

MODÈLES 3D

POUR L'ÉTUDE DU MICRO-ENVIRONNEMENT TUMORAL

JEUDI 14 SEPTEMBRE 2023

MERCURE PHILHARMONIE LA VILLETTE,
216 AV JEAN JAURES, PARIS 19E

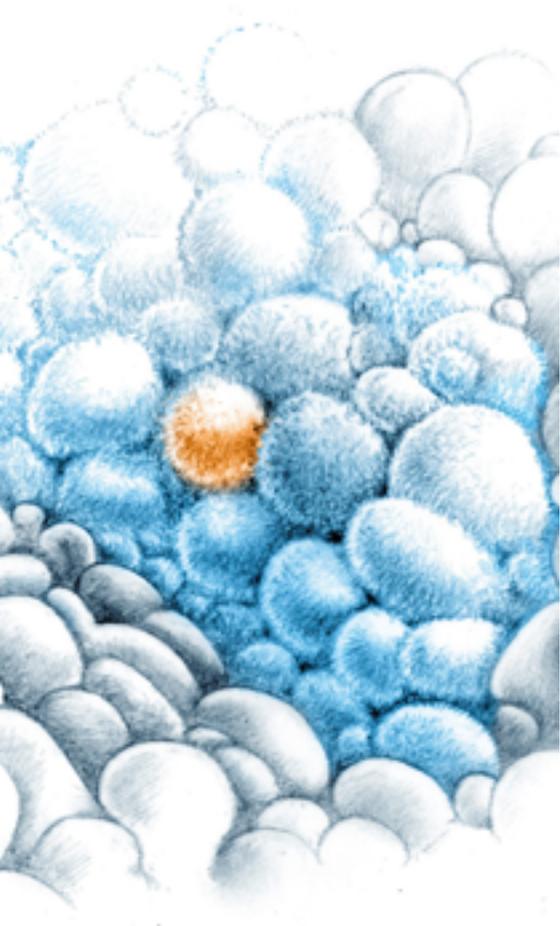
Coordination Scientifique :

Groupe de travail « MICRO-ENVIRONNEMENT TUMORAL » du Cancéropôle IDF, piloté par Sophie Siberil (Sorbonne Université) et Eric Tartour (AP-HP).

Objectifs

Le matin, un workshop permettra d'échanger de manière collective et avec des experts franciliens des nouveaux modèles 3D : organoïdes, Tumor on Chip, Tumor slices. Une table ronde aura pour objectif de mettre en perspective les apports et limites de ces différents modèles pour l'étude du micro-environnement tumoral.

L'après-midi, Louis Bastien Weiswald, co-responsable de la plateforme Orgapred du Centre François Baclesse, donnera une keynote lecture sur l'utilisation des organoïdes pour la recherche sur les cancers. Pour renforcer les liens au sein de la communauté francilienne travaillant sur le MET, des jeunes chercheurs sont invités à présenter leurs travaux via des communications orales ainsi que lors d'une session poster.





MODÈLES 3D POUR L'ÉTUDE DU MICRO-ENVIRONNEMENT

Coordination scientifique :

Groupe de travail « Micro-environnement tumoral » du Cancéropôle IDF

8h30 - 9h00 ACCUEIL

9h00 - 9h15 INTRODUCTION

Sophie SIBERIL, Sorbonne Université, Centre de Recherche des Cordeliers

WORKSHOP MODÈLES 3D

Modération : Hélène MOREAU, Marion ESPELI

9h15 - 9h45

Modèle organoïde : From chimiograms to immunograms

Fanny JAULIN, Inserm, Gustave Roussy

9h45 - 10h15

Modèle Tumor on Chip : Advanced in tumor on chip development

Stéphanie DESCROIX, Institut Curie, IPGG, PSL

10h15 - 10h45

Modèle Tumor-slices : Prévoir l'efficacité et la toxicité des cellules CAR T à l'aide d'un modèle humain *ex vivo*

Emmanuel DONNADIEU, Institut Cochin, CNRS, Inserm, Université Paris Cité

10h45 - 11h15

PAUSE-CAFÉ

11h15 - 12h15

Table ronde :

Mise en perspective de l'apport et des limites de chaque type de modèle

Fanny JAULIN, Inserm, Gustave Roussy

Stéphanie DESCROIX, CNRS, Institut Curie

Emmanuel DONNADIEU, CNRS, Institut Cochin

Virginie DANGLES-MARIE, Institut Curie

Marion ESPELI, Inserm, Institut de Recherche Saint Louis

Isabelle CREMER, Sorbonne Université, Centre de Recherche des Cordeliers

Hélène MOREAU, Inserm, Institut Curie

12h15 - 13h45

DÉJEUNER ET SESSION POSTER

KEYNOTE LECTURES

Modération : Virginie DANGLE-MARIE

13h45 - 14h15

Modeling development and disease in organoids

Marc VAN WETERING, Princes Maxima Centrum, Utrecht Netherland



14
SEPT
2023

ONNEMENT TUMORAL

14h15 - 15h00

Apport des modèles de tumorôides à la recherche fondamentale et translationnelle en oncologie et applications à la médecine prédictive

Louis-Bastien WEISWALD, Université de Caen Normandie, Inserm, CLCC François Baclesse

15h00 - 15h15

Discussion

SESSION JEUNES CHERCHEURS

Modération : Isabelle CREMER, Sophie SIBERIL

15h15 - 15h30

Macrophage adhesion to cancer cells favors early tumor growth

Jovan NIKOLIC, Institut Curie

15h30 - 15h45

Multiscale model of the different modes of cancer cell invasion

Marco RUSCONE, Institut Curie

15h45 - 16h00

Determining the specific features of the microvascular architecture of clear cell renal cell carcinoma by using a relevant in vitro 3D model of vascularized microtumors

Camille COMPERE, Centre de Recherche des Cordeliers

16h00 - 16h15

Vascularized bone marrow-on-chip to study vascular aberration in hematopoietic diseases

Jéssica RODRIGUES DE PAULA ALBUQUERQUE, Institut Cochin

16h15 - 16h30

Un nouveau modèle d'organoïdes cérébraux complexes pour étudier la niche tumorale du glioblastome

Jérémy RAGUIN, CEA

16h30 - 16h45

Simple droplet microfluidics platform for drug screening on cancer spheroids

Caroline PARENT, Institut Curie

16h55 - 17h05

CONCLUSION ET REMISE DES PRIX

Eric TARTOUR, AP-HP, HEGP

Marion ESPELI, Inserm, Institut de Recherche Saint Louis



ABSTRACTS

COMMUNICATIONS & POSTERS

Le déchiffrement de l'hétérogénéité tumorale ainsi que des interactions complexes entre les cellules malignes et leur microenvironnement représentent un enjeu primordial pour améliorer le traitement du cancer. Créer et renforcer un réseau de chercheurs / ingénieurs franciliens développant différentes approches ou modèles a pour objectif de **partager et rendre accessibles des « savoir-faire » et des outils permettant l'étude du microenvironnement tumoral pour une utilisation nominale de modèles optimisés.**



WORKSHOP : MODÈLES 3D

FANNY JAULIN

Gustave Roussy, Inserm

DES CHIMIOGRAMMES AUX IMMUNOGRAMMES

Les modèles de cancer doivent rendre compte de la complexité et de l'hétérogénéité de la maladie, à l'échelle de la population, afin de générer des connaissances qui profiteront finalement aux patients. Notre laboratoire établit une collection d'organoïdes dérivés de patients atteints de cancer. Il s'agit d'une approche réductionniste où nous nous concentrons principalement sur les cellules cancéreuses et où nous ajoutons des composants contrôlés spécifiques pour construire la complexité du micro-environnement tumoral. J'aborderai ici le rôle des matrices extracellulaires dans la croissance et les propriétés invasives des cellules cancéreuses, ainsi que certains de nos travaux les plus récents sur les cellules immunitaires.



WORKSHOP : MODÈLES 3D

STÉPHANIE DESCROIX

Institut Curie, Institut Pierre Gille de Gennes, PSL

AVANCÉES DANS LE DÉVELOPPEMENT DU MODÈLE TUMOR ON CHIP

Au cours des 15 dernières années, le domaine de la recherche en oncologie a connu des progrès significatifs dans le développement de nouveaux modèles de culture cellulaire, tels que les organoïdes ou les systèmes de tumeurs sur puce (Tumor on Chip, ToC). Les ToC offrent des avantages clés en permettant un contrôle précis de divers paramètres. Parmi ces paramètres figurent les propriétés de la matrice extracellulaire, les forces mécaniques exercées sur les cellules, l'environnement physico-chimique, la composition des cellules et l'architecture du microenvironnement tumoral. Un contrôle aussi fin permet aux ToC de reproduire fidèlement le microenvironnement complexe et les interactions au sein des tumeurs, ce qui facilite l'étude de la progression du cancer et des réponses thérapeutiques d'une manière hautement représentative. Il est important de noter qu'en incorporant des cellules dérivées de patients, les modèles ToC ont montré des résultats prometteurs en terme de validation clinique. Dans cette présentation, j'illustrerai le développement de ces ToC et les connaissances acquises à partir de l'utilisation de ce modèle à travers divers exemples.



WORKSHOP : MODÈLES 3D



KEYNOTE LECTURE

MARC VAN DE WETERING

Princess Maxima Center for Pediatric Oncology, Utrecht, the Netherlands

MODÉLISATION DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA MALADIE DANS LES ORGANOÏDES

L'épithélium intestinal est le tissu qui se renouvelle le plus rapidement chez les mammifères adultes. Nous avons initialement défini Lgr5 comme un gène cible de Wnt, transcrit dans les cellules cancéreuses du côlon. Deux allèles knock-in ont révélé une expression exclusive de Lgr5 dans les cellules cylindriques de la base de la crypte. Grâce à des expériences de traçage des lignées chez des souris adultes, nous avons constaté que ces cellules cylindriques de la base de la crypte (CBC) Lgr5+ve génèrent toutes les lignées épithéliales tout au long de la vie, ce qui implique qu'elles représentent la cellule souche de l'intestin grêle et du côlon. Il a ensuite été démontré que Lgr5 représentait un marqueur extrêmement spécifique et presque «générique» pour les cellules souches, notamment dans les follicules pileux, les reins, le foie, la glande mammaire, l'oreille interne, la langue et l'épithélium de l'estomac.

Les cellules souches Lgr5+ve triées individuellement peuvent donner naissance à des organoïdes crypto-villaires en constante expansion, appelés «mini-estomacs» en culture 3D. Cette technologie repose sur le fait que Lgr5 est le récepteur d'un puissant facteur de croissance des cellules souches, la R-spondine. Des systèmes de culture 3D similaires ont été développés pour les cellules souches Lgr5+ve de l'estomac, du foie, du pancréas et du rein. Les cultures d'organoïdes en 3 dimensions sont dérivées de tissus sains et tumoraux de patients atteints de cancer colorectal. Les organoïdes tumoraux reflètent fidèlement la tumeur en ce qui concerne le nombre de copies et le spectre des mutations et se prêtent à des criblages de médicaments à haut rendement, permettant de détecter les associations gène-médicament. La technologie des organoïdes pourrait permettre de concevoir des thérapies personnalisées.



KEYNOTE LECTURE

LOUIS-BASTIEN WEISWALD

Université de Caen Normandie, INSERM U1086 ANTICIPE
UNICANCER, Centre de Lutte contre le Cancer François Baclesse
Université de Caen Normandie, US PLATON, Plateforme ORGAPRED

APPORT DES MODÈLES DE TUMOROÏDES À LA RECHERCHE FONDAMENTALE ET TRANSLATIONNELLE EN ONCOLOGIE ET APPLICATIONS À LA MÉDECINE PRÉDICTIVE

Cette dernière décennie a vu l'apparition au sein des laboratoires des cultures d'organoïdes tumoraux, ou tumoroïdes, dont l'émergence a permis d'enrichir le répertoire des modèles précliniques en oncologie. Ces structures multicellulaires tridimensionnelles, obtenues directement à partir d'échantillons tumoraux de patients, sont très proches de la tumeur dont elles dérivent. Les tumoroïdes offrent ainsi de nombreuses possibilités en termes de recherche fondamentale telles que l'étude de l'oncogenèse ou des mécanismes de résistance aux traitements. Leur utilisation s'avère également prometteuse dans les domaines de la recherche translationnelle (validation de nouvelles molécules à visée anticancéreuse, identification de nouvelles cibles thérapeutiques) ou de la médecine personnalisée via l'identification de signatures moléculaires prédictives et/ou la mise en place de tests fonctionnels prédictifs. Bien que l'optimisation des conditions de culture et la complexification du micro-environnement des tumoroïdes soient encore nécessaires pour améliorer leur pertinence et exploiter de façon optimale leur remarquable potentiel, de nombreuses applications sont déjà envisageables dans le domaine de la prédiction de la réponse aux traitements et de l'orientation de la décision thérapeutique. L'introduction de leur utilisation en clinique pourrait ainsi bien faire entrer l'oncologie de précision dans une nouvelle ère dans le courant de la décennie à venir.



SESSION JEUNES CHERCHEURS

L'un des objectifs de cette journée est de renforcer le réseau de chercheurs franciliens travaillant sur le micro-environnement tumoral.

Pour mettre en avant le travail des jeunes chercheurs franciliens, un appel à communication a été organisé en amont de la journée. Un jury composé des membres du groupe de travail MET du Cancéropôle IDF attribuera un prix de la meilleure communication orale et un prix du meilleur poster.

L'ADHÉRENCE DES MACROPHAGES AUX CELLULES CANCÉRALES FAVORISE LA CROISSANCE TUMORALE PRÉCOCE

Jovan NIKOLIC, Institut Curie

Communication orale

Les cellules myéloïdes sont des acteurs majeurs du microenvironnement tumoral, contribuant aux mécanismes d'évasion immunitaire et produisant des effets promotorigènes. Nous visons ici à analyser, au niveau physique et moléculaire, la manière dont les cellules myéloïdes peuvent influencer la croissance et le devenir des tumeurs à un stade précoce. En combinant la biologie cellulaire quantitative avec des expériences *in vitro* et des simulations numériques de la croissance tumorale, nous extrayons des quantités physiques pertinentes et faisons des prédictions testables. Nous avons mis en place un système *in vitro* pour suivre la croissance de sphéroïdes tumoraux en trois dimensions par microscopie en temps réel sur de longues périodes. En outre, nous récapitulons dans ce système l'effet positif fort des macrophages alvéolaires sur la croissance tumorale et l'effet médiocre des monocytes. À partir des résultats expérimentaux, nous construisons un modèle physique de la croissance des sphéroïdes en 3D. Notre approche semi-continue reposant sur les particules nous permet de traiter les cellules cancéreuses en prolifération et les macrophages en interaction. Le modèle, testé par des simulations, correspond bien aux expériences en l'absence ou en présence de macrophages. Les deux approches indiquent que les macrophages contribuent à la nucléation des cellules cancéreuses en agrégats multiples, assurant ainsi leur accès aux nutriments. En outre, les macrophages ralentissent la fusion entre les



agrégats, qui fusionnent ensuite en un sphéroïde tumoral unique plus grand. Le modèle prédit également que les forces d'adhérence entre les cellules tumorales et les macrophages sont essentielles pour l'effet pro-tumoral observé. Parmi les intégrines potentiellement médiatrices de l'adhérence, CD11c apparaît comme un candidat essentiel puisque les macrophages alvéolaires l'expriment, mais pas les monocytes. Les anticorps bloquant anti-CD11c diminuent l'adhérence cellule-cellule mesurées par un test de force de rupture, empêchent la nucléation des sphéroïdes et altèrent la croissance des sphéroïdes. Nos résultats révèlent donc que l'interaction physique entre les macrophages résidant dans les tissus et les cellules cancéreuses peut contribuer aux effets protumoraux des macrophages.

MODÈLE MULTI-ÉCHELLE DES DIFFÉRENTS MODES D'INVASION DES CELLULES TUMORALES

Marco RUSCONE, Institut Curie

Communication orale et poster

Le microenvironnement tumoral englobe de nombreux types cellulaires dont les cellules cancéreuses, les cellules stromales, les cellules immunitaires et la matrice extracellulaire (ECM), qui interagissent et influencent collectivement la progression du cancer et les effets du traitement. Afin d'étudier et de comprendre la dynamique de cet écosystème, de nombreux modèles *in vivo* et *in vitro* ont été développés. Récemment, les modèles mathématiques computationnels se sont avérés efficaces pour tester des hypothèses et donner des indications sur les fonctionnalités du microenvironnement tumoral. Parmi ces modèles, les modèles hybrides multi-échelles combinent différentes techniques qui simulent à la fois les interactions inter- et intra-cellulaires. Dans ce contexte, nous présentons un modèle 3D de l'invasion des cellules cancéreuses, visant à étudier les différents modes de migration des cellules à travers la matrice extracellulaire et à prédire les moyens de la bloquer en prenant en compte l'information spatiale, la diffusion des molécules et la régulation intracellulaire. Le modèle permet à l'utilisateur de modifier les paramètres physiques des cellules et des substrats (oxygène, matrice extracellulaire et TGFbeta), ainsi que de contrôler l'activation spatio-temporelle des mutations génétiques. Le modèle a été construit avec PhysiBoSS, un logiciel C++ capable de créer des modèles multicellulaires dans un microenvironnement 3D et de simuler les interactions entre les gènes et les protéines à l'intérieur d'une cellule unique. L'outil de modélisation utilise le logiciel PhysiCell, où chaque agent est régi par un modèle booléen simulé à l'aide de processus de Markov à temps continu (avec MaBoSS) pour représenter l'interaction gènes/protéines et interagit avec d'autres agents par le biais d'une approche basée sur les lois de la physique. Notre modèle multi-échelle reproduit avec succès les processus de migration individuelle et collective rapportés dans les expériences publiées sur l'invasion



cellulaire. Ces expériences comprennent divers aspects tels que le rôle de l'expression de p63 dans la régulation de MT1-MMP, l'activation spatio-temporelle de SRC déclenchant la migration collective, et l'influence de différentes densités de collagène sur les modes d'invasion. Des expériences *in silico* peuvent être réalisées pour suggérer des cibles potentielles capables d'inhiber les phénotypes tumoraux hautement invasifs. Ces expériences peuvent consister à muter un gène ou une combinaison de gènes, ou à modifier les conditions initiales ou les contextes tumoraux, c'est-à-dire la présence élevée/faible d'oxygène, différentes dispositions spatiales, différentes tailles de populations de types cellulaires, etc. Le modèle sera encore affiné pour prendre en compte d'autres processus biologiques intracellulaires, pour considérer les interactions avec d'autres types de cellules et pour tester la modélisation des fibres de la matrice extracellulaire (ECM) et l'impact qu'elles ont sur le processus d'invasion.

DÉTERMINER LES CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE L'ARCHITECTURE MICROVASCULAIRE DU CARCINOME RÉNAL À CELLULES CLAIRES EN UTILISANT UN MODÈLE 3D *IN VITRO* PERTINENT DE MICROTUMEURS VASCULARISÉES

Camille COMPERE, Centre de Recherche des Cordeliers

Communication orale et poster

Le stroma tumoral hypoxique est caractérisé par une vascularisation chaotique dans une matrice extracellulaire (MEC) remodelée. Dans le carcinome rénal à cellules claires (ccRCC), la mutation du gène suppresseur de tumeur Von Hippel-Lindau conduit à un contexte pseudo-hypoxique favorisant l'invasion tumorale, le remodelage de la MEC et l'hypervascularisation qui présente un degré de complexité plus élevé que le réseau vasculaire rapporté dans d'autres tumeurs solides. Nous avons récemment identifié et caractérisé des structures endothéliales anormales chez des patients atteints de ccRCC, qui présentent des caractéristiques spécifiques en termes de dimensions et de formes. Le principal problème clinique de ce carcinome est le mauvais pronostic des patients en raison de la résistance élevée aux traitements anti-angiogéniques (inhibiteurs de tyrosine kinase, ITK) administrés seuls ou en combinaison avec l'immunothérapie (IT). Nous suggérons que la complexité architecturale des microvaisseaux influence le résultat clinique du ccRCC. L'objectif de notre étude est donc de caractériser en profondeur l'implication de la vascularisation du ccRCC dans le développement de la tumeur et la réponse aux traitements TKI. L'analyse de la cohorte de patients atteints de ccRCC nous a permis de : 1/ identifier 3 groupes de patients en fonction de l'architecture prédominante du réseau vasculaire ; 2/ suggérer un impact de l'architecture de ces structures sur la résistance au traitement et le devenir des patients. Nous avons donc mis en place un modèle original de micro-tumeur



vascularisée (VMT) *in vitro* en 3D, qui récapitule précisément les processus d'angiogenèse tumorale dans les premiers stades de développement du ccRCC et l'établissement d'une vascularisation aberrante. Nous avons démontré que les structures vasculaires aberrantes du CCCR 1/ nécessitent de fortes interactions paracrines et juxtacrines entre les cellules tumorales sécrétrices de VEGF et les cellules endothéliales et 2/ présentent des sensibilités distinctes aux traitements par TKI. Nous transposons actuellement notre modèle VMT dans une puce microfluidique afin de le complexifier 1/ en intégrant un flux afin de perfuser les structures vasculaires aberrantes *in vitro* pour déclencher l'infiltration de cellules immunitaires et tester l'efficacité de l'immunothérapie et 2/ en ajoutant des fibroblastes associés au cancer (CAFs) dans le microenvironnement tumoral afin d'étudier leur implication dans les résistances aux traitements. En conclusion, ce projet vise à fournir des connaissances sur les caractéristiques moléculaires spécifiques des structures vasculaires aberrantes du ccRCC et des perspectives cliniques pertinentes pour le développement de nouvelles cibles thérapeutiques.

MOELLE OSSEUSE VASCULARISÉE SUR PUCE POUR ÉTUDIER LES ABERRATIONS VASCULAIRES DANS LES MALADIES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Jéssica RODRIGUES DE PAULA ALBUQUERQUE, Institut Cochin

Communication orale et poster

Le tissu de la moelle osseuse est le site principal de l'hématopoïèse adulte, et son rôle significatif dans le développement des cancers du sang est largement reconnu. Cependant, la nature complexe de l'environnement local, comprenant à la fois des matrices dures (os) et molles (moelle), pose des défis dans la bio-ingénierie de modèles expérimentaux humanisés efficaces. Pour y remédier, notre laboratoire a mis au point un nouveau modèle de moelle osseuse vascularisée sur puce (vBM-on-chip) qui récapitule l'architecture vasculaire native au sein d'une matrice de type moelle osseuse. Cette plateforme nous permet d'étudier le remodelage de la niche BM dans le contexte de la leucémie. Notre système vBM-sur-puce se compose de deux matrices présentant des niveaux de rigidité distincts et incorpore un arbre vasculaire capillaire perfusable et reproductible. Cette configuration unique nous permet d'examiner les aberrations vasculaires de la moelle osseuse dans la leucémie aiguë myéloïde (LAM). Tout d'abord, nous avons validé la capacité de notre système à soutenir une hématopoïèse saine, établissant ainsi sa pertinence en tant que modèle de moelle osseuse. Ensuite, nous avons surveillé les paramètres vasculaires structurels et fonctionnels tels que le flux, la perméabilité, les jonctions vasculaires et l'architecture dans des conditions saines et pathologiques. Notre objectif est de mieux comprendre les changements qui se produisent dans la niche de la moelle osseuse à la suite de la colonisation par la LAM. Nous pensons qu'en analysant l'expression des gènes endothéliaux associée aux caractéristiques moléculaires et phénotypiques des aberrations vasculaires, nous pourrions identifier de nouvelles



cibles thérapeutiques. Les candidats prometteurs feront l'objet d'une validation préclinique fonctionnelle à l'aide d'échantillons primaires dérivés de patients atteints de LAM, en conjonction avec une chimiothérapie standard appliquée à notre vBM-on-chip. Ces résultats ouvriront la voie à des applications translationnelles dans le développement de traitements potentiels.

UN NOUVEAU MODÈLE D'ORGANOÏDES CÉRÉBRAUX COMPLEXES POUR ÉTUDIER LA NICHE TUMORALE DU GLIOBLASTOME

Jérémy RAGUIN, CEA

Communication orale

Des progrès considérables ont été réalisés dans la culture 3D de cellules de glioblastome (GBM) sur des organoïdes cérébraux humains (« Glioma on Cerebral Organoid », GLICO). Cependant, ce modèle GLICO est dépourvu de macrophages/cellules microgliales et de vaisseaux sanguins tandis qu'ils sont abondants au sein de la niche tumorale et jouent un rôle primordial dans la progression et la résistance aux traitements des GBM. Nous avons développé un protocole pour produire des organoïdes cérébraux complexes contenant des cellules microgliales et un réseau vasculaire à partir de cellules souches pluripotentes induites humaines. La caractérisation de ces organoïdes cérébraux complexes par des analyses immunohistologiques confirmait la présence de structures vasculaires dans ces organoïdes complexes et de cellules microgliales. De plus, la coculture avec des Cellules Souches de Glioblastome (CSG), issues de patients, montrait que ces dernières migraient au contact des structures vasculaires contenues dans les organoïdes complexes. Par ailleurs, des monocytes/macrophages provenant de sang humain colonisaient les organoïdes cérébraux d'avantage lorsqu'ils étaient cocultivés avec des CSG produisant plus abondamment des cytokines/chemokines. Notre modèle d'organoïdes cérébraux complexes permet de reproduire certaines caractéristiques de la niche tumorale et représente une alternative aux modèles précliniques et il facilitera la découverte de nouveaux traitements pour les tumeurs cérébrales.

PLATEFORME MICROFLUIDIQUE SIMPLE DE GOUTTELETTES POUR LE CRIBLAGE DE MÉDICAMENTS SUR DES TUMOROÏDES

Caroline PARENT, Institut Curie

Communication orale

Les systèmes biologiques *in vitro* en 3D remplacent progressivement les systèmes en 2D afin d'augmenter la pertinence physiologique des études cellulaires. Les approches basées sur la microfluidique peuvent être des outils puissants pour de tels systèmes biomimétiques mais nécessitent souvent des processus et



des équipements de microfabrication haut de gamme, compliqués et coûteux. Nous proposons ici une plateforme de criblage de médicaments qui minimise la technicité et les étapes de fabrication. Elle offre une alternative permettant de générer des sphéroïdes tumoraux dans des gouttelettes à l'intérieur de tubes. La microfluidique des gouttelettes provoque ensuite de multiples événements de fusion des gouttelettes à des moments programmables, afin de soumettre séquentiellement les sphéroïdes à des traitements chimiothérapeutiques et à des réactifs pour le criblage de la cytotoxicité. Les sphéroïdes sont cultivés à partir de suspensions cellulaires placées dans des gouttelettes, où nous observons une agrégation cellulaire suivie d'interactions étroites et finalement la formation d'une structure sphérique compacte dans les 12 heures. Nous démontrons la possibilité de cultiver des tumeurs dans des gouttelettes pendant 3-4 jours, à partir d'environ 350 cellules, dans des gouttelettes de 700 nL. Le système est ensuite validé pour le criblage de médicaments avec des chimiothérapies dans des lignées cellulaires cancéreuses, ainsi que dans des cellules provenant de xénogreffes dérivées de patients (PDX). Comparé aux méthodes de plaques de microtitration, notre système réduit jusqu'à 10 fois la quantité initiale de cellules et ouvre de nouvelles voies vers des approches de criblage de médicaments pour les tumeurs primaires.

CARACTÉRISATION DES CELLULES SOUCHES INVASIVES DE GLIOBLASTOME DANS LES ORGANOÏDES DE CERVEAU HUMAIN APRÈS IRRADIATION IONISANTE

Oriane BERGIERS, CEA

Poster

Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale primaire la plus fréquente chez l'adulte qui récidive systématiquement malgré un traitement multimodal agressif. Cette résistance thérapeutique s'explique en grande partie par la présence de cellules souches de glioblastome (GSC) qui possèdent des caractéristiques associées à la malignité telles que des propriétés invasives importantes. Notre projet vise à développer de nouveaux modèles pour étudier le caractère invasif des GSCs en utilisant des organoïdes cérébraux humains dérivés de cellules souches pluripotentes induites (iPS). A cette fin, nous avons mis en place plusieurs protocoles de co-cultures de GSCs dans des organoïdes corticaux humains (GLICO, GLIoma on Cerebral Organoid). En fonction du protocole de co-culture utilisé, nous sommes en mesure d'étudier l'invasion globale ou locale des GSCs dans les organoïdes corticaux humains. Après un temps d'invasion défini suite à une irradiation ionisante sublétales, les GLICO sont immunomarqués, nettoyés (Ce3D), et des images acquises à l'aide d'un microscope confocal à disque rotatif permettent une analyse en 3D à l'aide du logiciel Imaris. Nous avons également développé des cultures



de tranches organotypiques de GLICO afin de suivre l'invasion des GSC au fil du temps par vidéomicroscopie confocale. Nos premiers résultats avec ces modèles sont très encourageants, puisque nous avons montré que l'irradiation sublétales est capable de stimuler l'invasion des GSC, comme cela avait été démontré précédemment au laboratoire grâce à des modèles de xéno greffes de GSC chez la souris nude. La prochaine étape consistera à caractériser, dans ces modèles GLICO, les mécanismes moléculaires impliqués dans l'invasion induite par l'irradiation. Nous étudierons plus particulièrement la voie moléculaire Hif1 α /JMY, dont nous avons montré précédemment qu'elle jouait un rôle important dans l'invasion radio-induite des GSC. Des outils d'édition du génome tels que Crispr-Cas9 et/ou l'expression de mutants seront utilisés. Enfin, l'implantation d'organoïdes corticaux et/ou de ces modèles GLICO sur des puces spécifiquement dédiées et couplées à un système microfluidique nous permettra de standardiser le développement des organoïdes et de mieux contrôler les étapes précoces de l'invasion des GSCs.

DÉVELOPPEMENT DE MODÈLES 3D POUR ÉTUDIER LA TUBULOGÉNÈSE FONCTIONNELLE, L'ENVIRONNEMENT STROMAL ET LA SENSIBILITÉ AU TRAITEMENT DANS LE CARCINOME DU SEIN

Flora DOFFE, Gustave Roussy

Poster

Notre modèle est conçu pour émuler la progression du carcinome mammaire pendant la phase invasive. Nous avons choisi de fournir des indices topologiques sur les cellules cibles en cultivant des cellules de carcinome sur des micros supports, favorisant une organisation épithéliale polarisée avant qu'elles ne soient intégrées dans une matrice 3D à base de collagène I/hyaluronane. Nous avons ensuite observé l'organisation, la morphogénèse et la différenciation des cellules, en fournissant des cellules de stroma puis des cellules immunitaires pour suivre et quantifier les réponses cellulaires au traitement médicamenteux, notamment en quantifiant la mort et la viabilité des cellules, ainsi que les propriétés morphogéniques et invasives. Nous avons d'abord utilisé des lignées cellulaires modèles, notamment les cellules épithéliales mammaires MCF7 et MCF10A, ainsi que des cellules primaires de cancer du sein provenant de xéno greffes dérivées de patientes (PDX) et de biopsies fraîches. Nous avons constaté que les fibroblastes avaient un impact sur la morphogénèse et la réponse des cellules tumorales au docétaxel et au palbociclib. Nous avons également constaté que les cellules immunitaires NK92 pouvaient cibler les cellules cancéreuses du sein dans la configuration 3D, ce qui permet un suivi quantitatif de la cytotoxicité cellulaire. Nous avons également analysé l'hétérogénéité et l'émergence de nouvelles sous-populations cellulaires exprimant des marqueurs de différenciation spécifiques, en lien avec la composition de la matrice extracellulaire, les cellules du stroma et le traitement.



Nous avons ainsi validé un nouveau modèle 3D conçu pour le cancer du sein en vue d'une utilisation préclinique dans le cadre de la médecine personnalisée.

UN TEST DE CYTOTOXIE POUR VISUALISER ET QUANTIFIER L'EFFET APOPTOTIQUE DES CELLULES CAR T DANS UN MODÈLE DE TUMEUR PRÉCLINIQUE *EX VIVO* EN 3D

Irena RAJNPREHT, Institut Cochin

Poster

Bien que la thérapie par cellules T à récepteur antigénique chimérique (CAR) ait été couronnée de succès dans les hémopathies malignes, les tumeurs solides ont montré une plus grande résistance à ce type d'immunothérapie, en raison de la perte de l'expression de l'antigène sur les cellules cancéreuses, d'un microenvironnement tumoral suppressif ou de l'épuisement des cellules T à récepteur antigénique chimérique. Un modèle adéquat, qui imite le microenvironnement tumoral, est essentiel pour comprendre la progression de la tumeur, mais aussi l'interaction des cellules malignes avec les cellules immunitaires associées à la tumeur et les cellules CAR T, à travers une spécificité d'activation et d'efficacité. Nous avons développé un modèle de tumeur préclinique *ex vivo* en 3D, sous forme de tranches de tissu épais, qui préserve la structure de la tumeur et laisse l'environnement tumoral intact. La combinaison de la microscopie immunofluorescente avec ce modèle 3D permet de détecter l'activation des cellules CAR T au contact des cellules tumorales, leur distribution et leur migration dans le tissu tumoral frais. Après avoir cultivé les cellules CAR T avec des tranches de tumeur, nous pouvons également examiner l'effet à long terme de ce type de thérapie, sous la forme d'une libération de cytokines et d'effets cytotoxiques potentiels. En utilisant le substrat pour la caspase-3/7 activée, CellEvent Caspase-3/7 Green, en combinaison avec la coloration immunitaire (anti-EpCAM) et NucSpot Live (marquant toutes les cellules vivantes), nous pouvons facilement visualiser l'effet apoptotique des cellules CAR T sur le tissu tumoral. La quantification peut être effectuée avec ImageJ pour compter spécifiquement les cellules apoptotiques dans les îlots tumoraux, mais pas dans le stroma. Dans le modèle de tumeur BxPC3 NSG xéno greffée, après 24h de traitement avec des cellules CAR T EGFR, 32% des cellules tumorales étaient en état d'apoptose, ce qui était plus élevé par rapport aux cellules CAR T CD20 non pertinentes (11%) ou aux tranches non traitées (19%). Cet essai de cytotoxicité permet d'identifier l'effet à long terme de la thérapie par cellules CAR T sur le tissu tumoral, dans un contexte qui préserve l'environnement et la structure présents dans une tumeur *in vivo*.



ETABLISSEMENT D'UN MODELE DE SPHEROIDE TUMORAL 3D ET ETUDE DE L'ATTAQUE DES LYMPHOCYTES T

Sonia BECHAREF, Université Paris Cité

Poster

Le cholangiocarcinome (CCA) est un cancer des voies biliaires présentant des propriétés agressives en termes de résistance à la chimiothérapie, à l'immunothérapie et au système immunitaire. La raison est principalement due à la présence de CAF (Cancer associated fibroblasts) sécrétant une matrice extracellulaire (MEC) aberrante et rigide qui ne permet pas aux cellules immunitaires ou aux médicaments d'atteindre les cellules tumorales et d'initier leur fonction antitumorale. Dans le cadre de ce projet, nous proposons de contrôler la destruction du stroma par nanohyperthermie douce pour déstabiliser la MEC et faciliter l'accès des cellules immunitaires à la tumeur. L'objectif principal de ces thérapies combinées est l'utilisation de nanoparticules capables de produire de la chaleur localement dans une culture cellulaire ou un tissu après activation par une source d'excitation externe comme la lumière proche infrarouge (NIR). Au cours de la dernière décennie, les modèles tumoraux 3D *in vitro* ont suscité beaucoup d'intérêt, principalement en raison de leur capacité à reproduire les principaux aspects de la biologie tumorale *in vivo*, y compris la production de composants de la MEC. En outre, la culture 3D permet de développer des essais *in vitro* pour tester et prédire l'impact de la chimiothérapie ou de l'immunothérapie comme les cellules CAR-T *in vivo* et de limiter le nombre d'animaux utilisés. Enfin, les sphéroïdes 3D présentent une fonction immunomodulatrice plus pertinente sur le plan physiologique que le modèle de culture 2D. Dans ce projet, les sphéroïdes établis efficacement par coculture de cellules de CCA et de fibroblastes hépatiques n'ont pas réussi à reproduire l'architecture du CCA du patient avec des fibroblastes entourant les cellules d'îlots du CCA. Cependant, malgré les limites de la coculture 3D *in vitro*, ce modèle reste utile car les sphéroïdes montrent de fortes capacités à imiter physiologiquement le cancer CCA. En effet, ils présentent des cellules biliaires en forme de kyste et produisent du collagène 1 comme la MEC. Nous avons décidé d'ajouter des cellules CAR-T ciblant spécifiquement les cellules CCA combinées à une thérapie par hypothermie nano-douce afin de tester l'efficacité du traitement. L'objectif est de démontrer par microscopie qu'une hyperthermie modérée associée à des nanoparticules permet :

- De restaurer un accès des cellules immunitaires (CAR-T cell) aux cellules tumorales.
- De les activer et d'initier la mort immunogénique des cellules tumorales dans un modèle de coculture 3D *in vitro*
- De valider notre hypothèse et d'imiter ce qui se passe *in vivo*.



TRAFIC INTRACELLULAIRE DES PROTÉINES MEMBRANAIRES LORS DE L'ÉTABLISSEMENT ET DE LA PERTE DE POLARITÉ ÉPITHÉLIALE

Parisa KHALILIAN, Institut Pasteur

Poster

La polarité épithéliale est une caractéristique fondamentale des tissus et des organes, et sa perturbation est associée à diverses maladies humaines, dont le cancer. L'altération du trafic intracellulaire des protéines membranaires a été impliquée dans la progression des tumeurs, mais la contribution du trafic intracellulaire au développement du cancer n'est pas encore totalement comprise. Pour répondre à cette question, nous avons utilisé le test RUSH (Retention using Selective Hook) pour étudier comment le trafic intracellulaire des protéines associées à la membrane est modifié au cours de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). L'EMT est un processus cellulaire réversible impliqué dans la progression du cancer, au cours duquel les cellules épithéliales se transdifférencient en cellules mésenchymateuses. Ici, nous avons étudié le trafic intracellulaire de différentes protéines associées à la membrane dans les cellules MDCK. Nous avons examiné des constructions chimériques composées de GFP fusionnées à l'attachement au signal GPI du Folate Receptor alpha (FR α) ou CD59, qui sont respectivement des protéines apicales et basolatérales ancrées au glycosylphosphatidyl-inositol (GPI-AP) et nous les avons comparées à la Podocalyxine (PCX) apicale et aux protéines transmembranaires E-cadhérine et/ou EphA2 basolatérales. Nos résultats ont révélé que les cargaisons susmentionnées présentent différentes cinétiques d'exocytose (sortie du RE, arrivée et sortie du Golgi), la PCX et l'E-cadhérine étant respectivement les cargaisons étudiées les plus rapides et les plus lentes, ce qui souligne l'existence de plusieurs voies antérogrades dans les cellules épithéliales polarisées. En utilisant la microscopie à super-résolution, nous avons constaté que les protéines membranaires triées apicalement ou basolatéralement quittent le complexe de Golgi dans des structures tubulaires ou vésiculaires différentes, confirmant ainsi les différentes voies et régulations du trafic. Il est important de noter que dans les cellules MDCK qui subissent une EMT suite à un traitement au TGF- β , la cinétique des cargaisons susmentionnées est modifiée par rapport aux conditions de polarisation totale, les cargaisons quittant le Golgi dans des structures tubulaires ou vésiculaires similaires. Nos résultats nous incitent à étudier le rôle de l'actine et des microtubules dans le bourgeonnement des cargaisons à partir des citernes de Golgi et leur trafic intracellulaire vers l'apical/basolatéral ou la surface cellulaire dans les cellules MDCK polarisées et induites par l'EMT.

CANCÉROPÔLE ÎLE-DE-FRANCE

FÉDÉRER LA RECHERCHE FRANCILIENNE EN CANCÉROLOGIE

QUI SOMMES NOUS ?

Les sept institutions membres :



- Assistance Publique-Hôpitaux de Paris
- Gustave Roussy
- Institut Curie
- Institut Pasteur
- Sorbonne Université
- Université Paris Cité
- CEPH - Fondation Jean Dausset

Créé en 2004, le Cancéropôle Île-de-France compte 7 institutions membres et rassemble plus largement l'ensemble des forces de recherche franciliennes en cancérologie.

Financé par l'INCa, il a pour mission :

- la structuration de la recherche francilienne dans le domaine du cancer via les actions de groupes de travail thématiques,
- l'animation du réseau de la recherche en cancérologie en organisant formations et séminaires pour les chercheurs,
- le financement de programmes de recherche structurants et émergents,
- l'accompagnement des chercheurs via des formations et la créations d'outils pratiques, ainsi que l'accompagnement administratif des projets de recherche.

LE GROUPE DE TRAVAIL MICROENVIRONNEMENT TUMORAL



Les groupes de travail animés par le Cancéropôle Île-de-France ont pour but de stimuler la recherche dans des domaines fédérateurs et innovants en cancérologie.

L'objectif du groupe de travail Microenvironnement tumoral, créé en 2023, est de renforcer le réseau de chercheurs/ingénieurs franciliens développant différentes approches ou modèles *in vivo*, *ex vivo*/*in vitro* et *in silico* pour l'étude du microenvironnement tumoral.

Ses actions sont de deux types :

- organiser des séminaires permettant de valoriser les travaux notamment des jeunes chercheurs et susciter de nouvelles collaborations,
- faire un suivi prospectif des technologies émergentes pour l'étude du microenvironnement tumoral et créer des outils et documents pratiques destinés à la communauté de chercheurs.



contact@canceropole-idf.fr
www.canceropole-idf.fr
[@canceropole](https://www.instagram.com/canceropole)