Grasse 2025
#poster 4

Utilisation de l'analyseur xCELLigence RTCA eSight pour l'évaluation de la nouvelle plateforme de virus oncolytique de Transgene

B. Moreau, J. Kempf, S. Cochin, J. Foloppe et P. Erbs

Transgene SA, Département Virus Oncolytique, 400 bvd Gonthier d'Andernach, 67400 Illkirch-Graffenstaden, France.

INTRODUCTION

Le développement de nouvelles approches thérapeutiques en oncologie reste une priorité face aux limites des traitements conventionnels. Parmi ces stratégies émergentes, les virus oncolytiques suscitent un intérêt croissant en raison de leur capacité à cibler sélectivement les cellules tumorales, tout en induisant une réponse immunitaire antitumorale. Le virus de la vaccine (VACV) constitue une plateforme virale prometteuse pour l'ingénierie de vecteurs oncolytiques, en raison de sa cytotoxicité directe (activité oncolytique) et de son bon profil de tolérance démontré dans plusieurs essais cliniques. Cependant, l'efficacité thérapeutique du VACV administré par voie systémique est entravée par plusieurs barrières, notamment l'activation du système du complément et la présence d'anticorps neutralisants préexistants ou induits. Ces mécanismes limitent la diffusion virale, réduisent la charge virale tumorale et compromettent l'efficacité antitumorale.

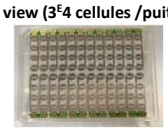
Afin de surmonter ces limitations, nous avons adopté une stratégie d'évolution dirigée, reposant sur la recombinaison de plusieurs espèces de poxvirus. Cette approche a permis la génération d'un virus chimérique de nouvelle génération, dénommé PoxSTG, qui conserve les propriétés oncolytiques du VACV tout en présentant une meilleure résistance aux mécanismes de neutralisation immunitaire.

La caractérisation *in vitro* du virus PoxSTG, en comparaison avec celle du VACV, a été effectuée à l'aide de la plateforme xCELLigence Real-Time Cell Analysis eSight (RTCA). Ce système permet une analyse dynamique et intégrée en combinant la mesure en continu de l'impédance électrique — reflétant des paramètres cellulaires tels que la densité, l'adhérence, la viabilité et la morphologie — à une imagerie en temps réel. Cette approche permet ainsi une évaluation fine et cinétique des effets cytopathiques induits par les virus.

MATERIEL ET METHODES

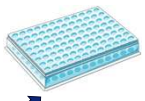


Culture des cellules sur E-plate-view (3^E4 cellules /puits)



E-plate-view: Présence d'une fine couche d'or afin de permettre le passage du courant électrique (mesure de l'impédance)

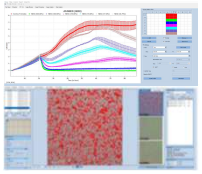
Incubation dans le eSight
37°C; 24H 5%; CO_2



5 jours 37°C
5% CO_2



Xcelligence RTCA eSight
Objectif *10



Obtention de données en temps réel

- Analyse d'image (filtres GFP, mCherry, brightfield)
- Viabilité cellulaire (Cell Index)



VACV ou PoxSTG

Dépôt sur les cellules

Sérum contenant des Ac neutralisant ou du complément

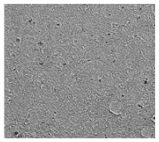
Incubation 1H à 37°C

RESULTATS

Observation de cellules tumorales humaine HCT116 (carcinome colorectal humain) infectées ou non : Mock (1); VACV (2); PoxSTG (3) à MOI 10^{-3}

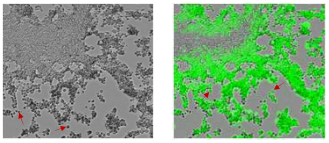
Echelle: 140 µm

Cellules non infectées



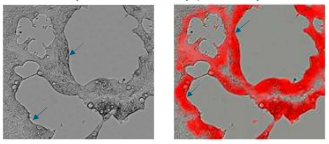
Brightfield

Cellules infectées par VACV-GFP (VACV exprimant GFP)



Brightfield *Filtre GFP*

Cellules infectées par PoxSTG-mCherry (PoxSTG exprimant mCherry)

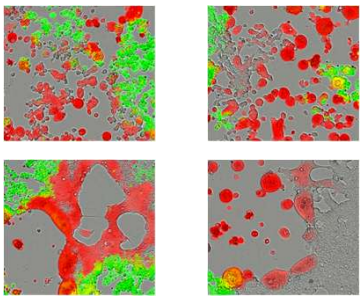


Brightfield *Filtre mCherry*

L'infection de cellules tumorales humaines (HCT116) par le PoxSTG (3) induit la fusion des cellules (syncytia).

Au contraire, l'infection par le VACV (2) n'induit pas la fusion des cellules.

Co-infection VACV-GFP et PoxSTG-mCherry de la lignée tumorale HCT116



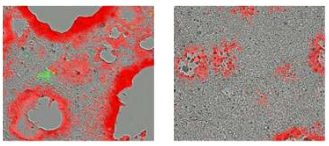
MOI 10^{-2}

MOI 10^{-3}

Filtres GFP + mCherry

Plus grande proportion de cellules rouges (syncytia)
Le PoxSTG semble avoir une activité oncolytique supérieure au VACV

Co-infection VACV-GFP et PoxSTG-mCherry de la lignée tumorale HCT116 en présence de sérum neutralisant

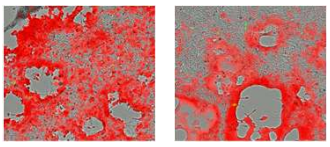


MOI 10-2 MOI 10-3

Observation principalement de cellules rouges.

Comparé au VACV, le PoxSTG présente une sensibilité réduite aux anticorps neutralisants, ces derniers ayant un impact moindre sur sa capacité de réplication.

Co-infection VACV-GFP et PoxSTG-mCherry de la lignée tumorale HCT116 en présence de complément



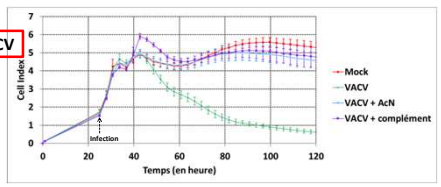
MOI 10-2 MOI 10-3

Observation quasi exclusive de cellules rouges.

Comparé au VACV, le PoxSTG présente une sensibilité réduite au complément, ce dernier ayant un impact moindre sur sa capacité de réplication.

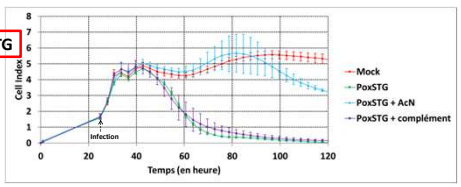
Mesure d'impédance de cellules HCT116 non-infectées (Mock) ou infectées (VACV ou PoxSTG à MOI 10^{-2}) en présence ou non d'Anticorps neutralisants (AcN) ou de complément

VACV



L'activité cytotoxique du VACV est totalement inhibée en présence de complément et d'Ac neutralisants

PoxSTG



L'activité cytotoxique du PoxSTG est partiellement inhibée en présence d'Ac neutralisants mais peu inhibée en présence de complément

En présence d'AcN ou de complément, le PoxSTG présente une activité oncolytique supérieure au VACV .

CONCLUSION

Le virus oncolytique PoxSTG, un virus chimérique de nouvelle génération, présente des propriétés anticancéreuses supérieures à celles du VACV, utilisé comme référence. Il se distingue notamment par une meilleure résistance aux anticorps neutralisants ainsi qu'aux protéines du complément. Par ailleurs, sa capacité à induire la formation de syncytia favorise une propagation cellulaire étendue, un mécanisme qui pourrait également contribuer à sa résistance accrue face aux mécanismes immunitaires tels que les anticorps neutralisants et le complément.

L'ensemble de ces caractéristiques, mises en évidence par l'utilisation de la plateforme RTCA, suggère que le virus PoxSTG constitue un candidat particulièrement adapté à une administration par voie intraveineuse.