



HAL
open science

Les organoïdes normaux et leurs applications dans la recherche sur le cancer

Frederic Delom, Valerie Le Morvan, Jacques Robert, Delphine Fessart

► **To cite this version:**

Frederic Delom, Valerie Le Morvan, Jacques Robert, Delphine Fessart. Les organoïdes normaux et leurs applications dans la recherche sur le cancer. Bulletin du Cancer, 2022, 109 (1), pp.58-64. 10.1016/j.bulcan.2021.11.004 . hal-03514507

HAL Id: hal-03514507

<https://hal.science/hal-03514507>

Submitted on 30 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Les organoïdes normaux et leurs applications dans la recherche sur le cancer

Normal organoids and their applications in cancer research

Frederic Delom¹, Valérie Le Morvan¹, Jacques Robert¹ and Delphine Fessart^{1,2,3}

¹ARTiSt group, Univ. Bordeaux, INSERM, Institut Bergonié, ACTION, U1218, F-33000 Bordeaux, France ; ²INSERM U1242, “Chemistry, Oncogenesis Stress Signaling”, Université Rennes 1, Rennes, France; ³Centre de Lutte Contre le Cancer Eugène Marquis, Rennes, France.

*Corresponding author: DF - E-mail: delphine.fessart@inserm.fr

Résumé

La culture tridimensionnelle (3D) des organoïdes à partir de cellules primaires (de type sauvage) et des tumoroïdes (d'origine tumorale) est utilisée pour l'étude et la compréhension des mécanismes physiologiques *in vivo*, afin de modéliser les tissus d'origine avec plus de précision que la culture bi-dimensionnelle classique (2D). Les caractéristiques de ce modèle, comme la structure tridimensionnelle, la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation, rendent les organoïdes et les tumoroïdes éminemment mieux adaptés à l'étude du cancer, apportant des caractéristiques cellulaires très proches des modèles *in vivo*. Nous résumons ici les avancées récentes dans le domaine des organoïdes, en constante évolution, et les applications de ces modèles à la biologie du cancer, à la recherche clinique et à la médecine de précision.

Abstract

Three-dimensional (3D) culture, of organoids from primary cells (wild type) or tumoroids from tumor cells, is used to study the physiological mechanisms *in vivo*, in order to model normal or tumor tissues more accurately than conventional two-dimensional (2D) culture. The features of this 3D culture, such as the three-dimensional structure, the self-renewal capacity and differentiation are preserved and appropriate to cancer study since their cellular characteristics are very similar to *in vivo* models. Here, we summarize the recent advances in the rapidly evolving field of organoids and their applications to cancer biology, clinical research and personalized medicine.

Mots clés : Organoïdes, cancer, modélisation, génétique.

Keywords : Organoids, cancer, modeling, genetics

Introduction

Au cours des dernières décennies, la recherche en cancérologie a essentiellement utilisé des modèles *in vitro* à partir de lignées cellulaires cancéreuses immortalisées et cultivées en deux dimensions (2D) ainsi que des modèles *in vivo* comme les xénogreffes et les animaux transgéniques [1, 2]. Bien que ces approches aient contribué à l'amélioration des connaissances, les modèles cellulaires tridimensionnels (3D) sont physiologiquement plus pertinents que les cultures en 2D et font mieux intervenir le microenvironnement tissulaire, les interactions cellulaires et les processus biologiques qui se déroulent *in vivo*.

Ces structures tridimensionnelles complexes, appelées organoïdes, sont conçues à partir d'une seule cellule cultivée dans un gel (Figure 1A). Dans un premier temps, cette cellule prolifère pour former une structure tri-dimensionnelle. Ensuite, commence le processus de différenciation avec le déclenchement de la mort cellulaire (apoptose) au centre pour former le lumen (cavité), puis une polarisation des cellules et une diversification des sous-types cellulaires. In fine, on obtient un organoïde différencié dans lequel on retrouve plusieurs sous-types cellulaires. Ces organoïdes possèdent ainsi plusieurs caractéristiques parmi lesquelles : (i) ils conservent l'identité de l'organe, (ii) ils contiennent plusieurs types cellulaires contenus dans le tissu d'origine, (iii) ils préservent certaines des propriétés physiologiques du tissu et (iv) ils ont une architecture proche de l'organe dont ils sont issus [3, 4]. Dans un modèle pulmonaire [5], nous avons ainsi pu observer, dans un organoïde cultivé 20 jours, le développement d'une organisation anatomique proche des structures retrouvées dans l'arbre bronchique (Figure 2A), ainsi que la présence de différents sous-types cellulaires (Figure 2B). De plus, parmi les propriétés des tissus primaires dont ils sont issus, ils conservent, au moins partiellement, la capacité à s'auto-renouveler, à se différencier, ou encore à activer les voies de signalisation. Une fois établis, les organoïdes peuvent être maintenus en culture beaucoup plus longtemps qu'un fragment tissulaire comme une biopsie ; ils peuvent être amplifiés, cryo-conservés et manipulés génétiquement de la même manière que les lignées cellulaires standard en 2D. De nos jours cette méthode de culture est largement utilisée en cancérologie, et il existe de nombreux exemples pour la plupart des organes et des tumeurs, tels que la glande mammaire [6], les reins [7], les poumons [5], le foie [8], le pancréas [8], la prostate [9], les intestins [10], etc. Pour les cellules cancéreuses, si la même méthodologie de culture est appliquée, on forme des tumoroïdes (Figure 1B). Même si l'on observe la présence de différents sous-types cellulaires, le tumoroïde, contrairement à l'organoïde, n'a pas la capacité à former un lumen, ni à se polariser, et présente un profil de croissance hyper prolifératif (Figure 1B).

En tant que tels, les organoïdes permettent de mieux comprendre la complexité du vivant car ils combinent l'acquisition d'une architecture 3D avec la différenciation des organismes observée dans les modèles *in vivo*. De plus, à partir de biopsies de cancer, nous avons montré, comme d'autres auteurs, que les tumoroïdes (organoïdes tumoraux obtenus à partir des cellules cancéreuses) et les organoïdes (obtenus à partir des cellules primaires non cancéreuses) représentaient un modèle *in vitro* fiable des tumeurs dérivées du patient pour établir de nouveaux traitements personnalisés des cancers [5, 11]. En utilisant cette méthode, la caractérisation des organoïdes et tumoroïdes nous a permis de montrer que l'organisation épithéliale et les fonctions physiologiques étaient préservées dans les organoïdes et tumoroïdes [5, 11]. Ainsi, les organoïdes et les tumoroïdes, dans lesquels l'hétérogénéité cellulaire des tissus normaux ou tumoraux est préservée, apparaissent comme un outil très prometteur en particulier en situation préclinique, pour le dépistage et la prédiction de la réponse des patients à des approches thérapeutiques ciblées. Ces dernières années ont connu une croissance exponentielle de l'utilisation des organoïdes issus de cellules humaines primaires pour remplacer les lignées cellulaires 2D, afin de modéliser *in vitro* les processus biologiques, y compris la physiologie, la biologie des cellules souches et également le processus d'oncogénèse.

Modélisation du cancer dans les organoïdes

La manipulation génétique des organoïdes offre une opportunité unique de modéliser l'initiation et la progression des tumeurs humaines d'une manière identique à la situation *in situ* afin de mimer les processus oncogéniques. Pour étudier la fonction d'un oncogène ou d'un gène suppresseur de tumeur (GST) *in vitro*, on utilise généralement des lignées cellulaires transformées cultivées en 2D ; cependant, en raison de la faible complexité phénotypique des modèles 2D, cela empêche parfois le déclenchement de l'oncogenèse et masque les propriétés des oncogènes. Il en est de même dans les modèles animaux où une manipulation génétique est souvent nécessaire pour évaluer les effets de l'activation des oncogènes et de la perte des GST. En revanche, la manipulation expérimentale d'oncogènes dans les organoïdes fournit une méthode attrayante pour l'étude de l'initiation tumorale dans des cellules normales possédant un profil génétique non muté, produisant ainsi un modèle hybride combinant à la fois le respect de l'architecture tissulaire, la présence de cellules souches et la possibilité d'une différenciation cellulaire. Cette modélisation du cancer à partir d'un organoïde obtenu de cellules primaires permet de combiner à la fois des approches génétiques et fonctionnelles appliquées à la cancérologie (Figure 3).

Modélisation des gènes contribuant à l'oncogenèse dans les organoïdes

La découverte qu'une multitude de gènes, est généralement activé dans une même tumeur, et cela dans toutes les collections de tumeurs explorées, ne permet pas de savoir comment se sont enclenchés les processus initiaux conduisant au développement tumoral. La transformation *in vitro* d'organoïdes intestinaux adultes normaux en adénocarcinomes a apporté la preuve de l'intérêt de ce modèle dans l'étude de la compréhension de l'oncogenèse [12]. Pour cela, des organoïdes intestinaux ont été générés à partir de souris transgéniques adultes portant la mutation G12D du gène *Kras* (*Kras*^{G12D}), la perte de p53 ou les deux. En se basant sur les travaux de Fearon *et al* [13], les auteurs ont montré que les organoïdes primaires murins de côlon nécessitaient des mutations combinatoires des gènes *Apc*, *Tp53*, *Kras* (G12D) et *Smad4*, pour leur transformation en adénocarcinomes invasifs *in vivo*. Par la suite, deux autres études indépendantes utilisant des organoïdes de côlon humain ont obtenu des adénocarcinomes par une approche CRISPR reproduisant les altérations courantes retrouvées dans les cancers du côlon, notamment *APC*^{-/-}, *KRAS*^{G12V/D}, *SMAD4*^{-/-}, *PIK3CA*^{E545K} et *TP53*^{-/-} [14, 15]. Les organoïdes du côlon avec des quadruples mutations se sont développés *in vivo* lorsqu'ils ont été implantés par voie sous-cutanée dans les souris, confirmant ainsi la transformation oncogénique.

Depuis, les manipulations génétiques dans les organoïdes ont rapidement progressé jusqu'à obtenir de nombreuses tumeurs solides différentes. La délétion ou l'activation de gènes par la méthode CRISPR/Cas9 à partir d'organoïdes humains a permis la conversion oncogénique des tissus normaux humains gastriques [16], pancréatiques [17, 18], œsophagiens [19], mammaires [20], hépatiques [21] ou pulmonaires [22]. La conversion *in vitro* d'organoïdes gastriques et pancréatiques normaux de souris en adénocarcinomes a été obtenue par la suppression de *Tp53* et l'activation de *Kras*^{G12D} par mutation G12D dans les organoïdes, induisant ainsi une oncogenèse *in vivo* reproduisant les caractéristiques tumorales progressivement acquises telles que la desmoplasie et l'activation de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) [12]. La délétion de *TP53* ou de *CDH1* confère à des organoïdes gastriques humains un phénotype de cancer gastrique diffus [16]. Les organoïdes pancréatiques hébergeant quatre mutations oncogéniques pilotes, concernant *KRAS*^{G12V}, *CDKN2A*, *TP53* et *SMAD4*, ressemblent histologiquement à des lésions de type PanIN (néoplasies intra-épithéliales non invasives) et à des adénocarcinomes canaux pancréatiques invasifs (PDAC) [17, 18]. Les organoïdes œsophagiens normaux dépourvus du gène *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) développent rapidement une morphologie précancéreuse analogue à celle de syndrome de Barrett [19]. De même, des organoïdes mammaires modifiés portant des mutations dans quatre gènes suppresseurs de tumeurs *TP53*, *PTEN*, *RB1* et *NF1*, reproduisent l'oncogenèse mammaire [20]. À l'avenir, davantage de recherches portant sur la manière dont on parvient à convertir des organoïdes en tumoroïdes (organoïdes cancéreux) pourraient conduire à de nouvelles stratégies thérapeutiques contre certaines formes de cancer et ainsi offrir un panel d'applications pour le traitement individualisé des cancers (Figure 3A).

Les organoïdes comme outil de génomique fonctionnelle pour la découverte d'oncogènes

Une application potentielle significative des organoïdes est la validation fonctionnelle de nouvelles altérations oncogéniques (Figure 3B). De nombreux exemples existent : l'expression des allèles mutants de *Rhoa* dans les organoïdes gastriques murins a montré que *Rhoa*^{Y42C} agit comme un oncogène par l'activation de la kinase d'adhésion focale dans le cancer gastrique diffus [23]. Les organoïdes hépatiques transformés par CRISPR/Cas9 ont validé la fonction d'un gène suppresseur de tumeur jusqu'alors non caractérisé, *BAP1*, dans l'oncogenèse hépatique [21]. Dans le poumon, nous avons montré que l'addition exogène d'une protéine *AGR2* (*Anterior gradient 2*) est suffisante pour convertir les organoïdes en tumoroïdes et conférer aux cellules des capacités invasives [22]. Ainsi, la mutation ou l'expression de l'oncogène test ou du suppresseur de tumeur test dans les organoïdes

permet d'observer l'apparition de phénotypes cancéreux et par la même de valider fonctionnellement de nouvelles altérations oncogéniques.

Les organoïdes humains modifiés fournissent également des modèles exploitables pour l'étude fonctionnelle des interactions entre génotype et phénotype des cancers. Grâce au *Cancer Genome Atlas* (TCGA), quatre sous-types distincts de cancer gastrique ont été caractérisés au niveau moléculaire : ceux liés au virus d'Epstein-Barr (EBV), ceux présentant une instabilité microsatellitaire (MSI), une instabilité chromosomique (CIN) ou étant génomiquement stables (GS) [24]. La délétion CRISPR/Cas9 de *CDH1* et de *RHOA* dans les organoïdes gastriques humains a provoqué des changements morphologiques importants et des caractéristiques migratoires analogues à celles des cancers gastriques diffus [16]. Ainsi, de nombreux modèles de tumeurs pertinents, porteurs de mutations spécifiques, ont été établis à l'aide d'approches génétiques réalisées dans des organoïdes, permettant l'évaluation fonctionnelle d'un petit nombre d'altérations génétiques couramment observées dans les échantillons de tumeurs des patients.

Étudier l'évolution génomique des tumeurs

Le succès de l'établissement d'organoïdes à partir de tissus normaux permet l'expansion de clones dérivés à partir de cellules uniques (Figure 3C), augmentant ainsi la fidélité du séquençage du génome entier et l'extension aux approches multi-omiques, pour examiner les processus mutationnels dans le tissu normal induits par des approches tel que CRISPR, ou encore par l'utilisation des médicaments.

Des études génomiques ont permis d'identifier, par séquençage du génome entier dans des glandes coliques normales, des signatures mutationnelles et des mutations pilotes [25]. De la même manière, l'évolution clonale dans le cancer du sein a été évaluée par séquençage d'ADN sur cellule unique [26]. Le séquençage du génome entier d'organoïdes clonaux de souris à partir de glandes gastriques, coliques ou prostatiques a révélé, parmi les clones individuels, des signatures mutationnelles distinctes. Une approche similaire a montré que les cellules souches adultes humaines (ASC) accumulaient environ 36 mutations par an, mais présentaient des taux de renouvellement et des processus mutationnels spécifiques de chaque tissu [27].

Des études analogues de la transformation génétique oncogénique d'organoïdes humains peuvent permettre d'étudier la dynamique génétique responsable de l'initiation et de la progression des tumeurs. La perte d'*APC* et de *TP53* dans les organoïdes du côlon stimule une ségrégation anormale des chromosomes et une aneuploïdie importante, suggérant que l'instabilité

chromosomique, qui est une caractéristique de la progression tumorale, exerce une force motrice clé [15]. L'accumulation de la charge mutationnelle totale a été rapidement observée après la perte de l'expression de *MLH1*, un gène clé de la réparation des lésions de l'ADN, dans les organoïdes coliques [28]. Ces études ont permis d'étudier l'évolution des tumeurs dans les organoïdes humains.

Modélisation des cellules souches cancéreuses avec les organoïdes

Le suivi (traçage) *in vivo* de lignées cellulaires dans des modèles murins modifiés est un outil puissant pour étudier les propriétés des cellules souches dans les tissus de mammifères adultes (Figure 1D) [29]. De même, le traçage de la lignée et l'analyse clonale dans les organoïdes constituent une stratégie parallèle pour étudier les cellules souches cancéreuses humaines [30, 31]. Cette stratégie de traçage de lignées cellulaires de souris a été appliquée à des organoïdes humains pour démontrer l'activité des cellules souches cancéreuses [31, 32]. Les cellules cancéreuses colorectales humaines LGR5(+) servent de traceur pour les cellules souches dans les tissus cancéreux en croissance. Des expériences de traçage de lignées avec un allèle knock-in, Cre-inductible, de LGR5 par le tamoxifène, révèlent la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation des cellules tumorales LGR5(+) [32]. De manière inattendue, la délétion spécifique des cellules souches LGR5(+) dans les tumeurs conduit à une régression tumorale, suivie d'une repousse tumorale entraînée par des cellules souches LGR5(+) ré-émergentes, montrant une plasticité importante. En effet d'autres types de cellules sont capables de reconstituer la population de cellules souches LGR5(+). De façon surprenante, dans une étude parallèle sur des souris transgéniques [33], l'ablation des cellules souches LGR5(+) n'a pas induit de régression tumorale primaire. Toutefois, la formation et le maintien des métastases hépatiques dérivées du cancer du côlon ont été réduits, suggérant que le ciblage des cellules souches LGR5(+) pourrait éradiquer sélectivement les métastases du cancer du côlon. Chez l'homme, il reste difficile de savoir si les cellules LGR5(+) sont de bons marqueurs de cellules souches dans les métastases du cancer du côlon humain, car l'expression de LGR5 est régulée à la baisse [33]. L'analyse implicite des cellules souches cancéreuses dans les organoïdes pose la question de la nature de la cellule d'origine dans les divers cancers. En effet, une transformation oncogénique réussie d'organoïdes en tumoroïdes à partir d'une lignée spécifique peut représenter une preuve à première vue qu'une population donnée sert de cellules d'origine pour le cancer qui en dérive.

Conclusions et Perspectives

Les technologies de culture d'organoïdes ont rapidement prouvé leur intérêt pour la recherche en cancérologie. Cependant, malgré des études prometteuses, à ce jour, de nombreux défis demeurent. Bien que les caractéristiques cellulaires soient souvent préservées lors des passages précoces, la composition génétique de la cellule d'origine en raison de la dérive génétique, tout comme la sélection clonale et de l'évolution des cellules lors des différents passages en culture ainsi que les cycles de congélation, n'est pas toujours bien documentée. Des mises en garde similaires s'appliquent également aux manipulations génétiques du tissu normal. En effet, des différences dans les cellules apparemment normales en ce qui concerne la longueur des télomères ou l'état génétique et épigénétique des cellules, pourraient potentiellement influencer le phénotype observé. Une autre limitation importante de ces méthodes de culture conventionnelles d'organoïdes est l'absence du stroma endogène associé aux composants de la tumeur, en particulier les cellules immunitaires et les fibroblastes. Ainsi, le développement de systèmes d'organoïdes plus « holistiques » représentant le microenvironnement tumoral est une nécessité urgente. Finalement, les cultures d'organoïdes incorporant des composants immunitaires et d'autres composants du stroma pourraient ouvrir de nouvelles perspectives de recherche notamment en immuno-oncologie. À ce jour, le criblage de petites molécules dans les organoïdes a été limité à de modestes panels et les approches futures pourraient élargir le criblage de molécules à vocation thérapeutique grâce à l'utilisation d'approches à haut débit.

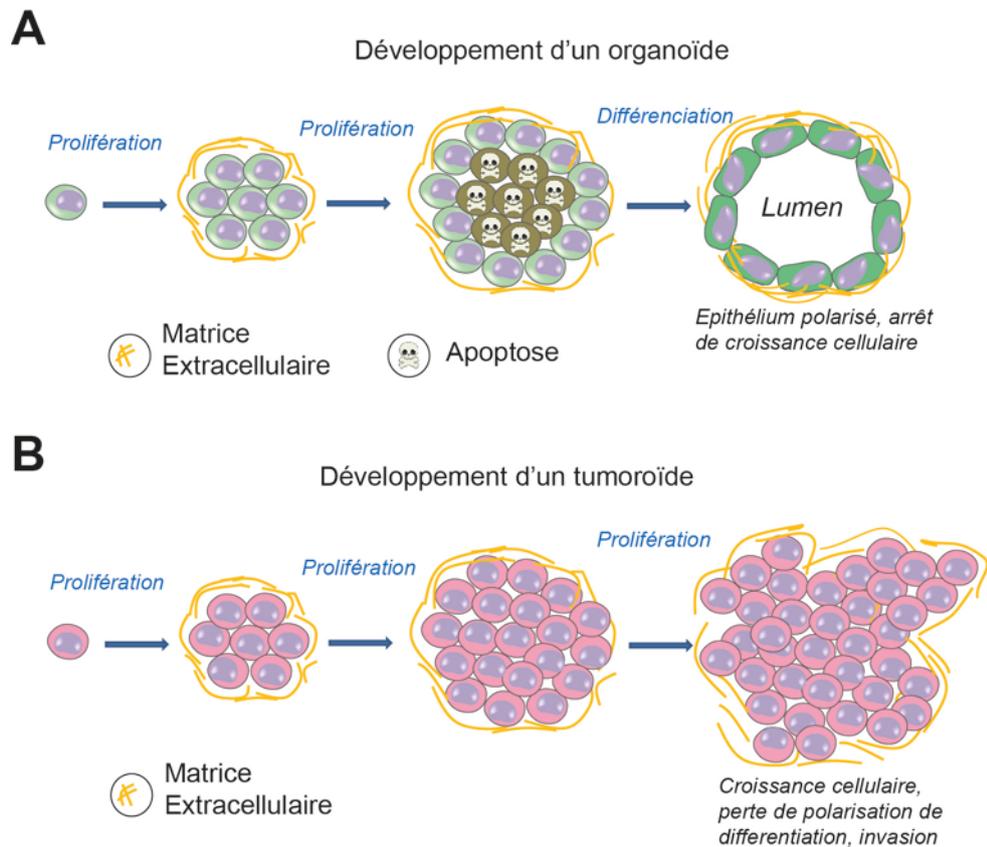


Figure 1- Développement d'un Organoïde et d'un Tumoroïde

(A), Représentation schématique de la formation d'un organoïde. Dans ce modèle, l'organoïde est conçu à partir d'une seule cellule épithéliale. Cette cellule va proliférer et former une structure tri-dimensionnelle. Un processus de différenciation va alors se déclencher et aboutir à une structure creuse en son centre (lumen), polarisée et constituée de différents sous-types cellulaires, que l'on appelle organoïde. Les cellules, au sein de cette structure, peuvent rétablir des contacts mutuels et des microenvironnements spécifiques qui leur permettent d'exprimer un phénotype semblable à un tissu. (B), Représentation schématique de la formation d'un tumoroïde. Le tumoroïde est conçu à partir d'une seule cellule cancéreuse épithéliale. Cette cellule cancéreuse va proliférer et former une structure tri-dimensionnelle. Cette structure est pleine, non polarisée et constituée de différents sous-types cellulaires, que l'on appelle tumoroïde. Les différentes cellules cancéreuses, constituant cette structure, peuvent rétablir des contacts mutuels et des microenvironnements spécifiques qui leur permettent d'exprimer un phénotype semblable à une tumeur.

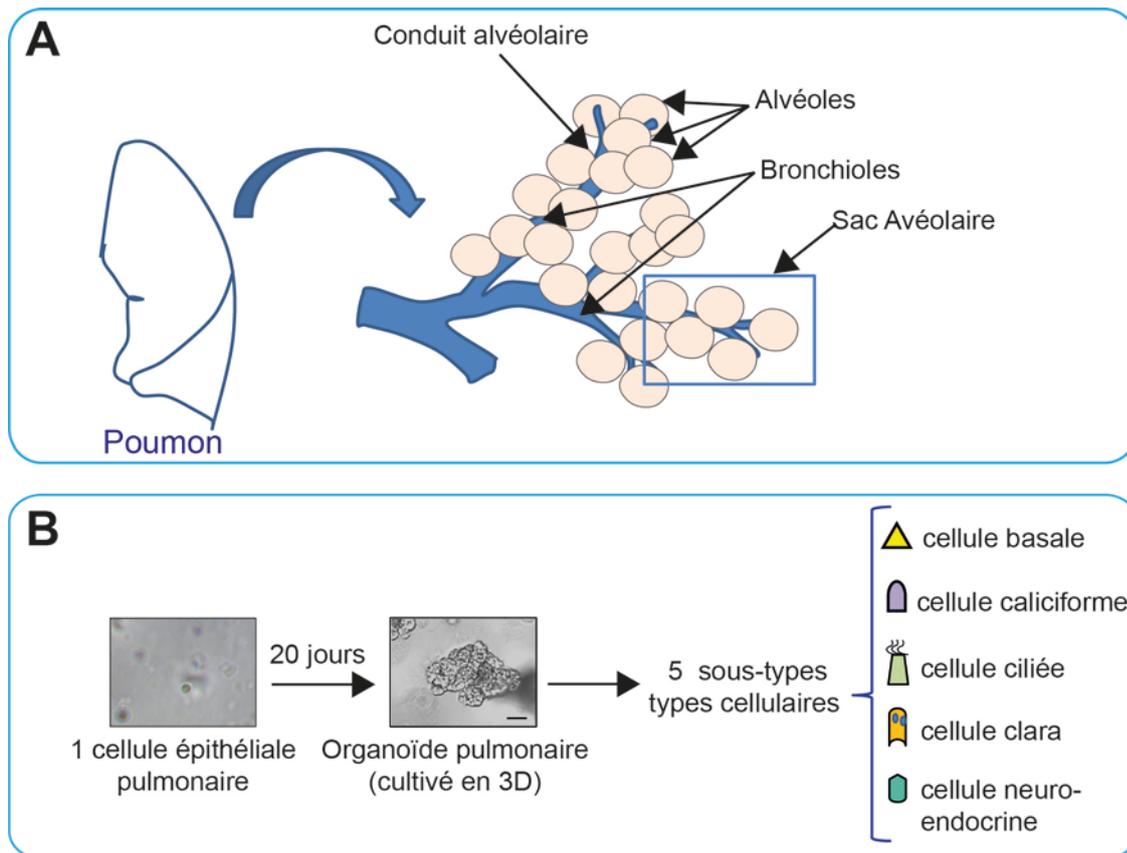


Figure 2. L'organisation de l'arbre bronchique comparée à l'organoïde bronchique.

(A), Représentation schématique de la terminaison de l'arbre respiratoire qui est constitué d'alvéoles et de bronchioles (sac alvéolaire). (B), Représentation d'un organoïde de 20 jours de culture, qui reforme un « sac alvéolaire ». Ces alvéoles et bronchioles se sont développées à partir d'une seule cellule épithéliale pulmonaire, qui a eu la capacité de se différencier en différents sous-types et ainsi permettre la formation des différentes structures anatomiques de terminaison de l'arbre bronchique.

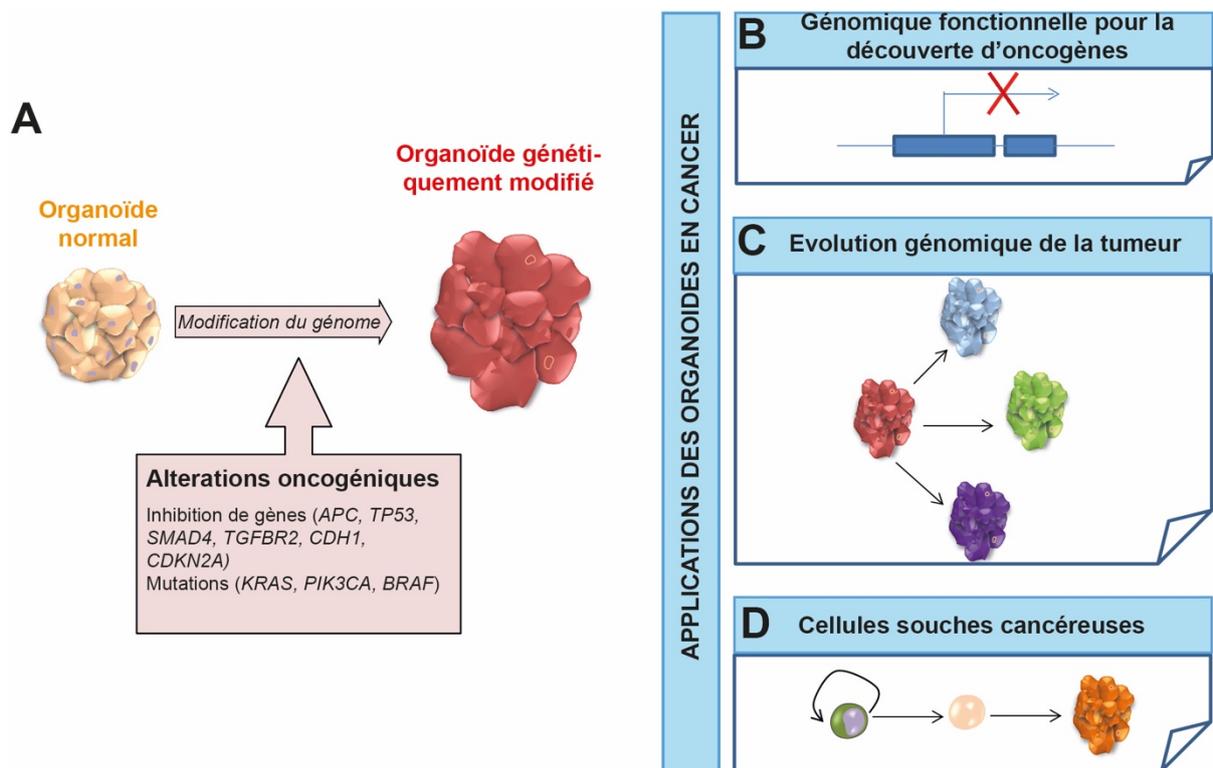


Figure 3 - Modélisation du cancer dans les organoïdes normaux.

(A), Les organoïdes tissulaires normaux (de type « sauvage ») peuvent être modifiés génétiquement afin de modéliser l'initiation, et l'évolution dans le développement du cancer. (B), La mutation ou l'expression d'un oncogène ou d'un GST potentiel dans les organoïdes permet de vérifier l'apparition ou non de phénotypes cancéreux et de ce fait de caractériser de nouvelles altérations oncogéniques. (C), Les clones individuels peuvent évoluer avec des signatures mutationnelles distinctes afin d'étudier l'évolution génomique de la tumeur. (D), le traçage de la lignée et l'analyse clonale dans les organoïdes représentent une stratégie prometteuse pour étudier les cellules souches cancéreuses humaines.

Références bibliographiques

1. Hait WN. Anticancer drug development: the grand challenges. *Nature reviews Drug discovery* 2010 Apr;9(4):253-4.
2. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V *et al.* Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS medicine* 2010 Mar 30;7(3):e1000245.
3. Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 2014 Jul 18;345(6194):1247125.
4. Lancaster MA, Huch M. Disease modelling in human organoids. *Disease models & mechanisms* 2019 Jul 29;12(7).
5. Fessart D, Begueret H, Delom F. Three-dimensional culture model to distinguish normal from malignant human bronchial epithelial cells. *The European respiratory journal* 2013 Nov;42(5):1345-56.
6. Rosenbluth JM, Schackmann RCJ, Gray GK, Selfors LM, Li CM, Boedicker M *et al.* Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages. *Nature communications* 2020 Apr 6;11(1):1711.
7. Homan KA, Gupta N, Kroll KT, Kolesky DB, Skylar-Scott M, Miyoshi T *et al.* Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids in vitro. *Nature methods* 2019 Mar;16(3):255-62.
8. Broutier L, Andersson-Rolf A, Hindley CJ, Boj SF, Clevers H, Koo BK *et al.* Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation. *Nature protocols* 2016 Sep;11(9):1724-43.
9. Puca L, Bareja R, Prandi D, Shaw R, Benelli M, Karthaus WR *et al.* Patient derived organoids to model rare prostate cancer phenotypes. *Nature communications* 2018 Jun 19;9(1):2404.
10. Fujii M, Matano M, Toshimitsu K, Takano A, Mikami Y, Nishikori S *et al.* Human Intestinal Organoids Maintain Self-Renewal Capacity and Cellular Diversity in Niche-Inspired Culture Condition. *Cell stem cell* 2018 Dec 6;23(6):787-93 e6.
11. Delom F, Begiristain I, Grenier T, Begueret H, Soulet F, Siegfried G *et al.* Patients Lung Derived Tumoroids (PLDTs) to model therapeutic response. *Biochimica et biophysica acta Molecular cell research* 2020 Nov;1867(11):118808.
12. Li X, Nadauld L, Ootani A, Corney DC, Pai RK, Gevaert O *et al.* Oncogenic transformation of diverse gastrointestinal tissues in primary organoid culture. *Nature medicine* 2014 Jul;20(7):769-77.
13. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990 Jun 1;61(5):759-67.
14. Matano M, Date S, Shimokawa M, Takano A, Fujii M, Ohta Y *et al.* Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. *Nature medicine* 2015 Mar;21(3):256-62.
15. Drost J, van Jaarsveld RH, Ponsioen B, Zimmerlin C, van Boxtel R, Buijs A *et al.* Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. *Nature* 2015 May 7;521(7550):43-7.
16. Nanki K, Toshimitsu K, Takano A, Fujii M, Shimokawa M, Ohta Y *et al.* Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis. *Cell* 2018 Aug 9;174(4):856-69 e17.
17. Lee J, Snyder ER, Liu Y, Gu X, Wang J, Flowers BM *et al.* Reconstituting development of pancreatic intraepithelial neoplasia from primary human pancreas duct cells. *Nature communications* 2017 Mar 8;8:14686.
18. Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, Tamagawa H, Toshimitsu K, Fujii M *et al.* Human Pancreatic Tumor Organoids Reveal Loss of Stem Cell Niche Factor Dependence during Disease Progression. *Cell stem cell* 2018 Mar 1;22(3):454-67 e6.
19. Liu X, Cheng Y, Abraham JM, Wang Z, Wang Z, Ke X *et al.* Modeling Wnt signaling by CRISPR-Cas9 genome editing recapitulates neoplasia in human Barrett epithelial organoids. *Cancer letters* 2018 Nov 1;436:109-18.

20. Dekkers JF, Whittle JR, Vaillant F, Chen HR, Dawson C, Liu K *et al.* Modeling Breast Cancer Using CRISPR-Cas9-Mediated Engineering of Human Breast Organoids. *Journal of the National Cancer Institute* 2020 May 1;112(5):540-4.
21. Artegiani B, van Voorthuijsen L, Lindeboom RGH, Seinstra D, Heo I, Tapia P *et al.* Probing the Tumor Suppressor Function of BAP1 in CRISPR-Engineered Human Liver Organoids. *Cell stem cell* 2019 Jun 6;24(6):927-43 e6.
22. Fessart D, Domblides C, Avril T, Eriksson LA, Begueret H, Pineau R *et al.* Secretion of protein disulphide isomerase AGR2 confers tumorigenic properties. *eLife* 2016 May 30;5.
23. Zhang H, Schaefer A, Wang Y, Hodge RG, Blake DR, Diehl JN *et al.* Gain-of-Function RHOA Mutations Promote Focal Adhesion Kinase Activation and Dependency in Diffuse Gastric Cancer. *Cancer discovery* 2020 Feb;10(2):288-305.
24. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014 Sep 11;513(7517):202-9.
25. Lee-Six H, Olafsson S, Ellis P, Osborne RJ, Sanders MA, Moore L *et al.* The landscape of somatic mutation in normal colorectal epithelial cells. *Nature* 2019 Oct;574(7779):532-7.
26. Wang Y, Waters J, Leung ML, Unruh A, Roh W, Shi X *et al.* Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature* 2014 Aug 14;512(7513):155-60.
27. Blokzijl F, de Ligt J, Jager M, Sasselli V, Roerink S, Sasaki N *et al.* Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life. *Nature* 2016 Oct 13;538(7624):260-4.
28. Drost J, van Boxtel R, Blokzijl F, Mizutani T, Sasaki N, Sasselli V *et al.* Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. *Science* 2017 Oct 13;358(6360):234-8.
29. Kretzschmar K, Watt FM. Lineage tracing. *Cell* 2012 Jan 20;148(1-2):33-45.
30. Cortina C, Turon G, Stork D, Hernando-Momblona X, Sevillano M, Aguilera M *et al.* A genome editing approach to study cancer stem cells in human tumors. *EMBO molecular medicine* 2017 Jul;9(7):869-79.
31. Shimokawa M, Ohta Y, Nishikori S, Matano M, Takano A, Fujii M *et al.* Visualization and targeting of LGR5(+) human colon cancer stem cells. *Nature* 2017 May 11;545(7653):187-92.
32. Sugimoto S, Ohta Y, Fujii M, Matano M, Shimokawa M, Nanki K *et al.* Reconstruction of the Human Colon Epithelium In Vivo. *Cell stem cell* 2018 Feb 1;22(2):171-6 e5.
33. de Sousa e Melo F, Kurtova AV, Harnoss JM, Kljavin N, Hoeck JD, Hung J *et al.* A distinct role for Lgr5(+) stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature* 2017 Mar 29;543(7647):676-80.

Remerciements

Nous remercions chaleureusement les membres du groupe ARTiSt pour leurs remarques et critiques. Ce travail a été soutenu par la Fondation ARC pour la recherche sur le cancer et par le Site de recherche intégrée sur le cancer de Bordeaux (SIRIC Brio) (FD). Ce travail a été soutenu par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) (DF).

Conflits d'intérêts

Aucuns