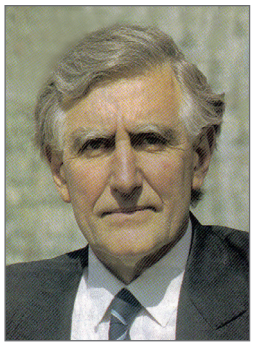

Organoïdes : mini-organes pour la recherche médicale et pharmaceutique

Organoids: mini-organs for medical and pharmaceutical research

*J.C. Chachques**

Aujourd'hui, il est possible de cultiver in vitro des organes miniatures que l'on appelle "organoïdes". Entre l'animal entier et les lignées cellulaires en culture, les biologistes élaborent actuellement un modèle intermédiaire : les organoïdes. Les techniques d'obtention et de production d'organoïdes de différents tissus se sont développées de manière accélérée depuis les années 2010 ; ces outils biologiques tendent à devenir incontournables et sont à la base d'avancées majeures en biologie et en médecine. Alors que les plateformes de cellules souches fondées sur la culture 2D sont utilisées avec succès pour la modélisation du développement humain et de la maladie aux niveaux cellulaire et moléculaire, elles n'ont pas les conditions imitant la signalisation spatiale et temporelle ainsi que les interactions des cellules dans leur niche naturelle *[1]*. Ces limites de la culture in vitro sont en voie de résolution grâce à l'application de technologies 3D biomimétiques, en particulier en combinant la bio-ingénierie microenvironnementale avec la capacité intrinsèque des cellules souches pluripotentes à construire des structures 3D. Cette capacité intrinsèque de cellules à s'auto-organiser en motifs tissulaires hautement structurés dans des conditions de culture in vitro 3D a ouvert l'ère des "organoïdes".

Choix de cellules souches pour organoïdes

Les organoïdes sont des structures tridimensionnelles mesurant quelques millimètres, dérivées de l'auto-organisation des cellules souches car elles se différencient in vitro. La plasticité des cellules souches est l'un des principaux critères de génération d'organoïdes les plus semblables aux structures tissulaires qu'elles ont l'intention d'imiter. Les cellules souches sont des cellules ayant des propriétés uniques d'autorenouvellement et de différenciation *[1]*. Selon leur origine, une distinction est faite entre les cellules souches pluripotentes (embryonnaires), les cellules souches adultes (ou tissulaires) (CSA) et celles obtenues par reprogrammation somatique, appelées cellules souches pluripotentes induites (CSPi). Le processus de reprogrammation somatique a révolutionné le domaine de la recherche sur les cellules souches, de nombreuses tentatives ont été faites pour obtenir des CSP et des CSPi, une approche qui permet d'omettre l'utilisation d'embryons pour dériver les cellules. Les progrès récents dans l'obtention de cellules reprogrammées sont encourageants. Avec les CSP et les CSPi, de nombreux organoïdes sont actuellement obtenus à partir de CSA ***(figures 1 et 2)***.

Organoïdes cardiaques

Les organoïdes cardiaques humains autoassemblés sont élaborés pour la modélisation du développement cardiaque et l'analyse de malformations congénitales. Pour mieux comprendre les cardiopathies congénitales qui sont très fréquentes, et mieux les traiter, la recherche médicale a besoin d'avoir accès au matériel fœtal, flirtant parfois avec les limites de l'éthique. Pour éviter ces situations floues, Y.R. Lewis-Israeli et al. de la Michigan State University (États-Unis) *[2]* ont créé récemment un organoïde cardiaque humain, comparable à un mini-cœur contenant toutes les fonctions primaires d'un véritable cœur et permettant d'étudier en détail le développement fœtal. La compréhension de l'origine des malformations et des maladies est limitée par notre capacité à modéliser le cœur humain. Les organoïdes cardiaques constituent une méthode in vitro de modélisation utilisant l'autoassemblage à l'aide de CSP humaines. Les organoïdes sont générés par une stratégie de modulation de la voie de signalisation Wnt en 3 étapes, à l'aide d'inhibiteurs chimiques et de facteurs de croissance. Les organoïdes cardiaques ainsi développés sont comparables au cœur du fœtus humain, appariés selon l'âge du tissu cardiaque au niveau transcriptomique, structurel et cellulaire. Ils présentent des chambres avec des types

* *Service de chirurgie cardiovasculaire, hôpital européen Georges-Pompidou ; laboratoire de recherches biochirurgicales, Fondation Alain-Carpentier, université Paris-Cité.*

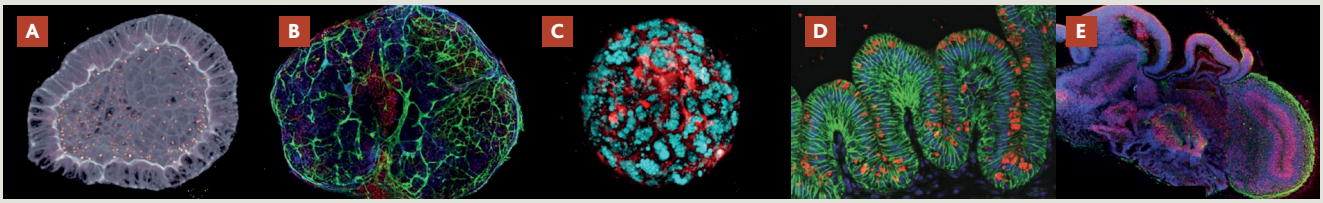

Figure 1. Organoïdes créés à partir de cellules souches humaines pluripotentes induites. **A.** Rein. **B.** Foie normal, vascularisation en vert. **C.** Foie avec infiltration adipeuse en bleu. **D.** Estomac. **E.** Cerveau.

de cellules cardiaques multilignées bien organisés, fondés sur le biomimétisme du cœur et ils imitent sa configuration auriculoventriculaire, développant une vascularisation complexe avec une activité fonctionnelle robuste. Cette approche est utile pour analyser les malformations cardiaques congénitales induites par le diabète prégestationnel *[2]*.

Organoïdes cérébraux

À partir de 2008, les premières structures neuronales générées à partir de CSP humaines ont été mises au point au Japon, ressemblant in vitro à un cortex cérébral composé de multicouches. Les développements ultérieurs ont apporté des avancées : structures 3D in vitro de type cérébral avec des régions identifiées du cortex, de la rétine, des méninges et du plexus choroïde *[3]*. Ces structures 3D représentent les principales étapes prénatales du développement du cerveau humain, avec des types de cellules du tissu nerveux fonctionnel et une architecture de couche corticale, offrant ainsi un modèle sans précédent pour l'étude du développement neurologique humain et des maladies neurodégénératives. Des analyses multimodales à cellule unique (qPCR en temps réel selon un système microfluidique) d'organoïdes cérébraux cultivés pendant plus de 9 mois ont révélé un niveau élevé de diversité neuronale et gliale, confirmant leur fonctionnalité avec une réactivité spécifique au type cellulaire (neurotransmission et potentiel d'action spontané) *[3]*.

Les organoïdes cérébraux sont utiles pour étudier le neurodéveloppement humain précoce et comprendre les pathologies, cependant ils ont des limites anatomiques et fonctionnelles qui nuisent à leur utilisation pour évaluer les stades de développement ultérieur en raison du manque de connectivité et de vascularisation correctes du réseau neuronal. La mise au point de nouveaux protocoles génère des répliques de plusieurs régions du cerveau, organoïdes "dirigés", spécifiques à une région créée selon les procédés de bio-ingénierie. Outre la modélisation des maladies, la technologie des organoïdes cérébraux peut être

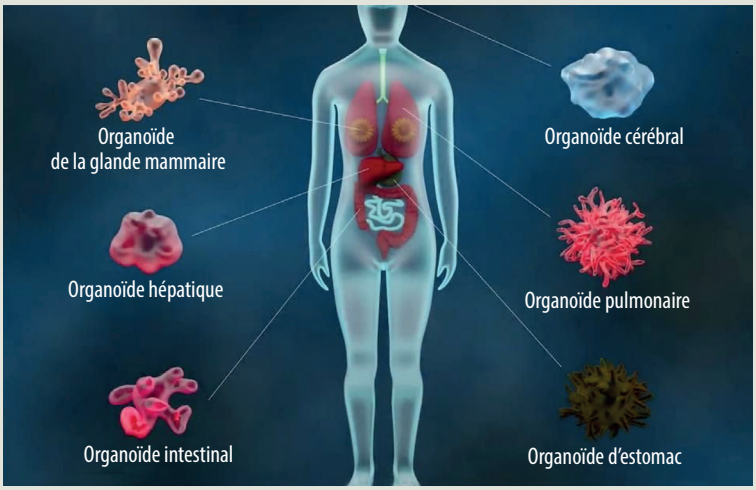

Figure 2. Création de différents organoïdes humains à partir de cellules souches pluripotentes.

personnalisée à des fins diagnostiques ou thérapeutiques si des CSP humaines spécifiques au patient sont appliquées. Aujourd'hui, des organoïdes spécifiques du cerveau antérieur sont utilisés pour étudier les troubles du spectre autistique, et des organoïdes du mésencéphale servent à étudier les maladies de Parkinson, d'Alzheimer, ainsi que d'autres maladies neurodégénératives. L'utilisation de gènes permet d'obtenir des organoïdes "sains/réparés" en produisant des CSPi isogéniques CRISPER/CAS9 dérivés du patient, pour évaluer le traitement de maladies génétiques lysosomales (maladie de Sandhoff).

Organoïdes rénaux

Des développements récents ont permis la différenciation dirigée des CSPi pour générer des organoïdes rénaux. Ces organoïdes ressemblent au rein humain in vitro et peuvent être appliqués en médecine régénérative et utilisés dans le traitement d'intoxications chroniques. L'obtention d'organoïdes récapitulant la structure des canaux collecteurs à partir des cellules du patient permet l'étude de pathologies héréditaires *[4]*.

Le syndrome néphrotique (SN) est caractérisé par une protéinurie sévère à la suite d'une lésion glomérulaire rénale due à des lésions podocytaires. Les modèles in vitro imitant les caractéristiques des podocytes in vivo sont une condition préalable à la résolution de la pathogenèse du SN. La caractérisation détaillée des podocytes organoïdes résultant d'un protocole de culture hybride a montré une population de podocytes qui ressemblent plus à des podocytes adultes que les homologues 2D, basé sur le séquençage de l'ARN unicellulaire. Dans cette étude, ces podocytes de nouvelle génération contenus dans les organoïdes rénaux ont permis une modélisation personnalisée du SN idiopathique. La recherche sur les organoïdes rénaux permettra d'accroître la connaissance sur la néphrogenèse.

Organoïdes hépatiques

Le foie est l'un des organes les plus importants, tant au niveau des différents processus métaboliques (énergétique, lipidique, ferrique, urique, etc.) que de son rôle central dans les processus de désintoxication des substances d'origine alimentaire ou des substances nocives (alcool, drogues, antibiotiques, etc.). Des organoïdes hépatiques ont été dérivés de CSP humaines et représentent désormais une alternative prometteuse *[5]*. Ces structures 3D, complexes et organisées, utilisent un ou plusieurs types cellulaires, permettent de reproduire in vitro différentes fonctions de l'organe, ouvrant ainsi la voie à de nombreuses applications, comme l'étude du développement du foie, la production en masse de cellules hépatiques fonctionnelles pour la transplantation ou le développement de foies bioartificiels, sans oublier la modélisation de pathologies hépatiques permettant le criblage à haut débit de médicaments ou des études de toxicité.

Organoïdes pulmonaires

Des organoïdes pulmonaires de plusieurs espèces sont en développement pour étudier les infections respiratoires. Un modèle d'organoïde pulmonaire a été mis au point à l'aide de CSP humaines et peut être utilisé pour tester des médicaments. Les organoïdes pulmonaires, en particulier les cellules alvéolaires de type II, exprimant ACE2, sont utilisés pour étudier l'infection due au virus SARS-CoV-2. Les traitements avec des médicaments à des niveaux physiologiquement pertinents ont diminué l'infection par le SARS-CoV-2 des organoïdes pulmonaires dérivés de CSP humaines. Ces données démontrent que les cellules pulmonaires dérivées de CSP humaines infectées par le SARS-CoV-2 peuvent modéliser la maladie humaine Covid-19 et offrent de précieuses possibilités pour identifier de nouveaux médicaments *[6]*. Aussi les organoïdes du cancer du poumon sont devenus un modèle préclinique important pour les études en oncologie. Il pourrait être utilisé pour modéliser le développement du cancer du poumon, étudier le processus de tumorigenèse et les voies de signalisation. Les organoïdes pourraient également être utiles pour le dépistage des médicaments et la validation des biomarqueurs du cancer du poumon *[7]*.

Comment faire un intestin ?

Avec la forte prévalence des troubles gastro-intestinaux, il existe un grand intérêt pour les modèles in vitro de maladies intestinales humaines et pour le développement de plateformes de dépistage de médicaments qui représentent plus précisément la physiologie complexe de l'intestin. Les progrès récents de la biologie du développement et des cellules souches ont permis de générer des tissus intestinaux humains complexes et tridimensionnels in vitro grâce à la différenciation dirigée de CSP humaines *[8]*. Ceux-ci sont actuellement utilisés pour étudier les formes génétiques de maladies, les agents pathogènes intestinaux, les maladies métaboliques et le cancer. Des organoïdes coliques contenant des nerfs entériques et des vaisseaux sanguins ont été créés en utilisant des cocultures 3D. Le développement d'innervation et de vascularisation dans les organoïdes a été confirmé phénotypiquement et génétiquement par immunofluorescence et western blot *[9]*.

Conclusion

Les organoïdes mesurant quelques millimètres donnent lieu à de nombreuses applications : étude du développement, de mécanismes cellulaires, de pathologies, des effets des nutriments, criblage et toxicité des médicaments. Des nouvelles méthodes de génération d'organoïdes humains hautement reproductibles reposent sur l'auto-assemblage déclenché par des indices de développement et apportent une preuve de concept pour la modélisation de malformations congénitales et de maladies. Les nouveaux organoïdes présentent un type multicellulaire et une complexité morphologique rappelant les organes fœtaux humains en développement, y compris des formations anatomiques d'une certaine complexité cavitaire avec leur système d'innervation et de vascularisation.
Les organoïdes pulmonaires et coliques infectés par le SARS-CoV-2 peuvent servir de modèles de maladie pour étudier la physiopathologie du Covid et fournir une information primordiale pour l'identification de nouveaux traitements contre cette maladie. Ainsi les organoïdes, organes miniatures, deviennent aujourd'hui incontournables pour la biologie, la médecine et l'industrie pharmaceutique *[10]*. ■

J.C. Chachques déclare ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références bibliographiques

1. *Mitrečić D et al. Regenerative neurology and regenerative cardiology: shared hurdles and achievements. Int J Mol Sci 2022;23:855.*

2. *Lewis-Israeli YR et al. Self-assembling human heart organoids for the modeling of cardiac development and congenital heart disease. Nat Commun 2021;12:5142.*

3. *Khakipoor S et al. Human organoids to model the developing human neocortex in health and disease. Brain Res 2020;1742:146803.*

4. *Gupta N et al. 3D kidney organoids for bench-to-bedside translation. J Mol Med (Berl) 2021;99:477-87.*

5. *Baquerre C et al. Liver organoids in domestic animals: an expected promise for metabolic studies. Vet Res 2021;52:47.*

6. *Han Y et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids. Nature 2021;589:270-5.*

7. *Li Y et al. Organoids in lung cancer management. Front Surg 2021;8:753801.*

8. *Wells JM, Spence JR. How to make an intestine. Development 2014;141:752-60.*

9. *Park CS et al. Development of colonic organoids containing enteric nerves or blood vessels from human embryonic stem cells. Cells 2020;9:2209.*

10. *Chachques JC et al. Elastomeric cardiopatch scaffold for myocardial repair and ventricular support. Eur J Cardiothorac Surg 2020;57:545-55.*