

Organoïdes Wars : Épisode IV - Un Nouvel Espoir Contre le Cancer

Actuellement, le cancer colorectal, touchant le gros intestin, constitue la deuxième cause de mortalité par cancer. Avec le vieillissement de la population, son incidence pourrait croître dans les années à venir (1). Il survient à la suite de changements dans l'activité des cellules du côlon ou du rectum (2). La prise en charge des patients est complexe en raison d'obstacles liés au développement de solutions thérapeutiques (3). Pour faire avancer la recherche et améliorer les traitements, un nouveau modèle de recherche, les organoïdes, a émergé. Celui-ci offre une meilleure compréhension des cancers et ouvre la voie à des traitements personnalisés et des perspectives prometteuses pour l'amélioration des soins.

Troisième cancer le plus diagnostiqué dans le monde, le cancer colorectal affiche un résultat vertigineux avec plus d'un million de nouveaux cas dépistés par an dans le monde (4). D'après de nombreuses expérimentations et tests pré-cliniques documentés, les organoïdes représentent un espoir considérable pour la mise sur pied de stratégies de traitement contre ce cancer (5). Qu'est-ce qu'un organoïde ? Peut-il résumer les mécanismes du cancer colorectal chez divers sujets atteints ? Les réponses aux traitements médicamenteux observées sur les organoïdes dérivés de patients (PDO), suffisent-elles pour en déduire une approche personnalisée afin de soigner les patients ? Ce texte abordera toutes ces questions.

Le cancer colorectal et ses mutations:

Le cancer est l'une des maladies les plus redoutées de notre époque. Il peut toucher n'importe qui, indépendamment de l'âge. C'est une maladie génétique complexe qui se caractérise par des mutations, c'est-à-dire des altérations de la séquence d'ADN. On peut comparer l'ADN à une suite de codes-barres, chacun d'eux donnant une instruction à nos cellules pour maintenir l'équilibre et la santé de notre corps. Une mutation se crée lorsque le code-barre est modifié par l'ajout, le retrait ou le changement d'ordre de chiffres, impactant le bon fonctionnement des cellules. Ces mutations peuvent résulter d'erreurs lors de la copie de l'ADN, et sont induites par l'exposition à des agents mutagènes tels que des produits chimiques, certains virus, etc. Au fil du temps, les erreurs peuvent s'accumuler et causer une prolifération incontrôlée des cellules qui aboutira à la formation d'une tumeur (6).

En ce qui concerne le cancer colorectal, il existe des mutations spécifiques très courantes (Figure 1). Chez presque 90% des patients atteints d'un cancer colorectal, il y a une mutation dans le gène suppresseur de tumeurs nommé Adenomatous polyposis coli (APC) qui régule la voie de signalisation Wnt. Cette voie est activée par les protéines Wnt et joue un rôle important dans la régulation de la croissance, de la prolifération et de la maturation des cellules qui tapissent la surface de l'intestin (7). D'une part, d'autres mutations sont retrouvées dans les gènes suppresseurs de tumeurs comme le Tumor protein 53 (p53) et le F-box and WD repeat domain containing 7 (FBXW7). Ces gènes agissent comme les gardiens des cellules, freinant la croissance et la division des cellules, réparant les erreurs dans l'ADN et régulant la mort des cellules. Lorsqu'une mutation apparaît dans ces gènes, la cellule n'est plus en mesure de se protéger, compromettant ses mécanismes de contrôle normaux. D'autre part, on observe des mutations dans des gènes activateurs de tumeurs comme V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) et phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha (PIK3CA) (8). Ces mutations peuvent stimuler excessivement la

croissance cellulaire et favoriser la survie des cellules. Par conséquent, des anomalies survenant dans des gènes suppresseurs ou activateurs augmentent le risque de développer un cancer. Le nombre important de mutations possibles montre une complexité génétique du cancer colorectal. De plus, des mutations de gènes jouant un rôle dans la réparation de l'ADN peuvent causer une hypermutabilité, ce qui signifie que la tumeur accumule énormément de mutations en un court laps de temps, rendant le génome très instable (9). Cette instabilité est en générale associée à une progression tumorale agressive, rendant la tumeur plus difficile à traiter.

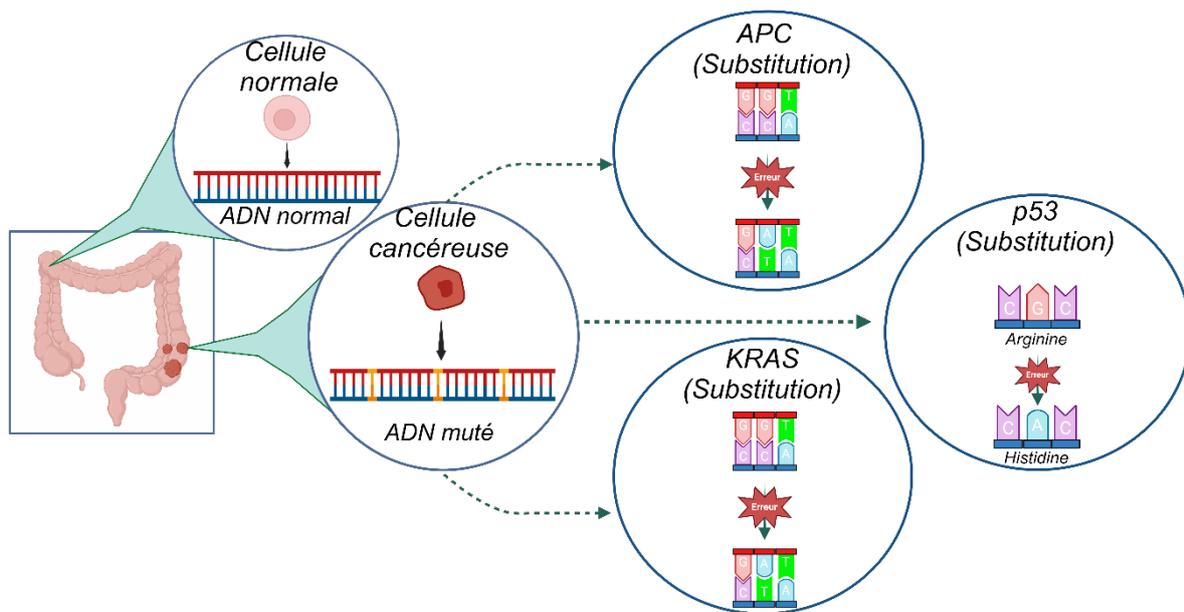


Figure 1 : Modélisation du cancer colorectal : Le cancer colorectal se caractérise par l'apparition de tumeurs, amas de cellules cancéreuses, dans le colon ou le rectum du patient. Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses se caractérisent par l'apparition de mutations dans leur ADN. Pour les gènes KRAS, p53 et APC la substitution, comparable à une faute de frappe, est fréquemment observée (9,10,11). Dans ces trois cas, ces erreurs ont un impact significatif sur la manière dont les instructions génétiques sont lues et interprétées par la cellule. (Créé via BioRender.com.)

Ces tumeurs malignes peuvent être hétérogènes, ce qui signifie que différentes parties de la même tumeur portent des mutations différentes. Cette hétérogénéité complexifie davantage le traitement car certaines parties de la tumeur peuvent y être sensibles, tandis que d'autres peuvent y résister (9). Par exemple, prenez un paquet de bonbons de toutes les couleurs. Si les bonbons rouges sont les préférés des enfants, il n'en restera rapidement plus, ils sont « sensibles ». Les autres bonbons, malgré nos efforts seront plus difficiles à donner et donc plus « résistants ».

En raison de la grande variété de cancers du côlon, des modèles de laboratoire spécifiques, appelés organoïdes, sont créés pour mieux étudier le cancer spécifique à chaque patient.

Les organoïdes :

a. En quelques mots, c'est quoi un organoïde ?

La technologie des organoïdes consiste à développer des répliques miniatures d'organes et de tissus *in vivo* à partir de cellules souches multipotentes ou de cellules prélevées sur des patients atteints de cancer. Les cellules souches sont un type particulier de cellules ayant la capacité de se transformer en certains types de cellules. Ces cultures organotypiques tridimensionnelles tendent à reproduire les fonctions spécifiques, l'organisation des tissus et des organes ainsi que leur physiologie. Elles constituent un nouveau modèle d'étude qui permet de relier la recherche fondamentale sur le cancer à la pratique clinique. De plus, cette technologie offre de multiples applications, que ce soit dans le remplacement d'organes dans le domaine de la médecine régénérative ou par l'étude de l'influence des gènes sur les maladies. En d'autres termes, elle offre la possibilité de comprendre comment ceux-ci agissent, de les modifier au besoin grâce au génie génétique et d'observer leurs effets dans notre corps. Elle trouve également des applications dans le test de divers médicaments en vue de développer des thérapies personnalisées ainsi que dans l'élaboration de biobanques. Ces biobanques conservent les organoïdes établis à partir de cellules ou de tissus divers, qui seront utilisés pour des recherches futures (6) (Figure 2).

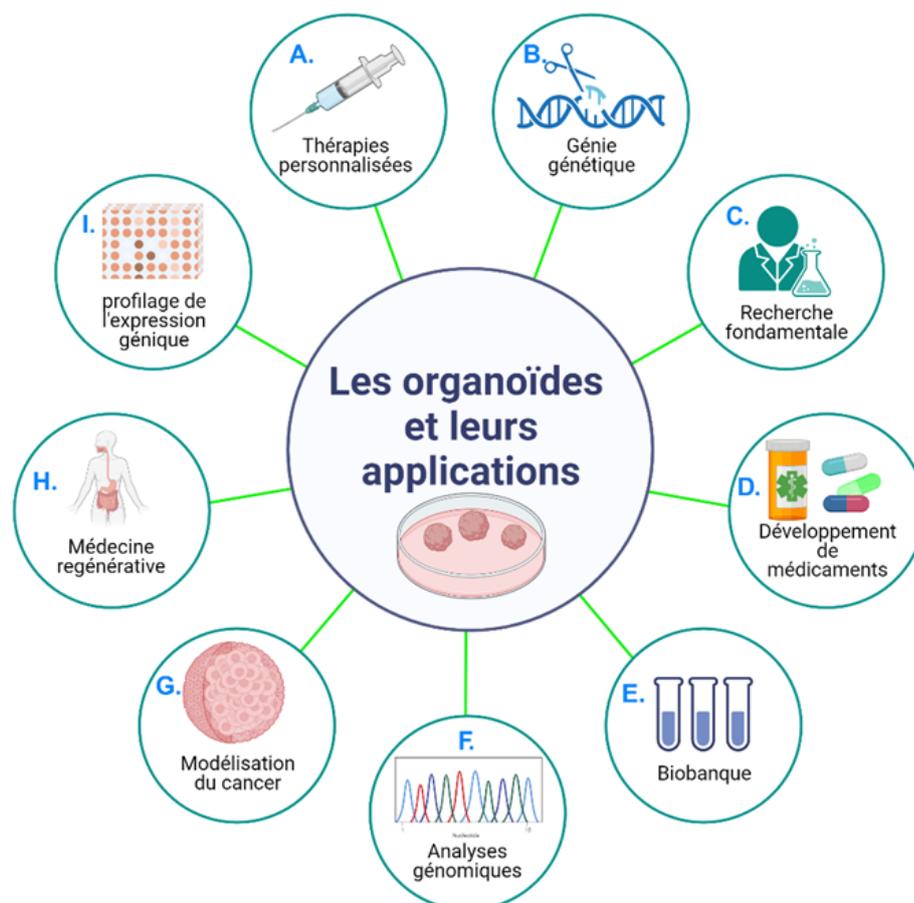


Figure 2 : Diverses applications des organoïdes : Le nouveau modèle d'étude ayant de nombreuses applications, aussi bien pour la recherche fondamentale, la pratique clinique et pour la médecine régénérative. Modifié de "Application of Organoids", de BioRender.

b. Comparaisons avec d'autres méthodes :

Les lignées cellulaires cancéreuses et les transplantations de tissus cancéreux humains sur des souris constituent des modèles classiques pour étudier le cancer chez l'Homme. Cependant, ces deux approches présentent leurs inconvénients (3).

Bien que les lignées cellulaires cancéreuses aient contribué de manière significative à la recherche sur le cancer, ces cultures de cellules cancéreuses sont souvent difficiles à établir à partir de matériel prélevé chez les patients. Ces cultures impliquent la croissance des cellules sur une surface plane permettant ainsi la simplification des observations, mais entraînant des changements importants et une perte de la diversité génétique des tumeurs d'origine (Figure 3). Contrairement aux cultures 3D, les cultures 2D n'utilisent pas de matrice tridimensionnelle. Cette matrice forme un réseau complexe autour des cellules tumorales, établissant une interaction bidirectionnelle avec la tumeur. D'une part, les cellules tumorales sécrètent des enzymes altérant la structure de la matrice, créant un environnement favorable à leur croissance. D'autre part, la matrice influence le comportement de la tumeur. Elle favorise sa croissance et/ou l'invasion de tissus voisins grâce à des signaux spécifiques, tout en contribuant à sa nutrition par la formation de nouveaux vaisseaux. Cependant, les cultures 2D présentent des similitudes avec les cultures 3D. En effet, aucune des deux ne contient les éléments non cancéreux d'une tumeur, tels que les cellules de soutien fournissant un support aux cellules tumorales et les vaisseaux sanguins apportant les nutriments qui favorisent la croissance (3).

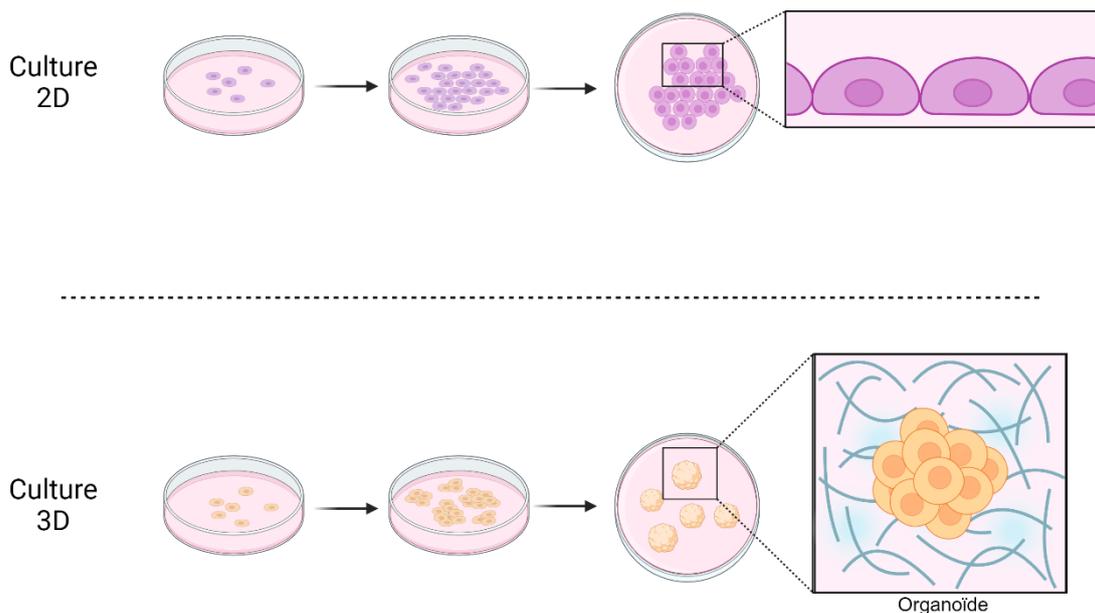


Figure 3 : Comparaison entre les cultures en 2D et 3D (organoïdes) : Pour la création d'une culture en 2D, des cellules normales et tumorales sont prélevées, puis prolifèrent dans un milieu spécifique. Ces cellules croissent en deux dimensions, formant des colonies sur une surface plane. En revanche, pour les cultures en 3D, des cellules souches normales et tumorales sont généralement prélevées et cultivées dans un milieu spécifique, avec du Matrigel, une matrice extracellulaire dérivée de la membrane basale de cellules cancéreuses de souris. Ce milieu favorise la division cellulaire et l'agrégation, permettant la formation d'organes miniatures. (Créé via BioRender.com).

La transplantation de tumeurs dérivées de patients (PDTX) dans des souris se distingue des autres méthodes d'étude du cancer par sa capacité à mieux reproduire les caractéristiques biologiques des tumeurs humaines que les cultures en laboratoire. Les souris utilisées sont dépourvues de système immunitaire fonctionnel, ce qui permet d'éviter le rejet de greffes. En effet, en l'absence de défense immunitaire, les souris n'ont plus la capacité de se défendre contre le tissu implanté, considéré comme un intrus non invité. Cette approche permettrait ainsi de tester de nouvelles thérapies anticancéreuses avant de les soumettre à des essais cliniques sur patients. Cependant, cette approche comporte des inconvénients majeurs, notamment l'utilisation d'animaux, des taux d'implantation limités pour certains types de tumeurs qui rencontrent des difficultés à s'établir et se propager, des coûts élevés, une consommation de temps importante, et des différences inter-espèces dans la réponse aux tumeurs PDTX (3).

En résumé, les lignées cellulaires cancéreuses et les PDTX, bien qu'ayant joué un rôle crucial dans la recherche sur le cancer, présentent des limitations notables. Il est donc essentiel de combiner diverses approches pour une compréhension approfondie des tumeurs cancéreuses et le développement de thérapies efficaces (3).

c. Formation et culture spécifique d'organoïdes ou de tumoroïdes de côlon (cultures en 3D) :

A l'origine, les organoïdes sont créés à partir de cellules souches prélevées directement du côlon. Ces dernières, présentes au fond des cryptes intestinales, qui sont comme de petits puits situés à la surface interne de l'intestin, sont la source du renouvellement cellulaire permanent (12). Pour favoriser le développement et la différenciation adéquate des cellules composant les organoïdes, il est essentiel de les cultiver dans un milieu imitant leur environnement naturel. Les cellules souches sont donc cultivées dans le Matrigel, qui sert de support aux organoïdes. Cette matrice est enrichie en laminine, une protéine essentielle pour la croissance et différenciation cellulaire. En parallèle, un milieu de culture spécifique est indispensable. Ce dernier contient des facteurs de croissance, des éléments nutritionnels comme des vitamines, et des agents bloquant l'émission de signaux moléculaires au sein des cellules, les inhibiteurs de signalisation. Ces derniers permettent notamment de stabiliser l'organoïde en empêchant la migration ou la mort cellulaire. Plus récemment, des chercheurs (6) ont réussi à développer des organoïdes de cancer intestinal appelés par la suite des tumoroïdes. De plus, il a été montré que la réponse des tumoroïdes à certains inhibiteurs spécifiques, à l'oxygène et à des facteurs de croissance peut varier en fonction du type de tumeur (Figure 4).

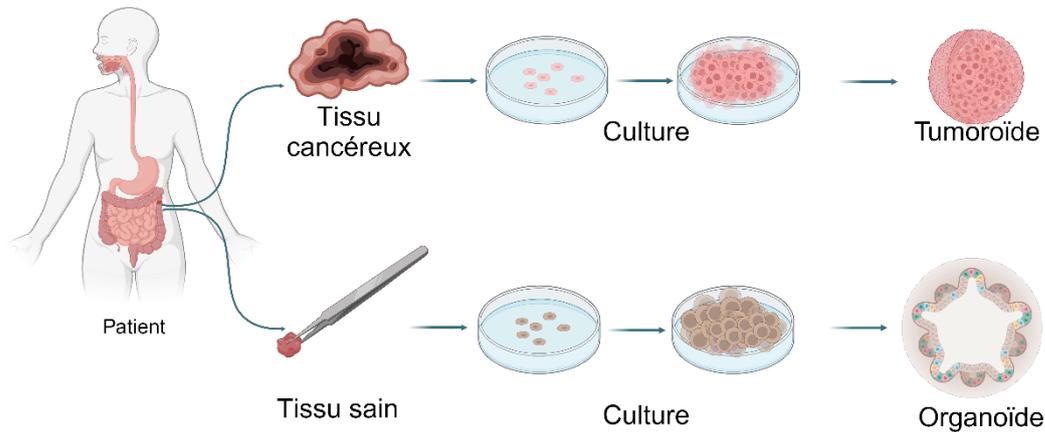


Figure 4 : Méthode de formation d'organoïdes et tumoroïdes: Mise en culture selon des conditions bien spécifiques du tissu cancéreux prélevé chez un patient malade. Si le milieu est optimal, il y a formation d'un tumoroïde capable de recréer les caractéristiques du tissu cancéreux d'origine. Avec une démarche similaire, la biopsie d'un tissu sain permet la formation d'un organoïde, qui est la réplique du tissu originel. A nouveau, les conditions de culture sont un élément crucial pour le développement d'organoïde. (Créé via BioRender.com, modifié à partir de (6))

d. Apports de la modélisation des cancers chez les organoïdes :

Dans l'ensemble, les tumoroïdes présentent des caractéristiques similaires aux tumeurs d'origine, tant sur le plan structural que dans l'expression de marqueurs protéiques spécifiques (6). Cette similitude est confirmée par le séquençage complet des tumoroïdes et des tissus cancéreux. Il révèle une forte concordance dans la variation du nombre de copies d'ADN, dans les mutations les plus fréquentes du cancer colorectal (par exemple : APC, p53, ...) et dans les altérations des gènes pilotes. Ceux-ci sont essentiels à la régulation des processus biologiques et jouent donc un rôle important dans la progression de la maladie (7). Imaginez des photos dans une boîte à souvenir : chacune d'elles capture un instant unique. De la même manière, les tumoroïdes captent les traits distinctifs des tumeurs, offrant ainsi la possibilité de les étudier sans avoir à revenir dans le passé.

Par ailleurs, les organoïdes s'avèrent être des outils précieux pour étudier l'évolution de ces cancers, c'est-à-dire, la formation de tumeurs secondaires à la tumeur originelle qui migrent pour s'installer dans une autre partie du corps, et les interactions complexes entre les tumeurs et les tissus environnants. Les organoïdes sont également utilisés pour améliorer notre compréhension de l'expression des protéines induites par ces tumeurs, ce qui est un point fondamental pour le développement de thérapies ciblées (6).

En outre, ils se révèlent fondamentaux pour l'étude de la formation des tumeurs, notamment en identifiant les mutations pouvant être à l'origine du cancer. Le principe de base consiste à séquencer le génome de l'organoïde, puis y introduire des mutations. En effet, les altérations génétiques sont souvent les premières étapes conduisant au développement du cancer. En comprenant ces altérations dans le cancer, les chercheurs peuvent développer des méthodes de prévention ou de traitements ciblés. Cette approche offre la possibilité d'investiguer les disparités génétiques entre les organoïdes qui répondent favorablement aux traitements et ceux qui y sont résistants (6).

Applications cliniques :

La technologie des organoïdes joue un rôle essentiel dans l'amélioration du développement de médicaments. Elle facilite l'étude, l'optimisation et l'évaluation de l'efficacité des associations de médicaments, tout en explorant des approches thérapeutiques alternatives et en renforçant la capacité à prédire les résultats cliniques (6). Elle apporte entre autres atouts, la rapidité de réalisation des tests. En effet, la formation d'organoïdes ou de tumoroïdes nécessite entre une à deux semaines, et les résultats aux différents tests sont obtenus en moins d'un mois (7). Mais également, l'avantage de s'établir à partir de faibles quantités de biopsies (13).

En effet, les organoïdes ont transformé la manière dont l'efficacité des traitements contre le cancer est évaluée. Leur précision et leur sensibilité ont fait d'eux d'excellents prédicteurs des réponses aux médicaments anticancéreux, y compris pour la chimiothérapie, un traitement qui vise à détruire les cellules cancéreuses dans le corps (6).

Ils sont également des outils de grande valeur pour évaluer la toxicité des médicaments. De plus, les organoïdes ont contribué à l'identification des relations entre des altérations génétiques spécifiques et la réaction aux médicaments (6). Dans le cadre de l'essai co-clinique pratiqué dans une étude (5), différentes approches génétiques basées sur l'étude des fonctions des gènes sont exploitées pour élucider les mécanismes de sensibilité ou de résistance des tumeurs aux médicaments. Cela implique d'analyser les altérations génétiques et moléculaires survenant dans les organoïdes, afin de fournir des indications sur les cibles thérapeutiques potentielles. Les résultats confirment la pertinence des organoïdes pour intégrer l'aspect moléculaire de la maladie dans le processus de décision des essais cliniques de phase précoce.

Grâce à leurs propriétés pharmacocinétiques et leur capacité à exprimer des transporteurs et enzymes métaboliques, les organoïdes fournissent un environnement propice à l'investigation des mécanismes d'absorption et de métabolisme (6).

Dans le cadre de la médecine personnalisée, un traitement adapté à chaque patient pourrait voir le jour, reconnaissant que nous sommes tous uniques et qu'un traitement efficace pour une personne peut ne pas convenir à une autre. Les organoïdes pourraient reproduire fidèlement les spécificités des maladies de chaque patient, donnant la possibilité aux chercheurs de trouver les stratégies de traitement les plus efficaces et spécifiques selon l'aspect mutationnel du cancer. Cette approche personnalisée permettrait d'optimiser les prises de décisions thérapeutiques, réduisant ainsi la surmédicalisation et limitant les effets secondaires (7).

En outre, les organoïdes sont utiles pour concevoir des thérapies contre la résistance aux médicaments, adaptées à chaque cas (6). Et ce, malgré une diversité phénotypique complexe qui caractérise l'architecture cellulaire des tumeurs (8). Par exemple, pour des patients radio-résistants, il serait possible de n'administrer que des agents chimiothérapeutiques afin de diminuer la toxicité tout en préservant l'efficacité. De même, il serait possible d'identifier les patients qui seraient plus favorables à un schéma de triple traitement (7) (Figures 5 et 6).

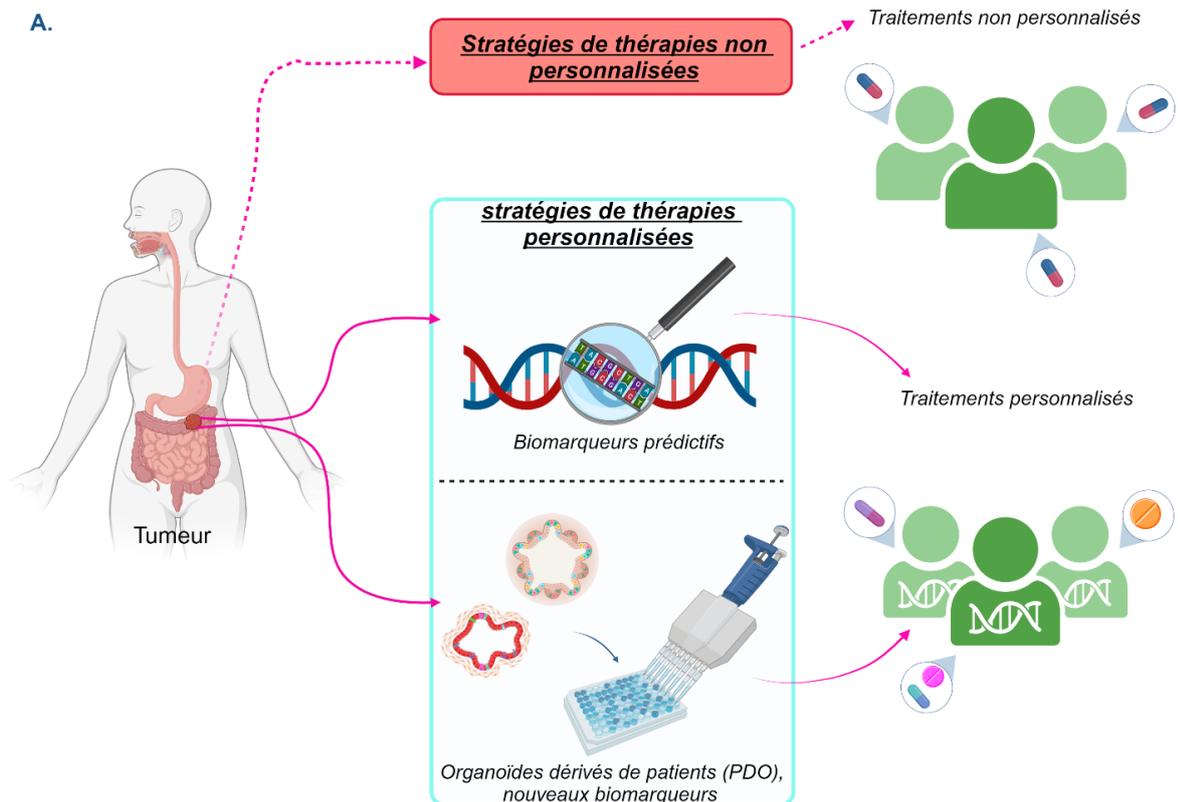


Figure 5: Médecine personnalisée : Les organoïdes dérivés de patients sont de nouveaux modèles pour l'analyse de différents paramètres biologiques. Créés à partir d'échantillons prélevés chez les patients, ils permettent le développement d'une stratégie de traitement plus efficace et spécifique selon l'aspect mutationnel du cancer. (créé via BioRender.com , modifié à partir (14)).

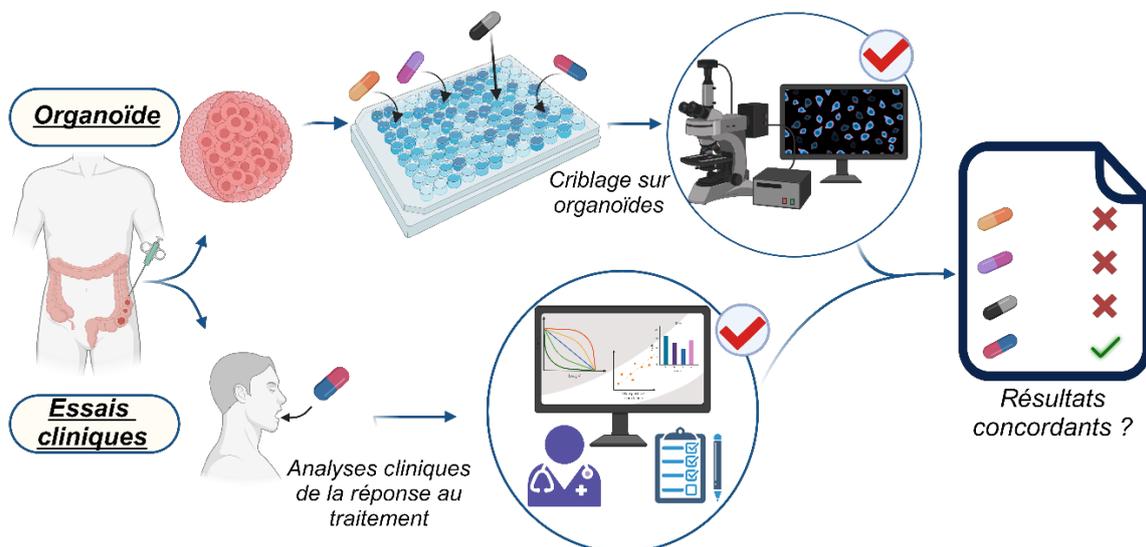


Figure 6 : Thérapie ciblée : Le criblage médicamenteux sur des organoïdes, réalisé simultanément avec les essais cliniques, a pour objectif de garantir la fidélité des résultats obtenus. A l'avenir le criblage sur organoïdes pourrait être effectué antérieurement pour identifier le traitement le plus approprié en fonction des réactions ou modifications observées. En cas de résistance à la médication, celle-ci sera mise en évidence. Ainsi, la thérapie sera ajustée en conséquence, permettant au médecin de prescrire le traitement le plus efficace. (Créé via BioRender.com , modifié à partir de (14)).

Limitations :

Cependant, des défis persistent dans l'amélioration continue de cette technologie des organoïdes. Actuellement, les organoïdes de côlon obtenus ne reproduisent pas entièrement la complexité de l'environnement intestinal. En effet, ils se composent uniquement de cellules épithéliales, faisant défaut à certaines cellules de soutien essentielles, ainsi qu'aux cellules immunitaires et nerveuses. Cette limitation entrave la capacité des organoïdes à reproduire fidèlement le cancer colorectal et compromet leur utilisation potentielle dans la recherche de traitements ciblés (12). Pour pallier ce problème, des recherches sont en cours afin de les co-cultiver avec des cellules non épithéliales. Cependant, un défi persiste dans la reproduction du microenvironnement, le quartier immédiat d'une cellule où elle effectue ses activités et interagit avec son environnement. Dans certains cas, il peut être difficile de maintenir leur culture sur le long terme. De plus, les organoïdes cancéreux (tumoroïdes) ont parfois un développement plus lent, ce qui peut entraîner une surreprésentation des cellules saines. Ensuite, les composants du milieu de culture peuvent également influencer les résultats des tests de médicaments. (6) Enfin, la collection limitée d'organoïdes engendre un manque de diversité au niveau des caractères génétiques, réduisant la capacité à identifier les marqueurs moléculaires de la réponse aux médicaments. Ceci provoque une diminution de la puissance statistique, c'est-à-dire une baisse de la fiabilité des résultats, et une restriction dans les analyses effectuées (8).

Pour finir, l'utilisation des organoïdes ouvre à de nombreuses perspectives dans la recherche médicale, la pharmacologie, et bien d'autres domaines. Il s'agit là d'un outil puissant pour des applications multiples et devrait continuer à contribuer de manière significative à la compréhension des processus biologiques et au développement de nouvelles thérapies. Et ce, notamment dans le cas de la thérapie cancéreuse personnalisée en vue d'améliorer le taux de survie, tant pour le cancer colorectal que pour d'autres types de cancers. Cependant, l'utilisation des organoïdes est coûteuse et donc non accessible à grande échelle.

Bibliographie :

1. Klimeck L, Heisser T, Hoffmeister M, Brenner H. Colorectal cancer: A health and economic problem. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2023 Oct 1;66:101839.
2. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Nov 5;1:15065.
3. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer*. 2018 Jul;18(7):407–18.
4. Siegel RL, Wagle NS, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*. 2023;73(3):233–54.
5. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018 Feb 23;359(6378):920–6.
6. Xu H, Lyu X, Yi M, Zhao W, Song Y, Wu K. Organoid technology and applications in cancer research. *Journal of Hematology & Oncology*. 2018 Sep 15;11(1):116.
7. Yao Y, Xu X, Yang L, Zhu J, Wan J, Shen L, et al. Patient-Derived Organoids Predict Chemoradiation Responses of Locally Advanced Rectal Cancer. *Cell Stem Cell*. 2020 Jan 2;26(1):17-26.e6.

8. van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, Bounova G, Iorio F, Pronk A, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*. 2015 May 7;161(4):933–45.
9. Lee W, Lee JH, Jun S, Lee JH, Bang D. Selective targeting of KRAS oncogenic alleles by CRISPR/Cas9 inhibits proliferation of cancer cells. *Sci Rep*. 2018 Aug 8;8(1):11879.
10. Li XL, Zhou J, Chen ZR, Chng WJ. p53 mutations in colorectal cancer- molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*. 2015 Jan 7;21(1):84–93.
11. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*. 1991 Aug 9;66(3):589–600.
12. Liu J, Huang X, Huang L, Huang J, Liang D, Liao L, et al. Organoid: Next-Generation Modeling of Cancer Research and Drug Development. *Front Oncol*. 2022 Jan 28;11:826613.
13. Sato T, Stange DE, Ferrante M, Vries RGJ, Van Es JH, Van den Brink S, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology*. 2011 Nov;141(5):1762–72.
14. Wensink GE, Elias SG, Mullenders J, Koopman M, Boj SF, Kranenburg OW, et al. Patient-derived organoids as a predictive biomarker for treatment response in cancer patients. *NPJ Precis Oncol*. 2021 Apr 12;5(1):30.