

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Date de la soutenance : **25 mars 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur BECKER Guillaume**

Titre des travaux : « *L'imagerie moléculaire en tomographie par émission de positons : du développement de radiotraceurs aux études physiopathologiques* »

Résumé



A. Travaux de thèse (2010 – 2013) : Nouveaux radiotraceurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} et 5-HT₆ pour l'étude des processus neurodégénératifs (CRNL Inserm U1028, équipe BIORAN).

La découverte de biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer (MA) reste un enjeu majeur ¹. Une équipe lyonnaise a montré que la densité des récepteurs à la sérotonine 5-HT_{1A} est altérée dans la MA ². De plus, les récepteurs 5-HT₆ sont une cible d'intérêt contre les troubles mnésiques de la MA ³.

Axe 1 : nouveaux radiotraceurs TEP 5-HT_{1A} pour l'étude de la maladie d'Alzheimer.

L'équipe avait développé un radiotraceur TEP 5-HT_{1A} agoniste inédit (le [¹⁸F]F15599) ciblant les récepteurs fonctionnels, au contraire des radiotraceurs antagonistes classiques tel le [¹⁸F]MPPF, qui lient les récepteurs fonctionnels et non fonctionnels ⁴. Mon hypothèse de travail était une possible altération de la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} au cours de la MA. J'ai montré, par autoradiographie *in vitro* sur des hippocampes de patients, une diminution du marquage au [¹⁸F]F15599 dès les stades précoces de la MA (diminution non retrouvée avec le [¹⁸F]MPPF) ⁵. Bien que limitée dans son effectif et rétrospective, mon étude a prouvé le concept de la perte de fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} dans la MA. L'équipe a reproduit mes résultats afin de lever les financements nécessaires (AVIESAN Technologies pour la Santé ; Hospices Civils de Lyon) aux tests chez l'humain de ces radiotraceurs TEP spécifiques du laboratoire ^{6,7,8}.

J'ai affiné le profil pharmacologique des agonistes 5-HT_{1A} F15599 et F13714 ⁹ qualifiés de « biaisés » car ils activent préférentiellement une voie de signalisation liée à un effet thérapeutique ¹⁰. Mon hypothèse était que l'IRMf à stimulus pharmacologiques pouvait mettre en évidence l'activation sélective de récepteurs par ces « agonistes biaisés ». J'ai comparé les schémas d'activation cérébrale des F13714 et F15599 chez le rongeur et montré qu'ils activent des réseaux neuronaux spécifiques ¹¹. Mon étude est la

¹ Dubois, B. et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group. *Lancet Neurol.* 20, 484-496 (2021).

² Truchot, L. et al. Up-regulation of hippocampal serotonin metabolism in mild cognitive impairment. *Neurology* 69, 1012-1017 (2007).

³ Mitchell, E.S. 5-HT₆ receptor ligands as antidementia drugs. *Int. Rev. Neurobiol.* 96, 163-187 (2011).

⁴ Lemoine, L. et al. F15599, a novel 5-HT_{1A} receptor agonist, as a radioligand for PET neuroimaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 37, 594-605 (2010).

⁵ Becker, G. et al. A Postmortem Study to Compare Agonist and Antagonist 5-HT_{1A} Receptor-binding Sites in Alzheimer's Disease. *CNS Neurosci. Ther.* 20, 930-934 (2014).

⁶ Vidal, B. et al. Agonist and antagonist bind differently to 5-HT_{1A} receptors during Alzheimer's disease: A post-mortem study with PET radiopharmaceuticals. *Neuropharmacol.* 109, 88-95 (2016).

⁷ Colom, M. et al. 18F-F13640 PET imaging of functional receptors in humans. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 47, 220-221 (2020).

⁸ Courault, P. et al. [18F]F13640: a selective agonist PET radiopharmaceutical for imaging functional 5-HT_{1A} receptors in humans. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 50:1651-1664 (2023).

⁹ Lemoine, L., Becker, G. et al. Radiosynthesis and Preclinical Evaluation of 18F-F13714 as a Fluorinated 5-HT_{1A} Receptor Agonist Radioligand for PET Neuroimaging. *J Nucl. Med.* 53, 969-976 (2012).

¹⁰ Lefkowitz, R.J. and Shenoy, S.K. Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science* 308, 512-517 (2005).

¹¹ Becker, G. et al. Selective serotonin 5-HT_{1A} receptor biased agonists elicit distinct brain activation patterns: a pharmacMRI study. *Sci. Rep.* 6, 23366 (2016).

première à fournir des données d'imagerie *in vivo* « d'agonistes biaisés », renforçant cette thématique au sein de l'équipe^{12,13}.

Axe 2 : développement de nouveaux radioligands TEP des récepteurs 5-HT₆.

Cet axe a abouti à des résultats probants en développant un radioligand spécifique très prometteur : le [¹⁸F]2FNQ1P¹⁴. Afin de valider ce radiotraceur, j'ai utilisé des techniques de pharmacologie *in vitro* en autoradiographie et d'imagerie TEP *in vivo* sur différents modèles animaux (rat, chat et primate non humain)¹⁵. Mes travaux sur le [¹⁸F]2FNQ1P ont ouvert la voie aux études TEP *in vivo* chez l'humain, grâce au soutien de la Fondation Alzheimer (Prix France Alzheimer 2021).

Parallèlement à mes travaux de thèse, j'ai participé à plusieurs études en collaborant à l'acquisition et l'analyse d'autoradiographies *in vitro* et d'imagerie TEP *in vivo*^{16,17}, ainsi qu'à la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) sur échantillons sanguins pour la quantification d'images TEP¹⁸.

B. Travaux de post-doctorat (2014 – 2018, GIGA CRC – In Vivo Imaging, Université de Liège, Belgique, Pr. André Luxen/ Pr. Eric Salmon)

Pour ma mobilité internationale, j'ai choisi de rejoindre une équipe pionnière dans le développement de radiotraceurs TEP de la densité synaptique¹⁹. J'ai dirigé la validation préclinique du radiotraceur et participé aux études cliniques. Parallèlement, j'ai développé une thématique sur l'imagerie de modèles murins de la maladie de Parkinson. Enfin, j'ai enrichi mon expertise par les applications oncologiques de l'imagerie TEP.

a. Recherche translationnelle en imagerie TEP de la densité synaptique.

La densité synaptique est étudiée depuis longtemps en raison de sa corrélation avec les symptômes cognitifs de la MA²⁰. L'hypothèse était que l'imagerie TEP de la protéine de vésicule synaptique SV2A, grâce au radiotraceur [¹⁸F]UCB-H, permettrait la mesure de la perte synaptique provoquée par la MA. J'ai dirigé une revue de la littérature portant sur l'imagerie TEP de la densité synaptique²¹.

i. Validation des méthodes de radiosynthèses.

Nous avons mis au point une radiosynthèse satisfaisant les normes de qualité GMP (« Good Manufacturing Practices »). J'ai validé la conformité radiopharmaceutique de cette nouvelle radiosynthèse d'une part et étudié l'équivalence des données précliniques avec les résultats précédents d'autres part²².

ii. Développements précliniques du radiotraceur [¹⁸F]UCB-H (implication personnelle : **direction d'équipe** : 1 ingénieur de recherche et 1 doctorante, étudiants de master).

J'ai établi une méthode de quantification non-invasive de la fixation cérébrale du [¹⁸F]UCB-H chez le rat sur la base d'une fonction d'entrée artérielle « population-based » et confirmé l'absence de passage au travers de la BHE du métabolite principal (identifié par HPLC-MS/MS)²³. J'ai **encadré une doctorante** qui a montré qu'une acquisition TEP statique de 20 minutes donnait des résultats fiables par rapport aux méthodes précédentes²⁴. Grâce à ces développements, les travaux de thèse ont porté sur des études longitudinales en imagerie TEP de la protéine SV2A sur des modèles animaux^{25,26,27}. J'ai engagé une

¹² Vidal, B. et al. In vivo biased agonism at 5-HT_{1A} receptors: characterisation by simultaneous PET/MR imaging. *Neuropsychopharmacol.* 43, 2310-2319 (2018).

¹³ Vidal, B. et al. Pharmacological MRI to investigate the functional selectivity of 5-HT_{1A} receptor biased agonists. *Neuropharmacol.* 1, 172:107867 (2020).

¹⁴ Colomb, J., **Becker, G.** et al. Syntheses, Radiolabelings, and in Vitro Evaluations of Fluorinated PET Radioligands of 5-HT₆ Serotonergic Receptors. *J. Med. Chem.* 57, 3884-3890 (2014).

¹⁵ **Becker, G.** et al. Preclinical evaluation of [¹⁸F]2FNQ1P as the first fluorinated serotonin 5-HT₆ radioligand for PET imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 42, 495-502 (2015).

¹⁶ Colomb, J., **Becker, G.*** et al. Synthesis and pharmacological evaluation of a new series of radiolabeled ligands for 5-HT₇ receptor PET neuroimaging. *Nucl. Med. Biol.* 41, 330-337 (2014). (* equal contribution).

¹⁷ Da Costa Branquinho, E., **Becker, G.** et al. Radiosynthesis and in vivo evaluation of fluorinated huprine derivatives as PET radiotracers of acetylcholinesterase. *Nucl. Med. Biol.* 41, 330-337 (2013).

¹⁸ Yankam Njiwa, J., Costes, N., Bouillot, C., Bouvard, S., Fieux, S., **Becker, G.** et al. Quantitative longitudinal imaging of activated microglia as a marker of inflammation in the pilocarpine rat model of epilepsy using [¹¹C]-(R)-K11195 PET and MRI. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 37, 1251-1263 (2017).

¹⁹ Warnock, J. et al. Evaluation of 18F-UCB-H as a Novel PET Tracer for Synaptic Vesicle Protein 2A in the Brain. *J. Nucl. Med.* 55, 1336-1342 (2014).

²⁰ Terry, R. et al. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 30, 572-580 (1991).

²¹ **Becker, G.** et al. The rise of synaptic density PET imaging. *Molecules* 25, 2303 (2020).

²² Warnier, C., Lemaire, C., **Becker, G.** et al. Enabling Efficient Positron Emission Tomography (PET) Imaging of Synaptic Vesicle Glycoprotein 2A (SV2A) with a Robust and One-Step Radiosynthesis of a Highly Potent 18F-Labeled Ligand ([¹⁸F]UCB-H). *J. Med. Chem.* 59, 8955-8966 (2016).

²³ **Becker, G.** et al. Pharmacokinetic Characterization of [¹⁸F]UCB-H PET Radiopharmaceutical in the Rat Brain. *Mol. Pharma.* 14, 2719-2725 (2017).

²⁴ Serrano, M.E., Bahri, M.A., **Becker, G.** et al. Quantification of [¹⁸F]UCB-H Binding in the Rat Brain: From Kinetic Modelling to Standardised Uptake Value. *Mol. Imaging. Biol.* 21, 888-897 (2018).

²⁵ Serrano, M.S., **Becker, G.** et al. Evaluating the In Vivo Specificity of [¹⁸F]UCB-H for the SV2A Protein, Compared with SV2B and SV2C in Rats Using microPET. *Molecules.* 24, 1705 (2019).

²⁶ Menten-Dedoyart, C., Navacerrada, M.E., Bartholome, O., Sánchez, J.G., Neirinx, V., Wislet, S., **Becker, G.** et al. Development and validation of a new mouse model to investigate the role of sv2a in epilepsy. *PLoSOne.* 11, e0166525 (2016).

²⁷ Serrano, M.E., Bahri, M.A., **Becker, G.** et al. Exploring with [¹⁸F]UCB-H the *in vivo* variations in SV2A expression through the kainic acid rat model of temporal lobe epilepsy. *Mol. Imaging Biol.* 22, 1197-1207 (2020).

collaboration avec la plateforme MIRCen (CNRS/CEA/Université Paris-Saclay) afin d'étudier la pharmacocinétique du [¹⁸F]UCB-H chez le primate non-humain ²⁸.

- iii. Études cliniques en imagerie TEP de la densité synaptique (implication personnelle : dosages sanguins des métabolites du radiotraceurs en HPLC, analyses des données).

Grâce aux dosages sanguins que j'ai réalisés, une quantification basée sur une fonction artérielle dérivée des images TEP a été validée afin de réduire la fréquence des prélèvements sanguins parfois difficiles à obtenir chez les personnes âgées. Les résultats du [¹⁸F]UCB-H étaient cohérents avec ceux d'un radiotraceur similaire, le [¹¹C]UCB-J (Université de Yale) ²⁹. Nos études cliniques ont confirmé, sur plusieurs cohortes de patients, l'intérêt de l'étude de la perte synaptique dans les troubles neurodégénératifs^{30,31}.

b. Imagerie TEP préclinique de modèles murins de la maladie de Parkinson (MP).

J'ai établi une collaboration avec le laboratoire pharmaceutique industriel UCB Pharma (Belgique) dont l'objectif était le suivi longitudinal de modèles de rats de MP pour l'évaluation de nouvelles thérapies. J'ai comparé deux radiotraceurs du métabolisme de la dopamine avec l'hypothèse que la [¹⁸F]FMT serait plus sensible que la [¹⁸F]FDOPA pour détecter la perte de neurones dopaminergiques³². J'ai ensuite testé un modèle génétique de MP. L'imagerie TEP [¹⁸F]FMT longitudinale a montré une réduction progressive du paramètre évalué dans la lésion, corrélée aux déficit moteurs ³³. Cet « outil de criblage *in vivo* » que j'ai conçu (modèle progressif et suivi longitudinal en imagerie TEP et comportement) est valorisé actuellement pour évaluer les molécules en développement par l'industrie pharmaceutique.

c. Développement d'outils d'imagerie TEP appliqués à l'oncologie.

J'ai initié la thématique de l'imagerie moléculaire en oncologie en développant de nouveaux vecteurs pour l'imagerie TEP. J'ai considéré cette thématique, nouvelle pour moi et pour le laboratoire, comme stratégique car l'oncologie est un des domaines (aux côtés de la neurologie) auquel l'imagerie TEP contribue tout particulièrement. J'ai encadré le travail de 3 doctorants (radiomarquage des vecteurs, acquisition et traitement des données d'imagerie TEP *in vivo*), et appris à maîtriser les modèles murins avec greffe de cellules cancéreuses. Deux nouveaux types de vecteurs ont été développés :

- **Des nanofitins** (petites structures peptidiques très stables de 7 kDa) ^{34,35}.
- **Des nanoparticules organiques** constituées de matériaux biocompatibles ³⁶.

Parallèlement, j'ai collaboré avec plusieurs équipes en apportant mes compétences spécifiques pour l'élaboration d'expériences, l'acquisition et l'analyse de données en imagerie *in vivo* ^{37,38,39,40}.

C. Travaux de chercheur (2021 – présent, Laboratoire CarMeN U1060 puis CRNL U1028).

Mes thématiques propres s'intéressent à la neuro-immunologie et la neuro-oncologie (cf. projet). J'ai démontré pour la première fois l'expression cérébrale d'un points-de-contrôle immunitaire, PD-L1, sur des échantillons de cerveaux de patients atteints d'encéphalopathies aiguës ⁴¹. J'ai rejoint l'équipe IRIS du laboratoire CarMeN, spécialisée dans l'ischémie-reperfusion afin de caractériser l'évolution spatio-

²⁸ Goutal, S., Guillermier, M., Gaudin, M., **Becker, G.** et al. The pharmacokinetics of [¹⁸F]UCB-H revisited in the healthy non-human primate brain. *EJNMMI Res.* 11,36 (2021).

²⁹ Bahri, M.A., Plenevaux, A. Aerts, J. Bastin, C. **Becker, G.** et al. Measuring brain synaptic vesicle protein 2A with positron emission tomography and [¹⁸F]UCB-H. *Alzheimer Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* 3, 481-486 (2017).

³⁰ Bastin, C., Bahri, M.A., Meyer, F., Manard, M., Delhaye, E., Plenevaux, A., **Becker, G.** et al. In vivo imaging of synaptic loss in Alzheimer's disease with [¹⁸F]UCB-H positron emission tomography. *Eur J. Nucl Med. Mol. Imaging.* 47, 390-402 (2020).

³¹ Salmon, E., Bahri, M. A., Plenevaux, A., **Becker, G.** et al. In vivo assessment of synaptic density in frontotemporal dementia using PET and [¹⁸F]UCB-H. *Sci Rep.* 11:16092 (2021).

³² **Becker, G.** et al. Comparative assessment of 6-[¹⁸F]fluoro-L-m-tyrosine and 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa to evaluate dopaminergic presynaptic integrity in a Parkinson's disease rat model. *J. Neurochem.* 141, 626-635 (2017).

³³ **Becker, G.** et al. Progressive monitoring of functional dopaminergic deficit in the A53T-AAV synuclein rats by combining 6-[¹⁸F]fluoro-L-m-tyrosine and motor performances. *Neurobiol. Aging.* 107, 142-152 (2021).

³⁴ Dammicco, S., Goux, M., Lemaire, C., **Becker, G.** et al. Regiospecific radiolabelling of Nanofitin on Ni magnetic beads with [¹⁸F]FBEM and in vivo PET studies. *Nucl. Med. Biol.* 51, 33-39 (2017).

³⁵ Goux, M., **Becker, G.** et al. Nanofitin as a New Molecular-Imaging Agent for the Diagnosis of Epidermal Growth Factor Receptor Over-Expressing Tumors. *Bioconj. Chem.* 28, 2361-2371 (2017).

³⁶ Nagachinta, S., **Becker, G.** et al. Radiolabelling of lipid-based nanocarriers with fluorine-18 for *in vivo* tracking by PET. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 188, 110793 (2020).

³⁷ Bodart, G., Farhat, K., Renard-Charlet, C., **Becker, G.**, et al. The severe deficiency of the somatotrope GH-releasing hormone/growth hormone/ insulin-like growth factor 1 Axis of Ghrrh-/- mice is Associated with an important splenic atrophy and relative B lymphopenia. *Front. Endocrinol.* 9:296 (2018).

³⁸ Manos-Turvey, A., **Becker, G.** et al. Fully automated synthesis and evaluation of [¹⁸F]BPAM121: Potential of an AMPA receptor positive allosteric modulator as PET radiotracer. *ChemMedChem.* 14, 788-795 (2019).

³⁹ Jacques, S., ..., **Becker, G.** et al. Dual-Specificity Phosphatase 3 deletion promotes obesity, non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Sci Rep.* 11:5817 (2021).

⁴⁰ **Becker, G.** et al. Exercise against cocaine sensitization in mice: a [¹⁸F]fallypride microPET study. *Brain Commun.* fcb294 (2021).

⁴¹ Potier, F., Bing, F., Zimmer, L., Desestret, V., Marignier, R., Meyronet, D., **Becker, G.** Differential PD-L1 expression in acute disseminated encephalomyelitis and acute hemorrhagic leukoencephalopathy. *Neuropathol. App. Neurobiol.* **Under review.**

temporelle de la neuro-inflammation induite par ischémie-reperfusion chez le primate non-humain. Grâce à **l'imagerie simultanée IRM/TEP corrélée aux données neuropathologiques**, j'ai pu démontrer l'effet protecteur d'une injection aigüe de cyclosporine A sur l'inflammation thalamique secondaire ^{42, 43, 44}. **J'encadre actuellement une doctorante** pour la valorisation de ces données multimodales inédites (cf. 4. Réalisation /B Valorisation) ⁴⁵.

Mes recherches ont évolué de **la molécule** (diplômes de pharmacien et radiopharmacien, développement de radiotraceurs à fort impact clinique) **jusqu'à l'homme** (essais cliniques en imagerie TEP de la densité synaptique) **via l'imagerie**. Elles s'articulent autour de la validation de biomarqueurs d'imagerie pour la neurologie et l'oncologie. En 2019 – 2020, j'ai été chercheur au Centre d'Etudes Nucléaires Belge (SCK-CEN, Mol, Belgique) en charge de la mise en place d'une plate-forme dédiée à la **radiopharmacie théranostique** (imagerie et radiothérapie vectorisée) en **neuro-oncologie**.

⁴² Chauveau, F., **Becker, G.**, Boutin, H. Have [11C]PK11195 challengers fulfilled the promise? A systematic search and review on clinical TSPO PET studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 49, 201-220 (2021).

⁴³ Chauveau, F., ..., **Becker, G.** PET imaging of neuroinflammation: Any credible alternatives to TSPO yet? *Mol Psychiatry*. **Under review**.

⁴⁴ **Becker, G.** et al. Spatio-Temporal Characterization of Brain Inflammation in a Non-human Primate Stroke Model Mimicking Endovascular Thrombectomy. *Neurotherapeutics*. 20(3): 789–802 (2023).

⁴⁵ Chalet, L. ... **Becker, G.** The PREMISE database of 20 Macaca fascicularis PET/MRI brain images available for research. *Lab Anim* 53, 13–17 (2024).