



Intérêt de l'analyse de la voie EGF grâce à la culture d'organoides humains dans la polypose adénomateuse familiale

Nolwenn Laborde, Alexandre Barusseau, Muriel Quaranta, Delphine Bonnet, Sylvain Kirzin, Laurent Alric ; CHU Toulouse

Contexte : Il n'existe pas actuellement de modèle de recherche qui reproduise correctement la polypose adénomateuse familiale (PAF) humaine. Les souris déficientes pour le gène Adenomatous polyposis coli (Apc) développent des polypes intestinaux et non coliques.

Objectif : La voie de signalisation Wnt/APC/ β -caténine est impliquée dans le renouvellement et la prolifération des cellules souches intestinales (CSI). Comme la culture 3D d'organoides est basée sur les propriétés des CSI, nous étudions son intérêt dans la PAF et analysons aussi l'impact de l'EGF (epidermal growth factor).

Méthodes : Des biopsies ont été prélevées au cours d'une coloscopie chez des patients PAF (n=7), en zone adénomateuse (A) et non- adénomateuse (NA), et chez des témoins (n=6), avec l'accord du comité de protection des personnes. Comme montré précédemment, les organoides PAF étaient cultivés sans Wnt3a. A partir de J2, les organoides étaient cultivés avec ou sans EGF et suivis sur une semaine. A J7 étaient réalisées des analyses par immunofluorescence, western blots et des qPCR.

Résultats : Nous avons trouvé des organoides bien décrits (cystes immatures, colonosphères, colonoides) et une nouvelle structure cystique et bourgeonnante, présente uniquement dans les cultures d'organoides A. Les immunomarquages CD24/CD44 (immaturité) et Ki67 (prolifération) étaient augmentés dans les organoides PAF par rapport aux témoins. Sans EGF la croissance de tous les organoides était bloquée, mais la mortalité augmentait uniquement dans les organoides A. Un dépistage protéomique suggérait une activation de la voie MAPK dans les organoides NA et témoins sous contrôle de l'EGF, mais pas de modification dans les organoides A. L'utilisation d'inhibiteurs de ligands Wnt (IWP12) et TGF β (LY2157299), \pm EGF, a montré qu'un autre ligand Wnt et le TGF β étaient impliqués dans la croissance des organoides A. L'effet du TGF β et de l'EGF étaient médiés par la phosphorylation Ser552 de la β -caténine, qui est indépendante d'APC. Finalement, l'analyse transcriptionnelle a montré une diminution de 50% de l'Epiréguline dans les organoides A après privation en EGF.

Conclusion : La culture d'organoides est un modèle relevant pour étudier la PAF. En zone adénomateuse, les CSI étaient dépendantes de l'EGF. Ceci pourrait permettre de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques (TGF β via PI3K (p110 α), Epiréguline).