

■ L'AUTEUR



Jürgen KNOBLICH
est directeur
scientifique
adjoint
de l'Institut
de biotechnologie
moléculaire de l'Académie
autrichienne des sciences,
à Vienne.

LE VIRUS ZIKA PROVOQUE
des microcéphalies en bloquant
la croissance des neurones
du cerveau. L'étude de ce
processus sur des cerveaux
de synthèse pourrait déboucher
sur de futurs traitements.

que le plissement résulte d'une autre différence entre les souris et les humains : dans de nombreuses régions du cerveau, les neurones sont issus d'un ensemble particulier de précurseurs cellulaires, qui sont abondants dans notre espèce mais très rares chez la souris.

C'est aussi pourquoi de nombreuses mutations génétiques à l'origine de graves troubles neurologiques chez l'homme n'ont que peu d'effet lorsqu'elles sont transférées à des souris. Si une mutation altère le développement ou le fonctionnement d'une architecture neuronale propre au cerveau humain, ou le fonctionnement de types cellulaires présents uniquement chez les humains, étudier cette mutation chez des souris ne revêt qu'un intérêt limité. En fait, les caractéristiques uniques du cerveau humain sont peut-être l'une des raisons pour lesquelles les études réalisées sur des rongeurs n'ont pas débouché sur des thérapies efficaces pour des troubles tels que la schizophrénie, l'épilepsie ou l'autisme.

Prenant acte des différences entre le cerveau de la souris et celui de l'être humain, certains chercheurs ont poursuivi de nouvelles pistes. Ainsi, dans mon laboratoire, nous visons à cultiver, dans une boîte de Pétri, la majeure partie d'un cerveau humain à un stade précoce de son développement embryonnaire. Les structures cérébrales obtenues, qualifiées d'organoïdes, sont des sortes de minicerveaux *in vitro*. Elles sont porteuses d'espoirs immenses car elles fournissent aux neurobiologistes des informations auxquelles on n'a pas accès en étudiant les rongeurs. Il devient possible d'observer, par exemple, ce qui se passe dans un minicerveau infecté par

le virus Zika, dont on sait qu'il perturbe le développement cérébral chez les fœtus de femmes infectées. Autre possibilité : suivre l'évolution d'un minicerveau créé par génie génétique de façon à ressembler à un cerveau humain atteint d'une maladie neurologique...

Nous avons commencé à travailler sur ces minicerveaux en 2012, lorsque Madeleine Lancaster, à l'époque postdoctorante dans notre groupe, a conçu un moyen de reproduire dans une boîte de Pétri les processus essentiels à la formation du cerveau chez le fœtus humain, approximativement au cours des dix premières semaines du développement (voir l'encadré page 44).

Fabrication à partir de cellules souches

Notre méthode repose sur des cellules souches qui présentent une caractéristique remarquable, la pluripotence. Autrement dit, elles sont de même type que celles présentes chez le très jeune embryon, et lorsqu'on les cultive dans de bonnes conditions, elles peuvent donner naissance à n'importe quel type de tissu : nerveux, musculaire, sanguin, osseux... Chez le fœtus, ces nouvelles cellules ne conservent leur pluripotence que pendant quelques jours. Mais en utilisant des cultures spéciales en laboratoire, il est possible de les conserver dans cet état en permanence et les transformer finalement en presque n'importe quel type cellulaire souhaité.

Comment faisons-nous pousser des minicerveaux ? Nous commençons par mettre en culture des cellules dans un liquide contenant tous les nutriments nécessaires à la croissance du neuroectoderme, la partie du fœtus destinée à former le système nerveux. Lorsque les cellules s'agrègent pour former une boule nommée corps embryonnaire, nous immergeons cette boule dans du Matrigel. Ce gel, produit par des cellules en culture provenant d'une tumeur du cartilage de souris, ressemble à la membrane sur laquelle reposent les cellules chez le fœtus. Le Matrigel est riche en facteurs qui à la fois stimulent la division des cellules et les empêchent de mourir. De ce fait, il fournit une charpente assez rigide pour que les cellules puissent s'y agripper, mais suffisamment malléable pour qu'elles la modifient et la déforment à leur guise.

Les résultats de ces expériences ont été impressionnants. Livrés à eux-mêmes



© ANTONIO LACERDA/epa/Corbis

dans le gel, les corps embryoides se développent en trois dimensions et forment des boules blanches de tissu ressemblant au cerveau humain embryonnaire. Exposées aux signaux chimiques appropriés qui déclenchent le développement du cerveau fœtal, les cellules souches engendrent des répliques exactes du prosencéphale, la région appelée à devenir le siège de fonctions mentales supérieures telles que la planification, le raisonnement ou la mise au point de stratégies. Cette partie du cerveau comprend des structures telles que le cortex (la surface externe et plissée) et le plexus choroïde (la région qui produit le liquide céphalorachidien).

Nous avons également observé la formation d'autres structures qui guident les cellules vers le bon emplacement dans le cerveau en développement. Les éminences ganglionnaires médianes et latérales, qui remplissent cette fonction, y contribuent en donnant naissance à des cellules qui inhibent en général l'activité neuronale (des interneurons) et à l'hippocampe, essentiel pour la formation de la mémoire.

Les cellules d'un organoïde en développement s'organisent de la même façon que celles d'un cerveau d'un fœtus humain de 8 à 10 semaines. Dans de rares cas, les organoïdes développent même de petits oeillets, des indentations dans le tissu contenant des pigments colorés, comme ce qui se passe quand l'œil humain commence à se former. De même, comme dans

pour comprendre ce qui se passe dans les maladies psychiatriques dues à un défaut de migration des neurones.

L'idée de produire des tissus en culture a une histoire. Le développement actuel des organoïdes résulte en réalité de nombreuses années de recherches par tâtonnements, dont certaines remontent à plus d'un siècle. Déjà en 1907, le zoologiste Henry Wilson avait démontré que certains animaux simples, tels que les éponges, ont la capacité de se réassembler après avoir été dissociés en cellules individuelles – signe que chacune de leurs cellules est dotée d'un programme qui permet de reconstituer l'ensemble de l'édifice à partir de ses composants épars. Une observation qui porte en germe l'idée selon laquelle quelques cellules souches disposeraient des informations nécessaires pour reconstruire un cerveau entier.

Et dès 1939, le biologiste germano-américain Johannes Holtfreter découvrit en effet que les différentes cellules d'un embryon de grenouille, même après avoir été totalement séparées, tendent à se rencontrer et à reconstituer la forme initiale. Au cours des années 1980, cette découverte a conduit à une prolifération d'études de « réagrégation », où se formaient en laboratoire des organes animaux complexes, tels la rétine ou même le cortex, par assemblage de leurs différents types cellulaires.

Tirant avantage des premières expériences de réagrégation effectuées entre 2006 et 2010, le chercheur japonais Yoshiki Sasai (qui s'est suicidé en 2014 sur fond de scandale à la fraude scientifique touchant l'une de ses collègues) fut l'un des premiers à utiliser des cellules souches pluripotentes pour la culture de tissus du système nerveux, en particulier de rétine humaine. En fait, notre

technique d'organoïdes cérébraux a rejoint les siennes grâce aux travaux pionniers du généticien néerlandais Hans Clevers, de l'université d'Utrecht, qui a mélangé des cellules souches avec du Matrigel pour établir un système utilisable pour cultiver des tissus d'intestin, d'estomac et même de foie et de pancréas.

Au-delà des leçons tirées de ces premières études, nos travaux s'appuient sur des techniques récentes qui bouleversent de vastes pans de la recherche biomédicale.

L'une d'elles, dite de reprogrammation, a été mise au point par le lauréat du prix Nobel Shinya Yamanaka, de l'université de Kyoto. Elle consiste à transformer des cellules du corps déjà pleinement matures (qu'il s'agisse de cellules de peau ou de sang) en cellules souches pluripotentes grâce à une simple série de manipulations génétiques. On peut ensuite transformer ces cellules pluripotentes en différents types de cellules cérébrales, puis les mettre en culture pour obtenir des organoïdes. Une approche qui a l'avantage d'éviter le recours à des cellules issues d'embryons.

Les bénéfices de la reprogrammation sont immenses : vous pouvez comparer un organoïde cultivé à partir de cellules d'un patient atteint d'une anomalie génétique avec ceux d'une personne en bonne santé, afin d'identifier les causes sous-jacentes d'une maladie, car le défaut génétique présent dans les cellules du patient devrait avoir les mêmes conséquences sur l'organoïde que chez le fœtus en développement.

Percer les secrets de la microcéphalie

En fait, nous avons déjà utilisé la technique des organoïdes pour étudier la microcéphalie, une forte réduction de la taille du cerveau à la naissance. Nous avons trouvé que les organoïdes cultivés à partir de cellules d'un patient atteint de microcéphalie sont beaucoup plus petits que la normale. Comme il est possible de cultiver un nombre illimité de cellules du patient, nous pouvons désormais procéder à des analyses détaillées de la chaîne d'événements moléculaires qui conduit à la microcéphalie chez le fœtus en développement.

Cela vaut probablement aussi en grande partie pour d'autres troubles cérébraux : l'utilisation d'organoïdes cultivés à partir de cellules des patients devrait permettre aux neurobiologistes de mieux comprendre les défauts affectant le développement du cerveau qui sont à l'origine de la schizophrénie, de l'épilepsie et d'autres maladies difficiles, voire impossibles, à étudier chez l'animal.

Une autre approche consiste à fabriquer des organoïdes à partir de cellules de personnes saines. De tels minicerveaux ont déjà été fructueusement utilisés durant l'actuelle épidémie d'infection par le virus Zika, soupçonné d'être à l'origine d'une microcéphalie chez plusieurs bébés nés de femmes infectées lors de leur grossesse.

Les organoïdes cérébraux suscitent de grands espoirs, car ils fournissent des informations impossibles à obtenir avec des souris

un cerveau en développement, les cellules se divisent et donnent naissance aux divers types de neurones présents chez un fœtus. Ceux-ci projettent également des axones, de longs filaments qui établissent le contact avec des cellules voisines pour former un réseau de signalisation actif. Précisons qu'avant la formation de ces réseaux, les neurones migrent d'une région vers une autre, comme ils le font chez le fœtus : dès lors, les minicerveaux en développement sont potentiellement intéressants