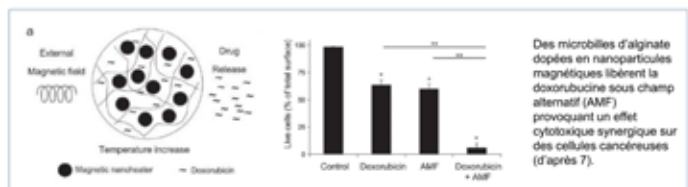
Nous avons ensuite utilisé une **force magnétique externe pour manipuler et diriger des cellules marquées magnétiquement, à l'intérieur de gels 3D lamellaires**. Le tracking des cellules sous force magnétique nous a permis de déterminer les **caractéristiques physiques** du gel (tortuosité, viscosité effective), en relation directe avec son efficacité pour l'ensemencement cellulaire (6). Des **micromanipulations magnétiques** ont également permis de mesurer l'**élasticité locale** vue par les cellules au sein de ces matrices, paramètre fondamental pour leur adhésion et leur différenciation. Enfin, des forces magnétiques contrôlées dans l'espace et le temps ont permis d'optimiser la densité cellulaire dans les matrices et de générer une organisation spécifique (6).

La technique d'organisation magnétique des cellules ouvre ici des perspectives prometteuses pour l'ingénierie *in vitro* de vaisseaux sanguins: nous tentons à présent d'organiser sélectivement des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses pour reproduire l'architecture d'une paroi vasculaire.



Des hydrogels magnétiques pour l'hyperthermie locale et la délivrance contrôlée de principe actif

Des microbilles d'alginate encapsulant de fortes concentrations de nanoparticules magnétiques, ont été synthétisées et insérées dans les gels de polysaccharide. Sous l'effet d'un champ magnétique haute fréquence, ces billes dopées en nanoparticules, servent de microgénérateurs de chaleur et peuvent libérer un principe actif de manière contrôlée dans le temps et l'espace. Nous avons testé le relargage d'un anticancéreux à partir de ces billes sous stimulus magnétique (7). Un tel objet peut trouver des applications non seulement pour la vectorisation et la délivrance locale d'agents thérapeutiques, mais également pour la stimulation locale de l'activité cellulaire, par libération contrôlée de facteurs de croissance ou de chimio-attractants.



- Wilhelm C, Gazeau F. Universal cell labelling with anionic magnetic nanoparticles. *Biomaterials* 2008; 29:3161-3174.
- Gazeau F, Wilhelm C. Magnetic labeling, imaging and manipulation of endothelial progenitor cells using iron oxide nanoparticles. *Future Med. Chem.* 2010; 2:397-408.
- Frasca G, Gazeau F, Wilhelm C. Formation of a three-dimensional multicellular assembly using magnetic patterning. *Langmuir* 2009; 25:2348-2354.
- Autissier A, Letourneur D, Le Visage C. Pullulan-based hydrogel for smooth muscle cell culture. *J Biomed Mater Res A* 2007; 82:336-342.
- Le Visage C, Pouzet F, Chaubet F, Chaubet D, Letourneur. Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(9):3640-3648
- Le Visage, F, Chaubet, A, Autissier, D, Letourneur, Patent EP 07301451.6. International patent 11.10.2008 - 07301451.6-1219
- Le Visage, D, Letourneur, Patent EP 07301452.4. International patent 11.10.2008 - 07301452.4-1219
- M. Poirier-Quinot, G. Frasca, C. Wilhelm, N. Luciani, J.-C. Ginefri, L. Darrasse, D. Letourneur, C. Le Visage, F. Gazeau. High resolution 1.5T magnetic resonance imaging for tissue engineering constructs: a non invasive tool to assess 3D scaffold architecture and cell seeding *Tissue Eng Part C* 2010, 16(2): 185-200
- Robert D, Fayol D, Le Visage C, G. Frasca, S. Brulé, C. Ménager, F. Gazeau, D. Letourneur, M. Wilhelm. Magnetic micro-manipulations to probe the local physical properties of porous scaffolds and to confine stem cells. *Biomaterials*, 2010, 31(7): 1586-15957.
- S. Brulé, M. Levy, C. Wilhelm, D. Letourneur, F. Gazeau, C. Ménager, C. Le Visage. Doxorubicin release triggered by magnetic nanoh eaters: a combined therapy. *Adv Mater*. 2011, 8,23(8):787-900

CONTACTS :

Florence.gazeau@univ-paris-diderot.fr
Claire.wilhelm@univ-paris-diderot.fr
Catherine.levisage@inserm.fr
Didier.letourneur@inserm.fr
Christine.menager@upmc.fr

