

Les organoïdes : une révolution en biologie humaine

Isabelle Maridonneau-Parini, Directeur de recherche Inserm
CNRS UMR 5089, IPBS, Toulouse France

Un organoïde est une construction multicellulaire auto-organisée en 3-dimensions (3D) *in vitro* qui reproduit l'architecture et au moins une des fonctions de l'organe correspondant, de sorte qu'il peut être utilisé pour étudier le développement et/ou les maladies de cet organe dans une boîte de culture.

Bien que la culture tissulaire 3D date de plusieurs dizaines d'années, le mot organoïde est réservé à la description de constructions dérivées de cellules souches, qui peuvent être pluripotentes (embryonnaires ou induites), ou adultes provenant de divers organes. Les organoïdes dérivés de cellules souches adultes exploitent le processus de régénération tissulaire induit par ces cellules et peuvent être établis directement à partir des épithéliums (tissus qui tapissent la surface et les cavités de l'organisme) sain ou malade de nombreux organes. Les premiers travaux sur le tissu intestinal montrent que les cellules souches adultes ont la capacité à s'organiser en structures complexes *in vivo*. On pense que les processus qui forment ces organoïdes *in vitro* se rapprochent du développement naturel ou de la maintenance des tissus *in vivo*. Ainsi ils permettent de progresser dans des domaines difficiles à explorer tels que l'organogénèse. Les organoïdes dérivés de cellules souches embryonnaires ont permis la réalisation des premiers travaux sur le cortex cérébral. Aujourd'hui, des organoïdes qui modélisent (bien qu'incomplètement) le cerveau, la rétine, l'intestin et d'autres organes du tractus gastro-intestinal, les reins, les poumons, le foie, et plus récemment la glande lacrymale et le col de l'utérus, ont été obtenus. Les applications en biologie expérimentale concernent la modélisation de la physiologie et des maladies des tissus, y compris les maladies malignes, héréditaires et infectieuses. Les biobanques d'organoïdes tumoraux dérivés de patients sont utilisées dans la recherche sur le développement de médicaments ou d'immunothérapies. Ces approches sont prometteuses pour progresser en biologie du développement ainsi qu'en médecine personnalisée et régénérative.

Les organoïdes humains présentent un potentiel énorme pour les applications biomédicales. Par exemple, les organoïdes permettent la manipulation génétique et pharmacologique dans un contexte cellulaire complexe qui reflète la biologie humaine. Ils permettent d'étudier les premiers stades du développement des organes et de l'apparition de maladies. Les organoïdes humains complètent (et peuvent dans certaines applications remplacer) les modèles animaux dans de nombreux domaines du développement préclinique de médicaments. En outre, les organoïdes humains fournissent des "avatars" spécifiques pour les patients et le développement de médicaments et de thérapies de précision, notamment pour le traitement du cancer, des maladies génétiques rares (telles que la mucoviscidose) et les troubles multifactoriels complexes (tels que l'épilepsie). Enfin, les organoïdes promettent de contribuer à la médecine régénérative, avec pour objectif de produire des structures biologiques fonctionnelles qui peuvent être transplantées chez les patients. Cependant, le stockage dans les biobanques, l'utilisation d'organoïdes dérivés de patients et leur commercialisation posent des problèmes éthiques et pratiques spécifiques qui vont exiger une bonne gouvernance. Pour exploiter pleinement le potentiel des organoïdes humains, des défis majeurs doivent être relevés. Dans l'immédiat, la caractérisation des organoïdes devra être poursuivie afin de les valider en tant que modèles fidèles de la biologie humaine. Pour mieux exploiter le potentiel des approches organoïdes, le domaine s'est fortement concentré sur l'optimisation des conditions de culture et la définition des environnements *in vitro* qui permettent l'expansion des cellules souches et leur différenciation en types cellulaires appropriés. Par exemple, les hydrogels synthétiques qui imitent la consistance et les propriétés mécaniques de la matrice extracellulaire native des tissus se sont révélés prometteurs pour la culture efficace à long terme des organoïdes. Dans cette démarche d'amélioration, le profilage de l'épigénome et du transcriptome d'une seule cellule permet une évaluation quantitative et

hautement dimensionnelle de la composition et des états cellulaires au sein des organoïdes. Les essais de profilage spatial permettent de caractériser l'organisation et l'architecture tridimensionnelle. Ces méthodes améliorent également le contrôle de la qualité des organoïdes (par exemple identifier les valeurs aberrantes, les types de cellules manquantes ou la régulation génique aberrante), et elles peuvent fournir des atlas de référence pour les études de maladies. En outre, l'analyse comparative moléculaire d'organoïdes et d'échantillons de tissus *ex vivo* appariés peut guider le développement de nouveaux protocoles d'élaboration d'organoïdes, par exemple en identifiant les populations de cellules manquantes ou en levant les limites techniques de la différenciation cellulaire dans les organoïdes. Enfin, les technologies unicellulaires fournissent une lecture puissante et évolutive pour les expériences fonctionnelles et pour les perturbations génétiques ou pharmacologiques qui sont testées dans des organoïdes humains.

Un futur catalogue d'organoïdes humains bien caractérisés devrait permettre d'identifier et quantifier les sources de variation techniques et biologiques. En outre, l'inclusion d'échantillons de donneurs génétiquement différents permettra d'évaluer la variabilité interindividuelle dans la population humaine, absente de l'évaluation préclinique actuelle de candidats médicaments, essentiellement basée sur des modèles animaux uniformes génétiquement. Cette variabilité interindividuelle pourra également prendre en compte les potentielles co-morbidités liées à certaines pathologies.

Les protocoles actuels d'organoïdes, bien qu'utiles pour de nombreuses applications, présentent des limites techniques et conceptuelles. Ainsi, les organoïdes peuvent ne pas représenter fidèlement la diversité des types de cellules dans le tissu primaire (par exemple les cellules non parenchymateuses telles que les cellules immunitaires et le stroma), et ils sont limités dans leur capacité à reproduire les effets des expositions environnementales et le vieillissement de l'organisme sur les organes humains *in vivo*. Il sera important de développer des protocoles robustes qui produisent des organoïdes avec une organisation tissulaire adéquate, des cellules différenciées, une vascularisation, une innervation, une infiltration de cellules immunitaires et, pour certains organes (par exemple, la peau et l'intestin) l'association avec un microbiote. Des plates-formes microfluidiques d'organoïdes sur puce commencent à apparaître, elles permettent par exemple un échange de nutriments, de gaz, de forces de cisaillement assurant ainsi la reproduction de l'architecture et de la physiologie de tissus en 3D.

Ainsi, il faut encore progresser dans la préparation et l'utilisation des organoïdes pour comprendre des phénomènes biologiques (par exemple, par le biais de perturbations génétiques et pharmacologiques) et comment les exploiter pour le développement de médicaments et la médecine personnalisée. Le séquençage unicellulaire et le profilage spatial jouent un rôle clé dans la résolution de ces questions. Des cartes moléculaires complètes des cellules composant les organoïdes peuvent révéler des états cellulaires et des programmes de régulation de la transcription de façon hyper-détaillée et sans précédent, qui apportent de nouveaux outils pour les comparaisons aux tissus humains correspondants *in vivo*.

La génération d'organoïdes cérébraux dérivés de cellules souches pluripotentes humaines d'une complexité et d'une diversité croissantes est l'un des développements les plus marquants dans ce domaine. Les chercheurs ont créé des organoïdes cérébraux avec une activité neuronale et, en variant les conditions de culture, ont modélisé des caractéristiques cérébrales, introduit divers types de cellules, y compris différents sous-types neuronaux et gliaux et des cellules photosensibles qui réagissent à une stimulation lumineuse. Les cellules souches pluripotentes humaines pourraient également être utilisées pour générer des sphéroïdes (culture 3D de cellules sous forme de sphère) neuraux ressemblant à des régions cérébrales spécifiques qui pourraient être assemblées pour permettre l'étude des interactions régionales et de la migration neuronale. Les systèmes d'organoïdes actuels ne permettant pas de construire un système vasculaire, une étape supplémentaire a été franchie en implantant des organoïdes d'origine humaine chez des souris pour obtenir un modèle d'organoïde cérébral *in vivo* fonctionnel et entièrement vascularisé.

Des progrès remarquables ont également été réalisés dans la récapitulation des caractéristiques tissulaires *in vivo* d'autres organes humains. Par exemple, un modèle organoïde du développement du poumon humain, lorsqu'il est transplanté chez la souris, reproduit la formation des voies aériennes ramifiées et des premières structures alvéolaires. Ce type d'approche peut être utilisé pour étudier les effets d'une infection ou de mutations impliquées dans une pathologie pulmonaire. Des organoïdes endométriaux humains ont présenté les caractéristiques d'une grossesse précoce lorsqu'ils ont été exposés à des hormones. S'appuyant sur les recherches menées depuis près de dix ans sur les organoïdes intestinaux, il a été possible d'obtenir des structures dotées d'un système nerveux entérique fonctionnel qui peuvent être utilisées pour étudier les troubles de la motilité du tractus gastro-intestinal.

L'intérêt des organoïdes pour la modélisation des maladies et la mise au point de thérapies est de plus en plus évident. Les organoïdes cérébraux, par exemple, ont été utilisés pour modéliser des maladies neurodégénératives et psychiatriques, et l'infection par le virus ZIKA. Dans la recherche sur le cancer, l'hétérogénéité, l'évolution et la progression des tumeurs ont été étudiées à l'aide d'organoïdes de cancer colorectal et hépatique dérivés de patients. La pandémie actuelle de COVID-19 a favorisé le développement de nouveaux modèles d'organoïdes pulmonaires humains pour la compréhension de l'infection par le SARS-CoV-2 et la recherche de traitements. Grâce aux organoïdes, les réponses individuelles aux médicaments peuvent être déterminées, comme cela a été fait pour des tumeurs colorectales et mammaires. Plusieurs études pertinentes démontrent que les organoïdes tumoraux sont des modèles très précieux pour la médecine personnalisée, car ils permettent de modéliser la maladie et d'explorer *in vitro* les options de traitement ou après greffe orthotopique des organoïdes chez la souris.

En conclusion, les organoïdes humains n'ont pas fini de nous ouvrir des champs entiers en tant qu'outils de recherche bien plus élaborés que les cultures cellulaires. Ils vont contribuer à la découverte des mécanismes régulant l'organogénèse, la physiologie, la pathologie. Ils vont apporter une aide considérable comme modèles précliniques dans la recherche de nouveaux médicaments, aider à la pratique de thérapies personnalisées et enfin, ils vont participer à la réparation tissulaire. Les organoïdes n'ont pas fini de faire parler d'eux en attendant le jour où ils prendront eux-mêmes la parole !

Pour en savoir plus :

Schutengs F and Clevers H. Human organoids : tools for understanding biology and treat diseases. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. (2020) 15 : 211-234

Kim J, Koo, B-K, Knoblick JA. Human organoids : model systems for human biology and medicine. Nature Rev Mol Cell Biol (2020) 21 : 571-584

The organoid cell atlas. Nature Biotech (2021) 39 : 13-17

Hofer M, Lutolf MP. Engineering organoids. Nat Rev Mater. (2021) 19:1-19.

van der Vaart J, Lamers MM, Haagmans BL, Clevers H. Advancing lung organoids for COVID-19 research. Dis Model Mech. 2021 14(6)

Lensink MA, Boers SN, Jongsma KR, Carter SE, van der Ent CK, Bredenoord AL. Organoids for personalized treatment of Cystic Fibrosis: Professional perspectives on the ethics and governance of organoid biobanking. J Cyst Fibros. (2021) 20 :443-451.

Choudhury D, Ashok A, Naing MW. Commercialization of Organoids. Trends Mol Med. (2020) 26 :245-249

Céline Cougoule, Arnaud Métails et Fabrice Dumas sont remerciés pour la relecture de cet article et leurs suggestions.