

► La récente émergence des cultures d'organoïdes tumoraux, ou tumoroides, a permis d'enrichir le répertoire des modèles précliniques en oncologie. Très proches de la tumeur dont elles dérivent, ces microtumeurs offrent de nombreuses possibilités en termes de recherche fondamentale, telles que l'étude de la carcinogenèse ou de la chimiorésistance, de validation préclinique de nouvelles molécules à visée anticancéreuse, ou encore de personnalisation des traitements. Divers développements techniques et l'enrichissement des tumoroides par l'addition d'autres types cellulaires sont actuellement en cours pour améliorer la pertinence de ces modèles et exploiter de façon optimale leur remarquable potentiel. ◀

Modèles cellulaires en oncologie : vers des modèles 3D toujours plus complexes et plus pertinents

Depuis l'établissement en 1951 de la première lignée cellulaire (HeLa) à partir d'un échantillon de cancer du col de l'utérus [1, 56] (→), les cellules de lignées tumorales cultivées en monocouche ont constitué des outils importants permettant de faire progresser la connaissance de la biologie des cancers et le développement de molécules en vue de nouveaux traitements. Bien que leur capacité à mimer certaines caractéristiques de la maladie de façon pertinente soit critiquée et critiquable, les lignées cellulaires sont encore très largement utilisées dans les laboratoires de recherche. Cependant, leur dérive génétique, observée au fur et à mesure de leur réplication lors de leur culture *in vitro*, les éloigne fréquemment de la situation réelle des tumeurs humaines [2]. Leur capacité à reproduire *in vitro* les interactions cellulaires multiples et à utiliser les différents gradients moléculaires existant *in vivo* (oxy-

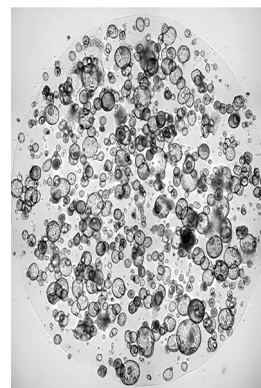
(→) Voir la Chronique génomique de B. Jordan, *m/s* n° 12, décembre 2021, page 1189

Organoïdes (12)

Une série animée par Thierry Jouault

Les tumoroides, modèles précliniques en plein essor pour l'oncologie

Lucie Thorel^{1,2*}, Romane Florent^{1-3*},
Marion Perréard^{1,2*}, Audrey Vincent⁴,
Laurent Poulain^{1-3**}, Louis-Bastien Weiswald^{1-3**}



¹Normandie université, UNICAEN, Inserm U.1086 ANTICIPE, Unité de recherche interdisciplinaire pour la prévention et le traitement des cancers, Caen, France.

²UNICANCER, Centre de lutte contre le cancer F. Baclesse, Caen, France.

³Normandie université, UNICAEN, Structure fédérative Normandie oncologie, Unité de services PLATON, Plateforme ORGAPRED, Caen, France.

⁴Université de Lille, CHU Lille, CNRS, Inserm, UMR9020-U.1277 - CANTHER, *Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies*, Lille, France.

*Ces auteurs ont contribué à parts égales à ce travail
**Co-derniers auteurs

lb.weiswald@baclesse.unicancer.fr
l.poulain@baclesse.unicancer.fr

gène, nutriments, et métabolites) est également altérée, conduisant *in fine* à des modifications importantes de processus cellulaires tels que l'activation des voies de signalisation intracellulaires, l'adhérence, la mécano-transduction, la prolifération et la réponse aux traitements anticancéreux.

C'est dans ce contexte que les scientifiques ont cherché à maintenir ou à recréer la complexité des tumeurs par différentes approches de culture tridimensionnelle (3D). Le modèle des sphéroïdes a ainsi été proposé au début des années 1970 par des radiobiologistes [3]. Ces structures sphériques très compactes, qui peuvent atteindre plus de 1 mm de diamètre, sont obtenues principalement à partir de lignées cellulaires, en prévenant l'adhérence des cellules tumorales à leur support de culture par différentes méthodes (systèmes rotatifs de culture, utilisation de substrats anti-adhésifs, etc.) afin que celles-ci s'agrègent entre elles [4]. D'autres approches de cultures de cellules tumorales en 3D ont ensuite fait leur apparition, parmi lesquelles les explants tumoraux obtenus à partir de coupes épaisses (ou de tranches) de tissus cancéreux issus de pièces opératoires [5], les sphéroïdes organotypiques obtenus à partir de fragments tumoraux prélevés de patients et cultivés en conditions non adhérentes [6], les tumorosphères générées à partir de

Vignette : Tumoroides ovariens en dôme de matrice (© Émilie Brotin, plateforme ImpedanCell, Caen).

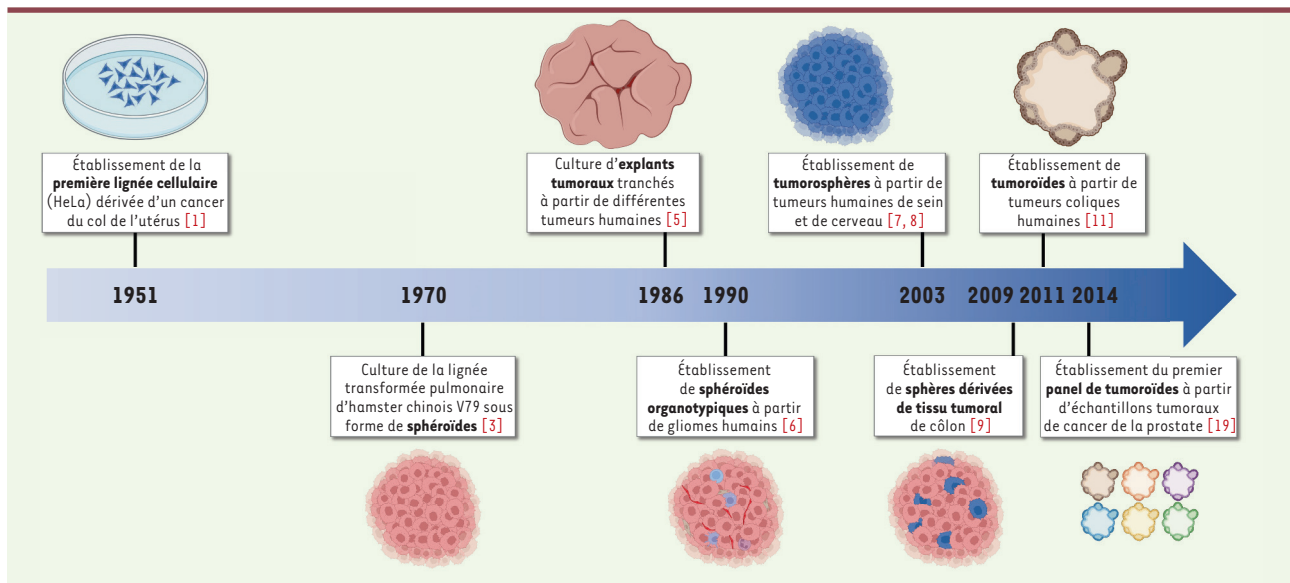


Figure 1. Représentation chronologique du développement des modèles cellulaires en oncologie.

l'auto-renouvellement des cellules initiatrices de tumeurs [7, 8], ou encore les sphères tumorales obtenues à partir de tissu tumoral partiellement dissocié [9]. Chacun de ces modèles a présenté néanmoins des limites (maintien en culture limité dans le temps, absence de prolifération, faible taux de succès d'établissement) qui expliquent leur utilisation disparate dans les laboratoires à travers le monde (Figure 1). Depuis une dizaine d'années, l'émergence des cultures d'organoïdes tumoraux, ou tumoroides, a progressivement constitué une révolution dans la culture 3D en oncologie. À l'origine, les conditions de culture ont été optimisées afin de permettre à des cellules souches adultes « normales » de s'auto-organiser en 3D, notamment grâce à leurs propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, et de reproduire ainsi *in vitro* la micro-anatomie de leur organe d'origine et certaines de ses fonctions. En 2009, le laboratoire de Hans Clevers (au Hubrecht Institute for Developmental Biology and Stem Cell Research aux Pays-Bas), pionnier dans ce domaine, a montré qu'une seule cellule souche intestinale exprimant le récepteur LGR5 (*leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5*), isolée de souris, pouvait reformer, en culture, une structure et une diversité cellulaire similaires à celles des cryptes et des villosités de l'épithélium intestinal [10]. Les principes développés par Hans Clevers ont depuis été adaptés à de nombreux organes d'origine humaine (foie, intestin, côlon, cerveau, thyroïde, rein, pancréas, poumons, thymus, trompes de Fallope, etc.) ou animale. Ces principes ont également pu être appliqués plus tard avec succès à de nombreux types de tumeurs, dont le cancer du côlon [11], conduisant à l'établissement d'une variété de lignées de tumoroides d'origine diverse [12]. Proches de la tumeur d'origine, en termes histologiques et moléculaires, les tumoroides conservent l'hétérogénéité cellulaire présente dans le fragment tumoral dont ils sont issus, et sont susceptibles d'être utilisés à des fins de recherche comme à des fins prédictives dans le cadre de la médecine de précision.

Dans cette revue, nous présentons une vision d'ensemble des différents aspects de la production de ces tumoroides, leur utilisation et leur intérêt à des fins de recherche et/ou de soin, et les défis qui y sont associés.

Obtention des tumoroides

Les organoïdes tumoraux sont générés par la culture tridimensionnelle de cellules tumorales de patients issues de biopsies, de pièces opératoires ou de fluides biologiques (ascite, sang, etc.) [13, 14]. L'établissement d'organoïdes à partir de tissus cancéreux nécessite une première étape de dissociation mécanique et/ou enzymatique permettant l'obtention d'une suspension de cellules isolées ou de petits agrégats. Les cellules sont ensuite incluses dans une matrice extracellulaire (différents types de matrices commerciales ou expérimentales peuvent être utilisées) et cultivées dans un milieu enrichi en facteurs de croissance et en inhibiteurs de voies de signalisation dont la nature diffère selon l'origine du tissu initial afin de permettre le développement des tumoroides [14] (Figure 2). Deux voies de signalisation sont essentielles à la croissance de la plupart des types de tumoroides : la voie de l'EGFR (*epidermal growth factor receptor*), qui favorise la prolifération des cellules cancéreuses et qui nécessite la supplémentation en EGF dans le milieu de culture, et la stimulation de la voie Wnt, via l'ajout de R-spondine-1 et de Wnt3a, agonistes des récepteurs LGR (*leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor*) et *Frizzled*, et de son co-récepteur LRP (*low-density lipoprotein receptor-related protein*). Cette voie est

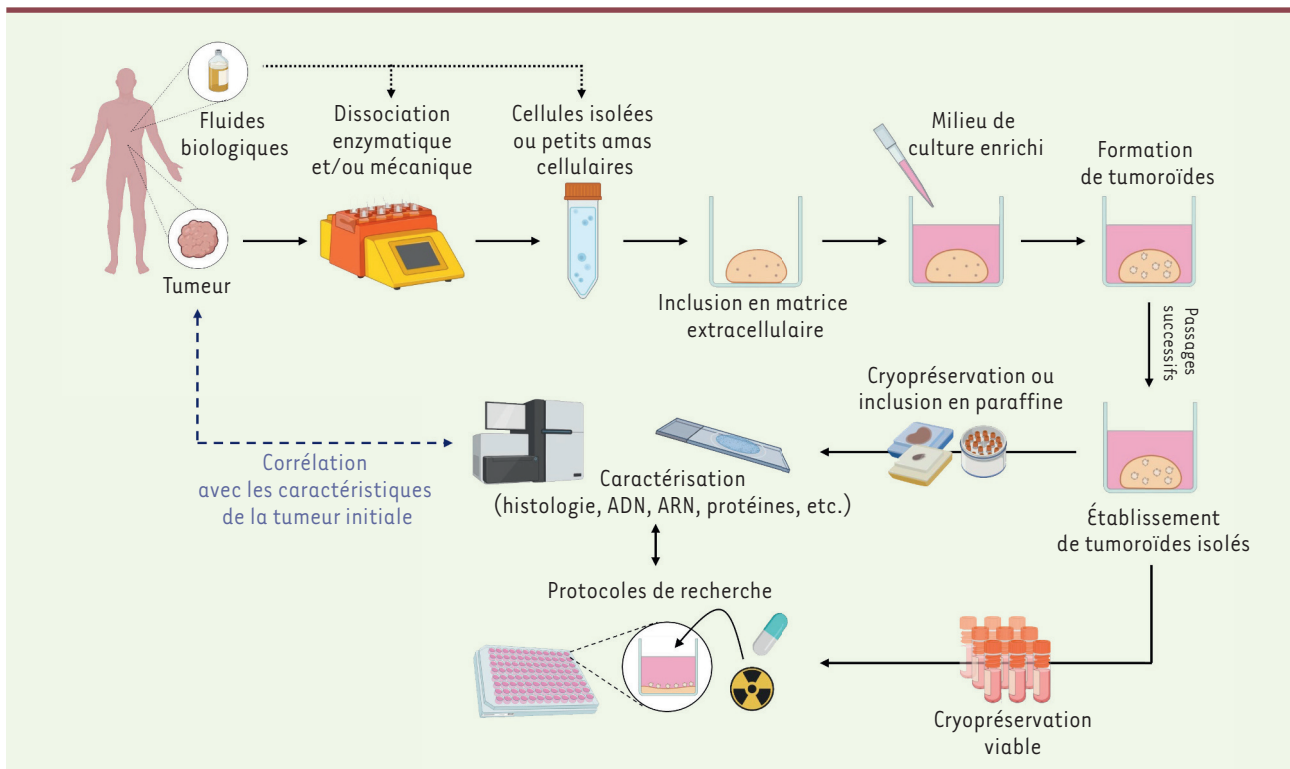


Figure 2. Représentation schématique des différentes étapes de production et d'utilisation des organoïdes tumoraux à visée de recherche.

impliquée dans le contrôle de nombreux processus, tels que la prolifération, l'adhérence ainsi que la différenciation cellulaire, via la stabilisation d'un co-facteur de transcription, la β -Caténine [13, 15]. Le choix des composants des milieux de culture de tumoroïdes est guidé par de nombreux protocoles déjà établis, mais des expérimentations complémentaires restent nécessaires pour identifier la composition optimale pour certains sous-types histologiques. Les tumoroïdes ainsi formés peuvent ensuite être dissociés et réensemencés afin de les amplifier pour les besoins expérimentaux. Ils peuvent également être cryopréservés en vue de leur remise en culture ultérieure. La création de biobanques (*biobanking*) de tumoroïdes offre ainsi la possibilité de disposer de collections biologiques de grande ampleur, utiles à de nombreuses applications en recherche aussi bien fondamentale que clinique [13].

Les tumoroïdes peuvent également être établis à partir de cellules souches pluripotentes, induites ou embryonnaires, ou de cellules souches spécifiques de tissus, après qu'elles aient subi des altérations tumorigènes par génie génétique [16]. Il est aussi possible de générer des tumoroïdes à partir d'organoïdes normaux ayant subi une édition de leur génome. Ces modèles sont notamment utilisés pour l'étude des processus de carcinogenèse [17].

Des tumoroïdes issus de tumeurs variées

Les premiers organoïdes normaux ont été établis à partir de cellules intestinales murines [10]. Le protocole de culture décrit par Sato *et al.* a ensuite été utilisé pour la culture d'organoïdes humains issus

de cellules de côlon, de foie, de pancréas ou de sein, par exemple. Son utilisation a ensuite été étendue et adaptée à la culture d'organoïdes tumoraux, dans un premier temps d'origine digestive et, par la suite, issus d'autres cancers [18]. Ainsi, des tumoroïdes dérivés d'origines cancéreuses diverses, telles que le cancer colorectal, du poumon, du pancréas ou encore du sein, de l'ovaire et de la prostate, ont été établis par différents laboratoires [12]. Il est important de noter que le taux d'établissement des lignées de tumoroïdes varie considérablement selon la localisation tumorale, allant de moins de 20 % pour les cancers de la prostate [19] à environ 60 % pour les cancers ovariens [20] et jusqu'à plus de 90 % pour les cancers du côlon [21]. L'amélioration de ce taux nécessite une adaptation des conditions de culture. Une optimisation de la composition des milieux de culture et/ou du type de matrice extracellulaire utilisée, ou encore la concentration en oxygène (normoxie/hypoxie), est nécessaire pour atteindre un taux d'établissement proche de 100 %, requis, en particulier, pour les applications cliniques. Ces optimisations sont réalisées au fur et à mesure de l'avancée des connaissances.

L'un des avantages des tumoroïdes est leur proximité avec la tumeur dont ils dérivent. Ils sont en effet comparables en termes d'histologie [22], de génétique [23] ou de transcriptomique [24], de façon relativement

stable dans le temps, ce qui n'est pas le cas des lignées cellulaires établies à partir de cellules cancéreuses [20]. Il faut cependant considérer que, comme tout prélèvement tumoral réalisé à des fins diagnostiques ou prédictives, les tumoroides ne représentent que la fraction tumorale dont ils sont issus. Ainsi, si l'hétérogénéité du fragment prélevé est bien conservée lors de l'établissement des tumoroides, il n'est pas exclu que d'autres caractéristiques moléculaires présentes dans une autre partie de la tumeur puissent être perdues, ce qui montre l'importance du prélèvement dans le processus.

Tumoroides : quelles applications en oncologie ?

Recherche fondamentale et applications mécanistiques

En dépit de leur développement encore récent, les organoïdes et les tumoroides sont de plus en plus utilisés au sein de la communauté scientifique à des fins de recherche fondamentale en oncologie (Figure 3). Les organoïdes « normaux » ont montré leur intérêt pour modéliser les étapes de la carcinogenèse dans plusieurs types de tumeurs, dont le cancer du côlon [25], le cancer du sein [26] ou le cancer du pancréas [27]. Afin de les transformer en tumoroides, ces organoïdes « normaux » ont subi différentes altérations génétiques à l'aide de la technique CRISPR/Cas9 : inactivation de gènes suppresseurs de tumeur (*TP53* [tumor protein 53], *PTEN* [phosphatase and tensin homolog] ou *APC* [adenomatous polyposis coli]) ou activation d'oncogènes (comme *KRAS* [*V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*]). L'inhibition de l'expression de gènes par des approches d'ARN interférence dans des lignées de tumoroides a par ailleurs révélé l'implication de *SIRT5* (sirtuin 5) dans le cancer du pancréas [28] et d'*ARGLU1* (Arginine and glutamate-rich 1) dans les cancers gastriques [29]. Les modèles de tumoroides peuvent se révéler pertinents pour mimer l'évolution génomique de la tumeur. C'est ainsi que certaines altérations génétiques qui apparaissent au cours de la culture des tumoroides issus de cellules de cancer de la vessie sont retrouvées au cours de l'évolution de la tumeur *in vivo* [30].

L'étude des mécanismes de résistance aux traitements anti-cancéreux est un domaine privilégié pour l'utilisation des tumoroides. Ils reproduisent en effet les réponses de la tumeur d'origine observées en clinique. Les mécanismes de résistance aux thérapies conventionnelles et ciblées sont dynamiques et séquentiels. Ils impliquent des modifications phénotypiques réversibles, tels que des mécanismes de sénescence transitoire [31], de reprogrammation métabolique [32], des modifications épigénétiques [33], ou encore une transition épithélio-mésenchymateuse [34] et/ou des changements mutationnels irréversibles [35]. Ces processus sont difficilement observables chez les patients. Ils nécessitent en effet une multiplication des prélèvements au cours de la prise en charge thérapeutique qui se révèle souvent inenvisageable. Les tumoroides permettent de suivre la séquence d'acquisition de la résistance et d'identifier les mécanismes mis en jeu de façon reproductible et plus pertinente encore que la culture 3D en sphéroïdes [36]. Par des techniques d'imagerie couplées à des systèmes de capture, les tumoroides présentant des réponses différentes peuvent être analysés séparément, ce qui permet d'évaluer l'impact du traitement sur l'hétérogénéité cel-

lulaire, et réciproquement, l'impact de l'hétérogénéité cellulaire sur le traitement.

Plusieurs stratégies ont récemment été adoptées afin d'étudier les mécanismes de résistance grâce aux organoïdes tumoraux. L'une d'entre elles consiste à comparer, d'un point de vue moléculaire, des tumoroides issus de patients traités par une chimiothérapie néoadjuvante à des tumoroides issus de tumeurs naïves de tout traitement, cela afin d'identifier des voies de signalisation qui pourraient être les cibles de biothérapies [37]. Une autre stratégie développée est de dériver des tumoroides à partir de xénotreffes de tumeurs de patients réalisées chez la souris, traitées par chimiothérapie afin d'étudier plusieurs paramètres non mesurables *in vivo*, comme la sécrétion de vésicules extracellulaires [38]. Ainsi, nous avons récemment développé un modèle d'acquisition de la résistance au FOLFIRINOX, une combinaison de chimiothérapies¹, à partir de tumoroides dérivés d'un adénocarcinome pancréatique [39]. Nous avons évalué, tout au long du processus d'acquisition, un ensemble de paramètres : production d'espèces réactives de l'oxygène, cassures double brin de l'ADN, apoptose, profils mutationnels, caractère souche. Cela a permis l'identification d'étapes clés dans l'acquisition de la résistance au FOLFIRINOX et de mesurer le caractère réversible des mécanismes de résistance mis en place suite au traitement. Enfin, nous avons montré que les organoïdes tumoraux étaient un excellent modèle de maladie résiduelle, une autre facette de la résistance au traitement.

Identification de molécules actives et/ou de nouvelles cibles

L'établissement de tumoroides issus de différents tissus cancéreux constitue un outil précieux pour tenter d'appréhender l'hétérogénéité des cancers. Les biobanques ainsi constituées sont essentielles pour identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques, pour orienter le développement de nouvelles molécules ou pour identifier de nouvelles utilisations pour des médicaments déjà existants (Figure 3).

Plusieurs laboratoires ont ainsi utilisé des collections de tumoroides afin de cribler des molécules thérapeutiques dans divers types de tumeurs. La faisabilité d'un tel criblage pharmacologique à haut débit a été démontrée par van de Wetering *et al.*, en 2015, en révélant l'association entre l'efficacité de plusieurs molécules (parmi 83 molécules testées) et des altérations génétiques de voies spécifiques ciblées, présentes dans différents

¹ FOL : acide folinique ; F : fluorouracile (5-FU) ; IRIN : irinotecan (Camptosar®) ; OX : oxaliplatine (Éloxatine®).

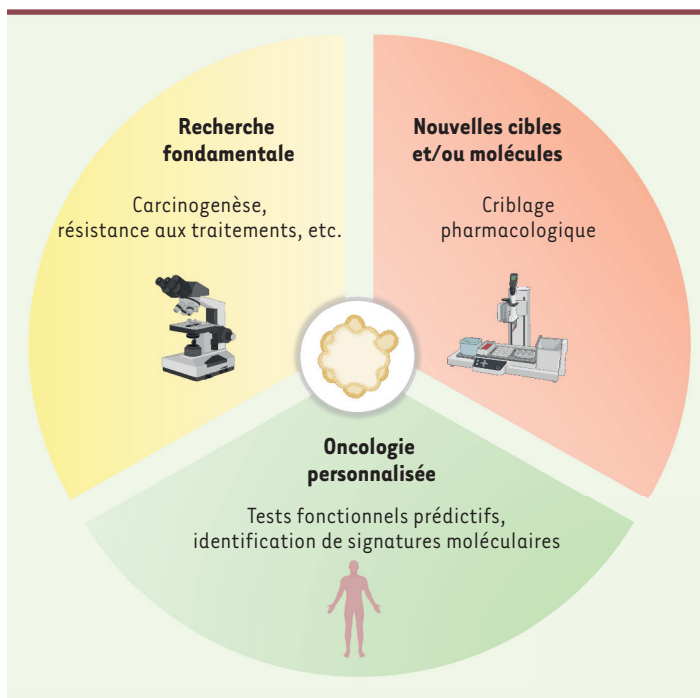


Figure 3. Domaines d'applications des tumorôides en oncologie.

organoïdes dérivés de cancers colorectaux [22]. Parmi les différentes études, citons le criblage d'une banque de molécules qui a permis d'identifier MTAP (*methylthioadenosine phosphorylase*) comme nouvelle cible dans le cancer du pancréas [40], et SIRT1 (*sirtuin 1*) dans les cancers de la vessie [41]. Dans une autre étude, les organoïdes de cancer gastrique ont été exposés à des molécules, notamment à des molécules utilisées dans des thérapies ciblées ayant déjà une indication pour d'autres cancers, et une réponse à certaines de ces molécules a pu être observée [42]. Sachs *et al.* ont par ailleurs évalué six molécules agissant *in vitro* sur la voie de signalisation HER (*human epidermal growth factor receptor*) : la majorité des tumorôides contenant des cellules surexprimant HER-2 (*human epidermal growth factor receptor-2*) se sont révélés être sensibles à ces molécules, les organoïdes tumoraux n'exprimant pas le récepteur HER-2 étant résistants. Néanmoins, certains tumorôides, exprimant pourtant HER-2, n'ont pas répondu, soulignant l'intérêt des tests fonctionnels pour évaluer (et prédire) la réponse aux traitements [24]. Driehuis *et al.* ont évalué 74 molécules, utilisées ou non en pratique clinique, sur un ensemble de 24 tumorôides pancréatiques et ont observé une sensibilité similaire, bien que variable, des tumorôides aux molécules ciblant les mêmes voies de signalisation [40]. Calandrini *et al.* ont utilisé six lignées d'organoïdes de tumeurs rhabdoïdes² pour tenter d'identifier, parmi 150 molécules, un traitement potentiellement efficace contre ces tumeurs pédiatriques rares qui restent actuellement sans option thérapeutique. Une molécule, agissant sur la neddylation (une modification post-traduction-

nelle³), a montré une efficacité sur toutes les lignées de tumorôides testées, suggérant que cette altération pourrait constituer une cible prometteuse, dont l'étude préclinique reste à poursuivre [43]. Notre équipe a utilisé des tumorôides ovariens pour évaluer l'effet antitumoral d'une combinaison d'un inhibiteur de Bcl-x_L et d'un inhibiteur de l'EGFR [44], ou d'un antagoniste des récepteurs α₁-adrénergiques [45]. Nous avons par ailleurs pu identifier la protéine UBE2N (*ubiquitin-conjugating enzyme E2 N*) comme une cible thérapeutique potentielle dans les cancers de l'ovaire, son inhibition sensibilisant plusieurs tumorôides à l'action du carboplatine [46].

En étant au plus proche de ses caractéristiques et en présentant une hétérogénéité similaire à celle de la tumeur d'origine, le modèle des tumorôides permet donc de cribler à haut débit les nombreuses options thérapeutiques émergentes, et potentiellement d'identifier les sous-types tumoraux qui pourraient préférentiellement en bénéficier. Il faut cependant préciser que le criblage à haut débit sur des modèles d'organoïdes est un processus particulièrement lourd, beaucoup plus complexe, chronophage et coûteux que le criblage sur lignées cellulaires. Il sera donc nécessaire, pour le généraliser, d'en préciser l'intérêt (ce qui est en cours dans les laboratoires concernés) et d'évoluer dans la mesure du possible vers l'automatisation des processus de culture, de traitement et d'analyse.

Oncologie de précision : tests fonctionnels prédictifs et signatures moléculaires

Si les modèles d'organoïdes dérivés de tumeurs ont un intérêt dans le domaine de la recherche fondamentale, le criblage pharmacologique ou l'évaluation de nouvelles stratégies thérapeutiques en développement, ils peuvent également présenter, à terme, un intérêt direct pour les patients desquels ils sont dérivés. De nombreuses équipes s'intéressent en effet à la possibilité de réaliser des tests fonctionnels évaluant la réponse des tumorôides de patients à divers traitements, conventionnels comme innovants, pour orienter le traitement en fonction de la réponse obtenue (principe du « chimiogramme »). Les tumorôides peuvent également permettre l'identification de signatures moléculaires prédictives, en particulier dans le contexte du développement de nouveaux médicaments, et donc présenter un intérêt majeur dans la mise en place de prises en charge personnalisées en oncologie.

² Les tumeurs rhabdoïdes sont des sarcomes agressifs qui se développent dans certains tissus mous notamment au niveau des reins, du foie ou des nerfs.

³ Une modification post-traductionnelle des protéines par un polypeptide appelé NEDD8 (*neural precursor cell expressed, developmentally downregulated 8*), suivant un mécanisme très semblable à celui de l'ubiquitination.

La communauté scientifique et médicale tente ainsi de faire la preuve de l'intérêt prédictif de divers tests fonctionnels réalisés sur les tumoroïdes : il s'agit de comparer les résultats de ces tests fonctionnels (tests d'exposition directe aux molécules anticancéreuses ou à la radiothérapie, tests de réparation de l'ADN, etc.) avec la réponse clinique des patients (→). Nous détaillerons ces aspects dans une prochaine revue.

(→) Ces aspects sont détaillés dans la synthèse de M. Perréard et al., page 888 de ce numéro.

De nombreux enjeux et défis à venir pour une exploitation optimale du potentiel des tumoroïdes, en recherche comme en clinique

Les enjeux techniques

Si des progrès fulgurants ont pu être réalisés ces dernières années sur la mise au point des conditions de culture des organoïdes dérivés de tumeurs comme des organoïdes dérivés de tissus normaux, de nombreux défis techniques doivent encore être relevés, en particulier pour permettre l'utilisation des tumoroïdes dans un contexte clinique. Outre les nécessaires ajustements qui devront être réalisés pour standardiser les protocoles à toutes les étapes de la culture, du traitement ou des analyses, les enjeux concernent principalement l'établissement de tumoroïdes à partir de certains types tumoraux (en particulier les sarcomes [47]), le contrôle des conditions de culture (milieux et matrices synthétiques ou naturelles, mais parfaitement contrôlées), l'accélération des procédés de culture et de traitement pour les tests fonctionnels prédictifs, l'accès à l'imagerie 3D haute performance, ou encore la mise en place de protocoles de culture à haut débit.

Le développement d'équipements permettant, par exemple, l'automatisation de la culture ou du traitement des tumoroïdes, le tri d'organoïdes entiers, la culture microfluidique avec des débits élevés, etc., fait l'objet de recherches permanentes et mobilise les communautés de biologistes et de physiciens qui travaillent de concert sur ces problématiques. Il s'agit en particulier de réduire les quantités de tumoroïdes nécessaires, ce qui permettra d'augmenter le nombre de tests (évaluation d'un plus grand nombre de molécules par exemple), et de diminuer le temps d'analyse pour l'obtention des résultats (ce qui est particulièrement important dans le cadre d'une utilisation clinique).

Les dispositifs miniaturisés de microfluidique, permettant, à terme, de travailler sur des organoïdes isolés (*single organoid*) pour des analyses moléculaires et fonctionnelles, mais également des analyses d'imagerie, sont particulièrement attendus. Ces dispositifs offrent la possibilité de contrôler précisément et de manière dynamique les flux de nutriments, d'oxygène et de déchets. Ils permettent ainsi d'obtenir de façon reproductible des organoïdes de haute qualité [48].

Pour progresser, en particulier dans l'évaluation préclinique et la recherche pharmacologique, ces dispositifs doivent autoriser également l'accès à l'utilisation de modèles plus complexes, tels que la co-culture compartimentée de différents types cellulaires, la « vascularisation », ou encore la co-culture de divers types d'organoïdes normaux et tumoraux (approches dites « *organoid-on-chip*, *tumor-on-chip*, *organ-on-chip* » [49, 50]).

La complexification des modèles

Les organoïdes tumoraux, tels qu'ils sont majoritairement utilisés aujourd'hui, permettent d'accéder à de nombreuses informations : leur organisation architecturale, leur hétérogénéité, leurs caractéristiques moléculaires ou leur réponse à divers traitements (avec une cohérence avec la réponse observée en clinique qui, progressivement, se confirme). Cependant, certaines limites de ces modèles et/ou de leurs conditions de culture actuelles ne permettent pas de répondre à toutes les questions scientifiques et médicales qui se posent. Ainsi, avec les modèles « simples » de tumoroïdes, qui n'intègrent pas de cellules immunitaires, il n'est pas possible d'évaluer la réponse aux traitements d'immunothérapie. Il n'est pas possible non plus de rendre compte de l'influence d'autres cellules sur la réponse de la tumeur, comme par exemple, sa modulation par les fibroblastes associés au cancer ou par les macrophages [51]. Cependant, à l'instar de ce que proposent les co-cultures de sphéroïdes tumoraux avec différents types cellulaires [52, 53], les tumoroïdes peuvent être enrichis avec les composants du stroma tumoral, ce qui permet de se rapprocher du contexte *in vivo*, d'autant qu'il est possible de disposer et d'utiliser des cellules stromales isolées du même patient (dites autologues). Les tumoroïdes peuvent alors être co-cultivés avec des fibroblastes associés au cancer ou des cellules immunitaires, telles que des macrophages et/ou des lymphocytes T [54]. Une culture à interface air-liquide, permet ainsi de générer les tumoroïdes tout en conservant la composante immune et les fibroblastes pendant plus d'un mois après la dissociation et la mise en culture de la tumeur [55].

Ces modèles enrichis sont particulièrement utiles pour certaines études, mais cela suppose de modifier les pratiques de l'établissement des collections biologiques lors de la préparation des tumoroïdes, puisqu'il est alors important de conserver, dans la mesure du possible, les cellules stromales présentes lors de la dissociation de la tumeur, ou de prélever des cellules immunitaires autologues au moment du prélèvement tumoral, et de les conserver dans l'attente de leur utilisation ultérieure. C'est une logistique plus lourde en termes organisationnels comme règlementaires, mais c'est aussi une opportunité remarquable d'ouvrir le champ des possibles pour les applications (cliniques en particulier) sur les tumoroïdes.

Conclusion

Les organoïdes, comme les tumoroïdes, représentent une véritable révolution, tant pour les chercheurs que

pour les cliniciens, dans des domaines aussi variés que la médecine réparatrice, la toxicologie, ou le développement de molécules thérapeutiques et l'oncologie de précision. Cet énorme potentiel ne demande qu'à être exploité, mais de nombreux défis doivent encore être relevés pour mieux comprendre comment obtenir et maintenir ces tumoroides dérivés de tumeurs, comment accélérer les processus d'établissement et la réalisation de tests prédictifs, comment complexifier ces modèles en les enrichissant ou en les intégrant dans des dispositifs de co-culture. Compte-tenu des premiers résultats publiés et du nombre croissant d'équipes impliquées dans la recherche sur les tumoroides, il ne fait cependant désormais plus aucun doute que les tumoroides trouveront rapidement leur place, non seulement dans les protocoles de recherche fondamentale mais également dans le cadre d'une utilisation clinique à visée prédictive. ♦

SUMMARY

Patient-derived tumor organoids (or tumoroid), a growing preclinical model for oncology

The recent emergence of tumor organoid cultures, or tumoroids, has enriched the repertoire of preclinical models in oncology. These microtumors are obtained *in vitro* by including cells from patient tumor samples in an extracellular matrix and cultured in specific media. Very close to the tumor of origin, tumoroids can be amplified fairly rapidly from a small quantity of tissue, established with high success rate for most tumor types, easily genetically engineered, and stored in biobanks. Tumoroids thus offer numerous possibilities in terms of basic research, such as the study of carcinogenesis or mechanisms of chemoresistance, but also the identification of new targets and preclinical validation of new anti-cancer compounds or personalized medicine. Technological developments and enrichment of tumoroids with other cell types are currently ongoing to optimally exploit the full potential of these models. ♦

REMERCIEMENTS

Les projets ORGAPRED et ORGATHEREX sont cofinancés par l'Union européenne, la Région Normandie dans le cadre du programme opérationnel FEDER/FSE 2014-2020 et par l'État français dans le cadre du Contrat de plan État-Région Bas-Normand 2015-2020. Nous remercions la Ligue contre le cancer (Comité du Calvados), la fondation ARC pour la recherche sur le cancer, le Groupement des entreprises françaises dans la lutte contre le cancer (GEFLUC), le Fonds de dotation Patrick de Brou de Laurière, la Fondation de l'avenir, la Rochambelle, l'association Vaincrabe, les Lions clubs de Normandie, et l'association Solidarité don d'espoir pour leur soutien aux projets menés par nos équipes sur les organoïdes dérivés de tumeurs. Nous remercions nos tutelles, l'Inserm, l'Université de Caen Normandie et le Centre de lutte contre le cancer F. Baclesse, qui nous soutiennent dans la mise en place de ces activités. Nous remercions le Cancéropôle Nord-Ouest pour son soutien à la mise en place des plateformes ORGAPRED (sous la responsabilité de Laurent Poulain et Louis-Bastien Weiswald) et ORGARES (sous la responsabilité d'Audrey Vincent) dans le cadre du réseau inter-régional OrgaNO. Nous remercions le GIS IBISA qui accompagne nos plateformes, labélisées depuis janvier 2022, ainsi que le GDR CNRS « Organoïdes » auquel participent nos plateformes dans le cadre du réseau National des Plateformes

Organoïdes. Enfin, nous remercions tou(te)s les patient(e)s qui acceptent que leurs échantillons biologiques soient utilisés à des fins de recherche, permettant ainsi l'avancée de nos travaux vers une médecine de précision en oncologie.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Scherer WF, Syverton JT, Gey GO. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *J Exp Med* 1953; 97 : 695-710.
- Borrell B. How accurate are cancer cell lines? *Nature* 2010; 463 : 858.
- Sutherland RM, Inch WR, McCredie JA, Kruuv J. A multi-component radiation survival curve using an in vitro tumour model. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1970; 18 : 491-5.
- Weiswald LB, Bellet D, Dangles-Marie V. Spherical cancer models in tumor biology. *Neoplasia* 2015; 17 : 1-15.
- Freeman AE, Hoffman RM. In vivo-like growth of human tumors in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83 : 2694-8.
- Bjerkvig R, Tonnesen A, Laerum OD, Backlund EO. Multicellular tumor spheroids from human gliomas maintained in organ culture. *J Neurosurg* 1990; 72 : 463-75.
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63 : 5821-8.
- Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100 : 3983-8.
- Weiswald LB, Richon S, Validire P, et al. Newly characterised ex vivo colospheres as a three-dimensional colon cancer cell model of tumour aggressiveness. *Br J Cancer* 2009; 101 : 473-82.
- Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 2009; 459 : 262-5.
- Sato T, Stange DE, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology* 2011; 141 : 1762-72.
- Verduin M, Hoeben A, De Ruyscher D, Vooijs M. Patient-derived cancer organoids as predictors of treatment response. *Front Oncol* 2021; 11 : 641980.
- Xu H, Lyu X, Yi M, et al. Organoid technology and applications in cancer research. *J Hematol Oncol* 2018; 11 : 116.
- Driehuis E, Kretzschmar K, Clevers H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications. *Nat Protoc* 2020; 15 : 3380-409.
- Patel S, Alam A, Pant R, Chattopadhyay S. Wnt signaling and its significance within the tumor microenvironment: Novel therapeutic insights. *Front Immunol* 2019; 10 : 2872.
- Barbet V, Broutier L. Future match making: When pediatric oncology meets organoid technology. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9 : 674219.
- Fan H, Demirci U, Chen P. Emerging organoid models: Leaping forward in cancer research. *J Hematol Oncol* 2019; 12 : 142.
- Foo MA, You M, Chan SL, et al. Clinical translation of patient-derived tumour organoids- bottlenecks and strategies. *Biomark Res* 2022; 10 : 10.
- Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell* 2014; 159 : 176-87.
- Kopper O, de Witte CJ, Lohmusaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity. *Nat Med* 2019; 25 : 838-49.
- Fujii M, Shimokawa M, Date S, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. *Cell Stem Cell* 2016; 18 : 827-38.
- van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell* 2015; 161 : 933-45.
- Broutier L, Mastrogianni G, Versteegen MM, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med* 2017; 23 : 1424-35.

RÉFÉRENCES

24. Sachs N, de Ligt J, Kopper O, *et al.* A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell* 2018 ; 172 : 373-86 e10.
25. Drost J, van Jaarsveld RH, Ponsioen B, *et al.* Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. *Nature* 2015 ; 521 : 43-7.
26. Dekkers JF, Whittle JR, Vaillant F, *et al.* Modeling breast cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human breast organoids. *J Natl Cancer Inst* 2020 ; 112 : 540-4.
27. Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, *et al.* Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression. *Cell Stem Cell* 2018 ; 22 : 454-67 e6.
28. Hu T, Shukla SK, Vernucci E, *et al.* Metabolic rewiring by loss of Sirt5 promotes Kras-induced pancreatic cancer progression. *Gastroenterology* 2021 ; 161 : 1584-600.
29. Li F, Li J, Yu J, *et al.* Identification of ARGLU1 as a potential therapeutic target for gastric cancer based on genome-wide functional screening data. *EBioMedicine* 2021 ; 69 : 103436.
30. Lee SH, Hu W, Matulay JT, *et al.* Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer. *Cell* 2018 ; 173 : 515-28 e17.
31. Guillon J, Petit C, Toutain B, *et al.* Chemotherapy-induced senescence, an adaptive mechanism driving resistance and tumor heterogeneity. *Cell Cycle* 2019 ; 18 : 2385-97.
32. Germain N, Dhayer M, Boileau M, *et al.* Lipid metabolism and resistance to anticancer treatment. *Biology (Basel)* 2020 ; 9.
33. Strauss J, Figg WD. Epigenetic approaches to overcoming chemotherapy resistance. *Lancet Oncol* 2015 ; 16 : 1013-5.
34. El Amrani M, Corfiotti F, Corvaisier M, *et al.* Gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition-like changes sustain chemoresistance of pancreatic cancer cells of mesenchymal-like phenotype. *Mol Carcinog* 2019 ; 58 : 1985-97.
35. Fernandes M, Jamme P, Cortot AB, *et al.* When the MET receptor kicks in to resist targeted therapies. *Oncogene* 2021 ; 40 : 4061-78.
36. Sundar SJ, Shakya S, Barnett A, *et al.* Three-dimensional organoid culture unveils resistance to clinical therapies in adult and pediatric glioblastoma. *Transl Oncol* 2022 ; 15 : 101251.
37. Farshadi EA, Chang J, Sampadi B, *et al.* Organoids derived from neoadjuvant FOLFIRINOX patients recapitulate therapy resistance in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2021 ; 27 : 6602-12.
38. Huang L, Bockorny B, Paul I, *et al.* PDX-derived organoids model in vivo drug response and secrete biomarkers. *JCI Insight* 2020 ; 5.
39. Hadj Bachir E, Poiraud C, Paget S, *et al.* A new pancreatic adenocarcinoma-derived organoid model of acquired chemoresistance to FOLFIRINOX: First insight of the underlying mechanisms. *Biol Cell* 2022 ; 114 : 32-55.
40. Driehuis E, van Hoeck A, Moore K, *et al.* Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019.
41. Tan P, Wang M, Zhong A, *et al.* SRT1720 inhibits the growth of bladder cancer in organoids and murine models through the SIRT1-HIF axis. *Oncogene* 2021 ; 40 : 6081-92.
42. Yan HHN, Siu HC, Law S, *et al.* A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening. *Cell Stem Cell* 2018 ; 23 : 882-97 e11.
43. Calandrini C, van Hooff SR, Paassen I, *et al.* Organoid-based drug screening reveals neddylation as therapeutic target for malignant rhabdoid tumors. *Cell Rep* 2021 ; 36 : 109568.
44. Vernon M, Lambert B, Meryet-Figuere M, *et al.* Functional miRNA screening identifies wide-ranging antitumor properties of miR-3622b-5p and reveals a new therapeutic combination strategy in ovarian tumor organoids. *Mol Cancer Ther* 2020 ; 19 : 1506-19.
45. Florent R, Weiswald LB, Lambert B, *et al.* Bim, Puma and Noxa upregulation by Naftopidil sensitizes ovarian cancer to the BH3-mimetic ABT-737 and the MEK inhibitor Trametinib. *Cell Death Dis* 2020 ; 11 : 380.
46. Wambecke A, Ahmad M, Morice PM, *et al.* The lncRNA 'UCA1' modulates the response to chemotherapy of ovarian cancer through direct binding to miR-27a-5p and control of UBE2N levels. *Mol Oncol* 2021.
47. Colella G, Fazioli F, Gallo M, *et al.* Sarcoma spheroids and organoids-promising tools in the era of personalized medicine. *Int J Mol Sci* 2018 ; 19.
48. Kim SK, Kim YH, Park S, Cho SW. Organoid engineering with microfluidics and biomaterials for liver, lung disease, and cancer modeling. *Acta Biomater* 2021 ; 132 : 37-51.
49. Qu J, Kalyani FS, Liu L, *et al.* Tumor organoids: synergistic applications, current challenges, and future prospects in cancer therapy. *Cancer Commun (Lond)* 2021 ; 41 : 1331-53.
50. Liu L, Yu L, Li Z, *et al.* Patient-derived organoid (PDO) platforms to facilitate clinical decision making. *J Transl Med* 2021 ; 19 : 40.
51. Wang J, Chen C, Wang L, *et al.* Patient-derived tumor organoids: New progress and opportunities to facilitate precision cancer immunotherapy. *Front Oncol* 2022 ; 12 : 872531.
52. Lazzari G, Nicolas V, Matsusaki M, *et al.* Multicellular spheroid based on a triple co-culture: A novel 3D model to mimic pancreatic tumor complexity. *Acta Biomater* 2018 ; 78 : 296-307.
53. Huang YL, Shiau C, Wu C, *et al.* The architecture of co-culture spheroids regulates tumor invasion within a 3D extracellular matrix. *Biophys Rev Lett* 2020 ; 15 : 131-41.
54. Fiorini E, Veghini L, Corbo V. Modeling cell communication in cancer with organoids: Making the complex simple. *Front Cell Dev Biol* 2020 ; 8 : 166.
55. Neal JT, Li X, Zhu J, *et al.* Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell* 2018 ; 175 : 1972-88 e16.
56. Jordan B. Henrietta Lacks. *Med Sci (Paris)* 2021 ; 37 : 1189-93.

TIRÉS À PART

L.B. Weiswald



Correction de l'éditeur : **Organoïdes sécréteurs d'insuline : des « super-îlots » comme premier pas vers le pancréas bioartificiel**
<https://doi.org/10.1051/medsci/2020129>

Publié en ligne le 7 octobre 2020

Med Sci (Paris) 2020 ; 36 : 879-85.

Accès gratuit

Fanny Lebreton, Charles-Henri Wassmer, **Kevin Bellofatto**, Thierry Berney, Ekaterine Berishvili

■ La version initialement publiée contient (1) une erreur dans l'orthographe du nom de l'un des auteurs de l'article. Le nom correctement orthographié est Kevin Bellofatto et non Kevin Belofatto), erreur non signalée à l'éditeur lors de la relecture des épreuves de l'article, et (2) un oubli des auteurs de remercier le soutien financier de la Commission européenne dans le cadre du programme Horizon 2020 pour les travaux décrits dans l'article. Il faut donc lire avant le paragraphe Liens d'intérêt : « Remerciements : ce travail a été soutenu par une subvention de la Commission européenne dans le cadre du programme-cadre européen Horizon 2020 (*Horizon 2020 Framework Program, VANGUARD grant 874700*) »).

