

Avatars de réponse au traitement en cancer de l'ovaire

Jade Montpetit¹, Véronique Tu¹, Sarah Saoudaoui¹, Isabelle Clément¹, et Francis Rodier^{1,2}

CRCHUM

CENTRE DE RECHERCHE



INSTITUT
DU CANCER
DE MONTRÉAL

1. CRCHUM et Institut du cancer de Montréal
2. Département de radiologie, radio-onc. et médecine nucléaire

Séminaire virtuel, 3 février 2022

Département de radiologie, radio-oncologie
et médecine nucléaire
Faculté de médecine

Université
de Montréal 

Divulgations

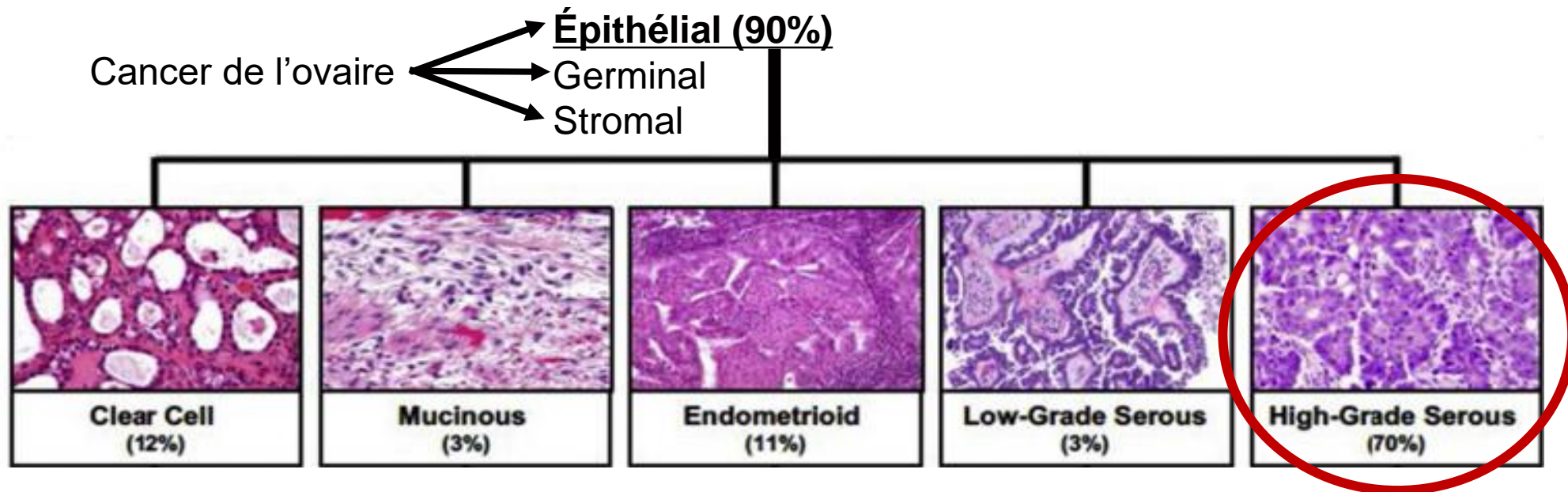
Aucune divulgation

Introduction

Le cancer de l'ovaire, un «tueur silencieux»

- Diagnostiqué aux stades III et IV, lorsque déjà métastatique
- Taux de survie sur 5 ans péjoratif (45% encore en 2021 au Canada)

Séreux de haut grade (HGSOC) est le sous-type le plus fréquent et le plus mortel



Adapté de Freimund et al., 2018

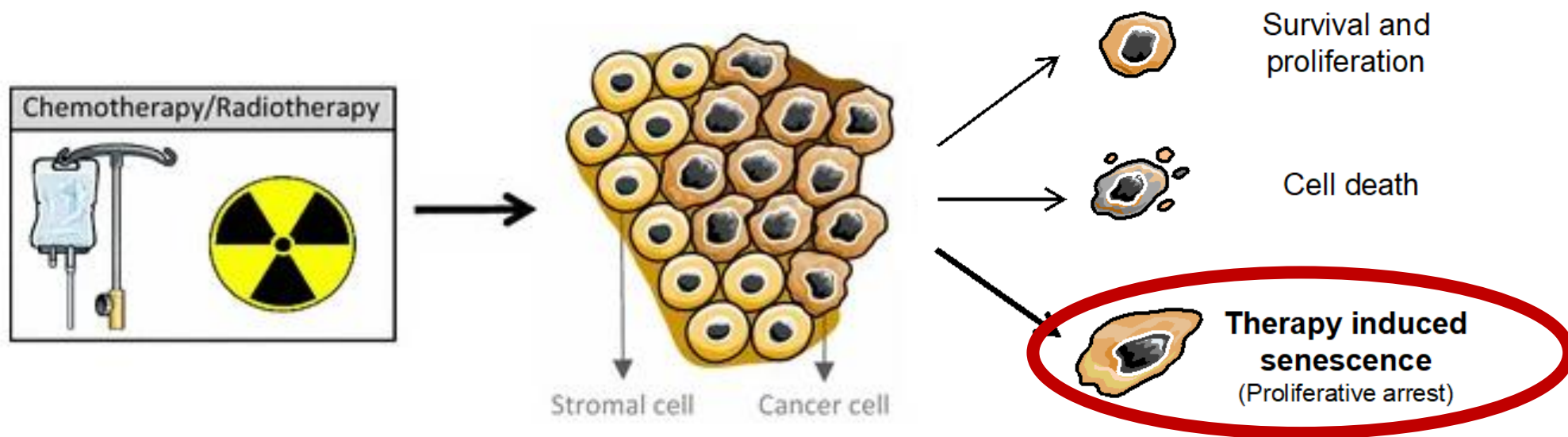
Traitement actuel:

- Chirurgie pour retirer la tumeur + plusieurs cycles chimiothérapie (Carboplatin/Paclitaxel)
- Inhibiteurs de PARP (surtout les tumeurs BRCA1/2 mutées)

Introduction

Sénescence et HGSOC

- HGSOC répond bien à la thérapie au départ, mais il y a rechute car résistance
Ceci suggère qu'avec une meilleure compréhension, la rechute pourrait être évitée
- La thérapie anticancéreuse cause des dommages à l'ADN:
 - Enclenche réponse au dommage à l'ADN (DDR)
 - DDR mène à un choix entre 3 destins cellulaires : survie, apoptose, ou **sénescence**



Adapté de Gonzalez et al., 2016 par Véronique Tu

Résultats des travaux précédents:

- HGSOC présente une sénescence induite par la thérapie (TIS)
- Plus la TIS est forte, meilleure est la survie des patientes
- ABT-263 (sénolytique) induit l'apoptose des cellules sénescents

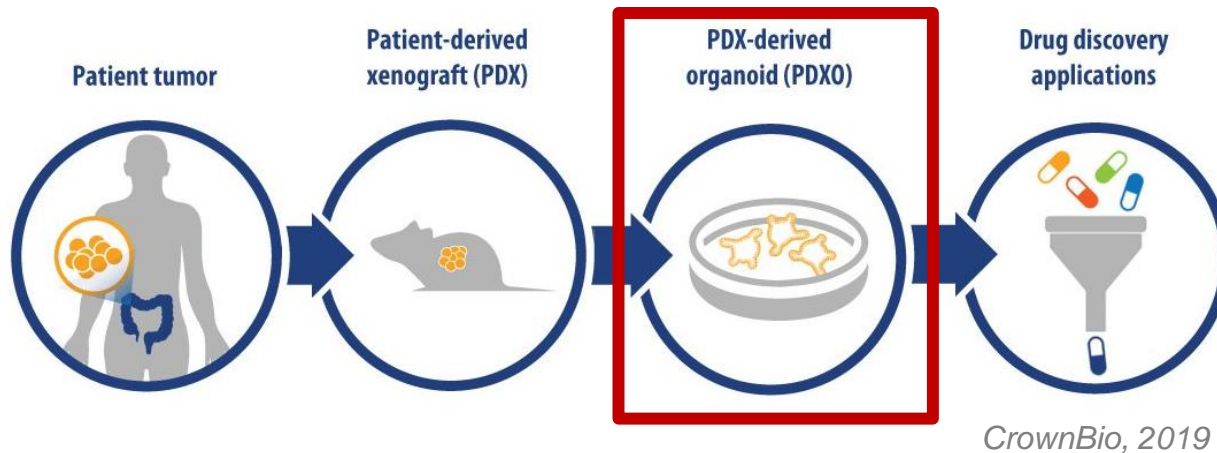
Il semble que la sénescence puisse être bénéfique et manipulée dans HGSOC

Introduction

Culture d'organoïdes

Problématique: Modèles utilisés en recherche pour le cancer *in vitro* ne ressemble pas au cancer *in vivo*, hétérogène et possédant un microenvironnement

Des organoïdes faits à partir de cellules de xéno greffes de tumeurs de patientes (PDX) posséderaient l'hétérogénéité et le microenvironnement du cancer *in vivo*



Organoïdes = culture utilisant du gel, permettant une **croissance 3D**

Hypothèse: Une meilleure compréhension des événements moléculaire soulignant la TIS en HGSOC permettrait de manipuler l'état de sénescence, menant au développement de traitements optimaux pour un meilleur pronostic des patientes.

But: **Mettre au point un modèle d'avatar humain pertinent pour étudier la sénescence induite dans le HGSOC.**

Objectifs:

1. Optimiser le modèle de culture d'organoïdes du cancer de l'ovaire.
2. Analyser les destins cellulaires induits par la thérapie anticancéreuse dans les tissus dérivés du cancer de l'ovaire.

Matériel et méthodes

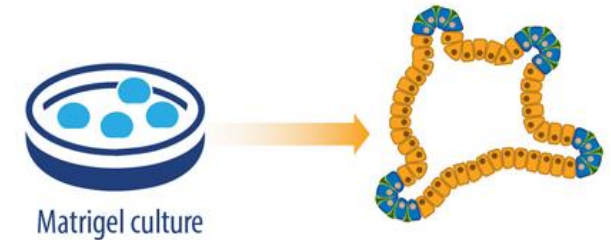
Objectif 1: Optimiser les organoïdes de HGSOc

Mettre au point:

- Organoïdes de lignées cellulaires HGSOc (OVCAR3 et OVCAR8) comme contrôles
- Organoïdes de cellules de PDX

Réponse au traitement sur les organoïdes:

- Plusieurs cycles de chimiothérapie (Carboplatin/Paclitaxel)
 - Inhibiteurs de PARP
- Imiter les traitements reçus par les patientes



Barbeau, 2020

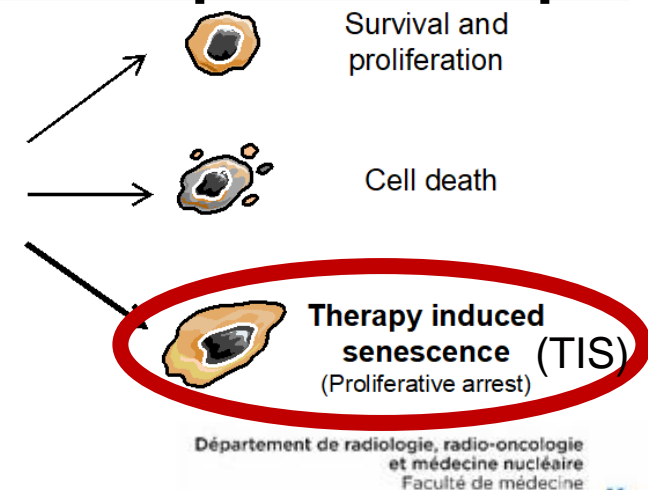
Objectif 2: Analyser les destins cellulaires induits par la thérapie

Sur les PDX déjà établis au laboratoire;

Sur les organoïdes (s'ils ont été mis au point)

Étudier les 3 destins cellulaires en immunofluorescence (IF)

- **yH2AX** pour les dommages à l'ADN
- **MCM2** pour la croissance cellulaire
- **Caspase clivée 3** (Cl-Casp 3) pour la mort cellulaire
- **Cytokératine** (CK) pour l'épithélium
- **DAPI** pour les noyaux



Département de radiologie, radio-oncologie
et médecine nucléaire
Faculté de médecine

Résultats

Objectif 1: Optimiser les organoïdes de HGSOc

Revue de la littérature :

- Les facteurs nécessaires au milieu de culture d'organoïdes HGSOc ont été trouvés
- Les protocoles ont été écrits
→ 2 méthodes seront testées, pour 10 000 et 25 000 cellules

Les substrats ont été commandés et reçus.

L'expansion des cellules OVCAR3 et OVCAR8 a été faite.

Organoid culture reagents
Advanced DMEM/F12
GlutaMAX
Hepes
B27 supplement
NALC/NAC
Noggin
Nicotinamide
hFGF 10
Y27623
Forskolin
hEGF
Cultrex BME
TrypLE
Human serum albumin
Cell Recovery Solution
Collagenase/dispase

Tableau 1. Substrats du milieu de culture des organoïdes HGSOc

Objectif 2: Analyser les destins cellulaires induits par la thérapie

Les 5 marqueurs du multistaining ont été testés.

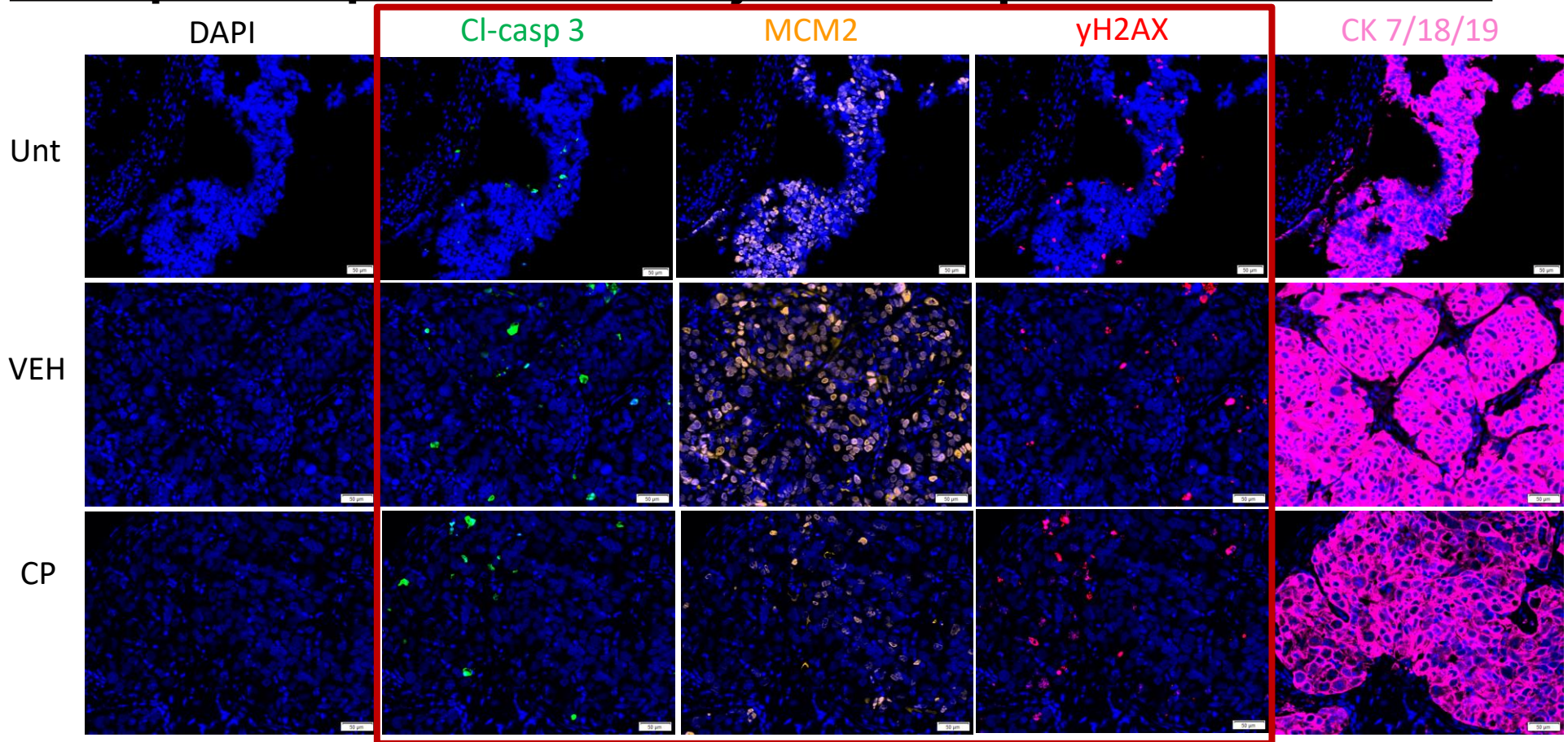
L'IF a été faite pour les PDX 1, 7 et 9 jours de réponse au traitement

- Non traitées
- Véhicule
- Traitées au carboplatin/paclitaxel (CP)

Les applications d'analyse d'IF (Visiomorph) ont été optimisées.

Résultats

Exemple d'IF pour les PDX-7 jours de réponse au traitement



À première vue, il semble y avoir:

- Une légère augmentation de la mort cellulaire (Cl-casp3) avec le traitement
- Une diminution de la prolifération cellulaire (MCM2) avec le traitement
- Une légère augmentation des dommages à l'ADN (γ H2AX) avec le traitement

→ Il faudra vérifier quantitativement avec les applications d'analyses optimisées

Conclusions

But: **Mettre au point un modèle d'avatar humain pertinent pour étudier la sénescence induite dans le HGSOC.**

Il reste encore plusieurs étapes:

- Tester les 2 méthodes pour la culture d'organoïdes de lignées cellulaires
- Choisir la meilleure méthode et le nombre de cellules idéal pour la croissance
- Commencer la culture d'organoïdes dérivés de PDX
- Terminer les IF des PDX 10 jours de réponse au traitement
- Analyser les IF des PDX avec les applications optimisées

Éventuellement:

- Faire les IF sur les organoïdes, et analyser dans Visiomorph
- Comparer les résultats avec ceux des PDX
- Faire différents tests sur les organoïdes:
 - Réponse au traitement
 - IC50
 - Coloration β -Gal
 - Immunohistochimie
 - Infection lentivirale avec H2B-GFP au Incucyte
 - Extraction ARN
 - Etc.

Perspectives:

Le tout permettra de **mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la sénescence de HGSOC**, et peut-être d'identifier de **nouvelles vulnérabilités pouvant être ciblées par des sénolytiques!**

Remerciements



Toute l'équipe du Dr. **Francis Rodier**

Les collaborateurs:

- Trevor Shepherd, Western University
- David Andrews, Université de Toronto
- Anne-Marie Fortier, Morag Park, Université de McGill

Les organismes subventionnaires:

- **Département de radiologie, radio-oncologie et médecine nucléaire**
- **Institut du cancer de Montréal**