

Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives

Françoise MÉDALE¹, Alain BOISSY², Irène GABRIEL³, Bertrand PAIN⁴, Catherine TARAGNAT⁵

¹INRAE Aquapôle de Saint-Pée-sur-Nivelle, 64310, Saint-Pée-sur-Nivelle, France

²Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Herbivores, 63122, Saint-Genès-Champanelle, France

³INRAE Centre Val de Loire, UMR BOA, 37380, Nouzilly, France

⁴Université Lyon 1, INSERM, INRAE, Stem Cell and Brain Research Institute, U1208, USC1361, 69675, Bron, France

⁵CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, Nouzilly, France

Courriel : catherine.taragnat@inrae.fr

■ **Cellules souches et organoïdes, versions simplifiées d'organes, sont des outils biologiques qui permettent des avancées majeures en biologie et en médecine. Quelles sont les perspectives offertes par ces outils pour la recherche sur les espèces animales d'intérêt agronomique ? En quoi peuvent-ils se substituer ou compléter l'expérimentation animale ?**

Avant-propos

Ce dossier présente une sélection d'articles qui, pour la plupart, font suite aux présentations issues de la journée thématique « Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives » organisée le 25 juin 2021 par Biotechnocentre.

Le Réseau Thématique de Recherche BioTechnoCentre, labellisé par la région Centre-Val de Loire et composé de membres d'INRAE, du CNRS, de l'INSERM et des Universités de Tours et d'Orléans, œuvre dans les domaines de la biologie, de la santé et de la chimie du vivant. Il a pour objectifs de créer des liens entre tous les chercheurs en sciences de la vie et de la santé de la Région-Centre Val de Loire et de faciliter les contacts entre l'enseignement supérieur, la recherche et l'économie régionale.

Au regard du contexte sanitaire lié à l'épidémie de Covid-19, la journée

thématique 2021 s'est tenue sous forme de webinaire et a remporté un vif succès. Environ 150 participants étaient au rendez-vous, soulignant l'intérêt croissant suscité par cette thématique.

Cellules souches et organoïdes, versions simplifiées d'organes, représentent en effet des outils biologiques qui permettent des avancées majeures en biologie et en médecine et qui suscitent de nombreux espoirs tout en réduisant les expériences sur les animaux. Dans ce dossier, nous avons souhaité présenter les derniers développements de modèles d'organoïdes pour la recherche agronomique sans oublier d'aborder les défis technologiques et les applications qui en découlent. Ces articles font écho aux travaux du groupe de travail « organoïdes » INRAE qui regroupe plus de 80 chercheurs de plusieurs départements scientifiques sous la conduite d'un Comité de pilotage rassemblant un représentant des cinq Départements Animaux (PHASE, Bertrand Pain, GA ; Elisabetta Giufra,

SA ; Sonia Lacroix-Lamande, MICA ; Agnès Wiedemann et Corinne Joffre, ALIMH).

L'utilisation d'animaux dans le but d'acquies et d'augmenter les connaissances des processus biologiques remonte à l'Antiquité. Le recours aux animaux pour la recherche biomédicale a connu un essor au XIX^e siècle sous l'impulsion de Claude Bernard qui a défini les principes de la recherche biologique expérimentale. Cet essor s'est poursuivi comme le montre le dernier recensement de la Commission européenne (2023) : le nombre d'animaux utilisés dans une procédure expérimentale s'élève en 2020 à près de huit millions d'animaux (exactement : 7 938 064 animaux) dont 41 % pour la recherche fondamentale et 31 % pour la recherche appliquée. Les 28 % restant servent aux essais de qualité et d'innocuité de médicaments, de substance chimique ou d'aliments. La France est à la deuxième place juste derrière l'Allemagne des plus gros utilisateurs d'animaux dans les procédures expéri-

mentales avec 1,48 million d'animaux utilisés. Si d'après le dernier recensement du Ministère de la Recherche (2023) les souris représentent l'espèce la plus utilisée dans la recherche française (61 % des animaux) comme c'est le cas dans les autres pays de l'Union européenne, près de 337 000 animaux de ferme (par effectifs décroissants : lapins, poules, poissons salmonidés, porcins, dindons, ovins, bovins, équins, caprins), soit 22 % des animaux, ont été utilisés dans les procédures expérimentales réalisées en France en 2021.

L'expérimentation animale soulève de nombreux questionnements éthiques tant au sein de la communauté scientifique qu'au sein de la société. L'intérêt pour la nature sensible et consciente des animaux n'est pas récent, plusieurs philosophes de l'Antiquité se questionnaient déjà sur la sensibilité des animaux non-humains. Cette question a été ravivée au siècle des Lumières au travers notamment des écrits de J.J. Rousseau, E. Kant et J. Bentham. Il faut cependant attendre la seconde moitié du ^{xx}^e siècle pour qu'une éthique animale émerge, questionnant les responsabilités morales des humains à l'égard des autres animaux et de leur souffrance. Ainsi, en réaction aux conditions d'utilisation d'animaux en expérimentation animale qu'ils jugeaient inappropriées, Russell et Burch (1959) ont défini le principe des « 3R » pour concevoir les procédures expérimentales : *i*) Remplacer l'utilisation d'animaux à forte conscience (vertébrés vivants) par des formes de vie plus primitives ou par des méthodes *in vitro* et *in silico* alternatives à l'expérimentation animale, *ii*) Réduire le nombre d'animaux utilisés pour une procédure expérimentale donnée, et *iii*) Raffiner la procédure utilisée pour diminuer la douleur et/ou la détresse des animaux à toutes les étapes de l'étude. Si le principe des 3R guide toujours les démarches éthiques, un quatrième « R » a été récemment ajouté pour insister sur la responsabilisation de tous les acteurs de l'expérimentation animale afin de préserver au mieux les animaux utilisés à des fins scientifiques.

Le fort développement de la réflexion éthique pour l'utilisation des animaux à

des fins scientifiques au cours des vingt dernières années a conduit notamment à la mise en place, d'abord sur la base du volontariat, de comités d'éthique en expérimentation animale pour garantir le respect du principe des 3R. Par la suite, l'encadrement réglementaire de l'expérimentation animale s'est fortement renforcé avec la Directive européenne 2010/63/UE sur l'expérimentation animale, qui vise à améliorer les conditions d'utilisation des animaux en recherche notamment en ayant rendu obligatoires les comités d'éthique et la conduite d'une réflexion éthique lors de l'élaboration de chaque protocole expérimental impliquant des animaux pour évaluer les avantages escomptés de l'expérimentation en termes de connaissances au regard des dommages causés aux animaux. Cette directive impose aussi que les personnels intervenant dans les protocoles expérimentaux soient compétents (formation initiale et continue) et que les conditions d'hébergement des animaux soient adaptées à leur espèce et au stade de vie.

INRAE en tant qu'organisme de recherche réalisant des travaux pour et avec des animaux s'est très tôt engagé dans l'étude de la sensibilité des animaux et dans l'amélioration de la qualité de leur vie aussi bien en élevage qu'en expérimentation. Le réseau AgriBEA s'est ainsi mis en place au début des années 2000 pour constituer une communauté scientifique interdisciplinaire et inter-organisme, et soutenir les travaux scientifiques sur la sensibilité émotionnelle et les états mentaux des animaux. Par la suite, INRAE a piloté deux expertises scientifiques collectives (ESCO) associant biologistes, médecins et philosophes, l'une sur les douleurs animales en élevage (Le Neindre *et al.*, 2009) et l'autre sur la conscience des animaux (Le Neindre *et al.*, 2018). L'ESCO sur les douleurs animales a permis de définir la règle des « 3S » en complément du principe des 3R pour réduire la souffrance animale et améliorer la gestion de la douleur : supprimer les pratiques douloureuses, substituer par des pratiques moins aversives et soulager les animaux soumis à des pratiques douloureuses inévitables. L'ESCO sur la conscience des animaux a quant à elle permis de poser les bases

théoriques de l'étude de la conscience chez les animaux.

Dans le même temps, INRAE s'est engagé dans le financement d'actions incitatives pour développer des méthodes alternatives à l'expérimentation animale, avec la volonté de diminuer le nombre d'animaux utilisés pour la recherche agronomique. Ainsi, de nouvelles technologies *in vitro* (lignées cellulaires, cellules souches, organoïdes...) et *in silico* (modélisation) offrent des solutions expérimentales innovantes pour l'étude de la physiologie des animaux et l'étude de nombreuses pathologies. Il existe désormais un Centre européen de référence pour les méthodes alternatives¹ relayé en France par une plateforme nationale dédiée au développement et à la diffusion de méthodes alternatives en expérimentation animale. En 2021, sous l'égide du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche et de l'Innovation, la France s'est dotée d'une nouvelle instance, le Centre français pour les 3R (FC3R), pour promouvoir l'application du principe des 3R, notamment en encourageant le développement et l'usage des méthodes alternatives à l'expérimentation animale. INRAE a fait partie du consortium qui a proposé la création du Centre FC3R et en est l'un de ses membres fondateurs.

L'objectif de ce dossier coordonné par Catherine Taragnat et Bertrand Pain est de montrer comment la recherche agronomique s'est employée à développer des alternatives à l'expérimentation animale, notamment par la création d'« organoïdes ». Les organoïdes sont des structures *in vitro* tridimensionnelles qui s'auto-organisent, dérivées de cellules souches (adultes ou embryonnaires) et constituées de plusieurs types de cellules mimant l'architecture et les fonctions des tissus de l'organe cible.

Ce focus sur les organoïdes en recherche agronomique est introduit de façon très pertinente par l'article de Perruchot et Dessauge (2023). Après

¹ EURLECVAMEU Reference Laboratory for alternatives to animal testing https://joint-research-centre.ec.europa.eu/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam_en

avoir retracé l'histoire de l'utilisation des animaux par les humains au cours des siècles passés et l'évolution de la considération des animaux, ces auteurs exposent les modifications de la législation sur la protection animale en recherche biologique depuis la Loi Grammont votée en 1850 jusqu'au décret du 1^{er} février 2013 transposant la directive européenne 2010/63/UE. L'article présente ensuite l'organisation européenne et française visant à encadrer la recherche utilisant des animaux à des fins scientifiques et notamment à diminuer le nombre d'animaux utilisés à des fins scientifiques en encourageant le développement de méthodes alternatives. La dernière partie de l'article est consacrée à une présentation didactique des diverses méthodes alternatives. Elle permet d'aborder plus aisément la lecture des autres articles rassemblés dans ce dossier.

Chacun de ces articles est dédié à un type d'organoïde actuellement développé chez les espèces d'intérêt agronomique et à ses applications avérées ou potentielles. À chaque fois, les avantages et les limites des méthodes alternatives

sont développés. L'article de (Pain *et al.*, 2023) fait le point sur l'état d'avancement des organoïdes cérébraux pour étudier les neuro pathologies chez les animaux domestiques. L'article suivant rédigé par Mortaud *et al.* (2023) présente l'intérêt des cultures *in vitro* de cellules souches et d'organoïdes pour les études toxicologiques. Par la suite, l'article de Taragnat *et al.* (2023) décrit l'émergence des organoïdes hypophysaires permettant d'explorer la remarquable plasticité de l'hypophyse, glande centrale du système endocrinien régulatrice des grandes fonctions physiologiques en interaction avec les autres organes. L'objectif de ces développements méthodologiques est d'étudier ensuite les dysfonctionnements de l'hypophyse responsables de nombreuses pathologies et d'envisager des approches thérapeutiques. L'article suivant rédigé par Wiedemann et Lacroix-Lamandé (2023) relate les avancées sur les organoïdes intestinaux dérivés d'animaux d'élevage, leurs avantages, leurs limites et leurs applications. L'avant-dernier article coordonné par Remot *et al.* (2023) présente les différents modèles *in vitro* permettant d'étudier les infections respiratoires, leur prévention

et leur thérapie : organoïdes mais aussi culture, air-liquide-interface et coupes fines de poumons. Enfin, dans le dernier article de ce dossier, Dessauge *et al.* (2023) expliquent les avancées permises par les cultures 3D de cellules musculaires fonctionnelles dans la compréhension du développement musculaire, de sa physiologie, de ses pathologies tant pour les humains que les animaux d'intérêts agronomique.

Ainsi, la lecture de ce dossier permettra au lecteur, d'apprécier l'engagement de la communauté scientifique pour développer des méthodes alternatives, substitutives ou complémentaires de l'expérimentation animale. Ces efforts d'innovations devraient à terme permettre de diminuer significativement le nombre d'animaux utilisés pour la recherche et répondre ainsi aux exigences réglementaires et aux attentes sociétales. En outre, comme le montrent plusieurs de ces articles, le développement d'organoïdes variés offrent de nouvelles perspectives d'une recherche de qualité, tant finalisée qu'académique, difficile voire impossible à envisager avec des animaux.

Références

Commission européenne, 2023. Summary report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union and Norway in 2020. [https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=SWD\(2023\)84&lang=en](https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=SWD(2023)84&lang=en)

Dessauge F., Schleder C., Perruchot M.-H., Rouger K., 2023. Développement des modèles de culture cellulaire de muscle en 3D : de nouvelles opportunités pour les productions animales. In : Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7684. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7684>

Le Neindre P., Guatteo R., Guemene D., Guichet J.L., Latouche K., Leterrier C., Levionnois O., Mormède P., Prunier A., Serrie A., Servière J., 2009. Douleurs animales : les identifier, les comprendre, les limiter chez les animaux d'élevage : Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA, France, 98 pages. (hal-01195002)

Le Neindre P., Dunier M., Larrère R., Prunet P., 2018. La conscience des animaux. Éditions Quae, Versailles, France, 112 p., Matière à Débattre et Décider, 978-2-7592-2870-6. (hal-02264366)

Ministère de la Recherche, 2023. Utilisation d'animaux à des fins scientifiques dans les établissements

français – enquête statistique de 2021. <https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/fr/enquete-statistique-sur-l-utilisation-des-animaux-des-fins-scientifiques-46270>

Mortaud S., Méresse S., Larrigaldie V., 2023. Intérêts des cultures *in vitro* de cellules souches et d'organoïdes dans le cadre d'études toxicologiques. In : Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7684. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7684>

Pain B., Aurine N., La Rosa T., Baquerre C., Culpier M., 2023. Potentiel des organoïdes cérébraux comme modèles d'étude des neuropathologies chez les animaux domestiques. In : Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7637. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7637>

Perruchot M.H., Dessauge F., 2023. Les approches complémentaires à l'expérimentation animale en agronomie et clinique vétérinaire : Solutions et limites. In : Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7599. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7599>

Remot A., Descamps D., Erny, Chottin C., Drjac C., Carreras F., Ferret C., Archer F., 2023. Méthodes alternatives *in vitro* pour l'étude des interactions hôte-pathogène du poumon. In : Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7574. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7574>

Russell W.M.S., Burch R.L., 1959. The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Limited, 252pp.

Taragnat C., Cayla X., Pain B., 2023. Organoïdes hypophysaires : des outils pour caractériser le développement, la plasticité et les pathologies hypophysaires ? In : Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7661. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7661>

Wiedemann A., Lacroix-Lamandé S., 2023. Les organoïdes intestinaux des animaux de rente : de nouveaux modèles de culture *in vitro* pour une meilleure compréhension du fonctionnement de l'intestin. In : Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives. Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7562. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7562>

Résumé

Cellules souches et organoïdes, versions simplifiées d'organes, sont des outils biologiques qui permettent des avancées majeures en biologie et en médecine et qui suscitent de nombreux espoirs tout en réduisant les expériences sur les animaux. Ce dossier fait le point sur les derniers développements de modèles d'organoïdes pour la recherche agronomique sans oublier d'aborder les défis technologiques et les applications qui en découlent. Ces méthodes alternatives, substitutives ou complémentaires de l'expérimentation animale offrent de nouvelles perspectives de recherche difficiles voire impossible à envisager avec des animaux. Elles devraient à terme permettre de diminuer significativement le nombre d'animaux utilisés pour la recherche et répondre ainsi aux exigences réglementaires et aux attentes sociétales.

Abstract

Stem cells and organoids: realities and prospects

Stem cells and organoids, simplified versions of organs, are biological tools that are enabling major advances in biology and medicine and are raising many hopes while reducing the need for animal experiments. This dossier reviews the latest developments in organoid models for agronomic research, and also looks at the technological challenges and applications involved. These alternative, substitute or complementary methods to animal experimentation offer new research perspectives that are difficult, if not impossible, to envisage using animals. In the long term, they should make it possible to significantly reduce the number of animals used in research, thereby meeting regulatory requirements and societal expectations.

MÉDALE F., BOISSY A., GABRIEL I., PAIN B., TARAGNAT C., 2023. Avant-propos du dossier « Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives ». Taragnat C., Pain B. (Eds). Dossier, INRAE Prod. Anim., 36, 7695.

<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.2.7695>



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY 4.0).

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.fr>

La citation comme l'utilisation de tout ou partie du contenu de cet article doit obligatoirement mentionner les auteurs, l'année de publication, le titre, le nom de la revue, le volume, les pages et le DOI en respectant les informations figurant ci-dessus.