

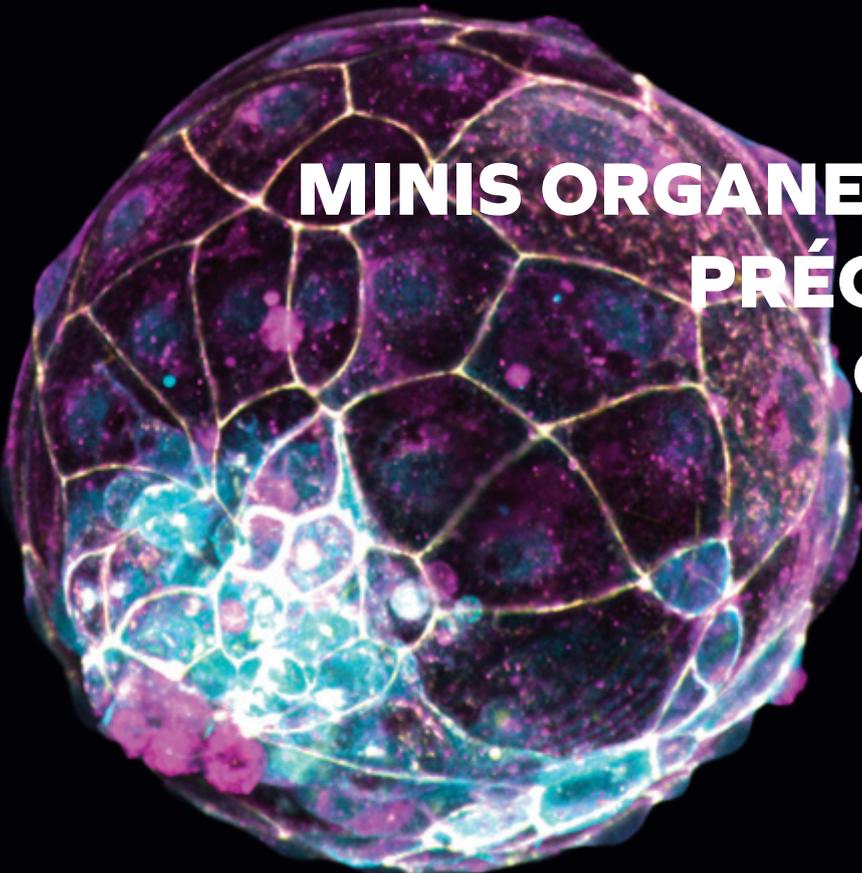


ACADÉMIE
DES SCIENCES
INSTITUT DE FRANCE

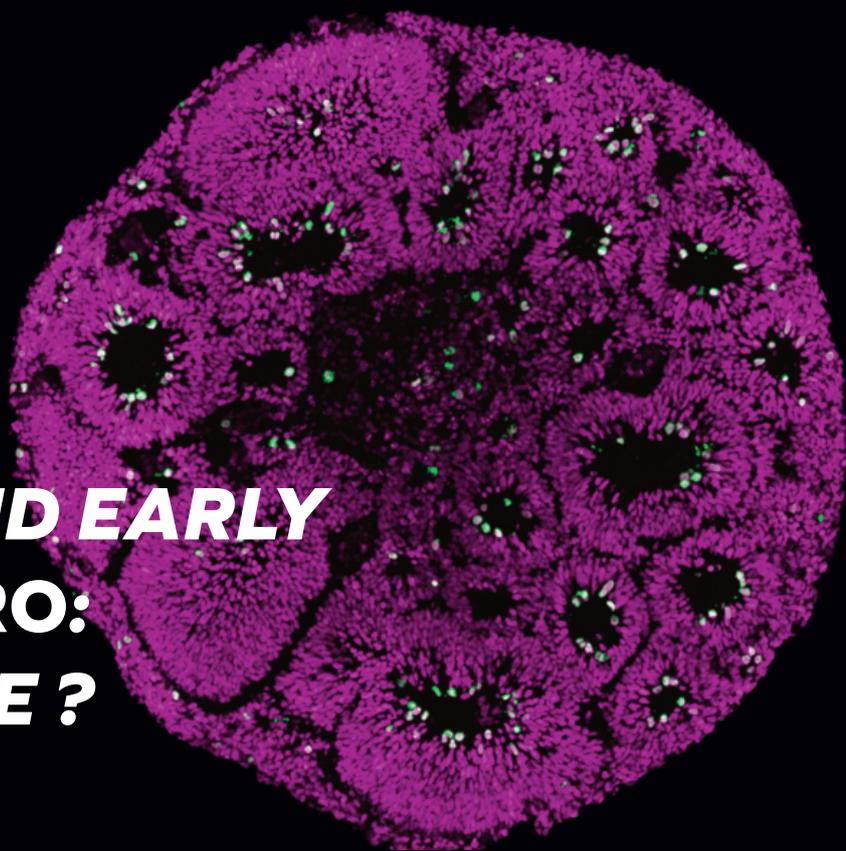
RÉSUMÉS DU COLLOQUE

Grande salle des séances
Institut de France
23, quai de Conti - 75006 Paris

12 NOVEMBRE 2024 de 14h30 à 18h15



MINIS ORGANES ET EMBRYONS PRÉCOCES *IN VITRO* : QUELS ENJEUX ?



MINI-ORGANS AND EARLY EMBRYOS IN VITRO: WHAT IS AT STAKE ?

RÉSUMÉS DES INTERVENANTS

MINI ORGANES ET EMBRYONS PRÉCOCES *IN VITRO* : QUELS ENJEUX ?

Organoïdes intestinaux : passé, présent et futur en recherche et en médecine

Intestinal organoids: past, present and future in research and medicine

Nathalie VERGNOLLE, directrice de recherche Inserm, fondatrice de l'Institut de recherche en santé digestive, Toulouse, France

Les organoïdes sont des structures en 3-dimensions qui s'auto-organisent à partir de cultures de cellules souches embryonnaires, de cellules souches pluripotentes induites ou de cellules souches adultes isolées d'organes. Les organoïdes intestinaux ont été les premiers organoïdes à être générés à partir de cellules souches adultes isolées d'organes. Cette première est due au fait que les cellules souches pluripotentes sont présentes en très grande quantité dans l'épithélium intestinal qui doit assurer un renouvellement complet de sa couche épithéliale tous les 2 à 3 jours. Les organoïdes intestinaux cultivés à partir de cellules souches adultes prélevées y compris dans de petites biopsies, reproduisent plusieurs fonctions de l'épithélium intestinal, incluant ses fonctions sécrétoires, absorbatives ou ses fonctions de barrière. La culture d'organoïdes intestinaux à partir de cellules souches isolées de tissus adultes permet également de cultiver des organoïdes « pathologiques » issus de patients. Il a été montré que ces cultures gardent par exemple un phénotype inflammatoire lorsque les cellules souches ont été prélevées dans des tissus de patients atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique, ou un phénotype cancéreux lorsqu'ils sont issus de tissus cancéreux. Les cultures d'organoïdes intestinaux représentent donc un formidable modèle d'étude de la physiologie et de la pathophysiologie intestinale, mais également un outil de screening thérapeutique. Les futures applications de la culture d'organoïdes intestinaux incluent des essais cliniques *in vitro*, des approches de médecine personnalisée, et des greffes favorisant la régénération épithéliale.

Organoids are self-organized 3-dimensions biological structures cultured from embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, or adult stem cells isolated from organs. Intestinal organoids have been the first organoids cultured from adult organ stem cells. This is due to the fact that pluripotent stem cells are present in the gut in very large amounts, being responsible for the constant renewal (every 2 to 3 days) of the intestinal epithelium. Cultured intestinal organoids from adult tissues (including small biopsies) reproduce several epithelial functions, including secretory, absorptive and barrier functions. Intestinal organoids can be cultured from patient's diseased organs. It was shown that organoid cultures from Crohn's disease patient or ulcerative colitis patient tissues maintain an inflammatory phenotype, or that organoid cultures from colorectal cancer patient tissues maintain a cancerous phenotype. Intestinal organoid cultures are therefore a precious model to study intestinal physiology or pathophysiology, but they can also be used as therapeutic screening tools. Future applications for intestinal organoid cultures include in vitro clinical trials, precision medicine approaches, and tissue engraftment to favor epithelial regeneration.

Nathalie Vergnolle est pharmacologue des affections gastro-intestinales, spécialisée dans l'inflammation et la douleur. Formée en France, elle a passé la moitié de sa carrière de chercheur (10 ans) au Canada, à l'Université de Calgary, avant de revenir en France rejoindre l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM). Elle y a fondé et dirige actuellement l'Institut de recherche en santé digestive de Toulouse, en France, où elle dirige également une équipe de recherche (Gut Proteases Signals) axée sur le rôle de l'équilibre et des voies protéolytiques dans les maladies intestinales telles que le syndrome de l'intestin irritable (SII) et les maladies inflammatoires de l'intestin (MII). Ses travaux de recherche ont contribué à identifier le rôle majeur des signaux protéasiques dans les mécanismes de l'inflammation et de la douleur. Elle a identifié des cibles moléculaires (protéases et récepteurs activés par les protéases : PARs) pour le traitement de l'inflammation et de la douleur, ayant été la première à identifier les effets pro-inflammatoires (Vergnolle et al. 1999) et les effets pro-nociceptifs (Vergnolle et al. 2001) des PARs. Ses travaux ont conduit l'industrie pharmaceutique à lancer des programmes sur les inhibiteurs de PAR et les inhibiteurs de protéase pour le traitement de l'inflammation et de la douleur, dont certains sont en phase clinique.

Nathalie Vergnolle is a gastrointestinal pharmacologist focusing on inflammation and pain. Having trained in France, she spent half of her research career (10 years) in Canada, at the University of Calgary, before coming back to France to join the National Institute of Health and Medical Research (INSERM). There, she founded and is the current director of the Digestive Health Research Institute in Toulouse, France, where she also heads a research team (Gut Proteases Signals) focused on the role of proteolytic balance and pathways in intestinal diseases such as Irritable Bowel Syndrome (IBS) and Inflammatory Bowel Diseases (IBD). Her research work has contributed to identify the major role of protease signals in inflammation and pain mechanisms. She has identified molecular targets (proteases and protease-activated receptors: PARs) for the treatment of inflammation and pain, having been the first to identify the pro-inflammatory effects (Vergnolle et al. 1999) and the pro-nociceptive effects (Vergnolle et al. 2001) of PARs. Her work has led pharmaceutical industry to launch programs on PAR inhibitors and protease inhibitors for the treatment of inflammation and pain, some of which are in clinical phases.

Développer de nouvelles thérapies à l'aide d'organoïdes humains **Developing New Therapies Using Human Organoids**

Botond ROSKA, biologist and co-fondator of Institute of Molecular and Clinical Ophthalmology (IOB), Basel, Switzerland

Cette présentation se concentrera sur l'utilisation d'organoïdes rétiniens humains dans le développement de thérapies pour les maladies ophtalmiques. Trois applications de la technologie des organoïdes seront discutées : Premièrement, l'utilisation d'organoïdes rétiniens pour restaurer la vision à l'aide d'optogénétique ciblée sur les cellules photoréceptrices de type cône sera présentée. Dans ce cas, les organoïdes rétiniens permettent de tester des promoteurs spécifiques à ce type de cellule. Ensuite, la façon dont les organoïdes rétiniens peuvent être utilisés pour trouver des médicaments protégeant les photorécepteurs de la dégénérescence sera illustrée. Enfin, les organoïdes rétiniens sont également des modèles clés pour le développement de modifications de bases de l'ADN pour le traitement d'une dégénérescence maculaire juvénile, la maladie de Stargardt. Ce dernier exemple sera détaillé.

This presentation will focus on the use of human retinal organoids in developing therapies for ophthalmic diseases. Three applications of organoid technology will be discussed: First, the use of retinal organoids for the development of cone-targeted optogenetic vision restoration will be presented. In this case, retinal organoids help test cell type specific promoters. Next, how retinal organoids can be used to find drugs protecting photoreceptors from degeneration will be illustrated. Finally, retinal organoids are also key models for developing DNA base editing for the treatment of a juvenile macular degeneration, Stargardt disease. The latter example will be detailed.

Botond Roska a obtenu son doctorat en médecine à la Faculté de Médecine Semmelweis, un doctorat en neurobiologie à l'université de Californie à Berkeley, et a étudié la génétique et la virologie comme « Harvard Society Fellow » à l'Université Harvard et à la Harvard medical school . Entre 2005 et 2018, il a ensuite dirigé un groupe de recherche à l'Institut Friedrich Miescher de Bâle. En 2010, il est devenu Professeur à la Faculté de Médecine et en 2019 Professeur à la Faculté des Sciences de l'Université de Bâle. Depuis 2018, il est l'un des directeurs fondateurs de l'Institut d'Ophtalmologie Moléculaire et Clinique de Bâle (IOB). À l'IOB, il dirige un groupe de recherche qui se concentre sur la compréhension de la vision et de ses maladies, ainsi que sur le développement de thérapies géniques pour restaurer la vision. Botond Roska a reçu plusieurs prix et a été élu membre de l'Organisation Européenne de Biologie Moléculaire (EMBO, 2011), de l'Academia Europaea (2020), de l'Académie Hongroise des Sciences (2022) et de l'Accademia Nazionale dei Lincei (2023).

Botond Roska obtained his M.D. at the Semmelweis Medical School, a Ph.D. in neurobiology from the University of California, Berkeley and studied genetics and virology as a Harvard Society Fellow at Harvard University and the Harvard Medical School. He then led a research group at the Friedrich Miescher Institute in Basel from 2005-2018. In 2010 he became Professor at the Medical Faculty and in 2019 Professor at the Science Faculty of the University of Basel. Since 2018 he is a founding director of the Institute of Molecular and Clinical Ophthalmology Basel (IOB). At IOB he leads a research group focusing on the understanding of vision and its diseases and the development of gene therapies to restore vision. Botond Roska has received several awards and was elected as a member of the European Molecular Biology Organization (EMBO, 2011), the Academia Europaea (2020), the Hungarian Academy of Science (2022) and the Accademia Nazionale dei Lincei (2023).

Modélisation des troubles du neurodéveloppement de l'enfant à l'aide d'organoïdes cérébraux humains : progrès et défis actuels

Modelling neurodevelopmental disorders in children using human brain organoids: current progress and challenges

Sandrine PASSEMARD, professeur de neurologie de l'enfant à l'université Paris-Cité et à l'Hôpital Robert Debré, Paris, France

Comprendre les maladies neurologiques a toujours été un enjeu difficile qui a longtemps reposé sur l'analyse des symptômes des patients pour la caractérisation phénotypique et sur les modèles animaux pour en démêler les causes. Mais ce qui a pu se produire avant la survenue des 1ers symptômes dans l'organisme humain est difficilement prédictible, et modéliser les maladies humaines chez l'animal n'est pas toujours possible ou pertinent. De plus, sachant que le cerveau est un des organes qui a le plus évolué entre les espèces, analyser les défauts de développement du cerveau humain à travers des modèles animaux demeure une approche limitée, même si les grands processus développementaux sont conservés. Générer des cellules souches embryonnaires puis des cellules souches neurales organisées en organoïdes cérébraux en 3D à partir de cellules de peau ou du sang des patients s'est révélé une approche révolutionnaire qui a permis de contourner les limites imposées par les modèles existants. Après avoir rapidement exposé les méthodes d'obtention des organoïdes cérébraux humains et ses limites, nous verrons comment ces organoïdes permettent aujourd'hui de mieux comprendre les troubles du neurodéveloppement de l'enfant, en nous focalisant sur quelques troubles/maladies spécifiques.

Understanding neurological diseases has always been a difficult challenge, which has long relied on the analysis of patients' symptoms for phenotypic characterization and on animal models to unravel the causes. But it is difficult to predict what may have occurred before the first symptoms appeared in the human organism, and modelling human diseases using animal models is not always relevant nor accessible. Furthermore, given that the brain is one of the organs that has evolved the most between species, analyzing developmental defects in the human brain using animal models remains a limiting approach, even if the major developmental processes are preserved. Generating embryonic stem cells and then neural stem cells organized in 3D brain organoids from patients' own skin or blood cells has proved to be a revolutionary approach that has made it possible to overcome the limitations imposed by existing models. After briefly outlining the methods used to obtain human cerebral organoids and their limitations, we will discuss how these organoids are now being used to gain a better understanding of neurodevelopmental disorders in children, focusing on a few specific disorders/diseases.

Sandrine Passemard est professeur de neurologie de l'enfant à l'Université de Paris-Cité et à l'Hôpital Robert Debré, et co-dirige un groupe à NeuroDiderot, Inserm-Université de Paris-Cité. Elle est spécialisée dans les troubles du développement neurologique, en particulier la microcéphalie, les dysfonctionnements centrosomiques et les maladies génétiques associées. Ses recherches ont considérablement fait progresser la compréhension des malformations cérébrales liées aux défauts du centrosome et de l'appareil de Golgi, souvent appelées centrosomopathies et golgipathies. Son groupe étudie le développement très précoce du cerveau pendant les stades embryonnaires et fœtaux et les effets des maladies génétiques qui entravent le développement du cerveau. Ses recherches utilisent des organoïdes cérébraux pour disséquer les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sont perturbés dans les anomalies de la croissance cérébrale, telles que les microcéphalies génétiques. Son travail fait le lien entre les soins cliniques et la recherche fondamentale, avec un accent particulier sur la façon dont les divisions des progéniteurs neuronaux ont un impact sur le développement neurologique.

Sandrine Passemard is Professor in Child Neurology at Université de Paris-Cité and Hôpital Robert Debré, and co-leads a group at NeuroDiderot, Inserm-Université de Paris-Cité. She specializes in neurodevelopmental disorders, with a focus on microcephaly, centrosomal dysfunctions, and related genetic conditions. Her research has significantly advanced the understanding of brain malformations linked to centrosome and Golgi apparatus defects, often referred to as centrosomopathies and golgipathies. Her group investigates the very early brain development during embryo fetal stages and effects of genetic diseases that impair brain development. They use brain organoids to dissect cellular and molecular mechanisms that are disrupted in abnormalities of brain growth, such as genetic microcephalies. Her work bridges clinical care and fundamental research, with a particular emphasis on how neural progenitors divisions impact neurodevelopment.

La Fabrique des Embryons

Building embryos

Denis DUBOULE, professeur-chercheur en biologie, membre de l'Académie des sciences, professeur au Collège de France, Paris, France

Ces dernières années ont vu des développements spectaculaires dans la production et la culture de pseudo-embryons en cultures *ex-utero* (embryoïdes, blastoïdes, gastruloïdes, embryons intégrés). Les stades de développement précoce peuvent ainsi être appréhendés en laboratoire. Mais ces pseudo-embryons peuvent-ils se développer pour, à terme, s'implanter pour donner des fœtus viables ? Et sont-ils vraiment des copies d'embryons ou seulement des modèles ne représentant que partiellement certaines étapes de notre développement, des ersatz permettant d'accéder à des mécanismes par ailleurs impossibles à analyser chez l'embryon humain pour des raisons éthiques et légales ? Quelles sont les raisons scientifiques et les justifications de tels programmes de recherches ?

L'avalanche récente de travaux remarquables tant du point de vue de leur valeur scientifique que de leur impact potentiel à la fois sur notre façon de penser le statut biologique de l'embryon, et sur nos possibilités futures d'instrumentalisation de ces objets biologiques pour des raisons médico-sociales, met toutefois la communauté des embryologistes dans une position inhabituelle et délicate.

Recent years have seen spectacular developments in the production and culture of pseudo-embryos in ex-utero cultures (embryoids, blastoids, gastruloids, integrated embryos). Early stages of development can now be apprehended in the laboratory. But can these pseudo-embryos develop to eventually implant and give rise to viable fetuses? And are they really copies of embryos, or rather models that only partially represent some stages of our development, i.e., ersatz models that provide access to mechanisms otherwise impossible to analyze in the human embryo for ethical and legal reasons? What are the scientific reasons and justifications for such research programs?

The scientific value of this avalanche of recent work, and their potential impact on how we consider the biological status of the embryo and on future possibilities to instrumentalize these biological objects for medico-social reasons, are huge. They nevertheless place the embryology community in an unusual and delicate position.

Denis Duboule a étudié la biologie à Genève et a obtenu un doctorat en embryologie des mammifères en 1984. Il a ensuite dirigé une équipe de recherche à Strasbourg (France) et au Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire (EMBL) en Allemagne. En 1993, il a été nommé Professeur à l'Université de Genève. Depuis 2006, il est également Professeur à l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) et au Collège de France depuis 2017. Ses recherches portent sur l'embryologie, la génétique et la génomique du développement, dans un contexte évolutif. Denis Duboule a reçu de nombreux prix et décorations scientifiques et est membre de l'Academia Europea et de plusieurs académies européennes, dont l'Académie Française des Sciences. Il est membre étranger de la Royal Society et de la National Academy of Sciences des Etats-Unis.

Denis Duboule studied biology in Geneva and obtained a PhD in mammalian embryology in 1984. He was then a group leader in Strasbourg (France) and at the European Laboratory for Molecular Biology (EMBL) in Germany. In 1993, he was appointed Professor at the university of Geneva. Since 2006 he is also professor at the federal institute of technology (EPFL) in Lausanne and at the Collège de France since 2017. His researches are in the fields of embryology, genetics and developmental genomics, in an evolutionary context. Denis Duboule has received numerous scientific prizes and decorations and is member of the Academia Europea and of several European academies including the French academy of Sciences. He is a foreign member of the Royal Society and of the National Academy of Sciences USA.

Organoïdes: des enjeux éthiques à un guide de bonnes pratiques, les résultats du projet HYBRIDA

Organoids: from ethical issues to operational guidelines, the outputs of the HYBRIDA project

Hervé CHNEIWEISS, directeur de recherche émérite au CNRS, neuro-oncologue à l'APHP, Paris, France

Les organoïdes sont des produits issus des biotechnologies qui se distinguent des cultures cellulaires conventionnelles par leur capacité à permettre aux cellules de s'auto-organiser en structures tridimensionnelles complexes, ressemblant à des organes en développement, tant sur le plan anatomique que fonctionnel. En tant que technologie émergente, la production d'organoïdes peut présenter des lacunes réglementaires ou au contraire être soumise à une réglementation excessive, nécessitant une harmonisation légale appropriée à travers les États membres de l'UE. Cette technologie soulève également des considérations éthiques spécifiques, allant de la recherche fondamentale aux applications cliniques, y compris des questions sur la désignation inappropriée des organoïdes en tant que mini-organes et le statut moral des modèles embryonnaires humains ou des organoïdes neuronaux complexes.

Le projet HYBRIDA financé par l'UE (2020-2024, www.hybrida-project.eu) fournit une couverture complète du sujet, abordant les incertitudes philosophiques, les préoccupations du public, les méthodologies d'évaluation, le développement de lignes directrices opérationnelles, l'intégration des spécificités des organoïdes dans le Code européen de conduite pour l'intégrité de la recherche, et la cartographie des lacunes juridiques ou d'une sur-réglementation. Dans cette présentation, nous aborderons les principaux résultats de HYBRIDA, à savoir (i) le Code de conduite responsable pour le domaine des organoïdes et des technologies liées aux organoïdes, (ii) le supplément au Code européen de conduite pour l'intégrité de la recherche, et (iii) la contribution aux cadres éthiques et normatifs existants. Le Comité d'Ethique de l'INSERM (CEI) a été responsable de ces livrables et a précédemment publié deux avis (2020 et 2021, voir le site du CEI et la collection HAL) sur le sujet.

Organoids are biotechnological products distinguished from conventional cell cultures by their ability for cells to self-organize into three-dimensional complex structures resembling developing organs in both anatomical and functional properties. As an emerging technology, organoids may encounter regulatory gaps or be subject to excessive regulation, necessitating appropriate regulatory harmonization across EU Member States. They also present specific ethical considerations spanning from basic research to clinical applications, including questions about misnaming them as mini-organs, and the moral status of human embryonic models or complex neural organoids.

The EU-funded HYBRIDA project (2020-2024, www.hybrida-project.eu) has provided comprehensive coverage, addressing philosophical uncertainties, public concerns, assessment methodologies, operational guideline development, incorporation of organoid specifics into the European Code of Conduct for research integrity, and mapping of legal gaps and instances of over-regulation. In this presentation we will present HYBRIDA's main outputs, namely (i) the Code of responsible conduct for the field of organoids and organoid-related technologies, (ii) The supplement to the European Code of Conduct for Research Integrity, and (iii) The contribution to existing ethics and normative frameworks. The INSERM Ethics Committee (CEI) was responsible of these deliverables and previously published two opinions (2020 and 2021, see CEI website and HAL collection) on the topic.

Hervé Chneiweiss est neurologue et neuroscientifique, docteur en médecine, directeur de recherche émérite (CNRS) et neuro-oncologue à La Salpêtrière (AP-HP). En parallèle à son activité clinique (troubles du mouvement, neurogénétique puis tumeurs cérébrales), ses travaux scientifiques ont été consacrés à la neuropharmacologie puis à la plasticité des astrocytes et à leur rôle dans l'origine, la progression et la résistance aux traitements des tumeurs cérébrales, en identifiant de nouveaux moteurs métaboliques et de nouvelles pistes thérapeutiques. Il est l'auteur de plus de 180 articles scientifiques.

Il est également impliqué dans la bioéthique, actuellement président du comité d'éthique de l'Inserm, du comité d'éthique de l'EMBL et d'EBRAINS Science and Society, ancien président du comité international de bioéthique de l'UNESCO, ancien membre du Comité Consultatif National d'Éthique (CCNE), du comité consultatif de l'OMS sur l'élaboration de normes mondiales pour la gouvernance et la surveillance de l'édition du génome humain, il est vice-président d'ARRIGE et expert auprès de l'OCDE pour les neurotechnologies. Il a écrit plusieurs livres ou chapitres sur la bioéthique des embryons humains, les cellules souches, la génétique et les neurosciences.

Hervé Chneiweiss is a neurologist and neuroscientist, MD-PhD, Emeritus Research Director (CNRS) and neuro-oncologist at hosp. La Salpêtrière (AP-HP). Trained as a neurologist (movement disorders, neurogenetics and then brain tumors), his scientific work was dedicated to the plasticity of astrocytes and for the last 20-y their roles in brain tumor origin, progression and treatment resistance, identifying new metabolic drivers and therapeutic avenues. He has authored more than 180 academic papers.

He is also involved in bioethics, presently chair Inserm Ethics Committee, EMBL Ethics Board and EBRAINS Science and Society, past-chair of UNESCO International Bioethics Committee, former member French National Ethics Committee (CCNE), WHO advisory committee on developing global standards for governance and oversight of human genome editing and vice-chair of ARRIGE, expert for OECD for neurotechnology. He wrote several books or chapters on bioethics of human embryos, stem cells, genetics and neuroscience.