



Asociación Española
de Neurofibromatosis

TÍTULO: Desarrollo y uso de nuevos modelos tumoroides 3D a partir de tumores benignos y malignos del sistema nervioso periférico asociados a la neurofibromatosis tipo 1

Investigadores responsables: Meritxell Carrió y Eduard Serra

Grupo de investigación: Cáncer Hereditario, Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol (IGTP), Programa CARE, Badalona (Barcelona).

Breve descripción del proyecto

Los neurofibromas cutáneos, plexiformes y los tumores malignos de la vaina de los nervios (MPNST) son las manifestaciones clínicas más características de la Neurofibromatosis de tipo 1 (NF1), con un impacto muy importante en la calidad de vida de los pacientes.

Este proyecto de investigación pretende ampliar el abanico de modelos celulares de estos tumores mediante la generación y perpetuación de organoides directamente derivados de estos tumores, para desarrollar modelos que se denominan tumoroides.

En nuestro laboratorio llevamos muchos años generando modelos celulares de los tumores del sistema nervioso periférico que se desarrollan en pacientes con NF1. Por ejemplo, podemos cultivar células de Schwann o fibroblastos, directamente después de disociar neurofibromas. Estos cultivos replican fielmente la identidad de las células de los tumores, pero son perecederos, y los experimentos que podemos realizar son limitados, según la cantidad de células que podemos generar cada vez. Como alternativa a este tipo de cultivos sin dejar de utilizar las células directamente de estos tumores, proponemos la generación de tumoroides de todos los tipos tumorales.

Los tumoroides son cultivos tridimensionales (3D) derivados directamente de células de tumores de pacientes. Se forman a partir de la expansión de células precursoras existentes dentro de los tumores y van formando estructuras multicelulares autoorganizadas que imitan la estructura y características del tumor original. Estos modelos se pueden perpetuar. El problema principal es encontrar las condiciones de cultivo adecuadas para su formación, expansión y perpetuación. Esto requiere del ensayo de multitud de condiciones de cultivo, en las que sistemáticamente se alteran los factores que se incluyen, para finalmente poder hacer crecer estos tumoroides.



Asociación Española
de Neurofibromatosis

Objetivos

El objetivo principal del proyecto propuesto es desarrollar y utilizar nuevos modelos tumoroides 3D derivados directamente de tumores benignos y malignos del sistema nervioso periférico asociados a la neurofibromatosis tipo 1 (NF1). Estos modelos ayudarán a comprender mejor la formación tumoral y facilitarán la identificación de nuevas estrategias terapéuticas potenciales.

- 1) Poner a punto las condiciones de cultivo para la generación de tumoroides 3D de neurofibromas
- 2) Poner a punto las condiciones de cultivo para la generación de tumoroides 3D de tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos (MPNST)
- 3) Realizar una prueba piloto de ensayo de fármacos en los tumoroides derivados

Metodología

En este proyecto se propone la generación de modelos tumoroides 3D a partir de PNFs, ANNUBPs y MPNSTs frescos o criopreservados.

Muestras. Utilizaremos pNFs humanos, ANNUBPs y tejido MPNST para establecer tumoroides (colección registrada C.0002242 en el Registro Nacional de Biobancos de ISCIII). Todos los pacientes que proporcionaron muestras fueron informados y dieron su consentimiento. La recogida de muestras y el IC fueron aprobados por el Comité de Revisión Institucional HGTiP-IGTP, que también revisará el proyecto.

Modelos tumoroides de PNF, ANNUBP y MPNST. Las muestras criopreservadas se digerirán (3) y las células se colocarán en microplacas esféricas de 96 pozos en diferentes tipos de medios que contienen distintos factores de crecimiento y otros componentes, y en Matrigel a diferentes densidades. Probaremos, al menos: 1) condiciones descritas para neuroesferas SC de ratón derivadas de neurofibroma NF1(-/-) (4); 2) condiciones para organoides tumorales derivados de NC (5); 3) condiciones para tumores mesenquimales (6; 7); 4) condiciones derivadas de glioblastoma u otros organoides de células madre neuronales (8).

Los tumoroides se subcultivarán usando Tryple Select y se replazarán en medios organoides y Matrigel. La viabilidad se evaluará utilizando el kit de viabilidad y muerte. Los tumoroides se caracterizarán mediante inmunohistoquímica y se compararán con sus homólogos tumorales primarios.



Asociación Española
de Neurofibromatosis

Resultados esperados y posibles obstáculos

A pesar de que nadie ha conseguido generar tumoroides adecuados a partir de estos tumores, nuestra larga experiencia en el crecimiento de células primarias a partir de ellos y los nuevos datos recopilados recientemente por nuestro grupo, nos hacen esperar encontrar las condiciones de cultivo adecuadas para cultivar tumoroides.

Si no crecen bien en las condiciones ensayadas, entonces ampliaremos la diversidad de medios que contienen diferentes combinaciones de citocinas (críticas para la formación de tumoroides) o probaremos la estrategia descrita en (9).

Referencias: (3) Serra E. et al. (2000) Hum Mol. Genet. 9(20):3055-64, (4) Radomska KJ (2019) Cáncer Discov. 9(1):130-147, (5) Fusco et al. (2019) BMC Cancer 19:970, (6) Meisler M.T. et al. (2022) EMBO Molecular Medicine 14:e16001, (7) Gaebler et al. (2017) Front Oncol. 11; 7:203, (8) Gamboa et al. (2021) STAR protocolos 2, 100345, (9) Vlachogiannis G et al. (2018) Science 359(6378):920-926,