

Évaluation de la pertinence biologique des tumoroides de cancers ORL par transcriptomique spatiale

Projet CartSpace ORL

AAP Accès aux infrastructures nationales de recherche INSB CNRS

Sophie Martin

Directrice de recherche DR2 CNRS

Directrice de l'équipe OnKO• 3T - UMR7021 CNRS (Illkirch-Graffenstaden)

Comité de pilotage du Réseau Thématique Organoïdes CNRS/INSERM

CANCERS ORL : UN BESOIN CRITIQUE DE NOUVEAUX MODÈLES

Pourquoi développons-nous des biobanques de tumoroïdes ?

1. UN FARDEAU IMPORTANT



Les cancers ORL représentent :

> 600 000 nouveaux cas / an dans le monde

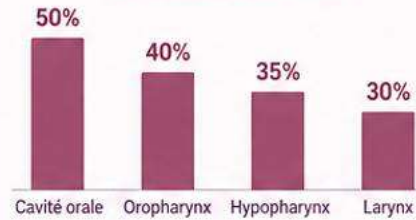
> 350 000 décès / an

Souvent diagnostiqués à un stade avancé

Impact majeur sur la qualité de vie (parole, déglutition, respiration, apparence)

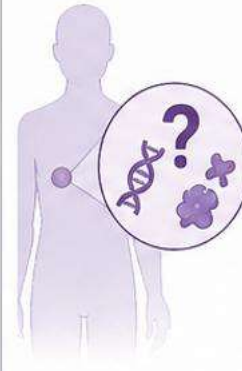
2. UNE MORTALITÉ ÉLEVÉE

Taux de survie globale à 5 ans (stades avancés III-IV)



Malgré les progrès thérapeutiques, le pronostic reste sombre pour une grande partie des patients.

3. ABSENCE DE BIOMARQUEURS PRÉDICTIFS VALIDÉS



- Pas de biomarqueurs prédictifs robustes pour la réponse aux traitements
- Difficulté à identifier les patients qui bénéficieront de certaines thérapies
- Hétérogénéité tumorale importante

4. PAS DE THÉRAPIE PERSONNALISÉE



Traitement standard pour tous (chirurgie, radio, chimio)



Réponses variables
Toxicités importantes
Options limitées en cas d'échec

5. POURQUOI DÉVELOPPONS-NOUS DES BIOBANQUES DE TUMOROÏDES ?

UN MANQUE CRITIQUE DE MODÈLES PERTINENTS



LIGNÉES 2D



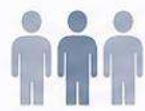
Perte de l'architecture et de l'hétérogénéité tumorale



MODÈLES ANIMAUX



Coûteux, longs à développer, différences inter-espèces, prédictivité limitée

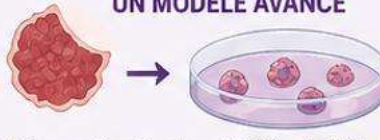


DONNÉES PATIENTS



Échantillons limités, pas de modèle fonctionnel pour tester des thérapies

LES TUMOROÏDES : UN MODÈLE AVANCÉ



- ✓ Préservent l'architecture et l'hétérogénéité tumorale
- ✓ Dérivés de patients (reflètent la biologie réelle)
- ✓ Cultivables à long terme
- ✓ Adaptés au criblage de médicaments
- ✓ Permettent des approches de médecine personnalisée

UNE BIOBANQUE DE TUMOROÏDES : UNE RESSOURCE STRATÉGIQUE



Collection annotée et standardisée de tumoroïdes ORL



Plateforme pour la recherche fondamentale et translationnelle



Test de sensibilité aux thérapies pour chaque patient



Vers une médecine de précision en ORL



NOTRE OBJECTIF

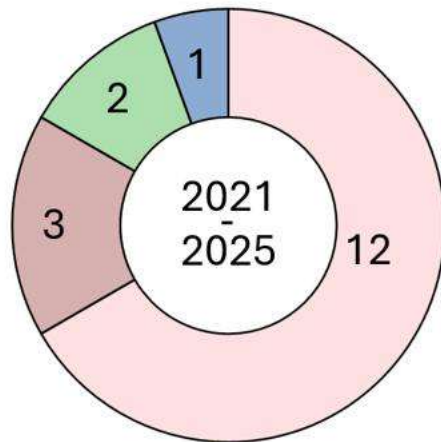
Mieux comprendre les cancers ORL, identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et proposer à chaque patient le traitement le plus efficace, avec le moins de toxicité.



POUR DE MEILLEURS RÉSULTATS. POUR CHAQUE PATIENT.

Banque d'organoïdes tumoraux dérivés de patients

@Martin (unpublished)

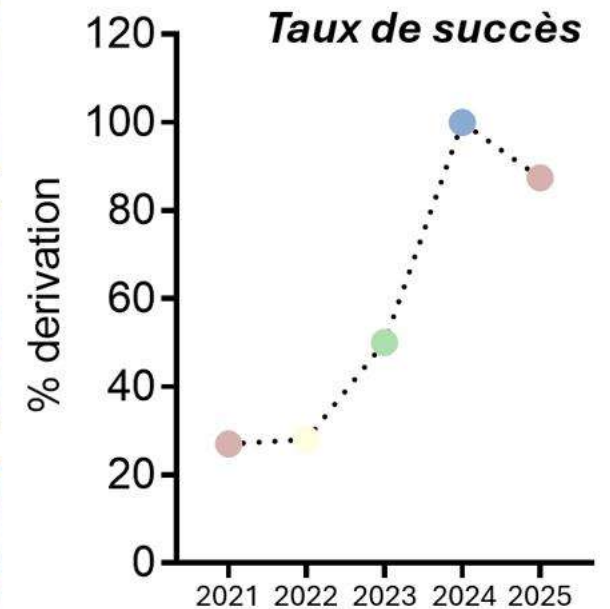
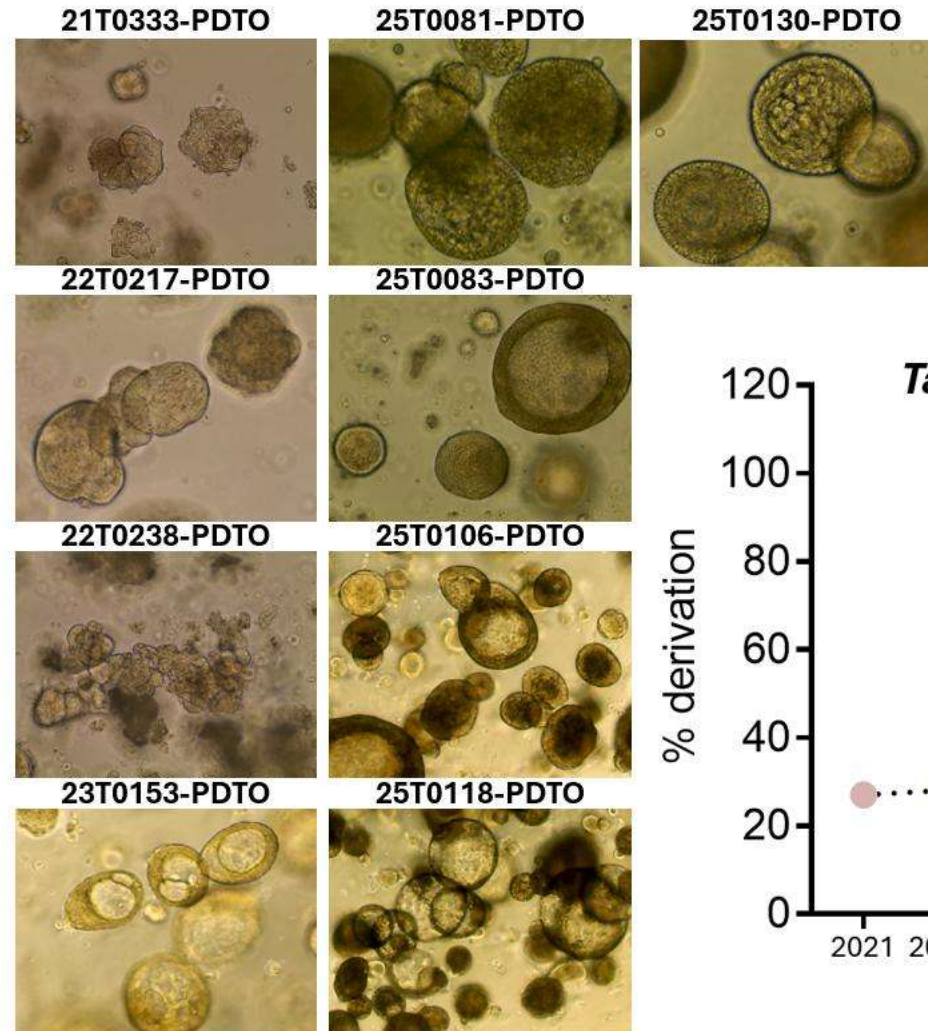
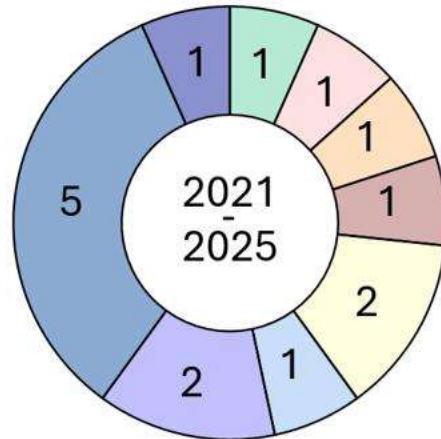


20 lignées tumorales HPV-

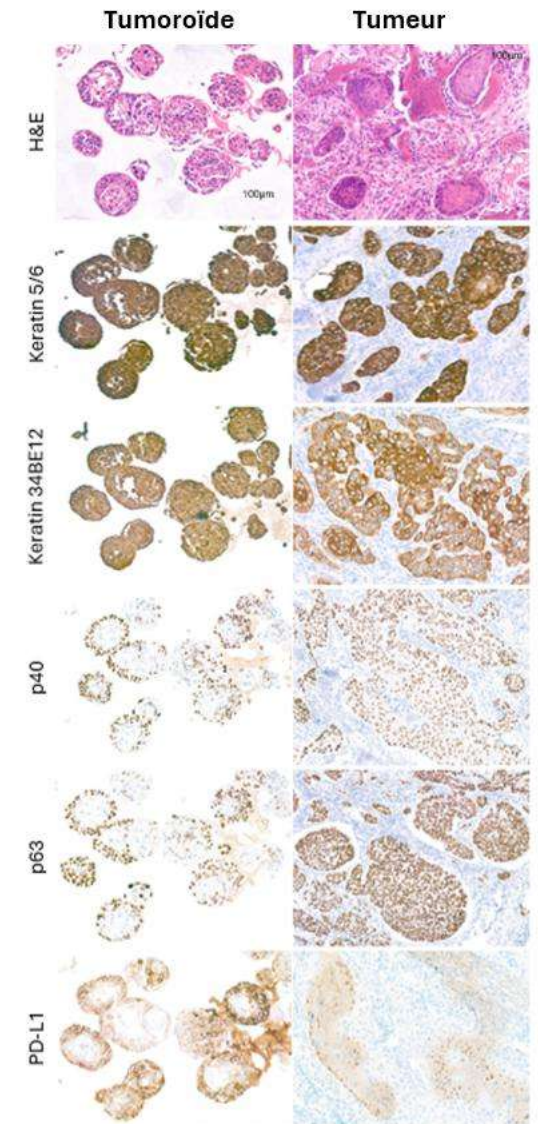
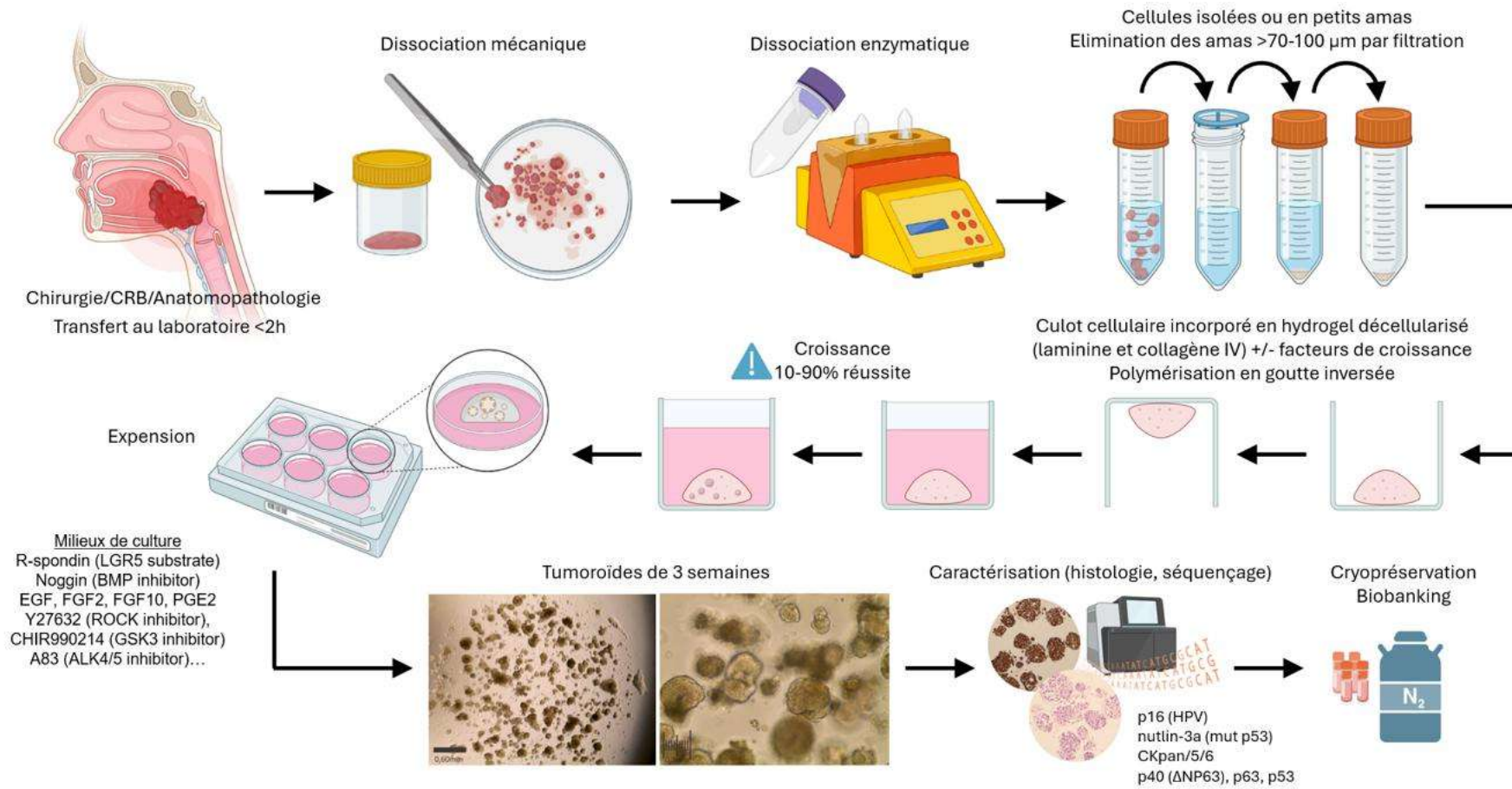
- 66.67% Oral cavity
- 16.67% Pharynx
- 11.11% Larynx
- 5.56% Oropharynx

Grade

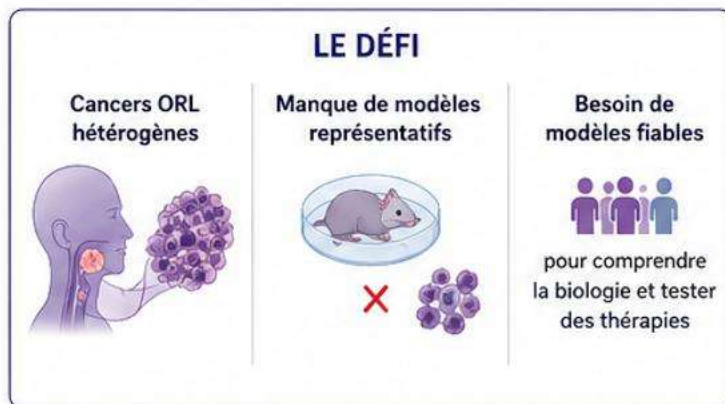
- 6.67% T1N0
- 6.67% T2N0
- 6.67% T2N1-3
- 6.67% T2N1-3R
- 13.33% T3N0R
- 6.67% T4N0
- 13.33% T4N0R
- 33.33% T4N1-3M0
- 6.67% T4N1-3 R



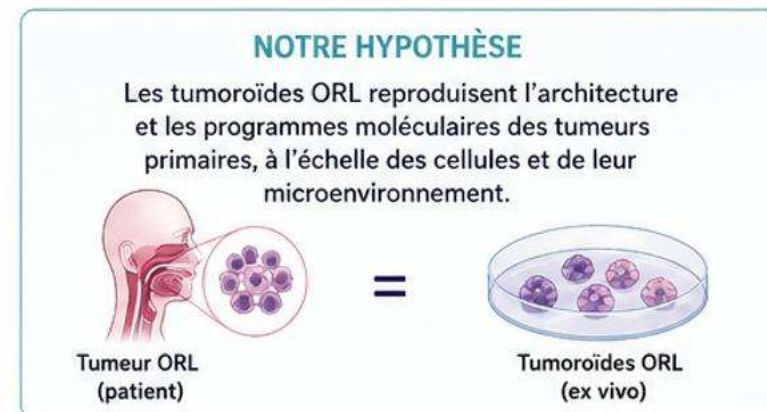
Production d'organoïdes tumoraux dérivés de patients



CARTSPACE : VALIDER LES TUMOROÏDES ORL COMME MODÈLES PERTINENTS



Objectif : valider les tumoroïdes ORL comme modèles pertinents des cancers ORL grâce à la protéo-transcriptomique spatiale

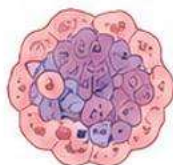


NOTRE APPROCHE : PROTÉO-TRANSCRIPTOMIQUE SPATIALE COMPARATIVE

1 ÉCHANTILLONS APPARIÉS

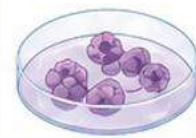
Même patient

Tumeur ORL (primaire)



Coupes de tissus

Tumoroïdes ORL (dérivés de la tumeur)

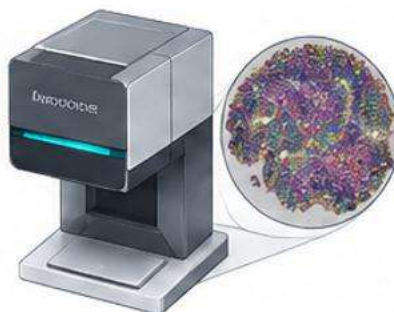


Tumoroïdes enrobés et coulés

2 PROTÉO-TRANSCRIPTOMIQUE SPATIALE

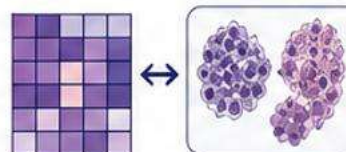
Mesure simultanée de :

- Protéines (marquage d'anticorps)
- ARN (transcriptomique spatiale)



3 ANALYSES INTÉGRATIVES MULTI-ÉCHELLES

- Alignement spatial
- Comparaison cellule par cellule
- Conservation des états cellulaires et des interactions



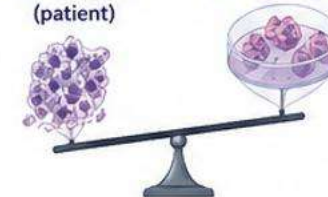
4 VALIDATION DES TUMOROÏDES

Critères d'évaluation :

- ✓ Architecture tissulaire
- ✓ Composition cellulaire
- ✓ États cellulaires
- ✓ Programmes moléculaires
- ✓ Interactions cellules-cellules
- ✓ Réponses aux traitements

Tumeur ORL (patient)

Tumoroïdes ORL

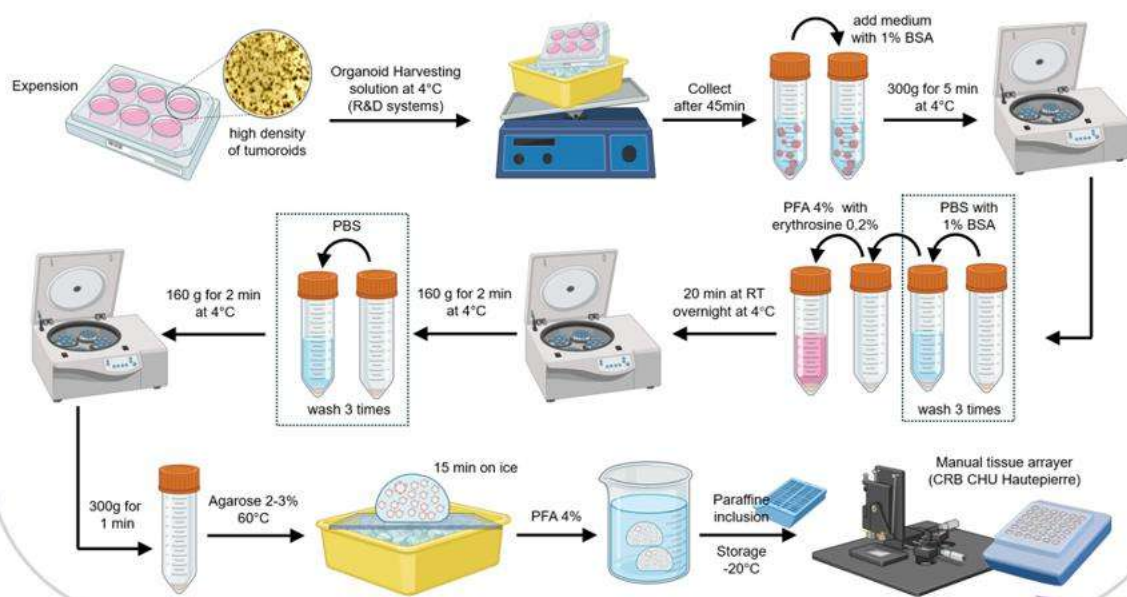


Similarité élevée
= Modèle validé

Méthodologie

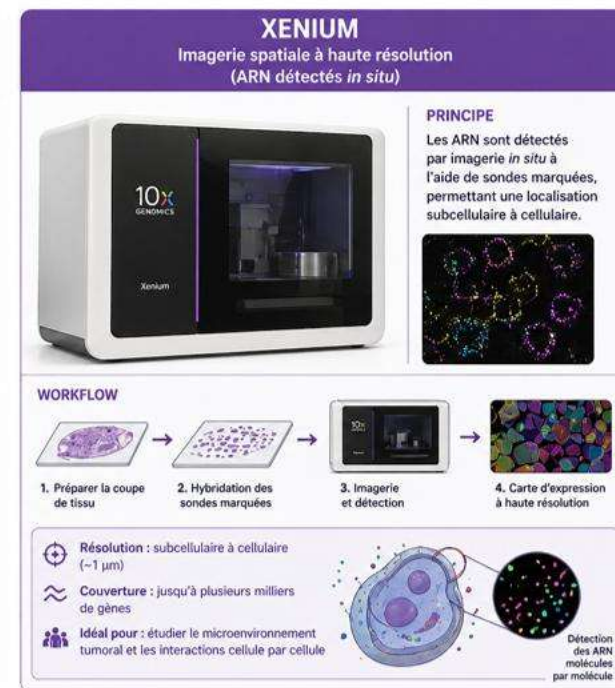
Tumeurs primaires

Préparation d'un TMA pour les tumorôides



Visium CytAssist_2023

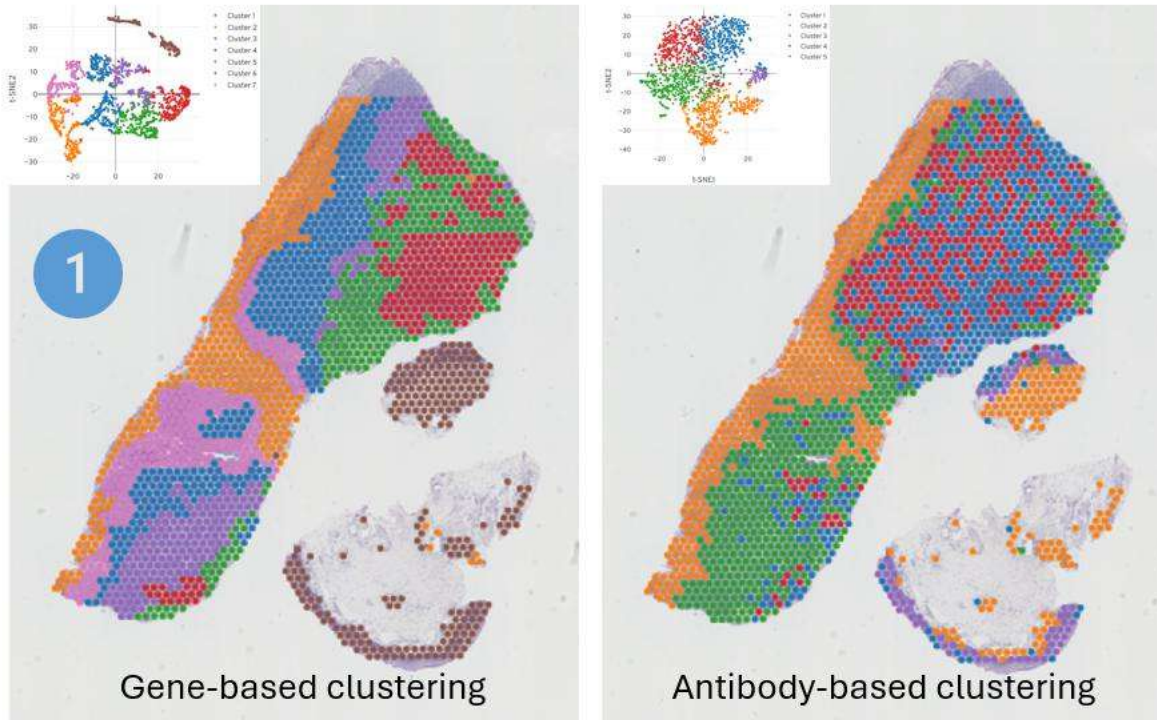
+ Human immune cell profiling panel (35 antibodies)



Deux approches complémentaires pour valider les tumorôides ORL comme modèles pertinents des cancers ORL :
 Visium pour une vue d'ensemble des architectures tissulaires, Xenium pour une résolution fine des cellules et de leurs interactions.

Xenium 350plex_2024

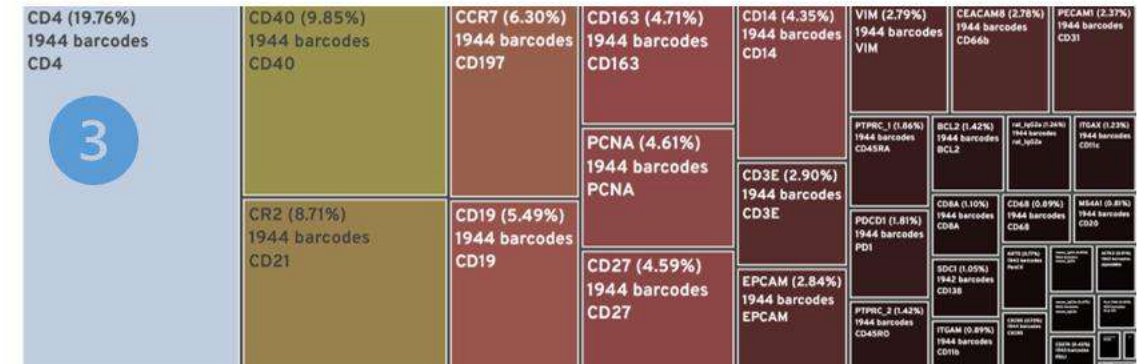
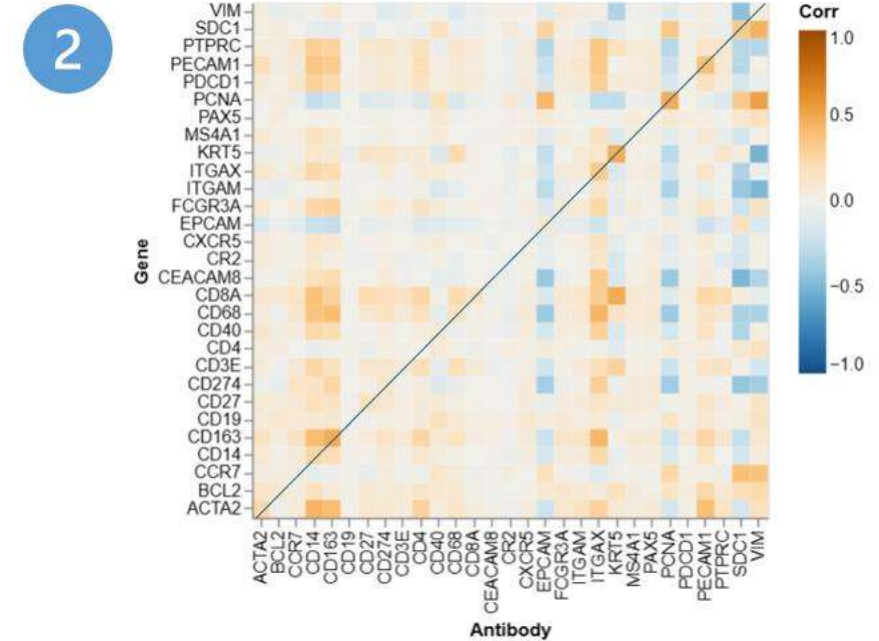
Human multi-tissus and cancer panel + 100 custom genes



Le profilage des tumeurs montre :

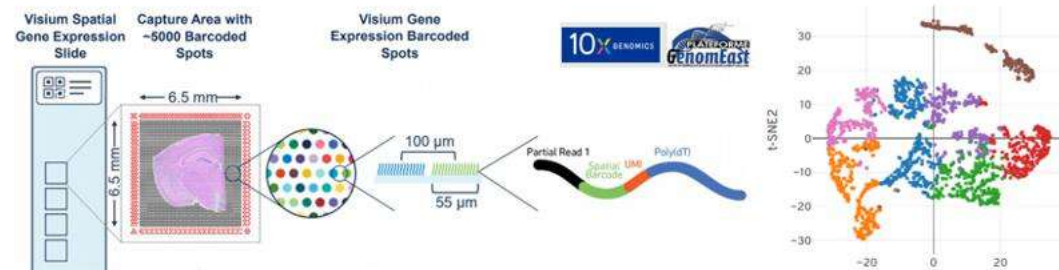
- l'hétérogénéité moléculaire et protéique¹ ;
- la corrélation gène/protéine : CD163 (macrophages M2)² ;
- l'hétérogénéité de l'écosystème immunitaire et stromale: 14-30 % lymphocytes CD4+ selon les tumeurs³

Limite: Taille des zones de capture exclut l'analyse en cellule unique



Ecosystème immunitaire

VISIUM



Piriform sinus
(pT4aN2bR1)

Tumor

Non tumoral
tissu

- Cluster 1
- Cluster 2
- Cluster 3
- Cluster 4
- Cluster 5
- Cluster 6 (sain)
- Cluster 7

CCL5

Log2 - CCL5

CD68

Log2 - CD68

HLA-DR

Log2 - HLA-DR

CD45RO

Log2 - CD45RO

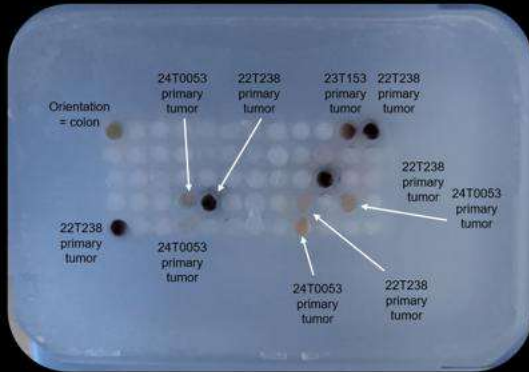
monocyte/macrophage

antigen-presenting cells

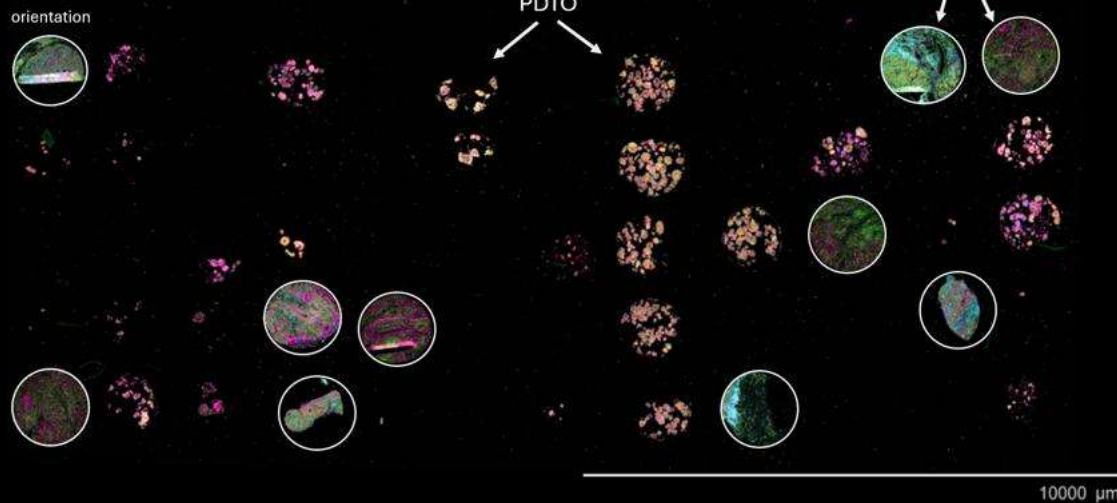
tumor-infiltrating
CD45RO⁺
memory T lymphocytes

Pour une organisation plus fine...

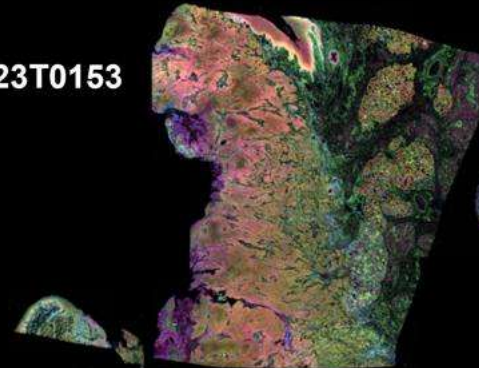
XENIUM



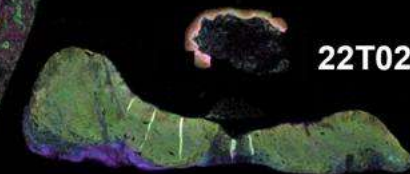
Xenium



23T0153



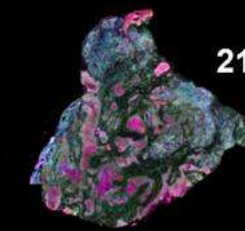
22T0217



22T0238



21T0333



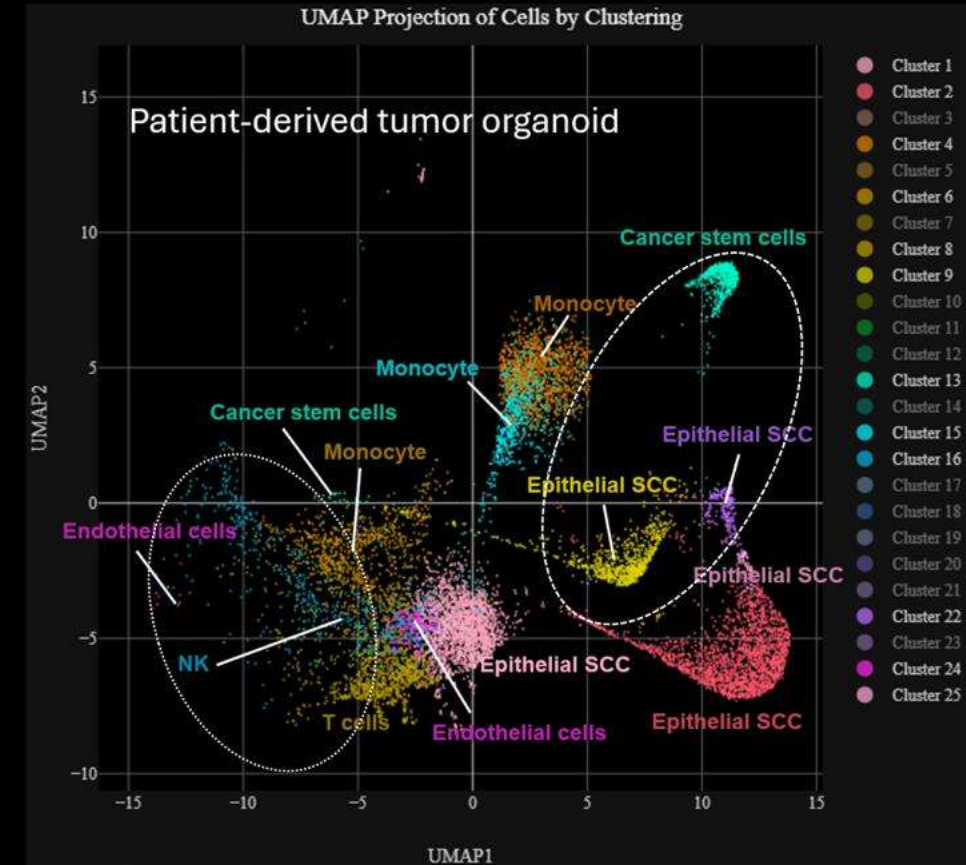
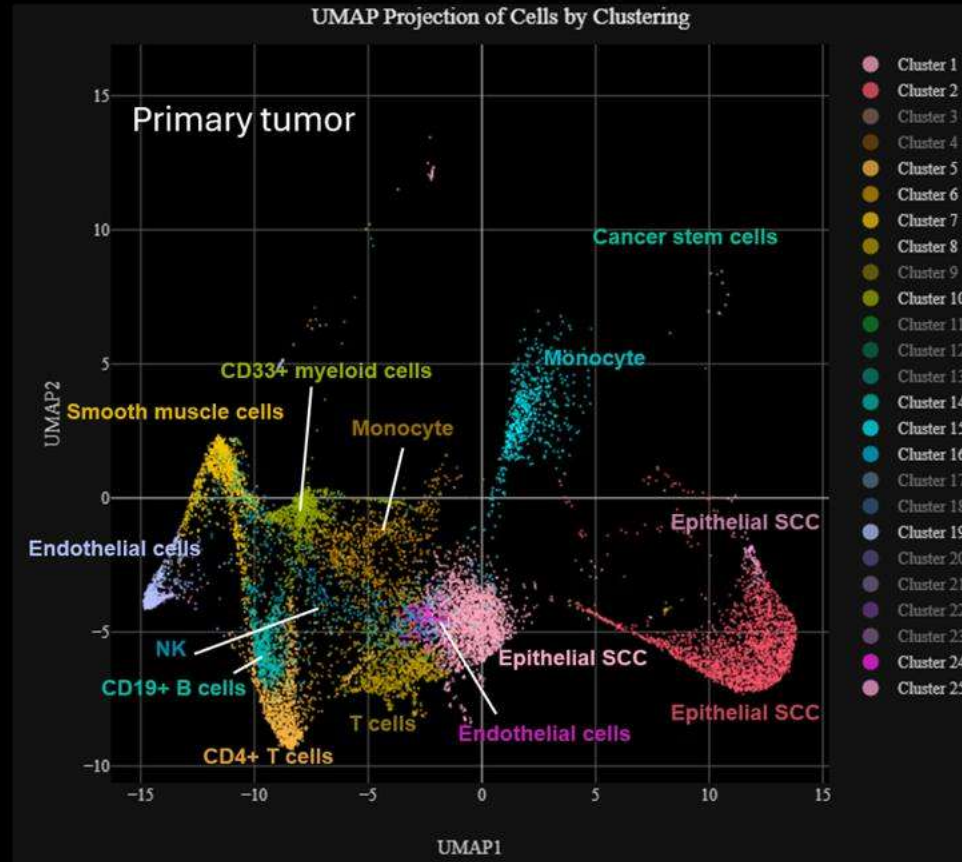
10000 µm

Structuration cellulaire des tumeurs et des tumoroides



Primary tumor
22T0238

KEGG2021



PDTO
22T0238

DAPI
ATP1A1/CD45/E-Cadh...
alphaSMA/Vimentin
18S

Nuclear
Boundary
Interior - Protein
Interior - RNA

1000 µm

Identification des sous-types cellulaires

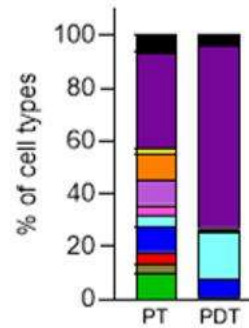
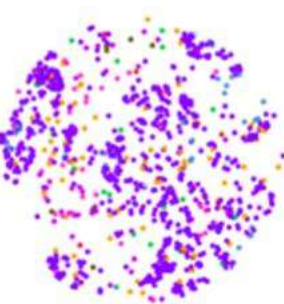
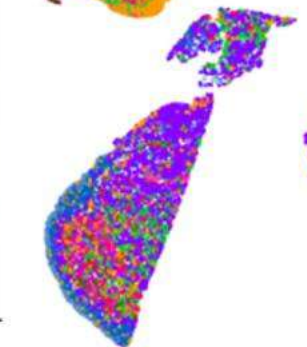
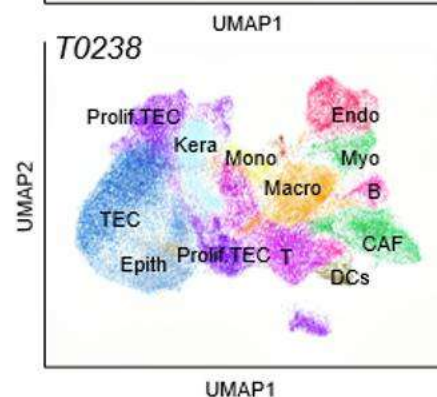
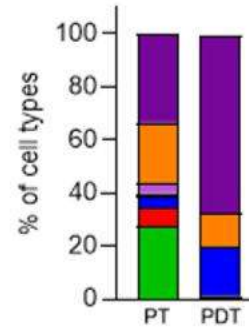
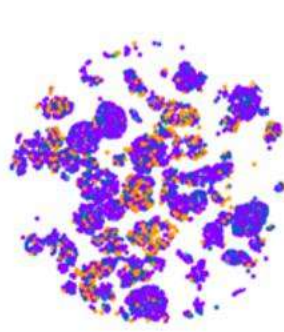
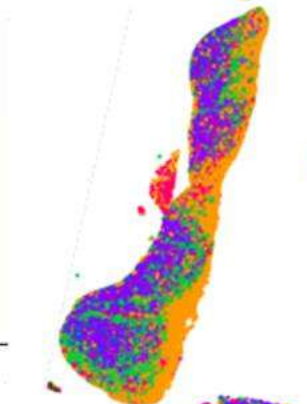
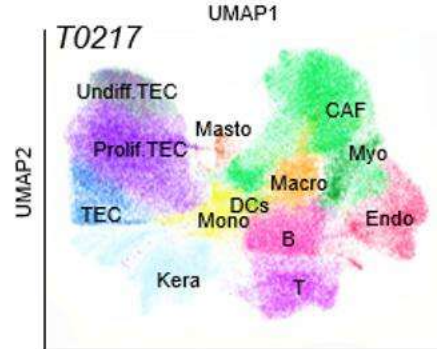
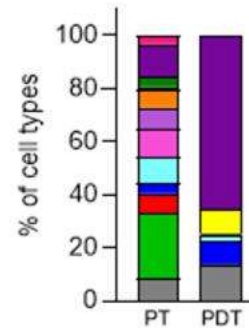
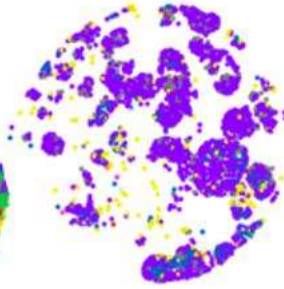
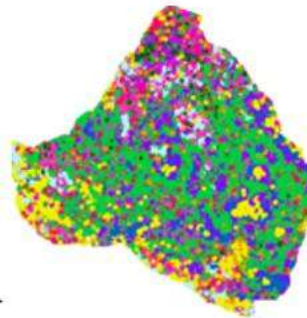
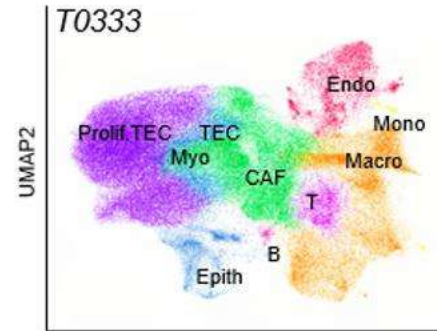
XENIUM

Xenium hmulticancer panel
(377 genes + 100 customs genes)

Primary tumors

Patient-derived
tumoroids

Cell types



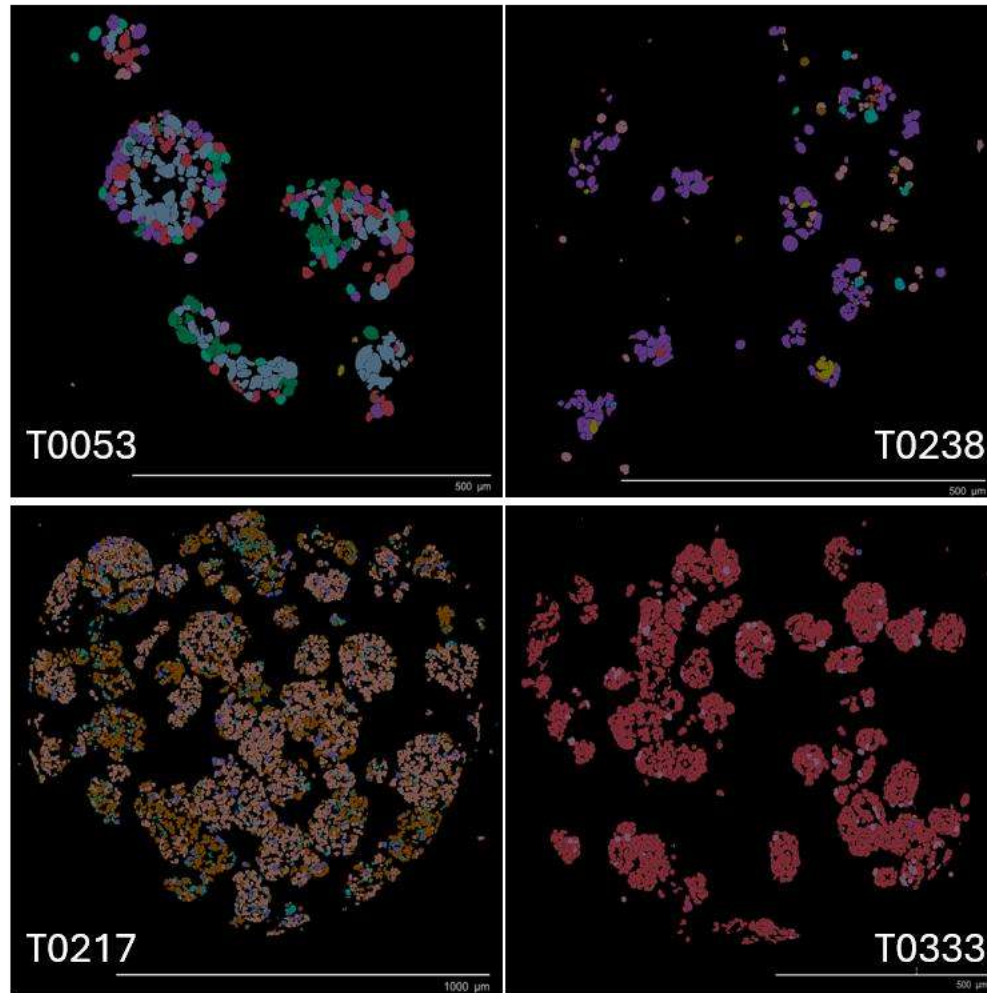
Les tumoroides :

- conservent les états cellulaires tumoraux: prolifératif, basal, EMT;
- préservent partiellement le microenvironnement stromal (fibroblastes) et immunitaire (monocytes, macrophages) ;
- perdent la composante vasculaire et lymphocytaire.

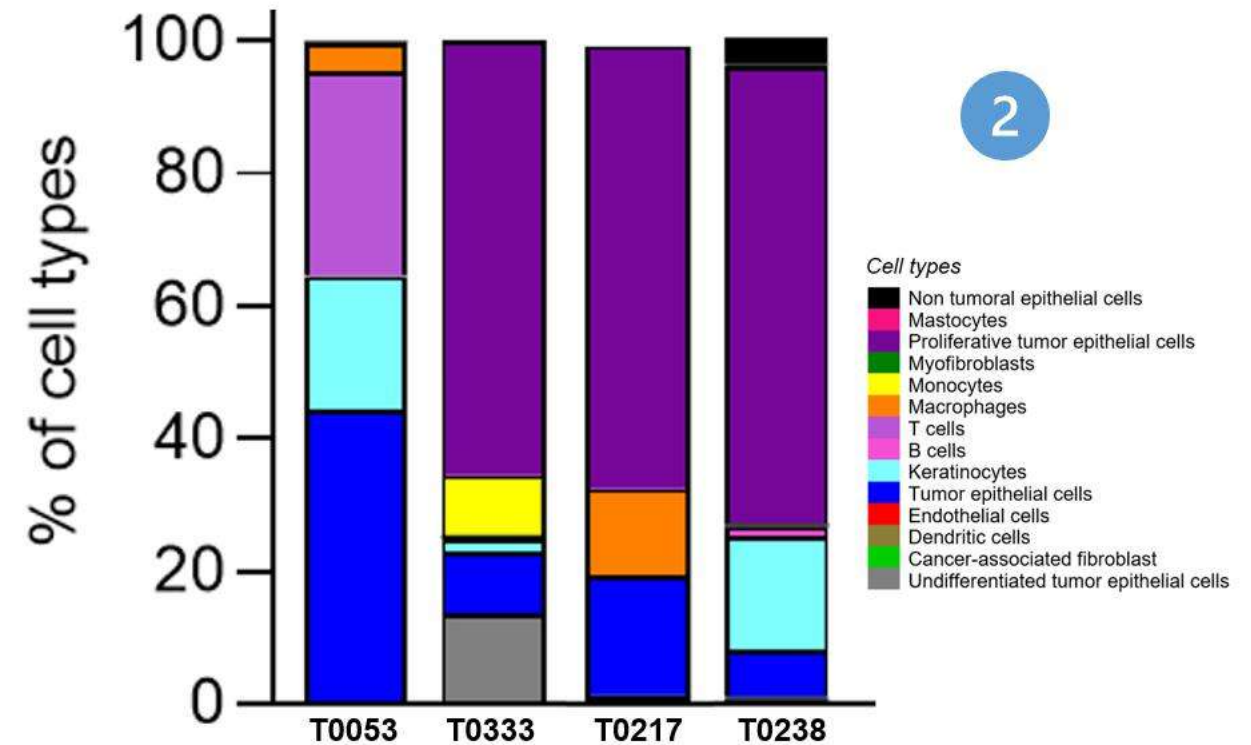
Cell types

- Non tumoral epithelial cells
- Mastocytes
- Proliferative tumor epithelial cells
- Myofibroblasts
- Monocytes
- Macrophages
- T cells
- B cells
- Keratinocytes
- Tumor epithelial cells
- Endothelial cells
- Dendritic cells
- Cancer-associated fibroblast
- Undifferentiated tumor epithelial cells

1



2

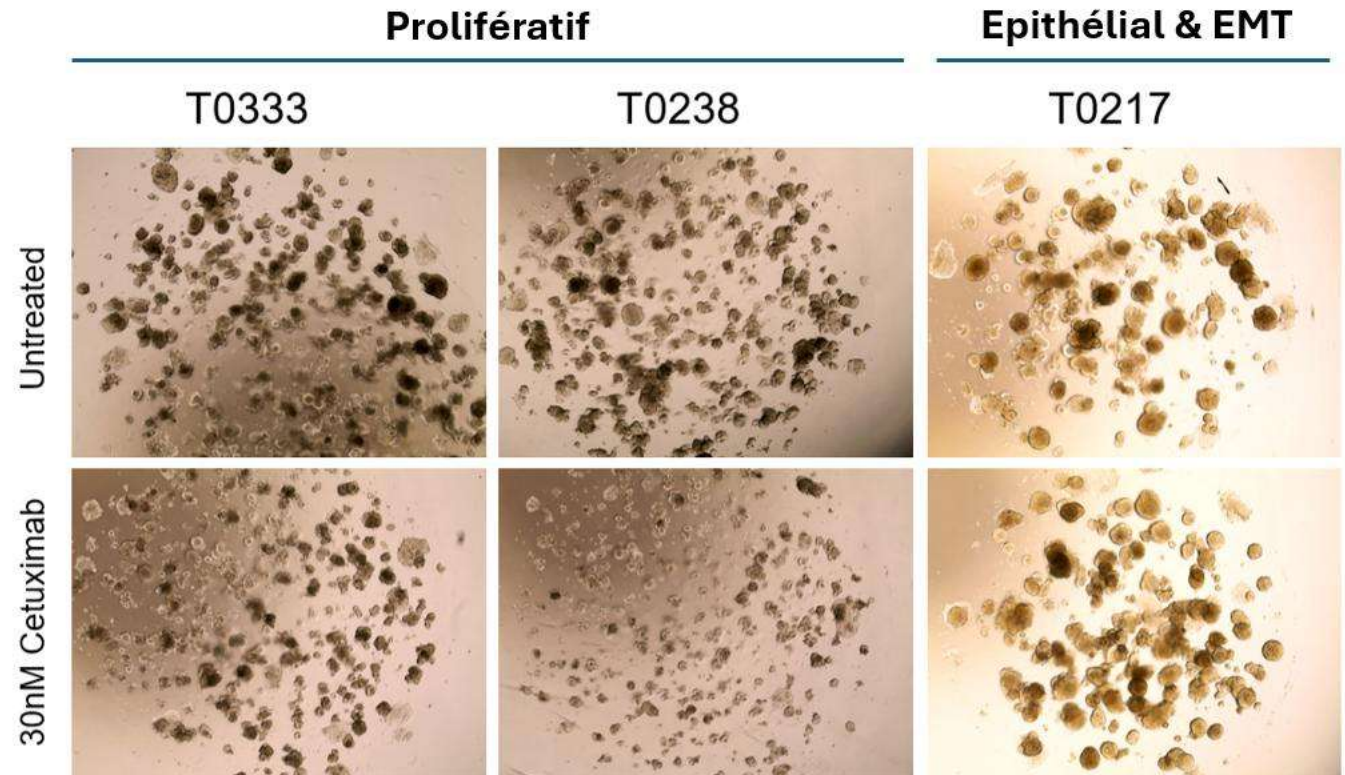
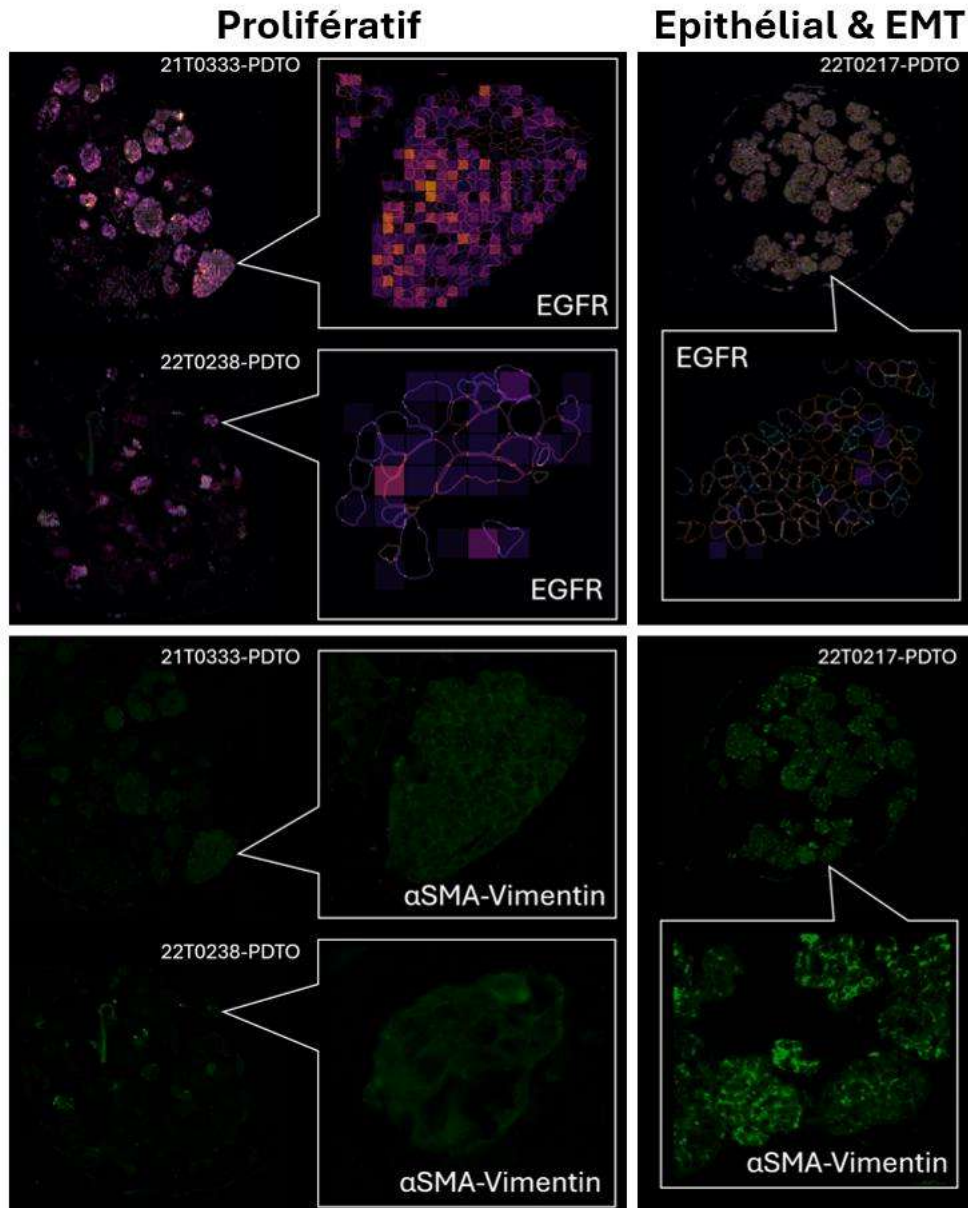


Le profilage des tumoroïdes montre :

- une forte hétérogénéité moléculaire inter-tumoroïdes¹ ;
- une forte hétérogénéité dans la composition cellulaire².

Caractérisation des états : basal, prolifératif et EMT

XENIUM

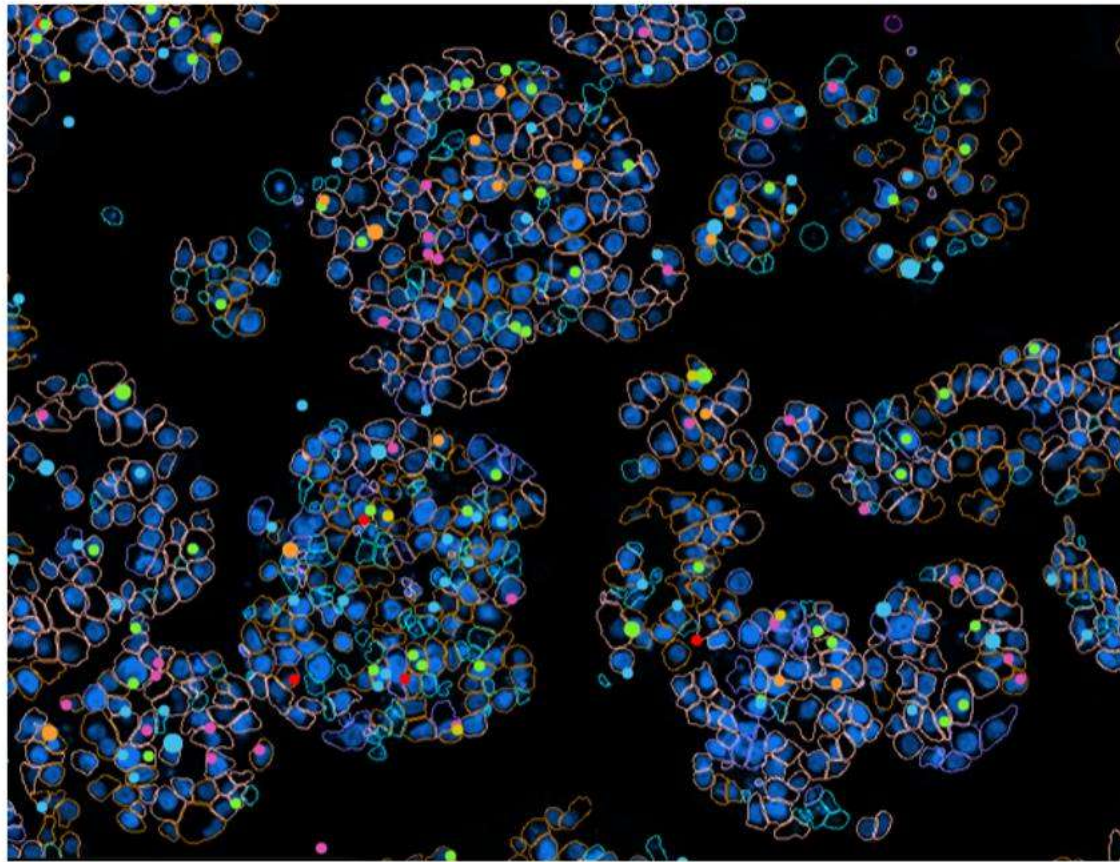


Les tumoroides :

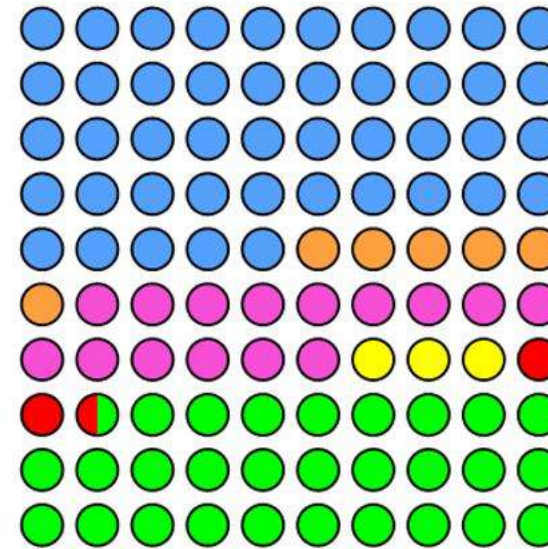
- présentent des états cellulaires tumoraux différents ;
- présentent une hétérogénéité de réponse aux thérapies.

Identification des sous-types monocytaires

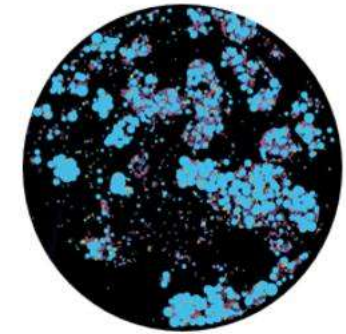
XENIUM



% of macrophage subtype



Count/3395 cells



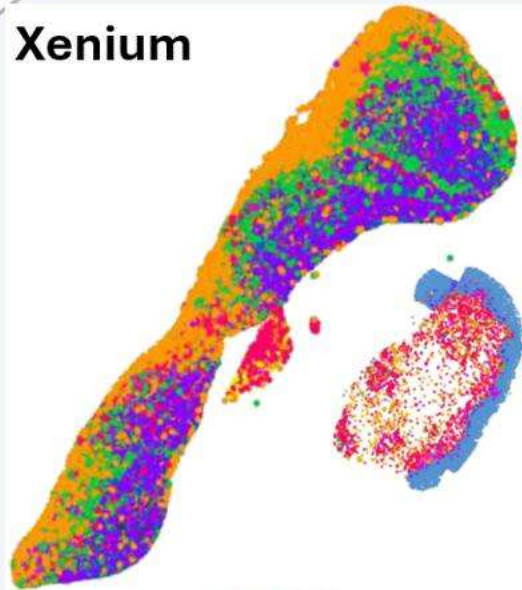
Markers

- CD209 (M2-like)
- CD206 (M2-like)
- CD14 (monocyte)
- CD163 (M2-like)
- CD68 (pan-macrophage)
- CD86 (M1-like)
- Nucleus

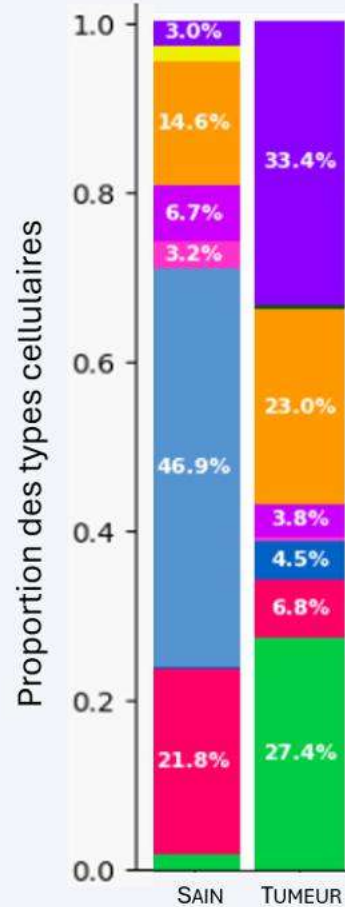
► le maintien des sous-types de macrophages confirmé par immunomarquage

Xenium *versus* Visium : variabilité des données

Xenium



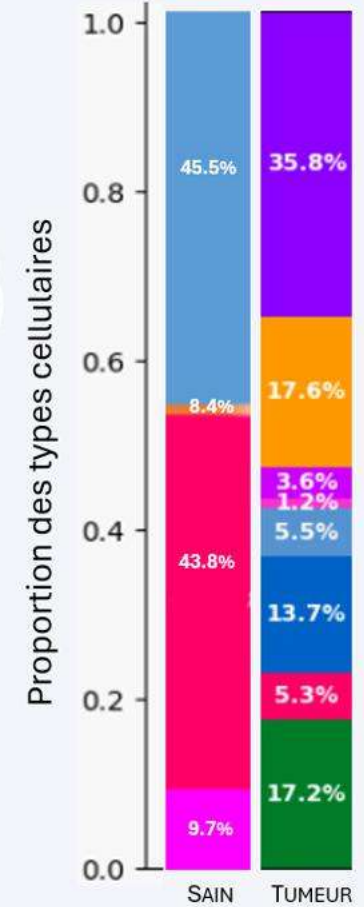
- CAF
- Endothéliales
- Epithéliales
- Epithélium SAIN
- Lymphocytes B
- Lymphocytes T
- Macrophages
- Monocytes
- Myofibroblastes
- Tumorales proliférantes



Visium



- CAF
- Endothéliales
- Epithéliales
- Epithélium SAIN
- Lymphocytes B
- Lymphocytes T
- Macrophages
- Tumorales proliférantes

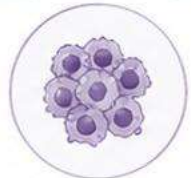


CONCLUSIONS & RÉFLEXIONS

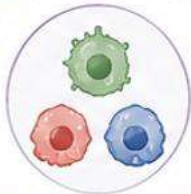
Les tumoroides représentent-ils fidèlement la tumeur initiale dont ils dérivent ?



Ils ne récapitulent que **partiellement** l'hétérogénéité moléculaire et cellulaire de la tumeur d'origine



Ils récapitulent principalement la **composante tumorale**

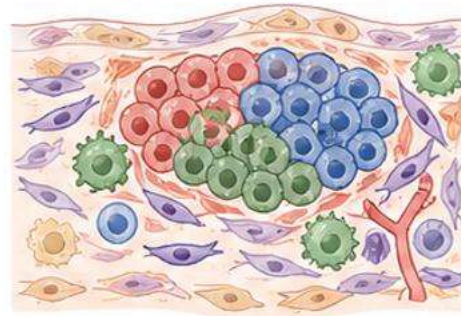


Ils conservent l'**hétérogénéité** des diverses composantes tumorales (EMT, proliférative et basale)

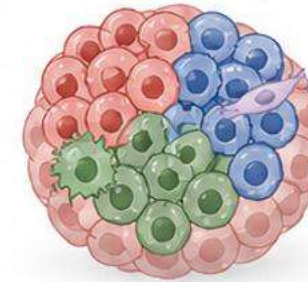


Ils conservent des éléments du **écosystème immunitaire** (macrophages) et **stromal** (fibroblastes)

TUMEUR INITIALE (*in vivo*)



TUMOROÏDE (*ex vivo*)



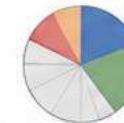
COMPOSANTES

- Cellules tumorales basales
- Cellules tumorales prolifératives
- Cellules tumorales EMT
- Fibroblastes
- Macrophages
- Lymphocytes
- Vaisseaux sanguins

HÉTÉROGÉNÉITÉ
MOLÉCULAIRE ET
CELLULAIRE



Très élevée



Partielle

Partiellement récapitulée

COMPOSANTE
TUMORALE



Présente



Présente

Principalement conservée

HÉTÉROGÉNÉITÉ DES
COMPOSANTES TUMORALES
(BASELE, PROLIFÉRATIVE,
EMT)



Présente



Conservée

Conservée

ÉCOSYSTÈME IMMUNITAIRE
ET STROMAL



Présent



Partiellement
conservé

Éléments conservés
(macrophages,
fibroblastes)

Dr Martin (DR2 CNRS)

Dr Jung (Chercheur)
Dr Burgy (Oncologue)
Pr Schultz (PU-PH)
Dr Bruban (MCU)
Pr Entz-Werlé (MD, PU-PH)
Dr Lhermitte (MCU-PH)
Dr Wolf (PH)
Dr Guérin (MCU-PH)
Dr Dontenwill (DR1 CNRS)
Dr Reita (MCU-PH)
Dr Etienne-Selloum (MCU-PH)

Mr Bour (Technicien)

Mme Deschuyter Post-doctorante
Mr Bernede (Doctorant)
Mme Oriel (Oncologue)
Mme Salmanli IE/Doctorante (Bioinformatique)
Mme Hubsch IE/Doctorante
Mme Yziquel (M2)
Mme Musch (M2)
Mme Zinck (M2)
Mr Bombenger (M2)



Projet



Christelle Thibaut-Carpentier
Gilles Laverny

Bioinformatique



Mathieu Jung
Céline Keim
Julien Godet
Valentine Gilbert

Biologie



Olivia Wendling (Histologie)
David Rodriguez (Visium)
Hugues Jacobs (Xenium)
Gilles Laverny

Vincent Flacher (immunologie)
Coralie Mollard
Léa Sutter

Clinique



Mickaël Burgy
Philippe Schultz
Claire Thibault
Aurélien Danic
Thomas Dourlhes
Benoit Lhermitte
Rosalie Abida
Marie-Pierre Chenard

