

1-1

Imagerie 3D en profondeur par microscopie à feuille de lumière: exemple d'application sur des modèles de lymphome

Jacques ROUQUETTE¹, Christine BEZOMBES²

¹ Institut des Technologies Avancées en sciences du Vivant

² Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse

La microscopie à feuille de lumière (SPIM) est une méthode polyvalente et puissante pour l'imagerie 3D d'organismes entiers et d'échantillons multicellulaires. Le SPIM combine deux trajets optiques séparés, un pour l'illumination par la feuille de lumière, et l'autre perpendiculaire au premier, pour la détection, ce qui en fait un microscope champ large à sectionnement optique rapide. Cette configuration originale et spécifique fait du SPIM une technologie de choix pour visualiser sur plusieurs centaines de μm voire quelques mm des organismes entiers ou des modèles multicellulaires en 3D avec une faible phototoxicité. Une des applications est l'imagerie en temps réel n'altérant pas la croissance et l'organisation 3D des modèles. Une autre application est l'imagerie d'organe/tissu/tumeurs transparisés en 3D sur plusieurs mm voir cm. La plateforme d'imagerie photonique de l'ITAV dispose de plusieurs prototypes de SPIM permettant de couvrir des échelles d'échantillon allant du μm au cm. De plus, elle possède une expertise dans la manipulation, préparation et analyse post-acquisition de ces échantillons en 3D. Une collaboration a été initiée avec l'équipe 9 du CRCT portant sur l'étude des lymphomes folliculaires qui est un des plus fréquents lymphomes non Hodgkiniens. Son traitement a bénéficié de l'introduction des anticorps monoclonaux (ACM) anti-CD20 qui sont utilisés seuls ou en association avec la chimiothérapie. On constate cependant que: i) la maladie reste incurable avec des rechutes fréquentes; et ii) des patients restent réfractaires au traitement. Pour comprendre ces échecs, il est nécessaire d'étudier et de quantifier la distribution et la diffusion des ACM au sein des modèles 3D de lymphome folliculaire (MALC, multicellular aggregates of lymphoma cells) sans altérer leur structure. Pour ce projet, nous avons imagé des MALCs par microscopie à feuille de lumière après traitement par des ACM thérapeutiques et mis en place des outils d'analyses performants et automatisés permettant de caractériser les paramètres d'intérêt sur ces modèles 3D de lymphomes folliculaires. Ce projet de recherche interdisciplinaire a pour but de permettre la modélisation par imagerie à feuille de lumière des observations cliniques et potentiellement d'expliquer la faible efficacité des ACM chez les patients atteints de LF et présentant de fortes masses tumorales.