

## “L’imagerie *in vitro* et *in vivo* du symporteur sodium iode ou NIS”

T. Pourcher

[pourcher@unice.fr](mailto:pourcher@unice.fr) ou [thierry.pourcher@cea.fr](mailto:thierry.pourcher@cea.fr)



CEA de  
Marcoule

Commissariat à l’Energie Atomique  
Univ. Nice Sophia-Antipolis  
Centre Antoine Lacassagne



Faculté de  
médecine  
de Nice

## “L’imagerie *in vitro* et *in vivo* du symporteur sodium iode ou NIS”

### *Introduction sur transport d’iode*

- Effecteurs et utilisation clinique
- Radiothérapie génique avec NIS

### *Nos projets*

- Imagerie, NIS et radiothérapie
- Imagerie, NIS et radiotoxicologie

**Forte capacité à capter et accumuler l'iode  
chez les mammifères**

**Iode indispensable à la  
synthèse des hormones  
thyroïdiennes**

**Iode rare dans la  
biosphère**

Contrôle du :

- ⇒ métabolisme cellulaire
- ⇒ développement du SNC et des os  
(fœtus et nouveau-né)

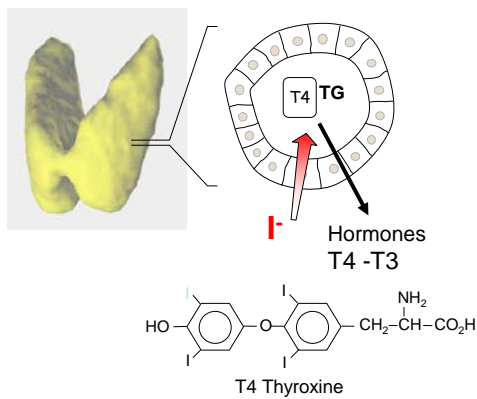
**Besoin quotidien > 100 µg**

Sources d'iode	(µg/kg)
Légumes	30
Viande	50
Eau	1-150
Poissons mer	250

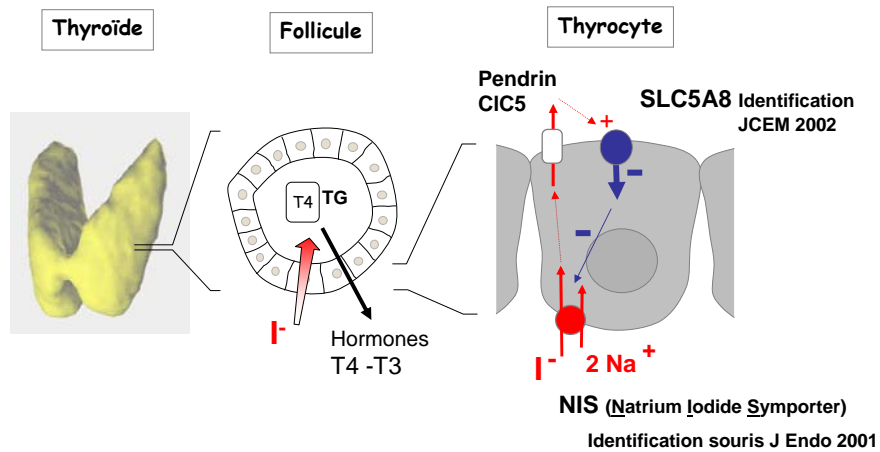
## Organisation fonctionnelle de la thyroïde

Thyroïde

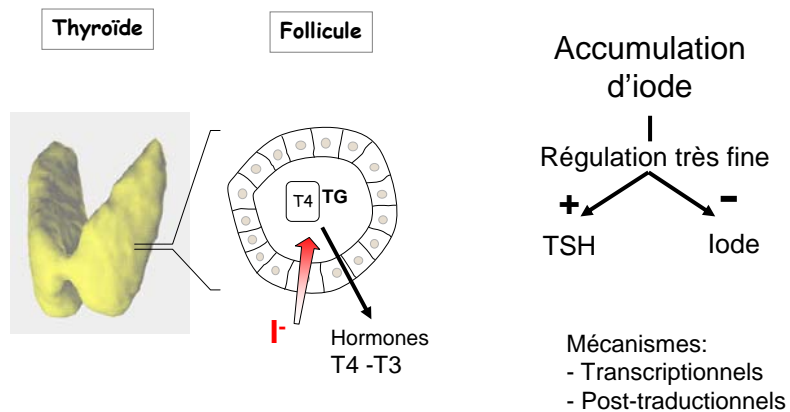
Follicule



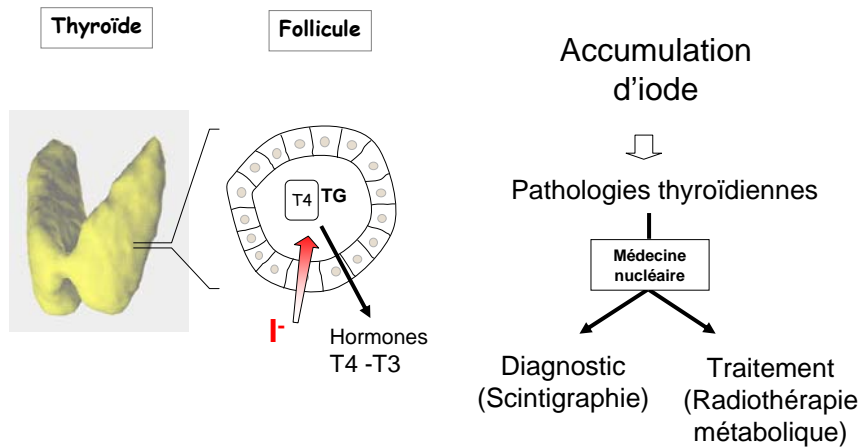
## Effecteurs du transport thyroïdien de l'iode



## Régulation de l'activité thyroïdienne

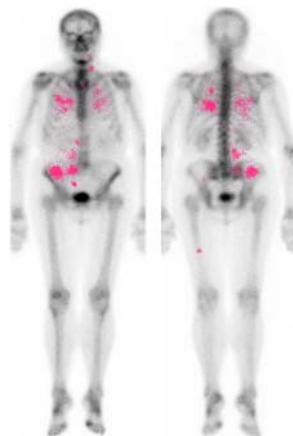
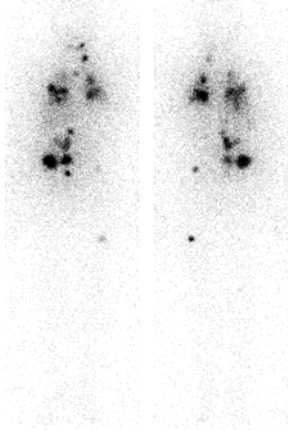


## Organisation fonctionnelle de la thyroïde

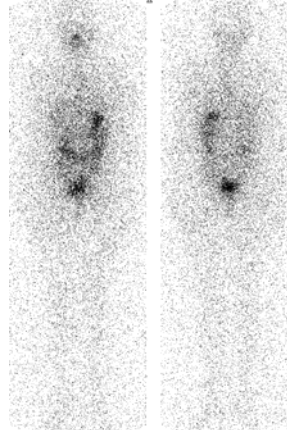


## Accumulation d'iode en cancérologie de la thyroïde

SCE 3700 MBq 131 I J+11



SCE 185 MBq 131 I h+72



## Cancers de la thyroïde

Quelques repères sur les cancers de la thyroïde

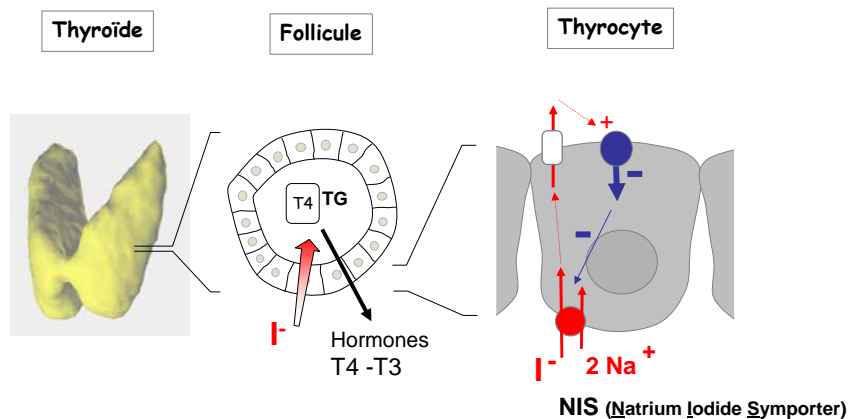
4 000 nouveaux cas/an en France (en augmentation)

- 60-70% papillaires (peu agressif et peu de métastases)
- 15% vésiculaires (sujets plus âgés, plus de métastases)
- 5% indifférenciés ou anaplasiques (sujet plus âgés, plus agressive avec un taux de survie à long terme est au mieux de 20 %)
- 5 % cancers médullaires : origine cellules C (calcitonine) (1/4 héréditaires)

Taux de mortalité à 5 ou 10 ans estimé entre 5 à 10 % très lié à l'inefficacité des traitement par radiothérapie (absence de captation d'iode) avec les cancers anaplasiques

Cancer radio-induit (Tchernobyl) essentiellement des cancers papillaires mais une forme inhabituelle et très agressive

## NIS transporteur thyroïdien actif de l'iode



## Introduire le NIS par thérapie génique dans des cellules cibles



## Induire une capacité d'accumulation d'iode dans des tumeurs non-thyroïdiennes



Rapporteur en imagerie *in vivo*  
( $^{123}\text{I}$  ou  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ )

Radiothérapie  
métabolique  
( $^{131}\text{I}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{188}\text{Re}$ )

de cellules  
exprimant NIS

de vecteurs  
du gène *nis*

Transfert des techniques  
utilisées pour la thyroïde  
Nouvelle stratégie anti-tumorale

## NIS en thérapie génique

### Autres isotopes substrats du NIS

#### Isotopes iodures

$^{123}\text{I}$	$\gamma$ 159 keV	13h	Imagerie chez l'homme
$^{124}\text{I}$	$\beta^+$ ( $\gamma$ 600 keV)	4j	Imagerie TEP
$^{125}\text{I}$	RX 27-30 keV	60j	Imagerie petit animal + uptake
$^{131}\text{I}$	$\beta^-$ & $\gamma$ 360 keV	8j	Imagerie + radiothérapie

#### Technetium-99m-pertechnetate

$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	$\gamma$ 140 keV	6h	Imagerie
-------------------------------	------------------	----	----------

#### Astate

$^{211}\text{At}$	$\alpha$ 6,8 MeV	7,2h	Radiothérapie
-------------------	------------------	------	---------------

#### Rhenium-188-perrhenate

$^{188}\text{ReO}_4^-$	$\beta^-$ 764 keV	16,7h	Radiothérapie
------------------------	-------------------	-------	---------------

## NIS en thérapie génique

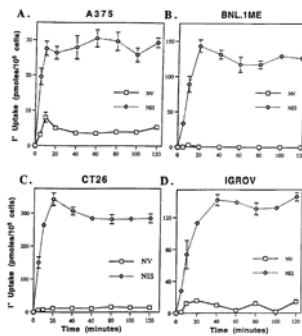
Rétrovirus, scintigraphie des tumeurs et radiotoxicité in vitro  
(Mandell et al, Cancer Research (1999) 59, 661)

Rétrovirus rNIS

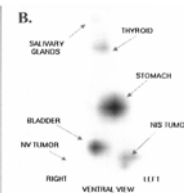
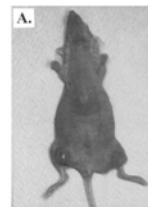
Uptake  $^{125}\text{I}$

Caméra  $\gamma$

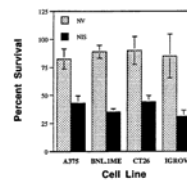
$8 \mu\text{M d}'^{123}\text{I}$



A375 human melanoma cells  
BNL.1 ME transformed mouse liver cells  
CT26 mouse colon carcinoma cells  
IGROV human ovarian adenocarcinoma cells



A375 human melanoma cells



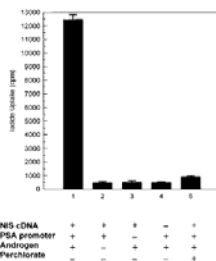
$133 \text{ nM } ^{131}\text{I}$ ,  $30 \mu\text{M NaI}$  ( $100 \mu\text{Ci/ml}$ ) pour 7 h.

## NIS en thérapie génique

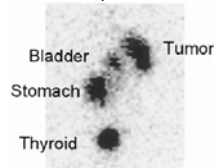
Promoteur spécifique, scintigraphie des tumeurs et radiotoxicité in vivo  
(Spitzweg et al, Cancer Research (1999) 59, 2136 ; (2000) 60, 6526)

Transfection d'une lignée cellulaire dérivée de cancer de la prostate NIS sous contrôle promoteur PSA

Uptake  $^{125}\text{I}$



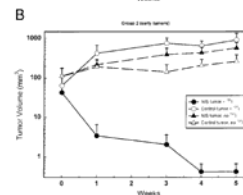
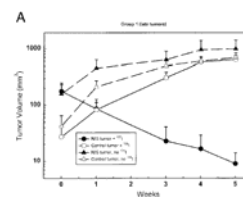
Caméra  $\gamma$  iode  $^{123}\text{I}$



Implantation des cellules dans souris nudes  
Late : 8-10 semaines  
Early : 4-6 semaines

Dose de  $3 \text{ mCi d}'^{131}\text{I}$

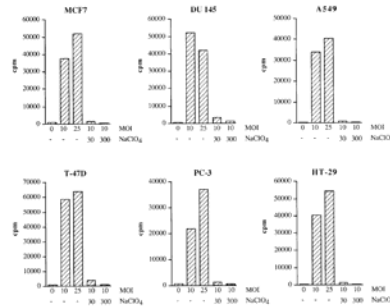
$^{123}\text{I}$



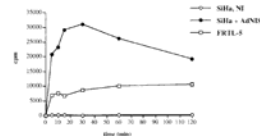
## NIS en thérapie génique

### Adénovirus, scintigraphie des tumeurs et radiotoxicité in vitro (Boland et al, Cancer Research (2000) 60, 3484)

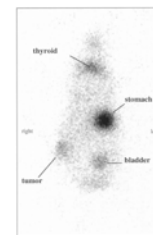
Adenovirus rNIS



MCF7 cells (mammary gland)    T-47D cells (mammary gland)  
 DU 145 cells (prostate)        PC-3 cells (prostate)  
 A549 cells (lung)                HT-29 cells (colon)

Uptake  $^{125}\text{I}$ 

SiHa cells

Caméra  $\gamma$  $^{125}\text{I}$ 

## NIS en thérapie génique

### Scintigraphie pinhole des tumeurs et radiotoxicité in vivo (Cho et al, Gene therapy (2002) 9, 1139)

Collimateur plan

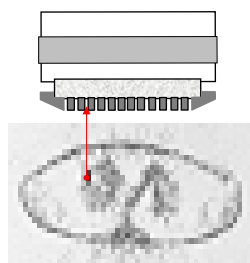
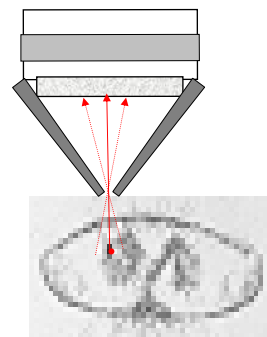


Image plane 2D

Collimateur pinhole

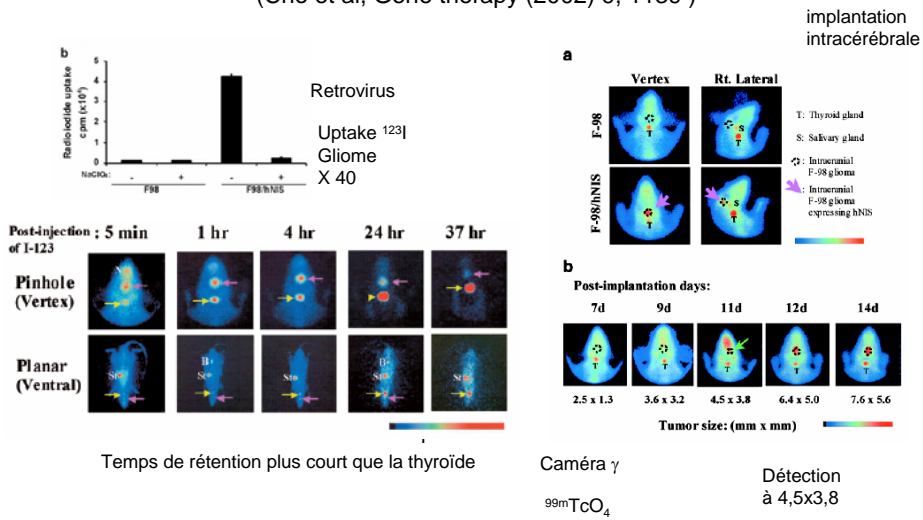


Effet loupe

## NIS en thérapie génique

### Scintigraphie pinhole des tumeurs et radiotoxicité in vivo

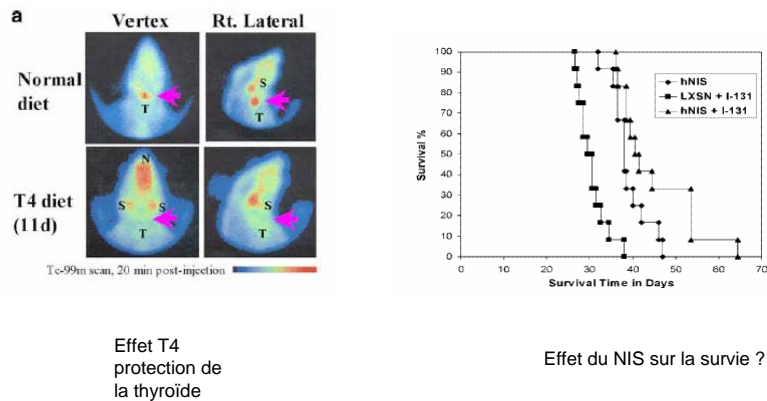
(Cho et al, Gene therapy (2002) 9, 1139)



## NIS en thérapie génique

### Scintigraphie pinhole des tumeurs et radiotoxicité in vivo

(Cho et al, Gene therapy (2002) 9, 1139)



## Imagerie utilisant les radiotraceurs émetteurs gamma (Technétium 99m (6 h) ; Iode 123 (13 h), 131 (8 J), 125 (60 J))

Imagerie médicale  
caméra gamma

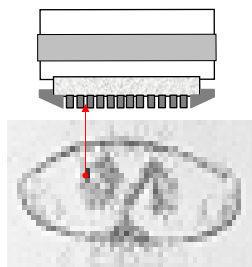


Image plane 2D

Imagerie médicale  
SPECT (Single-Photon  
Emission Computed Tomography)

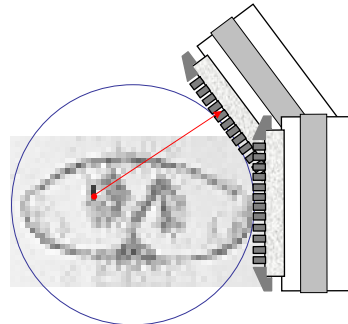


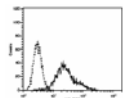
Image reconstruite en 3D

## NIS en thérapie génique

**SPECT pinhole (A-SPECT) des métastases pulmonaires**  
(Marsee et al, Cancer Gene therapy (2004) 11, 121 )

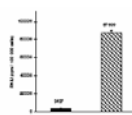
Retrovirus  
MATLyLu prostate

Cytométrie en flux



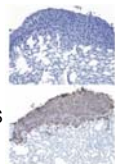
85 % des cellules

Uptake 125I



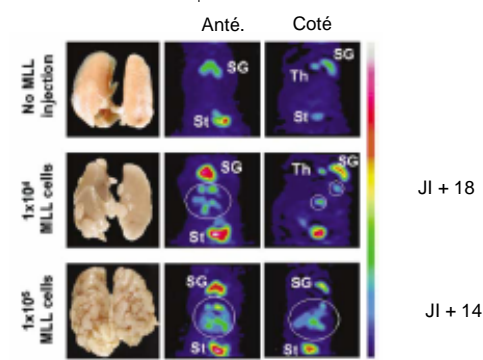
X 25

Injection des  
cellules dans la  
veine de la queue



NIS

A-SPECT  $^{99m}\text{TcO}_4$  Reconstruction 3D

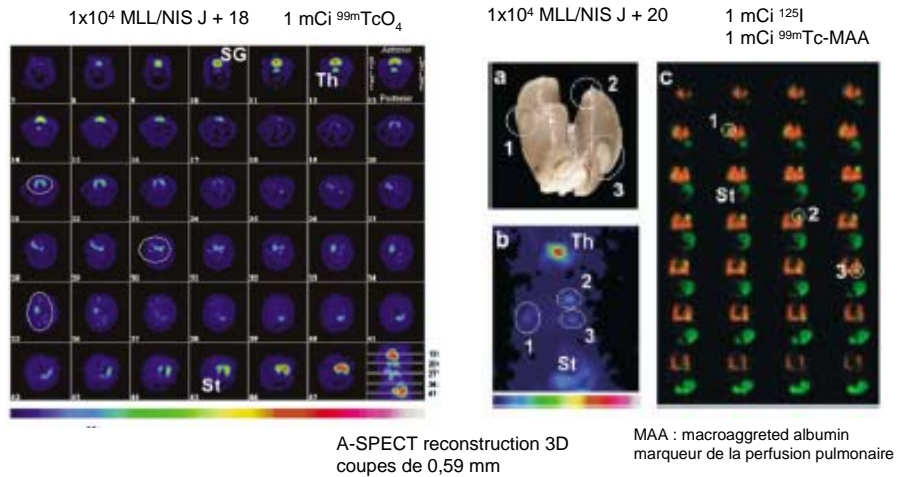


Détection des métastases d'un diamètre de 3 mm  
Accumulation d'iode à optimiser

## NIS en thérapie génique

## SPECT pinhole (A-SPECT) des métastases pulmonaires

(Marsee et al, Cancer Gene therapy (2004) 11, 121 )



## NIS en thérapie génique

## SPECT pinhole (X-SPECT) des mesures quantitatives

(Carlson et al, Mol Imag Biol (2006), 8, 324 )

Souris avec xénogreffes de  
cellules de tumeur pancréas  
Infection avec virus rougeole  
porteur NIS

1x10<sup>7</sup> BXPC-3 J + 9  
Inj MV-NIS

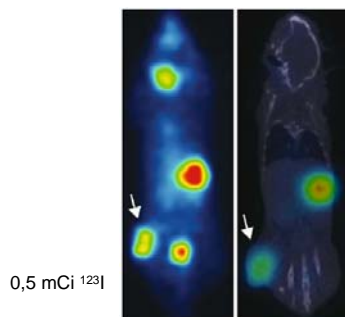
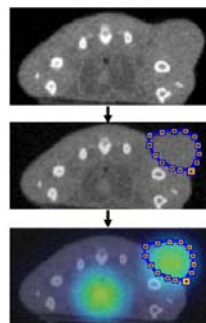


Image  
planaire

X-SPECT  
reconstruction 3D



Mesures quantitatives  
après correction pour  
les volumes

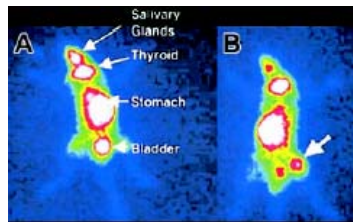
## NIS en thérapie génique

des résultats très encourageants

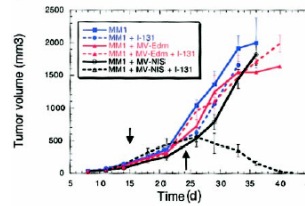
### Virus de la rougeole et radiotoxicité in vivo

(Dingli et al, Blood (2004) 103, 1641)

Scintigraphie à l'iode 123



Effet d'une radiothérapie  
métabolique à l'iode 131



Myélome implanté chez la souris irradiée  
Injection de virus de la rougeole recombinants - 9 j

Réduction sélective  
de la tumeur

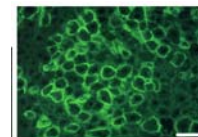
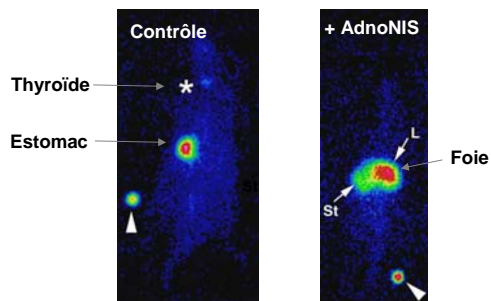
## NIS en thérapie génique

des résultats très encourageants

### Adénovirus et radiotoxicité in vivo

(Faivre et al, Cancer Research (2004), 64, 8045)

Scintigraphie à l'iode 123 de rats ayant des  
hépatocarcinomes + ou - NIS



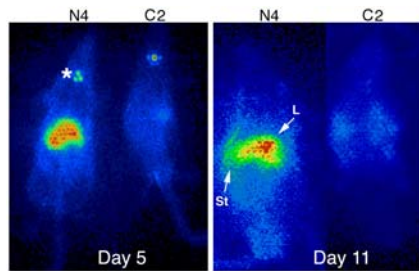
NIS exprimé à la membrane  
plasmique des hépatocytes

Hépatocarcinomes chimiquement induits chez les rats  
Injection d'adénovirus recombinants - 72 h

## NIS en thérapie génique

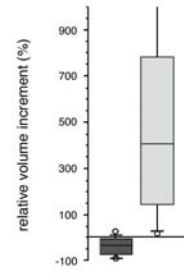
### Adénovirus et radiotoxicité in vivo

(Faivre et al, Cancer Research (2004), 64, 8045)



Temps de rétention important de l'iode

Effet d'une radiothérapie  
métabolique à l'iode 131



Réduction sélective  
de la tumeur

## NIS en thérapie génique

### Essais sur animaux de grande taille pour dosimétrie

(Dwyer et al, Mol Ther (2005), 12, 835)

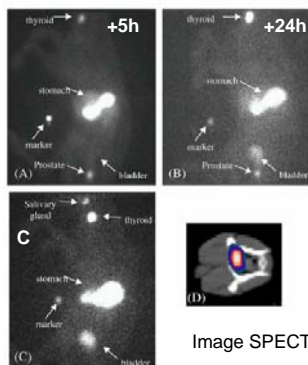


Image SPECT-CT

Effet d'une radiothérapie  
métabolique à l'iode 131  
Injection environ 40 mCi par animal

Délivrance d'une  
dose sur la prostate

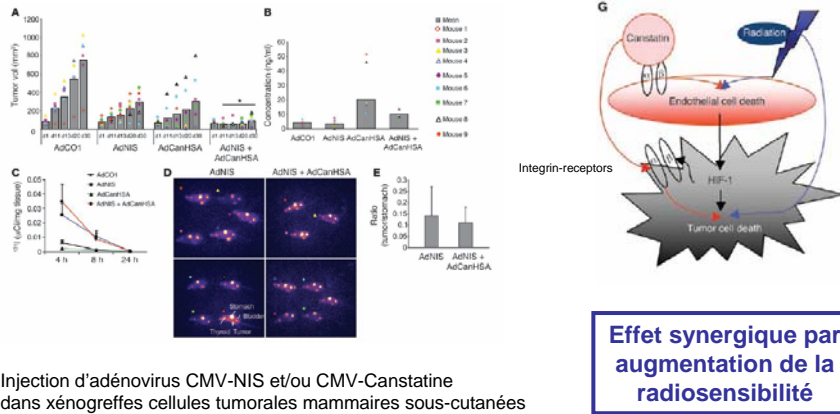
Pas d'effet toxique  
parasite détecté

Injection d'adénovirus CMV-NIS dans la prostate  
Image avec 3 mCi  $^{123}\text{I}$

## NIS en thérapie génique

### Thérapie combinée

(Magnon et al, J Clin Invest (2007), 12, 835)

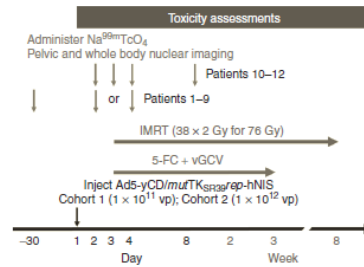
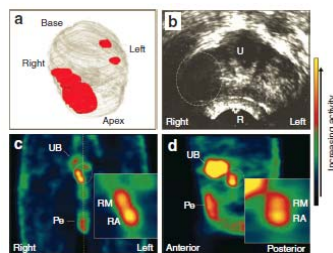


## NIS en thérapie génique

### Essais cliniques phase I sur le cancer de la prostate

(Barton et al, Mol Ther (2008), 16, 1761)

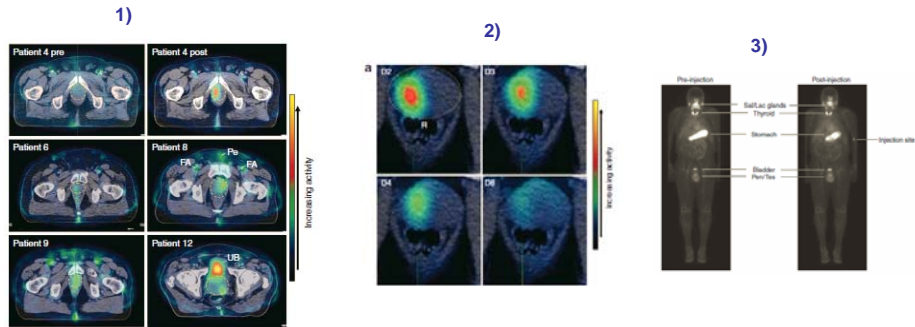
Injection d'adénovirus NIS dans la tumeur au niveau de la prostate sous échographie  
 Co-expression 2 gènes suicides associés à des pro-drogues (herpes simplex 1 virus thymidine kinase/ganciclovir and cytosine deaminase/5-fluorocytosine)  
 Image avec Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>



## NIS en thérapie génique

### Essais cliniques phase I sur le cancer de la prostate

(Barton et al, Mol Ther (2008), 16, 1761)



- 1) Faisabilité clinique du suivi par SPECT
- 2) Cinétique de l'accumulation d'iode (régression par gène suicide)
- 3) Pas d'accumulation détectée hors de la prostate

## NIS en thérapie génique

### Autres isotopes substrats du NIS

#### Isotopes iodures

$^{123}\text{I}^-$	$\gamma$ 159 keV	13h	Imagerie chez l'homme
$^{124}\text{I}^-$	$\beta^+$ ( $\gamma$ 600 keV)	4j	Imagerie PET
$^{125}\text{I}^-$	RX 27-30 keV	60j	Imagerie petit animal + uptake
$^{131}\text{I}^-$	$\beta^-$ & $\gamma$ 360 keV	8j	Imagerie + radiothérapie

#### Technetium-99m-pertechnetate

$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	$\gamma$ 140 keV	6h	Imagerie
-------------------------------	------------------	----	----------

#### Astate

$^{211}\text{At}^-$	$\alpha$ 6,8 MeV	7,2h	Radiothérapie
---------------------	------------------	------	---------------

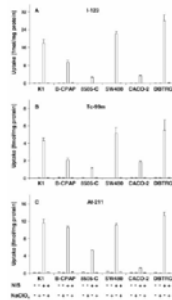
#### Rhenium-188-perrhenate

$^{188}\text{ReO}_4^-$	$\beta^-$ 764 keV	16,7h	Radiothérapie
------------------------	-------------------	-------	---------------

## NIS en thérapie génique

Autres isotopes plus énergétiques substrats du NIS : l'astate 211  
(Petrich et al, Eur J Nucl Med (2002) 29, 842)

Cell line	Tumour origin
K1	Papillary thyroid carcinoma
IL-CPAP	Papillary thyroid carcinoma
8505 C	Undifferentiated thyroid carcinoma
SW-620	Colon adenocarcinoma
CACO-2	Colon adenocarcinoma
DBTRG-GMG	Glioblastoma



Lignée K1 : cancer papillaire thyroïdien  
Clone transfecté stable hNIS

Injection 7,5 10<sup>6</sup> cells  
J+21 à 28

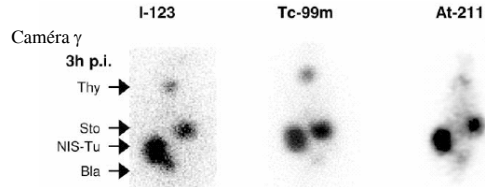


Table 2. Dosimetric calculation (MIRD) for <sup>125</sup>I and <sup>211</sup>At (Example of two K1-NIS tumour-bearing mice)

	<sup>125</sup> I (111)		<sup>211</sup> At	
	Mouse I	Mouse II	Mouse I	Mouse II
Tumour volume (ml)	0.65	0.52	0.65	0.52
Elimination function <sup>a</sup>	$y=0.4881e^{-0.0038x}$	$y=0.2254e^{-0.1142x}$	$y=0.0584e^{-0.4273x}$	$y=0.0731e^{-0.142x}$
Physical half-life (h)	13.2 (193)	13.2 (193)	7.2	7.2
Effective half-life (h)	6.8 (13.1 <sup>b</sup> )	6.1 (10.7 <sup>b</sup> )	5.4	4.9
Biological half-life (h)	14.0	11.3	21.6	15.3
Total applied activity (MBq)	0.670	1.130	0.643	0.619
Tumour activity (MBq) <sup>c</sup>	0.340	0.160	0.075	0.097
Tumour uptake % <sup>d</sup>	51.7	14.2	11.6	15.7
Tumour dose (Gy)	1.25 <sup>e</sup>	0.57 <sup>e</sup>	3.54	5.12
Dose factor (Gy/MBq <sub>tumor</sub> )	3.40 <sup>e</sup>	3.54 <sup>e</sup>	47.34	51.33
Dose factor (Gy/MBq <sub>kidney</sub> )	1.88 <sup>e</sup>	0.50 <sup>e</sup>	3.50	8.36

<sup>a</sup>  $f = \text{time (h)}$ ,  $y = \text{tumour activity (MBq)}$

<sup>b</sup>  $T_{1/2\text{eff}} = 2 \text{ h}$  after injection

<sup>c</sup> Calculation for <sup>125</sup>I based on in vivo data of <sup>125</sup>I

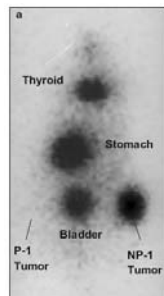
pdf 1793

## NIS en thérapie génique

Autres isotopes plus énergétiques substrats du NIS : l'astate 211  
(Petrich et al, Eur J Nucl Med (2002) 29, 842)

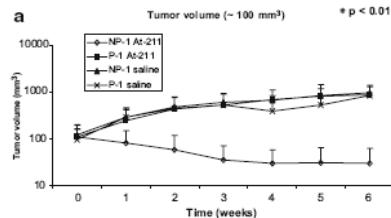
Lignée LNCaP : cancer prostate  
Clone NP-1 transfecté stable hNIS  
Contrôle promoteur PSA

Traitement Astate (1MBq) 4-6 semaine après injection



Scan <sup>211</sup>At

Injection IP 3 10<sup>6</sup> cells



Régression des tumeurs

## NIS en thérapie génique

### Autres isotopes substrats du NIS

#### Isotopes iodures

$^{123}\text{I}^-$	$\gamma$ 159 keV	13h	Imagerie chez l'homme
$^{124}\text{I}^-$	$\beta^+$ ( $\gamma$ 600 keV)	4j	Imagerie PET
$^{125}\text{I}^-$	RX 27-30 keV	60j	Imagerie petit animal + uptake
$^{131}\text{I}^-$	$\beta^-$ & $\gamma$ 360 keV	8j	Imagerie + radiothérapie

#### Technetium-99m-pertechnetate

$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	$\gamma$ 140 keV	6h	Imagerie
-------------------------------	------------------	----	----------

#### Astate

$^{211}\text{At}^-$	$\alpha$ 6,8 MeV	7,2h	Radiothérapie
---------------------	------------------	------	---------------

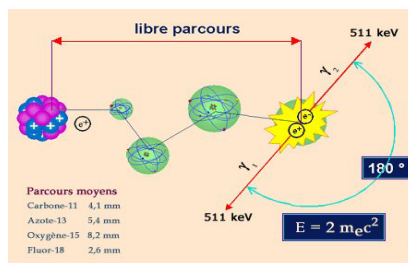
#### Rhenium-188-perrhenate

$^{188}\text{ReO}_4^-$	$\beta^-$ 764 keV	16,7h	Radiothérapie
------------------------	-------------------	-------	---------------

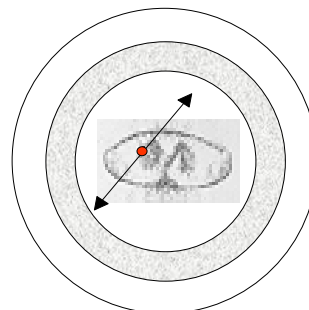
## NIS en thérapie génique

### Rapporteur en imagerie TEP

$\beta^+$



TEP : Tomographie d'Émission à Positons  
(PET : Positron Emission Tomography)



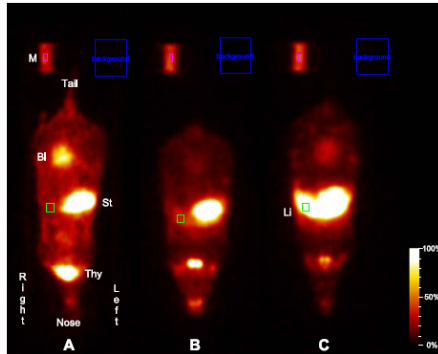
Collimation électronique

## NIS en thérapie génique

### Rapporteur en imagerie TEP

(Groot-Wassink et al, 2004, Mol Ther, 9, 436)

Détermination des cibles d'adénovirus injectés dans le sang

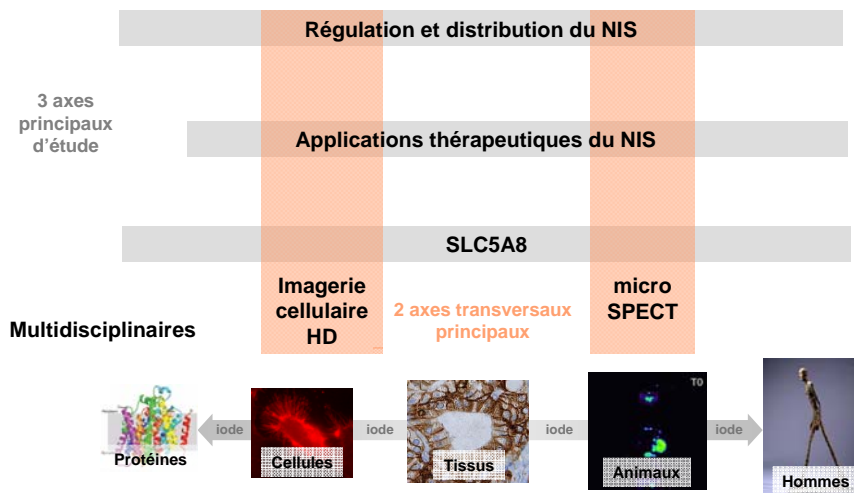


Expression majoritaire du NIS dans le foie

Mesure quantitative

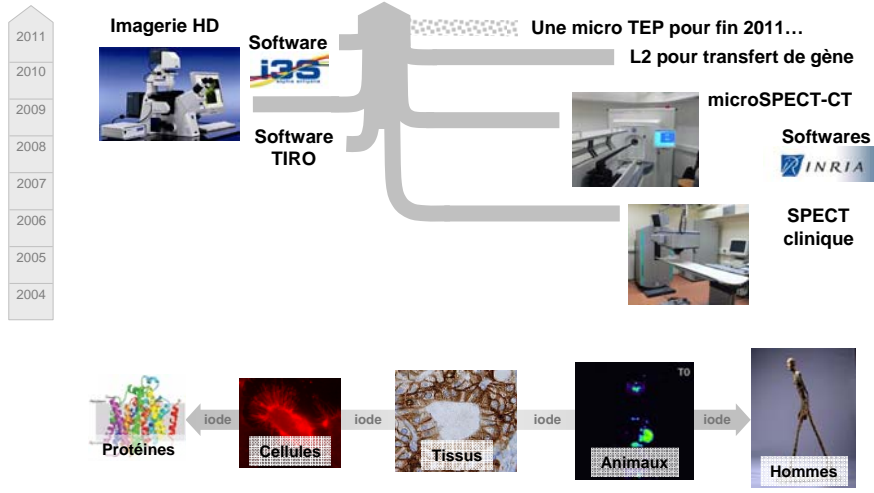
<sup>124</sup>I en TEP

## Nos projets



## TIRO

Mise en place d'outils d'imagerie innovants associés  
à du développement technologique en traitement d'image



## Radiothérapie génique avec NIS

- ⇒ Résultats très prometteurs sur les modèles précliniques
- ⇒ mais les doses utilisées sont plus élevées que celles admises
- ⇒ Des essais cliniques sont toutefois en cours

### Optimisation de la radiothérapie génique Projet PIMRANIS



#### TIRO:

- > Augmenter l'adressage du NIS (Partenaires, phosphorylation...)
- > Modèles tumeurs et imagerie SPECT

#### Équipe Karim Benihoud IGR :

- > Vecteurs réplcatifs
- > Augmenter la radiosensibilité (inhibiteurs HDAC)

#### Équipe Corinne Dupuy IGR :

- > Mesure des ROS en thérapie
- > Augmenter la rétention par organification (DUOX2/DUOXA2)

## Imagerie, NIS et radiothérapie

### Optimisation de la radiothérapie génique Projet PIMRANIS



#### TIRO:

- > Augmenter l'adressage du NIS (Partenaires, phosphorylation...)
- > Modèles tumeurs et imagerie SPECT

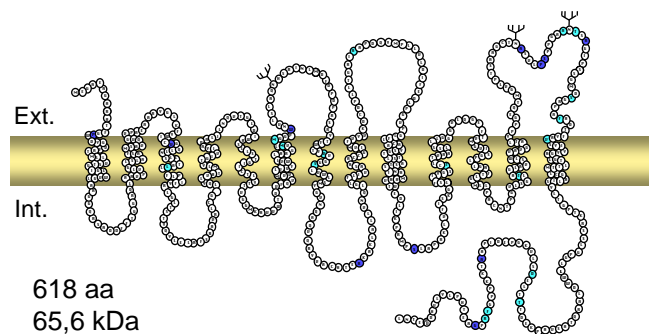
#### Équipe Karim Benihoud IGR :

- > Vecteurs réplicatifs
- > Augmenter la radiosensibilité (inhibiteurs HDAC)

#### Équipe Corinne Dupuy IGR :

- > Mesure des ROS en thérapie
- > Augmenter la rétention par organification (DUOX2/DUOX2)

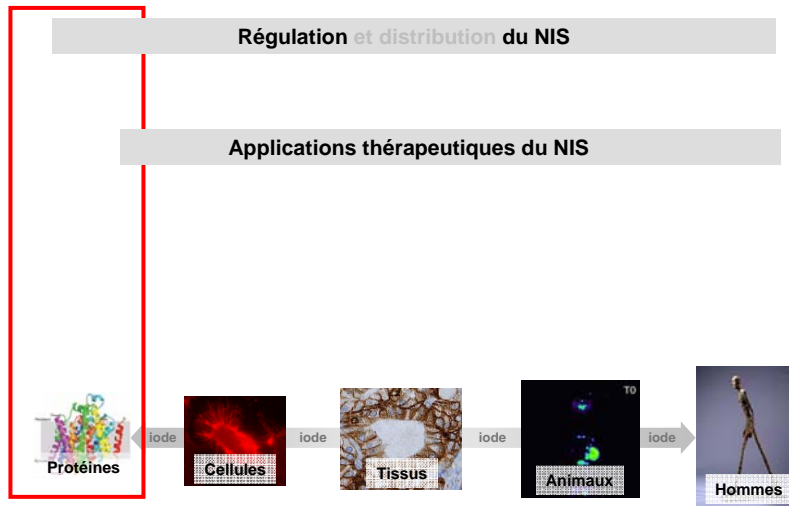
## Modèle topologique du NIS de souris



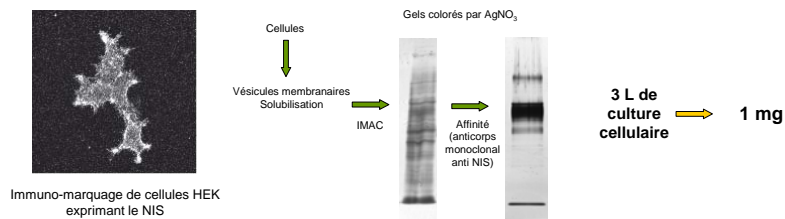
### Homologie

Identité :	95% rNIS - 81% hNIS
Similarité :	98% rNIS - 89% hNIS

## Imagerie, NIS et radiothérapie

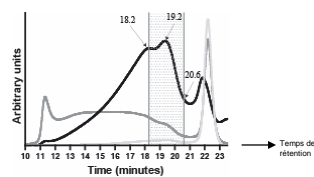


### Expression et Purification du hNIS



### Etat oligomérique du hNIS

Chromatographie d'exclusion par la taille et analyse par diffusion de lumière



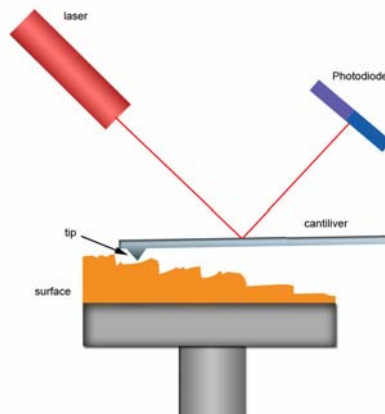
-> NIS est majoritairement sous forme de dimère

-> Rôle de l'oligomérisation dans la maturation, la localisation et la fonction du NIS

=> Contrôle en radiothérapie génique

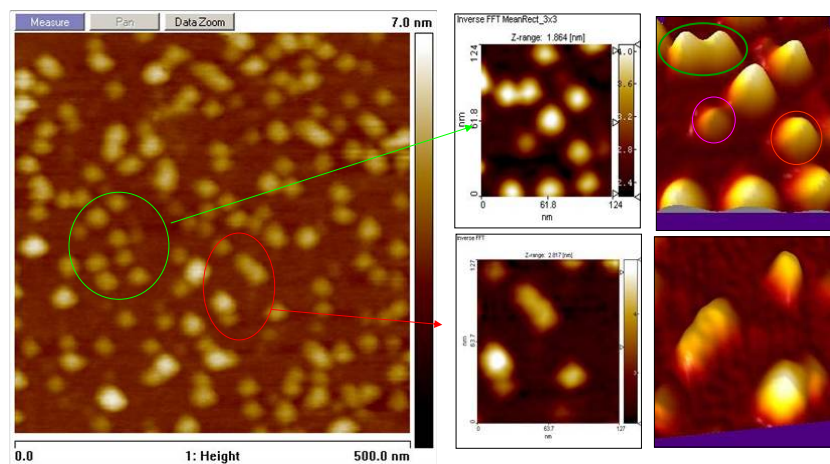
(S. Huc et al, 2011, BBA Biomembranes)

## Microscopie à force atomique AFM



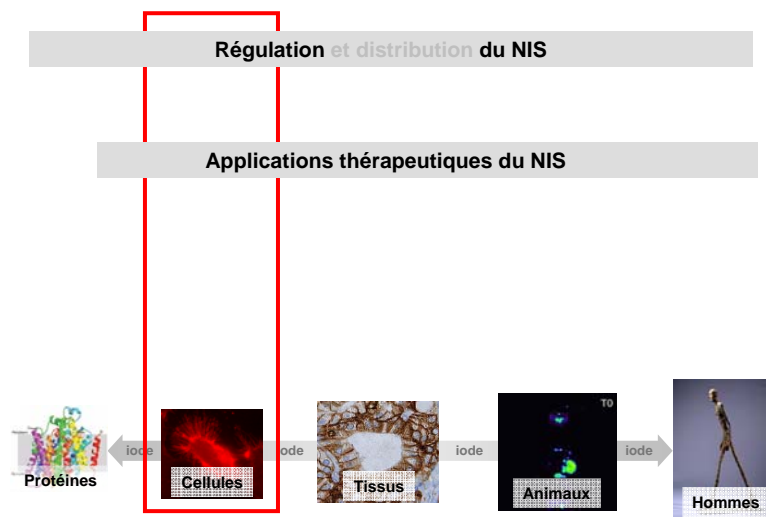
## Microscopie à force atomique (AFM)

Cter mono M Di M



Collines NISsoises ?

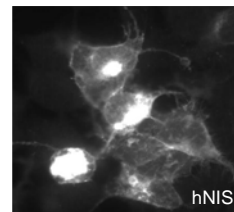
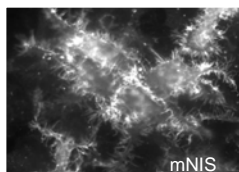
## Imagerie, NIS et radiothérapie



### Comparaison hNIS/mNIS

Le hNIS induit des accumulations plus faibles que le mNIS

Cellules HEK293 transfectées

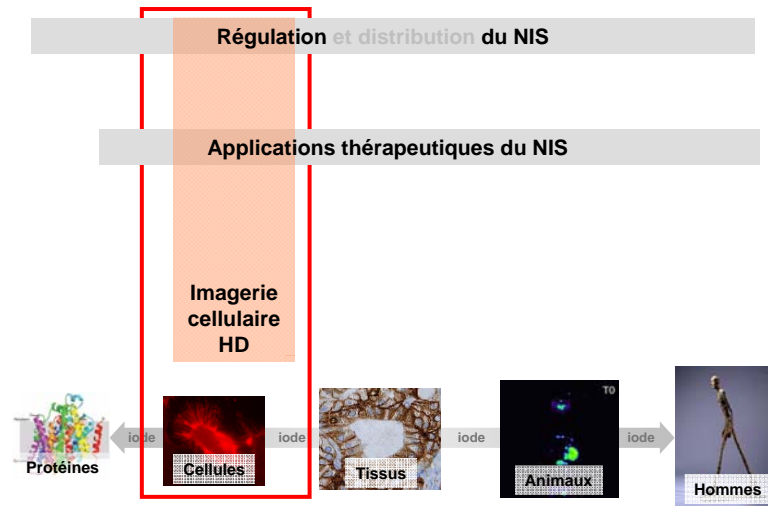


-> Mise en évidence de différences dans la localisation des protéines (intracellulaire pour hNIS et au niveau de protrusions pour mNIS)

(Dayem et al, 2008, J Endo)

**Recherche de partenaires via PDZ du NIS** (différences entre hNIS/mNIS)

## Imagerie, NIS et radiothérapie



### Analyse des sites potentiels de phosphorylation du NIS

Identification de sites potentiels de phosphorylation (PKA\*, PKC\*...) en utilisant des logiciels (prosite, scansite...)

Les positions identifiées ont été individuellement mutées par mutagenèse dirigée par

- des alanines (peuvent mimer les positions non phosphorylées)
- des acides aspartiques (peuvent mimer les positions phosphorylées)

\* La THS active les voies PKA et PKC

### Microscopie confocale à balayage laser

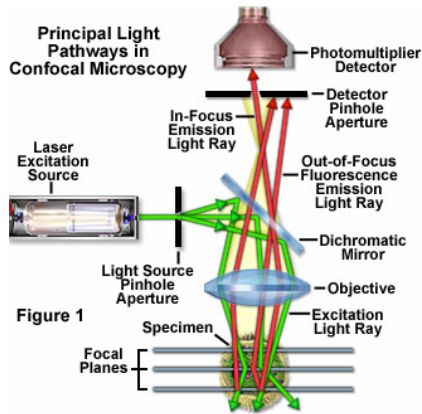
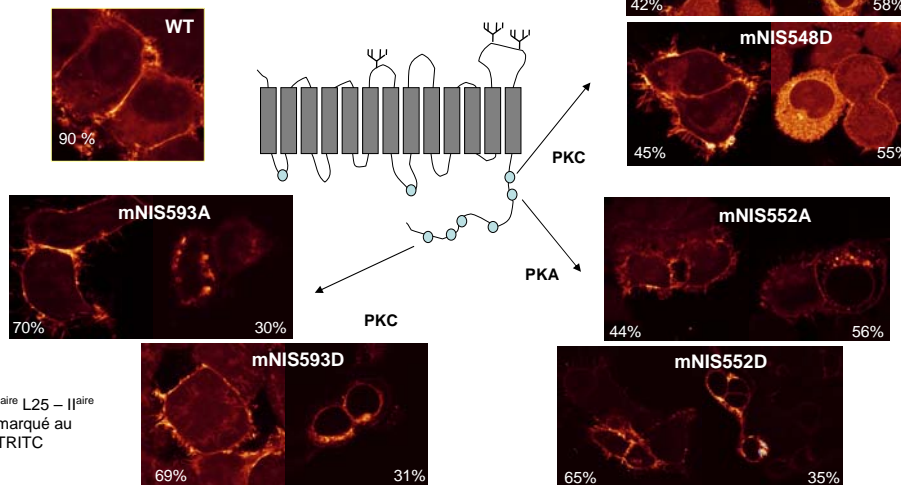


Figure 1

Résolution Z env. 0.5 µm

### Des effets des mutations sur la localisation des protéines ont été observés

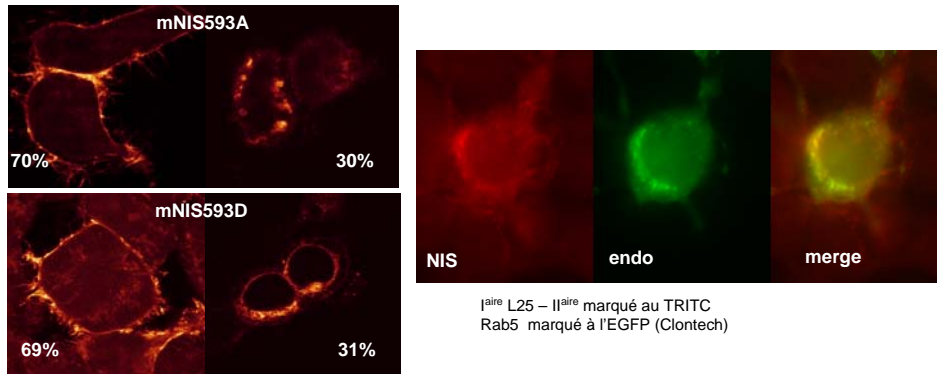
3 exemples des résultats obtenus



laire L25 – laire  
marqué au  
TRITC

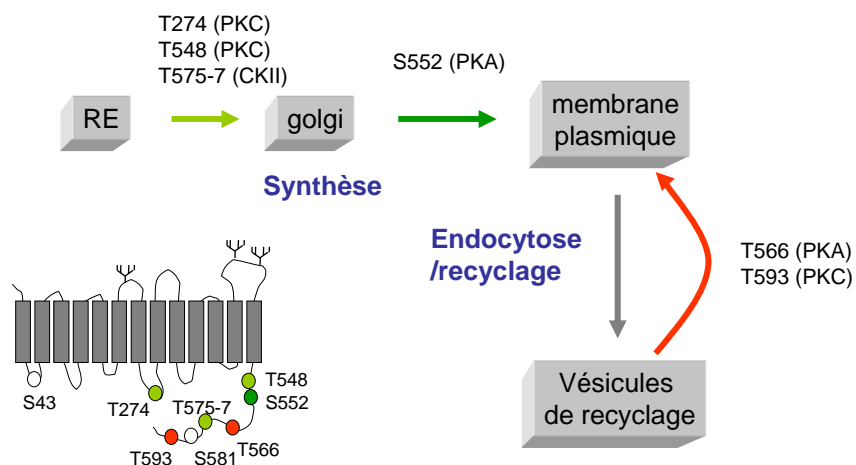


## Effets des mutations S593 sur la localisation cellulaire du NIS



Mutations S593 augmentent la rétention dans les endosomes

## Régulation post-traductionnelle



Identification de sites PKA/PKC (CKII) contrôlant l'expression du NIS

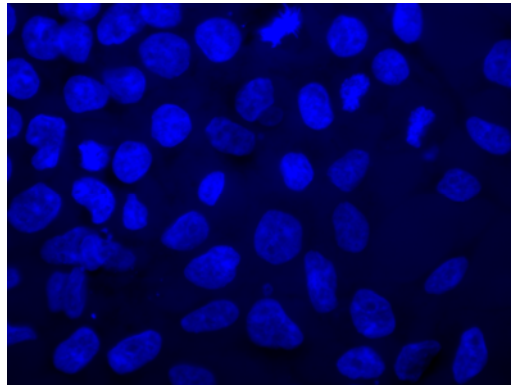
⇒ Mise en place d'imagerie à haut débit (collaboration M. Barlaud **IBS**)

### Développement d'un logiciel de traitement d'image (J. Henriques)

Microscope à haut-débit

Traitement automatisé

Marquage des noyaux

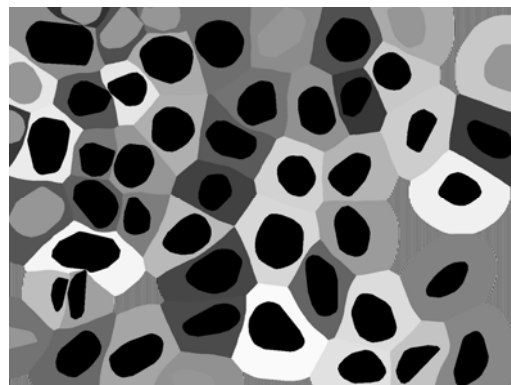


### Développement d'un logiciel de traitement d'image (J. Henriques)

Microscope à haut-débit

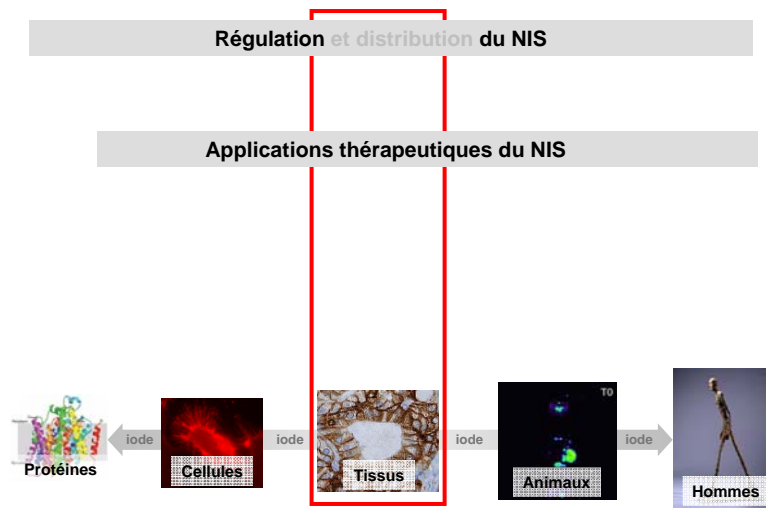
Traitement automatisé

Prédiction du volume des cellules



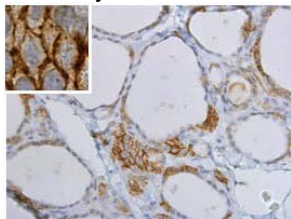
- ⇒ Découpage des compartiments cellulaires et de quantification d'un marqueur
- ⇒ Reconnaissance de formes de marquage

## Imagerie, NIS et radiothérapie

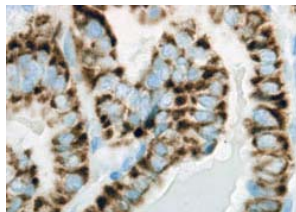


## Expression intracellulaire du NIS dans des tumeurs humaines

Thyroïde normale



Carcinome papillaire (15/27 cas)



Travail réalisé avec les anatomopathologistes (Isabelle Peyrottes) du CAL avec des anticorps produits au CEA de Marcoule (L. Bellanger)

- Étude immuno-histologique avec des anticorps contrôles
- Analyse quantitative par western-blot
- > marquage non spécifique

(Peyrottes et al, EJE 2009, 160, 215)

## Imagerie, NIS et radiothérapie

### Optimisation de la radiothérapie génique Projet PIMRANIS



#### TIRO:

-> Augmenter l'adressage du NIS (Partenaires, phosphorylation...)

-> **Modèles tumeurs et imagerie SPECT**

Équipe Karim Benihoud IGR :

-> Vecteurs réplicatifs

-> Augmenter la radiosensibilité (inhibiteurs HDAC)

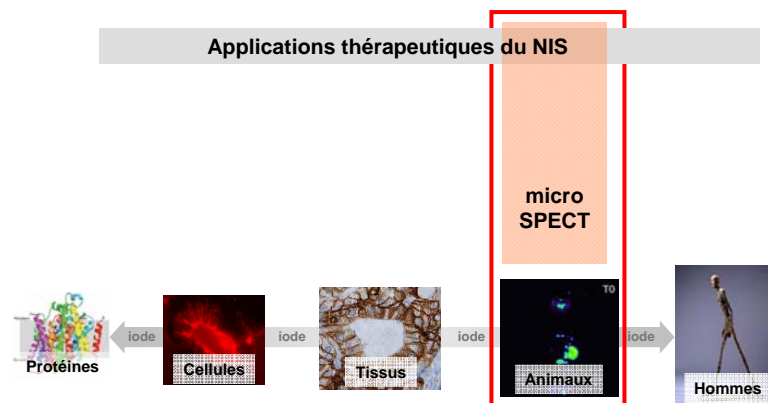
Équipe Corinne Dupuy IGR :

-> Mesure des ROS en thérapie

-> Augmenter la rétention par organification (DUOX2/DUOX2)

## Imagerie, NIS et radiothérapie

### SPECT et NIS pour développer des modèles précliniques

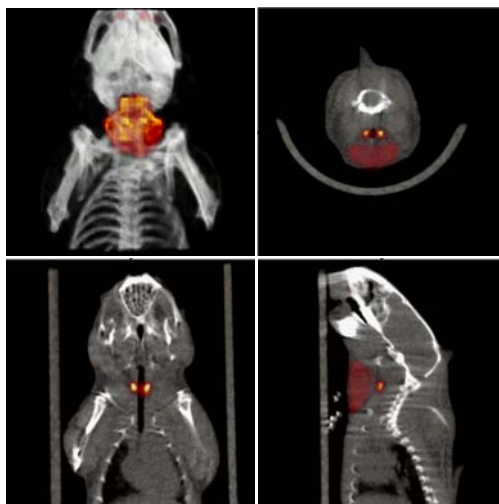


## Plateforme d'imagerie petit animal de TIRO

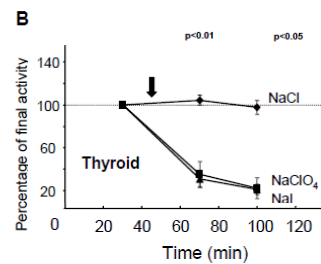
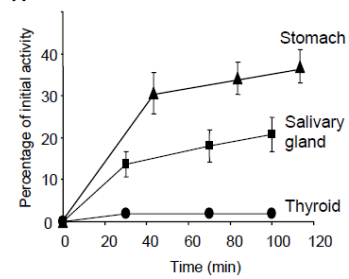


eXplore speCZT (GE) : caméra multipinhole (CPER INRIA)

## Imagerie in vivo de la thyroïde chez la souris



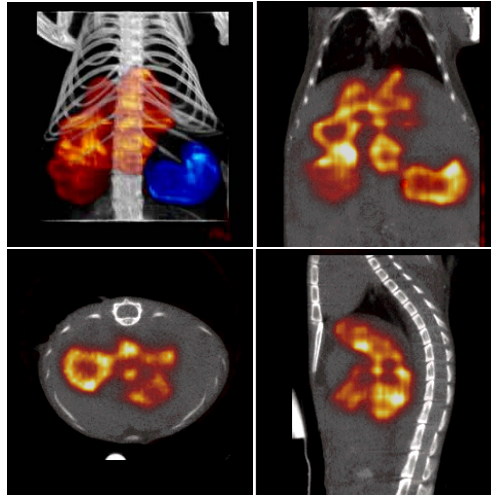
100 MBq  $^{99m}\text{TcO}_4$  IP



(Franken et al, 2010, Thyroid)

## Tumeur colique humaine sous-cutanée

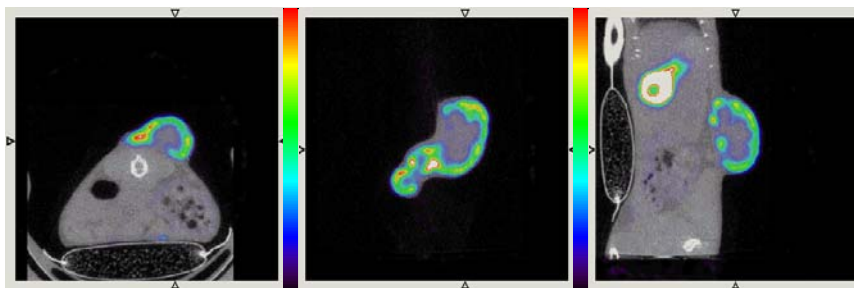
HT29-mNIS (2x10<sup>6</sup> cellules) dans des souris NOD SCID



## Tumeur colique humaine sous-cutanée

HT29-mNIS (2x10<sup>6</sup> cellules) dans des souris NOD SCID

Jour 27



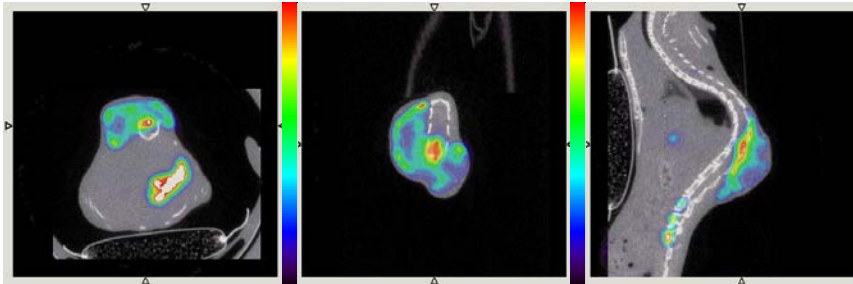
$SUV_{max} = 13.8$

$SUV_{mean\ 50} = 8.3$

## Tumeur colique humaine sous-cutanée

HT29-mNIS ( $2 \times 10^6$  cellules) dans des souris NOD SCID

Jour 27



$SUV_{max} = 18.2$

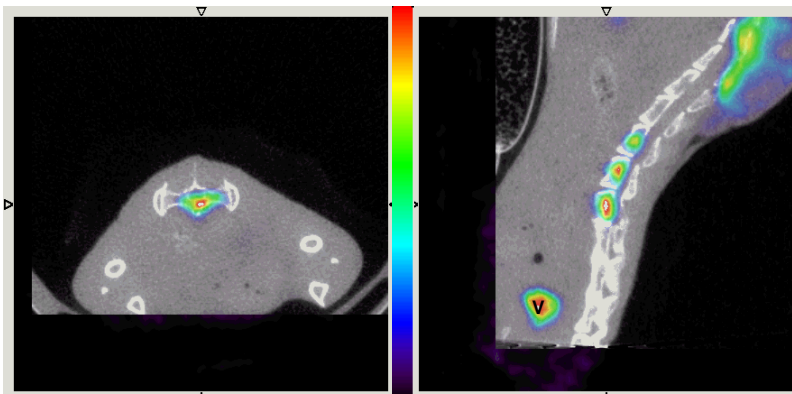
$SUV_{mean\ 50} = 10.9$

## Tumeur colique humaine sous-cutanée

HT29-mNIS ( $2 \times 10^6$  cellules) dans des souris NOD SCID

Jour 27

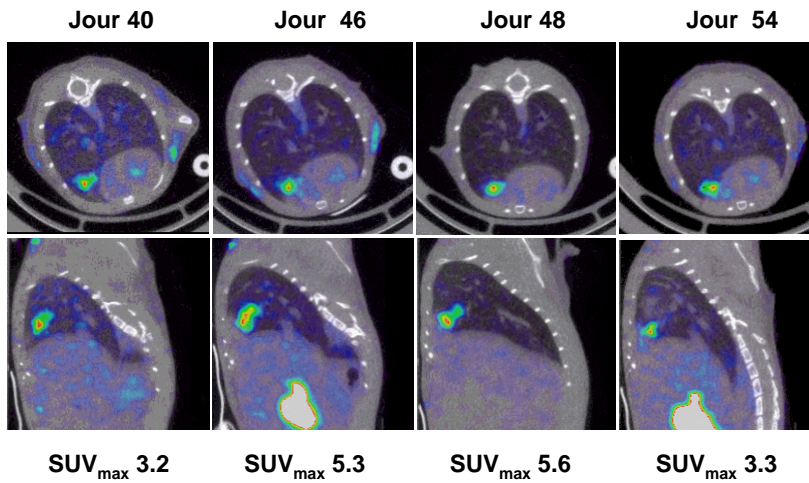
Métastases osseuses



V = vessie

## métastases pulmonaires de cancer colorectal

Injection de HT29-mNIS ( $2 \times 10^6$  cellules) dans la veine de la queue de NOD SCID

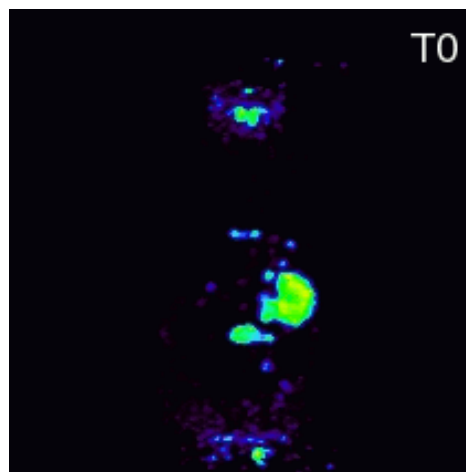


## Métastase colorectal dans le péritoine

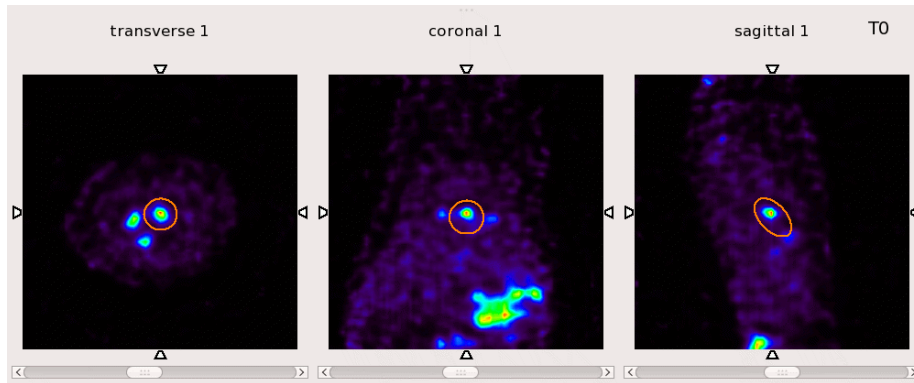
Injection intra péritonéale de ProB-mNIS ( $1.5 \times 10^6$  cellules) dans souris NOD SCID

### Synchronisation respiratoire

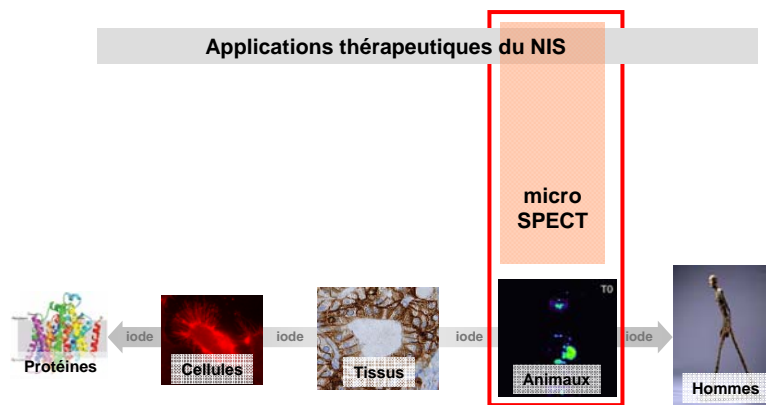
(Collaboration N. Ayache et  
G. Malandain (INRIA))



## Synchronisation respiratoire

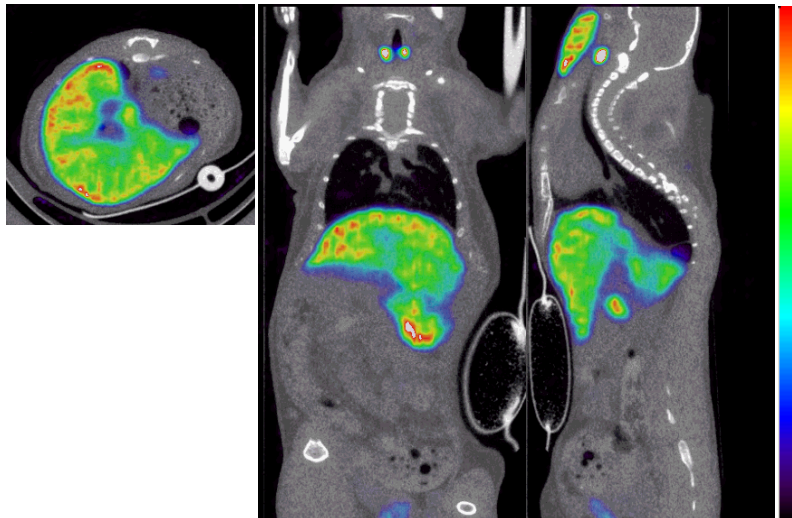


## Imagerie, NIS et radiothérapie SPECT et transfert du gène NIS



## Transfert du NIS dans foie normal

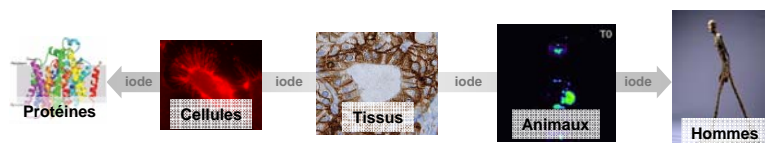
Injection d'adénovirus NIS ( $1.10^9$  PFU) dans la veine de la queue de la souris

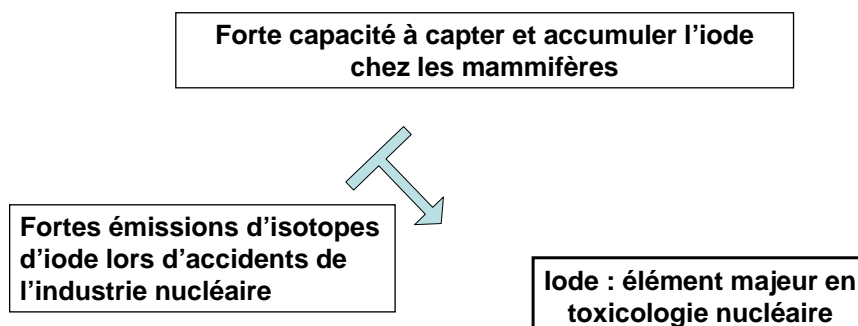
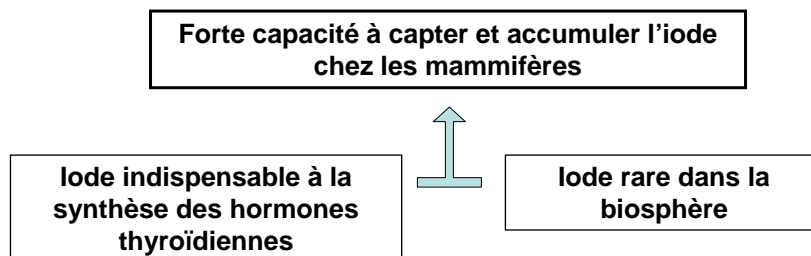


## Imagerie, NIS et radiotoxicologie

Iode en toxicologie nucléaire

Applications thérapeutiques du NIS



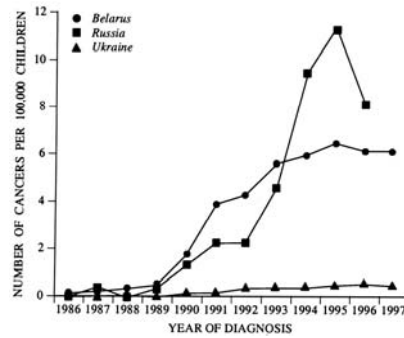


Tchernobyl (UNSCEAR (2000)) :

- $1,7 \times 10^{18}$  Bq  $^{131}\text{I}$
- $0,9 \times 10^{18}$  Bq  $^{133}\text{I}$
- $1,0 \times 10^{18}$  Bq  $^{132}\text{Te} - ^{132}\text{I}$

## Accident de Tchernobyl : conséquences

Augmentation du taux des cancers chez les enfants âgés de moins de 14 ans lors de l'accident de Tchernobyl

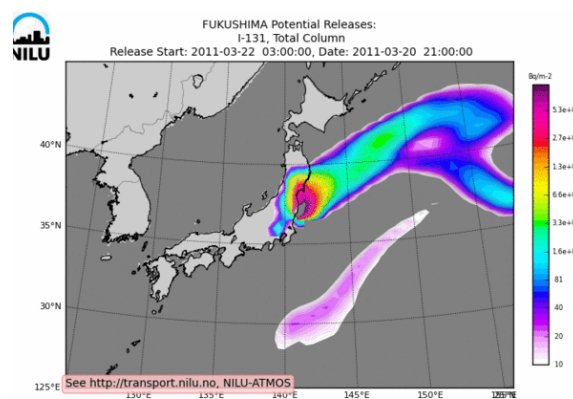


(Rapport  
UNSCEAR 2000)

(Voir également *The Lancet Oncology*  
(2002), 3, 269)

Influence de la carence initiale et du défaut d'apport en iode stable ?

## Accident de Fukushima : conséquences



Effets probablement moindre lié à l'absence de carence en iode de la population

## Radio-protection vis à vis d'isotopes de l'iode

Mise à profit d'une régulation physiologique (Wolff-Chaikoff) :

- Excès d'iode provoque inhibition du fonctionnement de la thyroïde (entrée de l'iodure, sortie des hormones...)

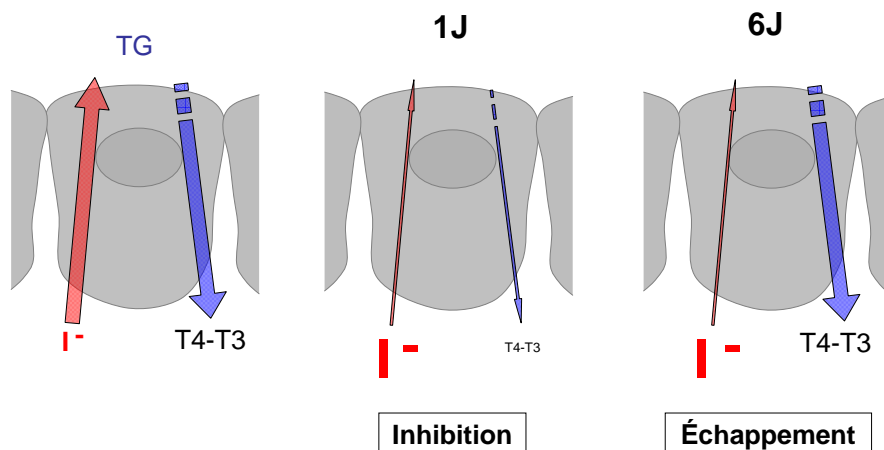
- Pastilles de KI (130 mg/adulte) -> Protection de la thyroïde

Quasi totale si prise dans les 6 heures qui précèdent  
90 % si simultanée

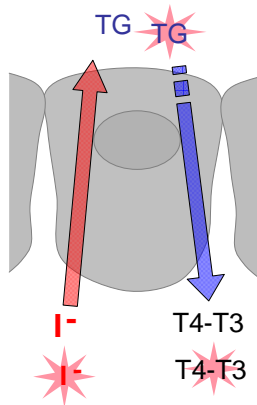
Effets controversés si prise après l'exposition

Problème de l'échappement pour une exposition longue

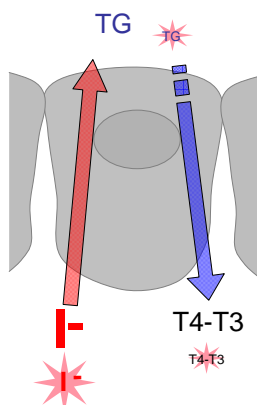
### L'effet Wolff-Chaikoff



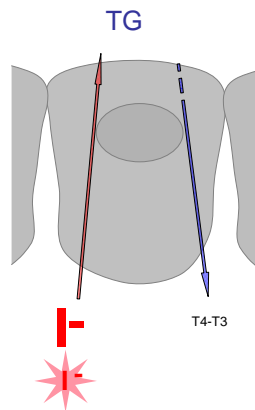
### Contamination aux isotopes de l'iode



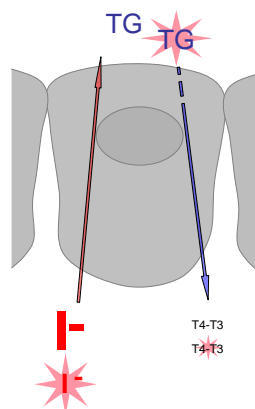
### Protection immédiate par prise d'iode simultanée à la contamination : Dilution



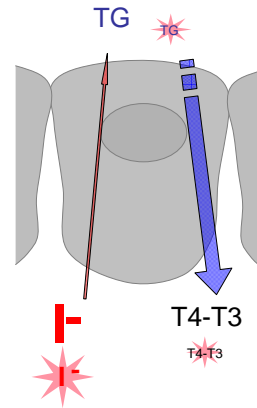
**Protection par prise d'iode avant la contamination :  
Inhibition (Wolff-Chaikoff)**



**Problème de la prise d'iode après la contamination :  
Rétention de TG\***

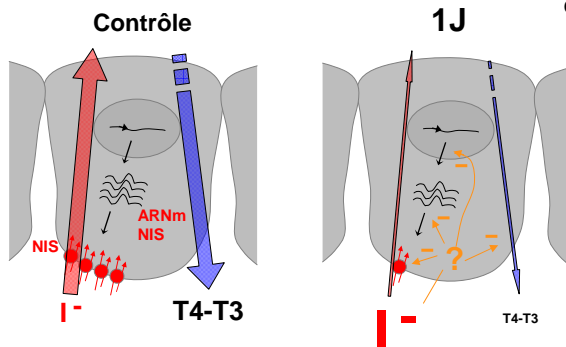


### Échappement de l'effet Wolff-Chaikoff Protection par dilution



### NIS : implication dans l'effet Wolff-Chaikoff

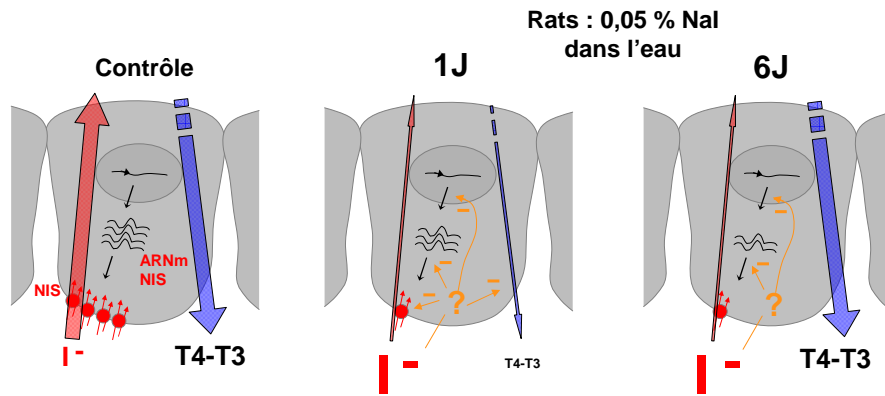
Rats : 0,05 % NaI  
dans l'eau



D'après Eng et al (1999) Endocrinology



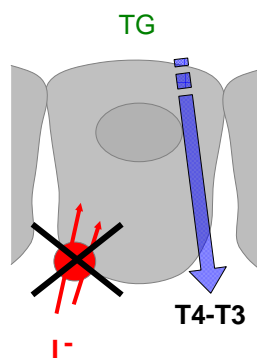
## NIS : implication dans l'effet Wolff-Chaikoff



D'après Eng et al (1999) Endocrinology

Échappement : reprise de la synthèse des hormones avec niveau de NIS plus bas

## Recherche d'inhibiteurs spécifiques du NIS



Intérêt : Inhibition de l'entrée d'iode sans bloquer la sortie des hormones déjà synthétisées

## Recherche d'inhibiteurs spécifiques du NIS

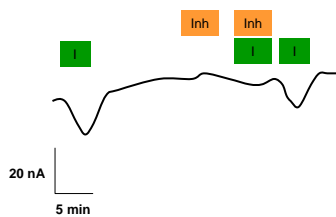
**Criblage à haut débit de petites molécules** (Lecat *et al*, ASSAY Drug DevTech)

Effets de **17040** composés  
sur uptake d' $^{125}\text{I}$   
de cellules HEK-hNIS



**10 molécules sélectionnées  
pour inhibition transport iode**

**Analyse par électrophysiologie (ovocytes de xénopus)** (Lindenthal *et al*, JE, 2009)



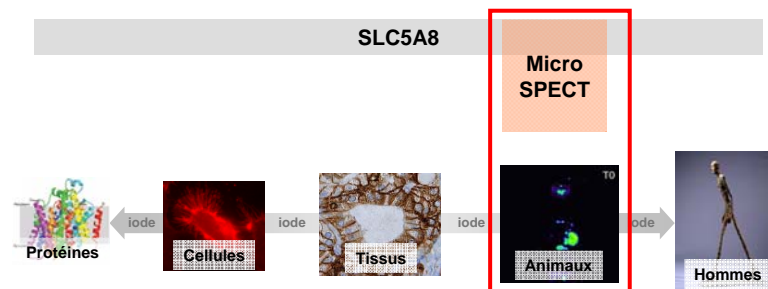
### Propriétés des molécules sélectionnées

- 1 molécule -> aucun effet
- 2 molécules -> inhibition faible/lent irréversible
- 3 molécules -> inhibition faible/lent réversible
- 2 -> inhibition forte irréversible + Inh seul aspécifique**
- 1 -> inhibition forte irréversible + Inh seul spécifique**
- 1 -> inhibition fort réversible + inh seul spécifique**

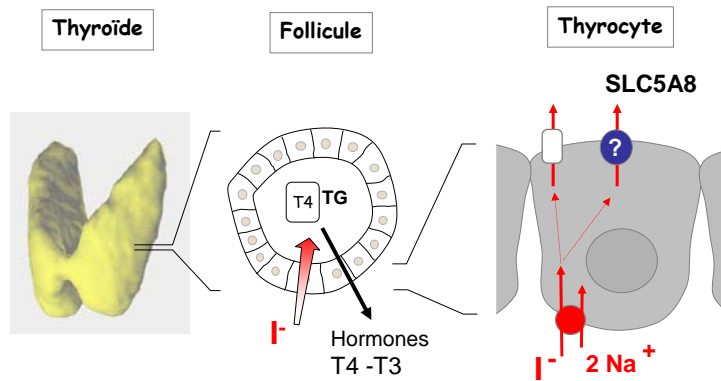
**Essais sur rongeurs : molécules létales !!!**

## Imagerie, NIS et radiotoxicologie

### Régulation de la thyroïde par l'iode



## Organisation fonctionnelle de la thyroïde



## Introduction SLC5A8

SLC5A8 : Transporteur d'iodure ?

SLC5A8 augmente l'influx d' $I^-$

SLC5A8 est localisé à la membrane apicale des thyrocytes<sup>1</sup>

SLC5A8 : Tumeur supresseur dans les cancers du colon<sup>2</sup> ? Colorectal<sup>3</sup> ?

Estomac<sup>4</sup> ? Thyroïde<sup>5-6</sup> ? Prostate<sup>7</sup> ? Gliome<sup>8</sup> ?...

Expression AIT fortement diminué par méthylation exon 1

Effet antiprolifératif *in vitro* de l'expression de SLC5A8

SLC5A8 : Transporteur d'acide gras à chaîne courte (colon) et lactate (rein) ?

Effet antiprolifératif via inhibition des histones déacétylase<sup>9</sup>

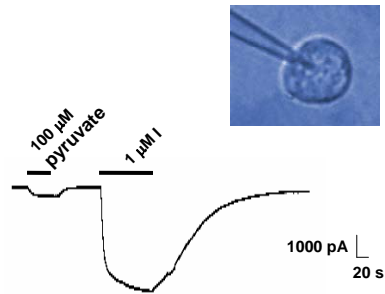
SLC5A8 : Rôle plus complexe dans le transport d'iodure ?

<sup>1</sup>Rodriguez *et al* (2002) JCEM 87:3500 - <sup>2</sup>Li *et al* (2003) PNAS 100:8412 - <sup>3</sup>Dong *et al* (2005) Mod Pathol, 18:170 - <sup>4</sup>Ueno *et al* (2004) Tumour Biol 25:134 - <sup>5</sup>Lacroix *et al* (2004) JCEM 89:1423 - <sup>6</sup>Porra *et al* (2005) JCEM 90:3028 - <sup>7</sup>Park *et al* (2007) Cancer Detect Prev 31:359 - <sup>8</sup>Hong *et al* (2005) Cancer Res 65:3617 - <sup>9</sup>Thangaraju *et al* (2006) Cancer Res 66:11560

## SLC5A8 : Rôle plus complexe dans le transport d'iode ?

### Expériences *in vitro*

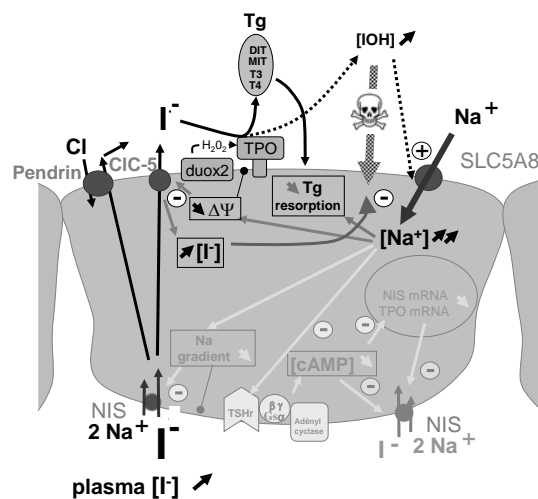
- Patch-clamp
- Tests antiprolifératifs
- Sondes de fluorescence



### SLC5A8 rôle de senseur de l'iode oxydé

⇒ Protection de la cellule contre les sécrétions d'iode oxydé

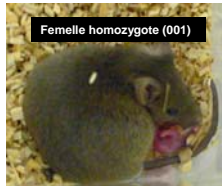
### SLC5A8 rôle de senseur d'iode oxydé



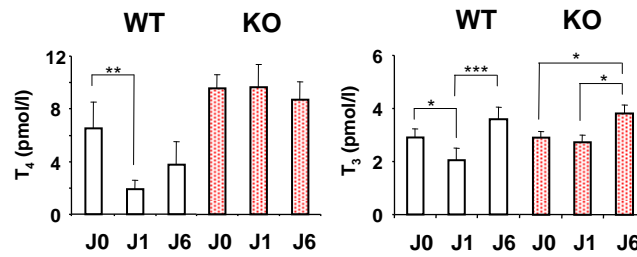
-> Régulation de la fonction thyroïdienne par l'iode

### Effet de l'invalidation sur l'effet Wolff-Chaikoff Dosage de T4 et T3 circulant

Elaboration de  
souris SLC5A8<sup>-/-</sup>



⇒ pas de  
disfonctionnement  
majeur de la  
thyroïde

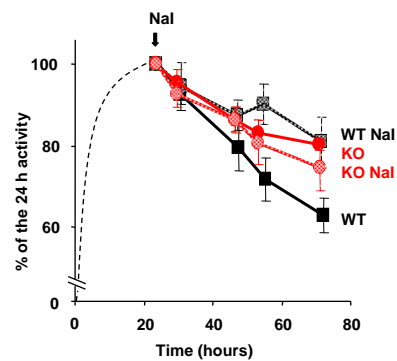
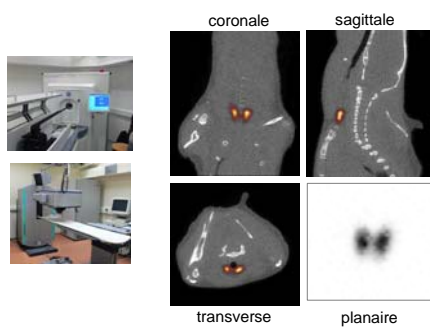


\*p<0.05 \*\*p<0.005 \*\*\*p<0.001

-> Perte de la réponse rapide dans l'effet Wolff-Chaikoff !

### Effet de l'invalidation sur l'effet Wolff-Chaikoff Analyse de la rétention des précurseurs hormonaux

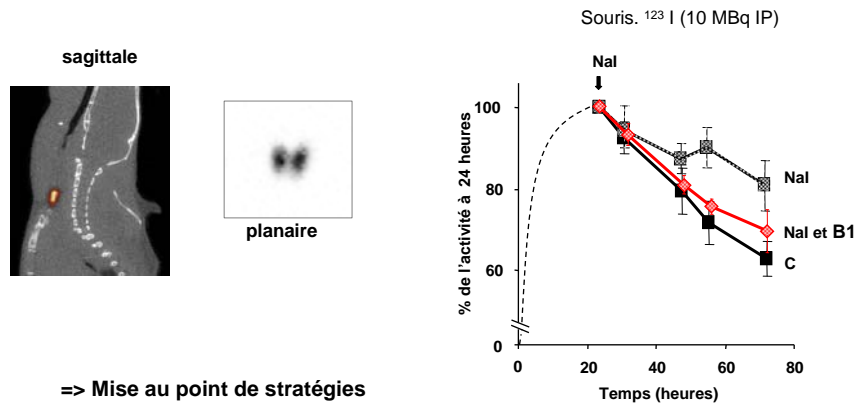
Imagerie <sup>123</sup>I à 24 h



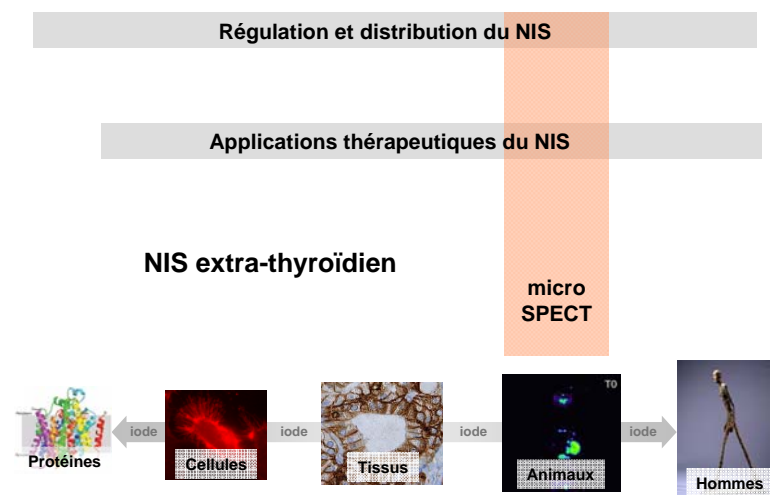
-> Perte de la réponse rapide dans l'effet Wolff-Chaikoff !

## Toxicologie nucléaire: Accumulation d'iode *in vivo*

Effet de l'iode froid sur la sécrétion des précurseurs hormonaux chez la souris vivante

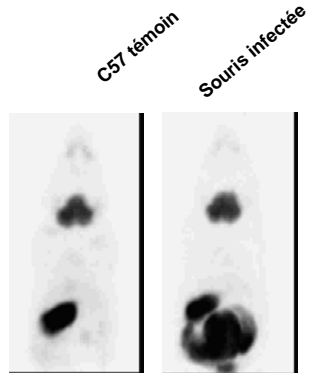


## Imagerie, NIS, radiothérapie et radiotoxicologie

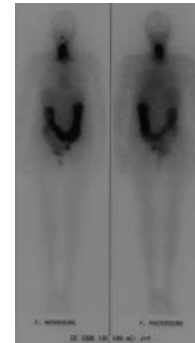
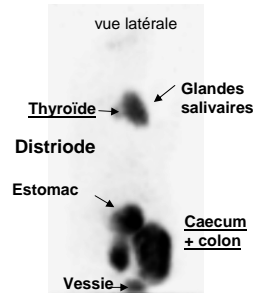


## NIS et colon

Chez la souris...



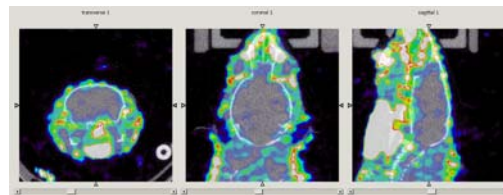
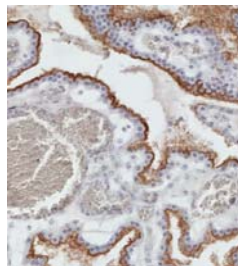
et l'homme.



- Rôle physiologique de ces sécrétions? Antiseptique? Antioxydant?
- Radioprotection du colon (cancers secondaires) lors d'irathérapie dans le traitement des cancers thyroïdiens
- Contrôle d'exposition du colon en toxicologie nucléaire



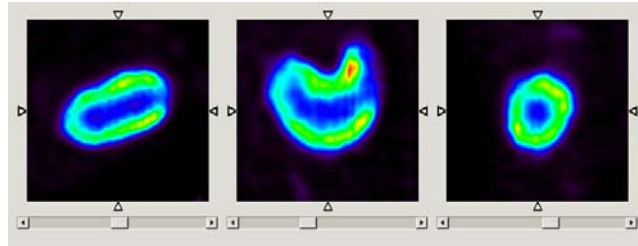
## NIS et cerveau...



Expression NIS dans le plexus choroïdien  
 ⇒ Excrétion de l'iode du SNC

Effet du perchlorate relatif (-10 %)  
 ⇒ Implication d'un autre symporteur

## NIS et estomac



- Rôle physiologique de ces sécrétions? Antiseptique ? Antioxydant ?
- Radioprotection de l'estomac (cancers secondaires) lors d'irathérapie dans le traitement des cancers thyroïdiens
- Contrôle d'exposition de l'estomac en toxicologie nucléaire

S069

**TIRO (Transporteurs, Imagerie et Radiothérapie en Oncologie)**  
**CEA/iBEB/SBTN UNSA CAL**

**BERNAL Eleonora**, Master Univ Colombie  
**BREUILLY Marine**, Doc MRT  
**DARCOURT Jacques**, PU-PH UNSA/CAL  
**DARROUZET Elisabeth**, CEA  
**CAMBIEN Béatrice**, CR INSERM  
**CRESCENCE Lydie**, Post-doc  
**FRANKEN Philippe**, PU-PH UNSA/CAL  
**GIRMA Astrid**, MD Master  
**GRASLIN Fanny**, Tech ANR/CAL  
**GUGLIELMI Julien**, Ingénieur UNSA  
**HENRIQUES Jérôme**, Ingénieur UNSA  
**LAMIT Audrey**, CDD Tech CEA  
**LINDENTHAL Sabine**, MCU UNSA  
**MARCELLIN Didier**, CEA  
**MARSAULT Robert**, PU UNSA  
**POURCHER Thierry**, CEA  
**RICHARD Peggy**, Post-doc  
**RICORT Colette**, Secrétaire UNSA  
**VASSAUX Georges**, DR INSERM

**Collaborations**

- **CAL**: PEYROTTE Isabelle, ETTORE Francette, SUDAKA Anne, BOZEC Alexandre...
- **CHU Nice**: VANDENBOS Fanny, HOFMAN Paul...
- **INSERM/CNRS Nice**: SCHMID Annie, PIERREFITE Valérie, AUBERGER Patrick...
- **INRIA**: AYACHE Nicolas, MALANDAIN Grégoire...
- **CNRS I3S**: BARLAUD Michel...

**CEA Marcoule**: BELLANGER Laurent, VIDAUD Claude, BERENQUER Frédéric, DEDIEU Alain, ARMENGAUD Jean...

**CEA Saclay**: GERARD Matthieu, DOIZI Denis...

**IGR**: SCHULMBERGER Martin, BIDART Jean-Marie, CAILLOU Bernard, BENIHOUD Karim, DUPUY Corinne...

**Université de Bogota**: SPINEL Clara, ONDO Alejandro...

...