

Les modèles innovants de culture en trois dimensions : défis et opportunités pour la recherche en cancérologie

Innovative three-dimensional cell culture models: challenges and opportunities for cancer research

Simon Latour
Valérie Le Morvan
Laurence Bresson-Bépolain

Inserm U1218 ACTION
Université de Bordeaux
CLCC Institut Bergonié
229, cours de l'Argonne
33076 Bordeaux cedex
France
<s.latour@bordeaux.unicancer.fr>
<v.lemorvan@bordeaux.unicancer.fr>
<laurence.bresson-bepoldin@inserm.fr>

Remerciements et autres mentions :

Nous remercions chaleureusement le Pr Jacques Robert pour sa relecture attentive du manuscrit.

Financement : Ligue régionale contre le cancer.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

Tirés à part : L. Bresson-Bépolain

RÉSUMÉ

La recherche de médicaments contre le cancer au niveau préclinique a le pire taux de succès de tous les essais thérapeutiques. Ces échecs sont en partie dus à l'absence de modèles d'études représentatifs de la maladie et donc prédictifs de la réponse aux médicaments. La culture cellulaire en trois dimensions (3D) a suscité ces dernières années un regain d'intérêt pour l'étude des cancers, dans la mesure où elle permet de reconstituer un certain nombre de caractéristiques de la tumeur cancéreuse, telles que la tridimensionnalité, les interactions cellule-cellule, cellule-stroma et cellule-matrice extracellulaire, rendant plus efficace le criblage de médicaments anticancéreux. Cette revue a pour objectif de décrire les principales technologies utilisées pour l'obtention de modèles de culture en 3D, ainsi que les méthodes employées pour leur caractérisation. Pour finir, elle met en lumière l'apport de nouvelles technologies d'ingénierie tissulaire (bio-impression, microfluidique) pour la compréhension des processus oncogéniques et la prédiction de réponse aux chimiothérapies.

● **Mots clés :** culture cellulaire en 3D ; sphéroïdes ; micro-environnement ; criblage de molécules ; médecine de précision.

ABSTRACT

The poor efficacy of many experimental anticancer drugs in clinical trials is partly due to the absence of preclinical models representative of the cancer and therefore predictive of the drug response. Recently, three-dimensional (3D) cell cultures have given rise to a renewed interest in the study of cancer, since they recapitulate a number of tumor characteristics, such as three-dimensionality, cell-cell, cell-stroma and extracellular matrix-cell interactions, making the screening of anticancer drugs more efficient. This review aims to describe the main technologies used to obtain 3D culture models, as well as the methods used for their characterization. Finally, it highlights the contribution of new tissue engineering technologies (bioprinting, microfluidics) for the understanding of oncogenic processes and the prediction of response to chemotherapy.

● **Key words:** 3D cell culture; spheroids; microenvironment; drug screening; personalized medicine.

Le cancer, avec 14 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès en 2012, reste une des maladies les plus mortelles à travers le monde. L'incidence de cette maladie risque d'augmenter encore avec une prédiction, pour les vingt prochaines années, de 22 millions de nouveaux cas par an. Il existe des centaines de cancers différents, et la maladie est

Pour citer cet article : Latour S, Le Morvan V, Bresson-Bépolain L. Les modèles innovants de culture en trois dimensions : défis et opportunités pour la recherche en cancérologie. *Innov Ther Oncol* 2018 ; 4 : 25-36. doi : 10.1684/ito.2018.0109

extrêmement complexe y compris au sein d'un même type tumoral, ce qui rend sa compréhension et le développement de nouveaux médicaments particulièrement difficiles. D'ailleurs, la recherche de médicaments contre le cancer au niveau préclinique a le pire taux de succès de tous les essais thérapeutiques, avec seulement un médicament sur 15 franchissant la phase III des essais cliniques et obtenant l'autorisation de mise sur le marché (AMM) [1]. Une des raisons majeures à ces échecs est sans doute l'utilisation de modèles d'études fondamentales ou précliniques ne reflétant pas la réalité physiopathologique des tumeurs cancéreuses et donc ne prédisant pas avec fiabilité l'efficacité des nouvelles molécules.

En effet, les tumeurs ne sont pas constituées de simples agrégats de cellules cancéreuses toutes identiques, mais elles forment une structure complexe (à l'image d'un micro-organe) composée de nombreux types cellulaires

soumis à différents signaux provenant de l'environnement [2]. Les tumeurs sont sous l'influence de facteurs biologiques, structuraux, chimiques et mécaniques qui peuvent modifier les cellules, notamment vis-à-vis de l'efficacité de molécules à visée thérapeutique. Les facteurs biologiques comprennent les cellules associées à la masse tumorale telles que des fibroblastes, des cellules immunitaires et des cellules endothéliales (figure 1). Les facteurs structuraux sont représentés par l'architecture de la tumeur, qui se développe dans les trois dimensions de l'espace en présence de matrice extracellulaire (MEC), en établissant des interactions cellule-cellule ou cellule-matrice. À cela, s'ajoutent des forces mécaniques exercées par l'environnement tissulaire de la tumeur, qui jouent un rôle non négligeable dans la dynamique tumorale, en favorisant, par exemple, la dissémination des cellules cancéreuses. Enfin, il s'établit au sein de la tumeur des gradients

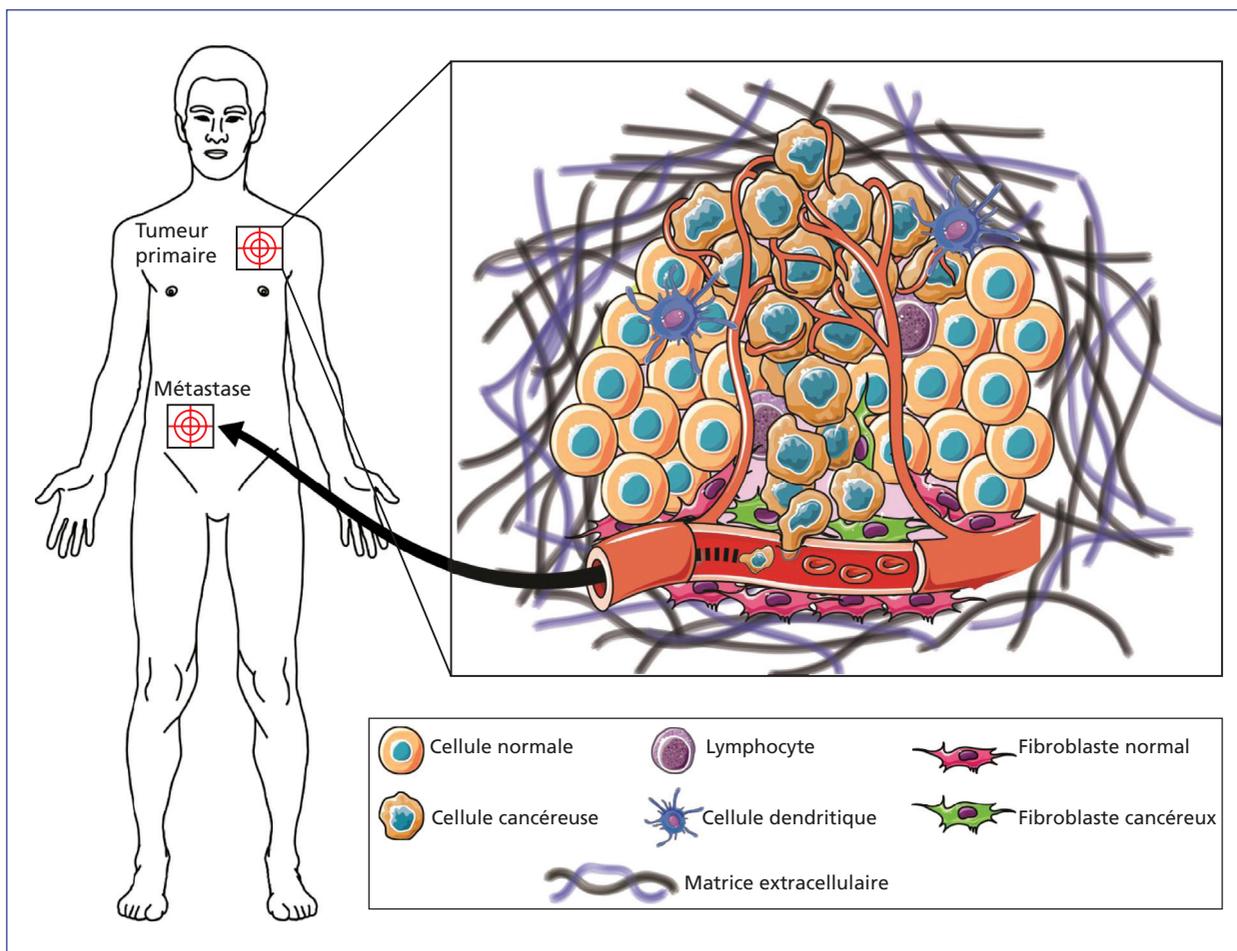


Figure 1. Schéma du micro-environnement tumoral et du processus métastatique. La formation d'une tumeur cancéreuse génère l'apparition d'un micro-environnement tumoral complexe constitué, entre autres, de l'apparition d'une néovascularisation, de fibroblastes associés au cancer (CAF), de cellules immunitaires et de matrice extracellulaire. Au cours de son évolution, les cellules tumorales peuvent rejoindre la circulation sanguine et migrer vers un autre organe dans lequel se développera la métastase.

Figure 1. Schematic representation of the tumour microenvironment and the metastatic process. During tumour formation, a complex tumour microenvironment develops, consisting of neovascularisation, cancer-associated fibroblasts (CAF), immune cells, and extracellular matrix, among others. As the cancer evolves, the tumour cells can enter the bloodstream and migrate to other organs where metastasis develops.

chimiques (gradients de métabolites, de nutriments ou d'oxygène) qui, en cas d'hypoxie ou en présence d'espèces oxygénées réactives, peuvent conduire à la surexpression de la glycoprotéine P ou à l'enrichissement des tumeurs en cellules souches cancéreuses [3], favorisant ainsi la chimiorésistance [4]. Aussi, afin de mieux comprendre l'oncogénèse et la progression des cancers, et avoir des modèles précliniques plus pertinents, l'élaboration de modèles d'études en 3D complexes, mimant le micro-environnement tumoral, est nécessaire.

« La tumeur cancéreuse a un micro-environnement complexe »

La grande majorité des études menées *in vitro* sur le cancer utilise des modèles de culture en 2D (cellules cultivées en monocouche pour les cellules adhérentes ou en suspension pour les cellules non adhérentes). Plusieurs revues ont rapporté le manque de corrélation entre les profils génétiques et transcriptomiques des lignées cellulaires cultivées en 2D *in vitro* et les cellules issues de tumeurs primaires [5, 6]. Cette observation peut avoir plusieurs origines non exclusives les unes des autres :

- des contaminations croisées avec d'autres lignées cellulaires ;
- la culture à long terme des lignées, qui favorise l'émergence de clones plus agressifs et les dérives génétiques ;
- l'absence de micro-environnement. L'architecture originale des tumeurs n'étant pas reproduite, cela modifie la physiopathologie des cellules tumorales ainsi que leurs réponses aux médicaments.

Ces limites à la culture cellulaire en 2D ont stimulé le développement de nouveaux modèles de culture *in vitro* en 3D permettant d'introduire des composants du micro-environnement, incluant des fibroblastes, des cellules du système immunitaire et/ou de la MEC. L'obtention *in vitro* d'une architecture 3D proche de celle des tumeurs *in vivo* reproduit également une barrière pour la pénétration et la diffusion des molécules pouvant jouer un rôle dans les mécanismes de résistance aux médicaments.

Dans cette revue, nous commencerons par décrire les modèles de culture en 3D *in vitro* les plus couramment utilisés dans les laboratoires, permettant de générer des sphéroïdes, ainsi que les méthodes d'analyse les plus adaptées à leur caractérisation. Puis, nous aborderons les nouvelles technologies développées actuellement pour modéliser les tumeurs cancéreuses et discuterons l'apport de ces nouveaux modèles d'études pour la cancérologie.

Les principaux modèles de culture en 3D

La formation des sphéroïdes procède en plusieurs étapes depuis l'ensemencement des cellules isolées jusqu'à leur

agrégation. Du fait de leur croissance en 3D, lorsque les sphéroïdes atteignent une taille de 300 μm et au-delà, il se crée des gradients chimiques similaires à ce qui est observé *in vivo* dans les microtumeurs avasculaires [7, 8] (figure 2). Ces gradients sont dus à la diffusion limitée de l'oxygène, des métabolites et des facteurs solubles (cytokines, facteurs de croissance et chimiokines) au sein du sphéroïde, ce qui conduit à l'apparition de zones cellulaires distinctes depuis le cœur du sphéroïde jusqu'à sa périphérie et comprenant, respectivement, des cellules nécrotiques, apoptotiques, quiescentes et enfin proliférantes [9] (figure 2). D'une façon générale, il est donc nécessaire, selon la question posée, de contrôler la taille des sphéroïdes afin d'obtenir des résultats reproductibles.

Les sphéroïdes tumoraux multicellulaires (STMC) sont les modèles 3D de cancer *in vitro* les plus utilisés. Les STMC peuvent être formés uniquement à partir de cellules tumorales ou avec des cellules du micro-environnement en présence ou non de matrice d'échafaudage. Les avantages et les inconvénients des différents modèles de STMC sont résumés dans le tableau 1.

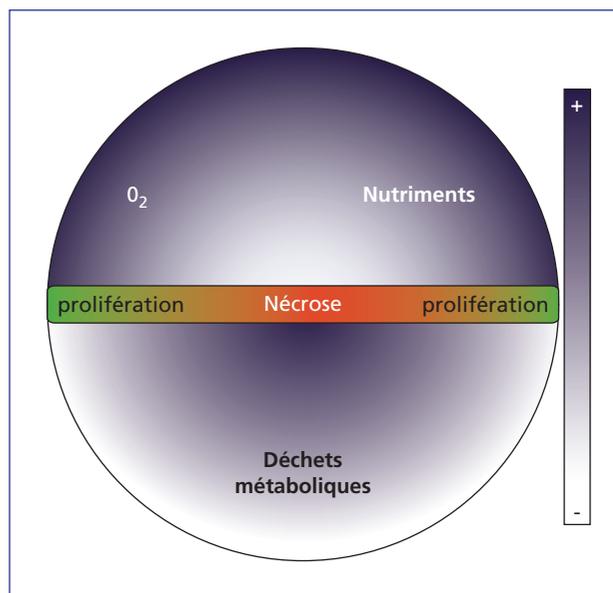


Figure 2. Représentation schématique des gradients physicochimiques dans un sphéroïde, et leurs conséquences sur l'état des cellules tumorales. La disponibilité de l'oxygène et des nutriments diminue dans la profondeur du sphéroïde alors que les déchets métaboliques s'accumulent. L'hypoxie au centre du sphéroïde induit la nécrose des cellules alors qu'en périphérie les cellules prolifèrent.

Figure 2. Schematic representation of physicochemical gradients in spheroids, and their consequence for tumour cells. The availability of oxygen and nutrients decreases within the depth of the spheroid, while metabolic waste accumulates. Hypoxia in the centre of the spheroid induces cell necrosis, while proliferating cells are found at the periphery.

Tableau 1. Caractéristiques des modèles de culture en 3D selon la technologie utilisée pour leur obtention.
Table 1. 3D cell culture characteristics according to the technology used.

	STMC avec échafaudage	STMC en milieu liquide	Bio-impression	Body-on-chip
Mise en œuvre	++	+++	+/-	+/-
Contrôle de la taille	-	+++	+++	+
Contrôle de l'environnement				
Chimique f(temps)	-	+++	++	+++
Physique f(temps)	+++	-	++	+/-
Ajout de cellules du micro-environnement	++	-	+++	++
Rendement	++	+++	+	+/-
Analyses f(temps)	+/-	+	++	++
Analyses en point final	+/-	+++	++	++
HTS	+/-	+++	+/-	+/-

STMC : sphéroïdes tumoraux multicellulaires ; HTS : *high throughput screening*.

Les sphéroïdes tumoraux multicellulaires en milieu liquide

Les méthodes d'obtention des STMC en milieu liquide sont bien adaptées pour les cellules qui sécrètent leur propre MEC et forment spontanément des agrégats, comme c'est le cas, par exemple, pour les cellules cancéreuses du sein ou du côlon.

Différentes méthodes existent pour cultiver les STMC en milieu liquide, mais le principe repose toujours sur l'empêchement des cellules à adhérer aux supports afin de favoriser les forces d'adhésions entre les cellules. Les conditions non adhérentes pour la culture des STMC peuvent être obtenues par agitation continue du milieu de culture, comme dans les systèmes de *spinner flask*, *gyratory shaker* ou bioréacteur NASA. Les quantités de STMC obtenues avec ces méthodes sont élevées mais leur taille n'est pas toujours homogène, ce qui nécessite une étape de tri avant toute expérimentation. À noter que la technique du bioréacteur NASA entraîne des turbulences du milieu de culture moins fortes, diminuant ainsi le risque de *shear stress* qui est un stimulus pouvant modifier le comportement de certains types cellulaires comme les ostéoblastes, par exemple [10]. Une autre façon d'empêcher l'adhésion des cellules au support est de recouvrir la surface de culture avec un substrat inerte (polystyrène, agarose), ce qui favorise l'auto-agrégation des cellules et leur compaction. Cette technique adaptable aux plaques à 96 puits permet d'obtenir un STMC par puits, de taille relativement homogène, ce qui en fait une méthode de choix pour le criblage à haut débit [11].

Une autre méthode en milieu liquide également utilisée pour former des STMC est la technique de la goutte pendante [12]. Celle-ci consiste à déposer sur le couvercle d'une plaque à 96 puits une goutte de suspension cellulaire correspondant à chaque puits. Le couvercle une fois retourné, les cellules vont s'accumuler au fond de

la goutte, par action de la gravité, et former un sphéroïde par goutte. Cette technique présente l'avantage d'obtenir une production importante de STMC de taille très régulière bien adaptée au criblage de molécules. Néanmoins, elle est très délicate à mettre en œuvre et demande beaucoup de temps de manipulation, l'étape la plus critique étant la remise en culture des sphéroïdes néoformés dans les puits afin d'effectuer les tests et les analyses. Pour pallier cette difficulté, la société InSphero AG (Schlieren, Suisse) propose un système de plaque permettant un transfert plus aisé des sphéroïdes.

Du fait de leur rendement élevé, de la taille homogène des STMC pouvant être produits, et du contrôle possible du milieu extracellulaire, ces technologies sont de bons outils pour le test et le *screening* à haut débit de médicaments anticancéreux.

Les sphéroïdes tumoraux multicellulaires avec matrice d'échafaudage

Dans ce type de STMC, les échafaudages biologiques ne sont pas là uniquement pour pré-structurer l'organisation des cellules tumorales, mais aussi pour fournir au système un certain nombre de signaux favorisant les interactions cellule-cellule et cellule-matrice, modulant ainsi la physiologie cellulaire. Ces modèles 3D ont été établis avec de nombreux types de cellules cancéreuses dont les cellules du cancer du sein, du poumon et de la prostate [13-15].

Les matrices d'échafaudage couramment utilisées pour les cultures en 3D sont, soit des hydrogels naturels à base de MEC, soit des hydrogels synthétiques modifiés ou non avec des motifs de liaison aux intégrines. Les hydrogels sont des polymères naturels ou synthétiques formant un réseau et ayant des propriétés d'élasticité proche des tissus biologiques. Le Matrigel® est le plus connu et le plus utilisé des hydrogels naturels. C'est une matrice de membrane basale extraite du sarcome murin

d'Engelbreth-Holm-Swarm (EHS), une tumeur riche en protéines de MEC. Ses principaux composants sont la laminine, le collagène IV, l'entactine et l'héparane sulfate. Le Matrigel® contient également des facteurs de croissance et des chimiokines qui vont favoriser la croissance cellulaire. L'avantage de ces hydrogels naturels consiste en la présence de ligands pouvant se lier aux intégrines, ce qui permet d'activer des signaux de transduction en réponse à des changements du micro-environnement. En revanche, leur origine naturelle engendre une certaine variabilité dans leur composition, ce qui rend parfois difficile l'obtention de résultats reproductibles. Les sphéroïdes inclus dans de l'hydrogel naturel peuvent servir de modèle de métastases, car il fournit une matrice sur laquelle les cellules peuvent adhérer et migrer. Ainsi, les cellules peuvent se dissocier du sphéroïde et migrer dans l'hydrogel. Ce modèle peut être utilisé pour évaluer l'efficacité des molécules sur l'invasion cellulaire dans un contexte 3D [16, 17]. De plus, en modifiant la composition de l'hydrogel, par ajout, par exemple, de collagène I, on peut augmenter le pouvoir invasif des cellules comme cela a été montré avec les cellules de cancer du sein [18]. Au contraire, les hydrogels synthétiques (poly[éthylène glycol], poly[vinyl alcool], poly[2-hydroxy méthacrylate], poly-2-hydroxy-éthyl-méthacrylate) sont biologiquement inactifs, leurs propriétés mécaniques peuvent être modifiées et, du fait de leur composition stable, ils donnent des résultats très reproductibles. De plus, on peut introduire des motifs de reconnaissance aux intégrines dans ces hydrogels, leur conférant des propriétés plus proches de celles des hydrogels naturels.

Les sphéroïdes tumoraux multicellulaires en co-culture

La co-culture de STMC avec les cellules du micro-environnement a été utilisée pour élaborer des modèles tumoraux plus proches de la réalité et pour démontrer le rôle de ces cellules dans la progression tumorale. Ainsi, les STMC en co-culture avec des cellules stromales peuvent être obtenus en utilisant différents protocoles :

- les cellules stromales et tumorales sont mélangées avant la formation des sphéroïdes ;
- les sphéroïdes sont déposés sur des cultures de fibroblastes en monocouche ou en suspension ;
- enfin, des sphéroïdes de fibroblastes sont ajoutés à des STMC.

« La culture en 3D permet de reproduire la complexité tumorale »

Par ailleurs, l'ajout de monocytes à des STMC de cancer de vessie permet d'étudier comment les cellules tumorales peuvent induire la différenciation des monocytes en macrophages associés aux tumeurs [19]. Enfin, mais ce n'est pas exhaustif, des STMC de cancer du sein ont été co-cultivés avec des fibroblastes et des macrophages afin d'étudier leur impact sur la formation des sphéroïdes et le

pouvoir invasif des cellules [20]. Ces études montrent l'importance de développer des modèles proches de la réalité physiologique pour étudier toutes les facettes des interactions de la tumeur avec son micro-environnement.

Évaluation et analyses des sphéroïdes tumoraux multicellulaires

La microscopie, les tests biochimiques et la cytométrie en flux sont les techniques les plus fréquemment utilisées pour analyser les sphéroïdes aux niveaux phénotypiques et morphologiques, et pour évaluer l'effet des molécules anticancéreuses.

Microscopie

La microscopie permet d'étudier différents paramètres cellulaires sur des sphéroïdes entiers vivants ou fixés. L'analyse en microscopie est principalement basée sur l'utilisation de sondes fluorescentes ou de protéines fluorescentes reportrices qui sont exprimées par les cellules d'intérêt.

La microscopie électronique à balayage génère des images en haute résolution de la surface des STMC, alors que la microscopie électronique à transmission ou la microscopie multiphotonique permet d'obtenir des images en 3D de leur structure interne. La microscopie confocale, dans certaines conditions, fournit des informations quant à l'organisation tridimensionnelle des STMC et à l'expression *in spherio* des protéines. Un des marquages les plus utilisés sur des sphéroïdes vivants est le marquage à la calcéine/iodure de propidium/Hoechst qui permet de visualiser les cellules mortes (positives à l'iodure de propidium) et les cellules vivantes (positives à la calcéine). L'utilisation de protéines reportrices fluorescentes est particulièrement utile pour distinguer différents types cellulaires au sein d'un même sphéroïde dans le cas de la co-culture de STMC. Ces marqueurs endogènes permettent de suivre la formation et l'organisation du sphéroïde au cours du temps avec une toxicité moindre par rapport aux sondes fluorescentes. À différents stades, les sphéroïdes obtenus peuvent être fixés et marqués en immunofluorescence afin de détecter l'expression de protéines diverses. Il existe des limites à l'utilisation de ces techniques d'imagerie de fluorescence :

- la pénétration des sondes et des anticorps dans le sphéroïde : selon la taille du sphéroïde et son degré de compaction, les molécules fluorescentes ne peuvent pas toujours atteindre le cœur de la structure, et cela entraîne une perte d'information ;
- pour les mêmes raisons, la pénétration de la lumière au cœur du sphéroïde peut être faible et, là encore, de l'information sera perdue ;
- l'acquisition d'images, en 3D et/ou au cours du temps, est souvent longue et génère de grandes quantités de données.

Afin de rendre compatible imagerie et analyse de sphéroïdes à haut débit, des initiatives récentes ont

émergées. Un exemple est la mise au point d'une chambre d'observation, appelée Universlide, permettant d'imager une centaine de sphéroïdes immobilisés dans des micropuits d'agarose [21]. Enfin, pour observer l'intérieur des sphéroïdes en profondeur, il est envisageable de les inclure en paraffine, d'effectuer des coupes et des marquages en immunohistochimie ou en immunofluorescence que l'on peut observer ensuite par des techniques classiques de microscopie.

Tests biochimiques

Les tests biochimiques sont très souvent utilisés pour déterminer l'impact des molécules sur la survie cellulaire dans un contexte tridimensionnel. Ce sont souvent des tests effectués en « point final », sur la globalité du sphéroïde. Il existe de très nombreux protocoles et kits mis au point pour mesurer la mort cellulaire induite par une molécule anticancéreuse au sein des sphéroïdes. La plupart de ces protocoles utilise des réactifs fluorescents, luminescents ou colorés. Ils sont adaptés pour des mesures en plaques à 96 puits et lus avec des lecteurs de plaques permettant, de ce fait, des analyses à haut débit. Pour beaucoup d'entre eux, ces tests mesurent l'activité métabolique des cellules. Ainsi, le kit *CellTiter Glo® 3D Cell Viability Assay* (Promega) évalue la viabilité cellulaire dans des cultures en 3D par mesure du taux d'adénosine triphosphate (ATP). De même, le test basé sur la réduction de la résazurine mesure l'activité métabolique des cellules vivantes. Les cellules vivantes libèrent des déshydrogénases dans le milieu, qui réduisent la résazurine peu colorée en résorufine fluoresçant dans le rouge, qu'il est aisé de mesurer avec un lecteur de plaque.

Cytométrie en flux

La cytométrie en flux permet de mesurer à l'échelle unicellulaire la viabilité, la prolifération, l'apoptose, l'expression de marqueurs, etc. C'est une méthode quantitative mais qui nécessite de pouvoir récupérer et dissocier les sphéroïdes à analyser. La récupération des sphéroïdes n'est pas toujours aisée, surtout lorsque ceux-ci sont inclus dans un hydrogel et leur dissociation peut affecter l'intégrité des cellules et leur viabilité, introduisant un biais dans l'analyse. Néanmoins, les cytomètres en flux de type COPAS (Union Biometrica) permettent d'analyser de grandes particules comprises entre 20 et 1 500 µm. Ainsi, les sphéroïdes peuvent être analysés dans leur totalité sans être détruits.

Nouvelles technologies d'ingénierie tissulaire pour la conception de modèles de cancer *in vitro*

Dans le but de contourner plusieurs limites liées à la culture cellulaire en 3D « classique », comme le manque de contrôle de divers aspects de la biologie des STMC (rigidité et composition de la MEC, position des cellules,

taille des STMC, contrôle des échanges gazeux), de nouvelles technologies de modélisation des tumeurs cancéreuses ont émergé depuis quelques années. Celles-ci s'articulent autour de deux disciplines : la bio-impression et la microfluidique.

Bio-impression en 3D

La bio-impression est une technologie qui utilise les principes de l'impression 3D pour fabriquer des tissus biologiques vivants à partir d'une encre biologique, grâce à un assemblage couche par couche de cellules, en suivant un agencement défini par ordinateur (*figure 3*). Selon les mécanismes de déposition des bio-encres, les modalités de bio-impression peuvent être de type « jet d'encre », micro-extrusion ou assisté par laser.

La bio-impression par jet d'encre consiste à projeter des microgouttelettes d'un liquide contenant des cellules sur une plateforme [22]. La projection est provoquée par un procédé thermique ou piézoélectrique. La tête d'impression est dirigée par un ordinateur. Cette méthode est peu coûteuse et rapide mais le taux de survie des cellules n'est que de 85 %. L'impression assistée par laser intègre un laser « nanosecondes » infrarouge qui est focalisé sur des cartouches [23]. Il est capable de propulser environ 10 000 microgouttelettes par seconde, de la taille d'une cellule, avec une précision de quelques microns. C'est en superposant les couches de ces microgouttelettes que l'on obtient une impression en 3D. Cette méthode est très précise avec une très bonne viabilité des cellules (> 95 %) mais son coût est élevé. Cette technologie est développée par la société Poietis (Bordeaux, France). La micro-extrusion [24] fonctionne grâce à deux têtes d'impression. L'une dépose le gel et l'autre les cellules. Les cellules sont poussées dans une microseringue et déposées grâce à une aiguille. Les couches sont déposées en alternance, une couche d'hydrogel suivie d'une couche de cellules. Cette méthode est industrialisée par la société américaine Organovo, son temps d'impression est très lent par rapport aux autres procédés et la viabilité des cellules reste encore médiocre (40 à 80 % de viabilité).

« La bio-impression 3D et la microfluidique lèvent des verrous technologiques importants »

La bio-impression a été conçue dans un but de médecine régénérative, mais récemment son application pour la modélisation des tumeurs cancéreuses a émergé [25]. Sans doute, l'apport principal de la bio-impression aux modèles tumoraux *in vitro* déjà existants est la possibilité d'introduire dans les sphéroïdes, avec une bonne précision spatiale, le micro-environnement tumoral et, plus particulièrement, la vascularisation [26]. En effet, au cours de l'oncogenèse il y a induction d'une néovascularisation (angiogenèse) au niveau de la tumeur, qui fournit l'oxygène et des nutriments nécessaires à la croissance tumorale. La vascularisation peut être modélisée par la bio-impression en utilisant la technique de l'« encre

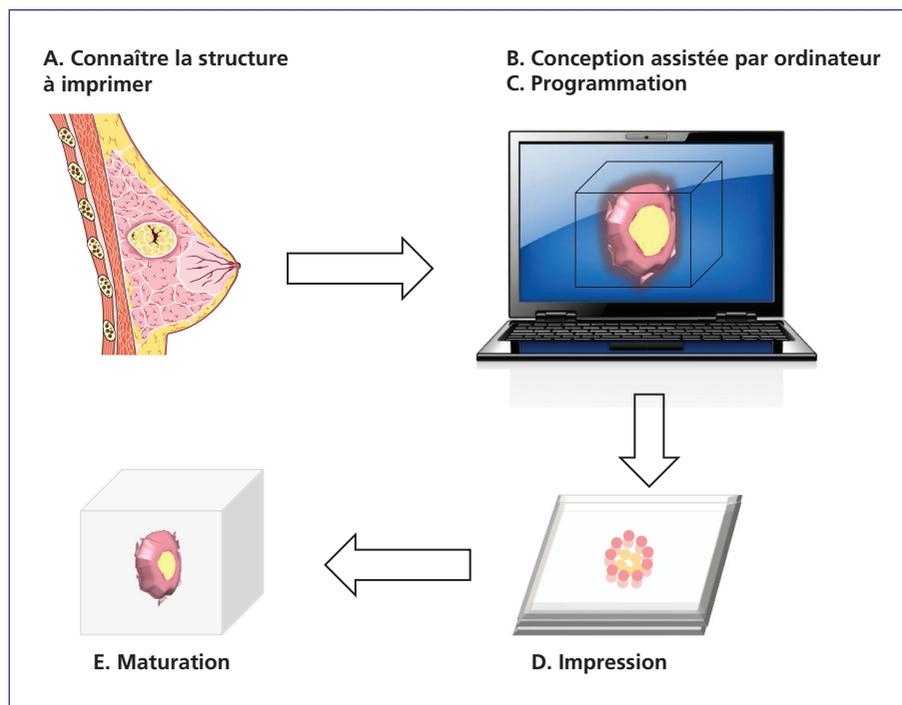


Figure 3. Les différentes étapes de la bio-impression. Après avoir étudié la structure et la composition de la tumeur à reconstituer (A), l'organoïde est conçu (plan) avec l'assistance d'un ordinateur (B) et la programmation de la bio-imprimante est effectuée (C). L'impression du tissu est ensuite réalisée selon une des trois techniques existantes (jet d'encre, co-extrusion ou laser) (D). Une fois l'impression terminée, les organoïdes sont obtenus après quelques jours de maturation dans un incubateur avec du milieu de culture (E).

Figure 3. The various stages of bio-printing. Having studied the structure and composition of the tumour to be constructed (A), the organoid is designed and planned with the assistance of a computer (B) and the bio-printer is programmed (C). The tissue is then printed according to one of the three existing techniques (inkjet, coextrusion, or laser) (D). Once the printing is complete, the organoids are obtained after a few days of maturation in an incubator with culture medium (E).

sacrificielle » [27-29]. Le principe consiste à déposer avec la bio-imprimante un moule composée de carbohydrate ou de gélatine et ressemblant à un réseau de vaisseaux sanguins. La matrice d'hydrogel est coulée autour de ce moule qui est ensuite dissous ou liquéfié, laissant place à un canal creux pouvant être perfusé et colonisé par des cellules endothéliales mimant ainsi la fonction vasculaire. Ainsi, Dai [30] a recréé par bio-impression un modèle de vascularisation d'un glioblastome en combinant l'utilisation d'encre sacrificielle et de STMC. Un microcanal ensemencé avec des cellules HUVEC est bio-imprimé dans un bloc de collagène, puis un sphéroïde formé de cellules souches de gliome issues d'un patient est injecté près du vaisseau modélisé. Au bout de sept jours, le sphéroïde se remodèle et se dirige vers le vaisseau. Si des modèles similaires pouvaient être élaborés par d'autres équipes et avec d'autres types de cellules cancéreuses, ceux-ci permettraient d'étudier les processus de migration et d'intravasation des cellules tumorales à l'origine des métastases. Ils pourraient également être de très bons modèles pour étudier la diffusion et l'efficacité des médicaments dans les tumeurs après perfusion de celles-ci dans les microvaisseaux. Néanmoins, bien que prometteuse, l'utilisation de la

bio-impression pour le *screening* de nouvelles molécules anticancéreuses nécessite une validation avec plusieurs types de cellules cancéreuses, une standardisation et une évaluation par comparaison à des modèles *in vivo*.

Microfluidique

Les technologies de microfluidique sont définies par une manipulation élaborée des conditions micro-environnementales tissulaires et peuvent inclure dans leurs modèles un seul ou plusieurs types de tissus. Les spécificités de ces technologies résident dans le contrôle temporel et spatial des flux liquidiens et dans celui des forces biomécaniques dans les différents compartiments tissulaires [31]. Outre la possibilité d'intégrer des conditions proches de l'*in vivo* comme l'architecture 3D, les interactions cellule-cellule et cellule-MEC, la microfluidique permet de réaliser la perfusion des tissus modélisés, rendant ces modèles de culture en 3D encore plus proches de la réalité physiopathologique. L'ingénierie tissulaire en 3D sur une puce (*chip*) ne fait pas que mimer l'organisation des tissus sains ou pathologiques ; elle mime également la fonction de ces tissus ou organes ou même des systèmes multitissulaires ou multi-organes.

● Technologie des capsules cellulaires

La technologie des capsules cellulaires (TCC) permet d'obtenir des sphéroïdes de cellules cancéreuses (ou autres) en utilisant un dispositif de microfluidique et de l'hydrogel. Le principe repose sur l'encapsulation d'une suspension cellulaire dans une coque d'alginate perméable aux nutriments et aux molécules pharmacologiques. Cette encapsulation est possible grâce à un dispositif microfluidique de co-extrusion comprenant une puce composée de trois capillaires concentriques qui sont remplis avec la suspension cellulaire (capillaire interne), une solution neutre sans calcium (capillaire intermédiaire) et une solution d'alginate (capillaire externe) [32]. Quand les microgouttes tombent dans un bain de calcium, l'alginate se rigidifie, enfermant la suspension cellulaire dans une capsule creuse ou tapissée de Matrigel[®], parfaitement transparente. La TCC permet d'obtenir des milliers de sphéroïdes, de taille très homogène (environ 300 µm), parfaitement adaptées au criblage de molécules anticancéreuses. Il est possible de co-encapsuler des cellules du micro-environnement avec les cellules tumorales (résultats personnels non publiés) et, du fait de la nature creuse des capsules, les cellules peuvent s'auto-organiser. De plus, le confinement offert par la présence de la capsule d'alginate fait de la TCC une des rares technologies de culture en 3D utilisable pour modéliser la niche tumorale des hémopathies malignes. Enfin, lorsque les sphéroïdes croissent jusqu'à confluence ou au-delà, des contraintes mécaniques générées par la présence de la capsule d'alginate apparaissent, dont l'effet sur les cellules cancéreuses *in situ* est aujourd'hui avéré. Ainsi, Alessandri et al. [32] ont montré que les cellules de sphéroïdes de cellules cancéreuses murines de côlon, subissant des contraintes mécaniques dans les capsules, acquerraient des propriétés migratoires et invasives par rapport aux mêmes cellules non

contraintes. La TCC permet donc d'étudier l'effet des forces mécaniques sur l'évolution des tumeurs en 3D, ce qui en fait également un modèle de choix pour le développement et le test de nouvelles thérapies anticancéreuses.

● Body-on-chip

Lors du processus métastatique, les cellules cancéreuses migrent d'un organe à un ou plusieurs autres organes en utilisant souvent la circulation sanguine ou lymphatique. Pour étudier ce phénomène, la modélisation d'une tumeur, même en 3D, est limitée pour reproduire les nombreuses relations existantes entre les différents organes *in vivo*. Le *body-on-chip* est un concept comprenant différentes chambres, dans lesquelles sont disposées des sphéroïdes représentant différents organes, connectées entre elles par un système de microfluidique (figure 4) [33]. Dans une étude princeps, Sung et Shuler [34] ont montré l'intérêt de connecter, par un système de microfluidique, des cultures de cellules en 3D de cancer de côlon, de foie normal et de moelle osseuse pour étudier l'activité du Tegafur, précurseur du 5-FU, qui ne devient active que si elle est métabolisée par le foie. Récemment, une puce comprenant des sphéroïdes de cancer de côlon de type métastatique et de foie normal reliés par un système de microfluidique a permis d'observer la migration des cellules tumorales et leur implantation dans le foie, alors que ce phénomène n'était pas observé avec des sphéroïdes de cellules cancéreuses de côlon non métastatiques, validant ainsi le concept [35].

Applications des modèles de culture en 3D

Au-delà de l'intérêt que présentent ces modèles de cancer en 3D *in vitro* pour étudier, d'un point de vue

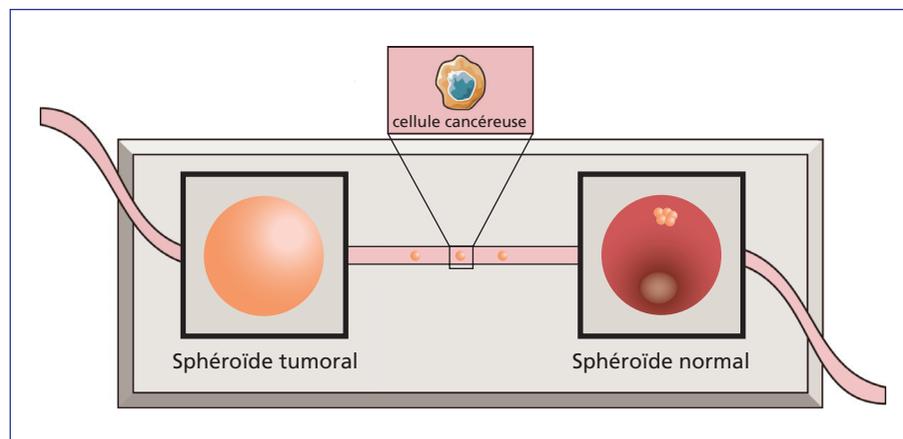


Figure 4. Exemple de dispositif microfluidique de type *body-on-chip* permettant d'étudier le processus métastatique d'une tumeur. Des organoïdes de tissus cancéreux et sains sont déposés sur une puce équipée d'un système microfluidique de perfusion. Grâce à ce système, il est possible de visualiser et d'étudier la migration des cellules cancéreuses vers le tissu sain et l'apparition de métastases.

Figure 4. Example of a "body-on-chip" microfluidic device to study the metastatic process of a tumour. Organoids of cancerous and healthy tissue are deposited on a chip equipped with a microfluidic perfusion system, making it possible to visualise and study the migration of cancer cells to healthy tissue and the formation of metastases.

fondamental, la croissance, la migration cellulaire et l'organisation de la niche tumorale, ils pourraient se montrer particulièrement pertinents pour la découverte et le criblage de nouvelles chimiothérapies, et pour le développement de la médecine personnalisée. Ce sont ces derniers aspects que nous évoquerons dans cette revue.

Découverte et *screening* de nouvelles molécules anticancéreuses

La découverte de nouveaux médicaments au stade préclinique utilise des modèles *in vitro* adaptés au criblage à haut débit, peu coûteux et rapides à mettre en œuvre par rapport aux modèles animaux. Cependant, l'activité d'une molécule peut varier considérablement selon le modèle *in vitro* choisi pour faire le test. Ainsi, les tests les plus fiables sont ceux qui sont effectués sur les modèles les plus ressemblants au type tumoral étudié, et de ce point de vue, les modèles de culture cellulaire en 3D, comprenant de la MEC et des cellules du micro-environnement, sont sûrement les plus proches de la réalité physiopathologique. Ainsi, les cellules de cancer du sein ou les cellules HeLa cultivées en monocouche sont plus sensibles aux médicaments que les sphéroïdes correspondants [36, 37]. Cependant, une étude a également montré que les cellules de cancer du sein cultivées en 3D étaient plus sensibles au trastuzumab que lorsqu'elles sont cultivées en 2D, car les cellules de sphéroïdes présentent une activation et une dépendance augmentées vis-à-vis de la signalisation HER2 et HER3 [38]. De plus, les interactions entre les cellules tumorales et les cellules stromales sur la sensibilité des cellules tumorales aux médicaments peuvent être complexes et dépendantes du contexte. Ainsi, des sphéroïdes de cancer colorectal co-cultivés avec des cellules stromales et traités avec différentes combinaisons de médicaments montrent une réponse différente selon la composition du micro-environnement en présence [39]. L'ensemble de ces études souligne bien l'importance de considérer l'architecture tridimensionnelle des tumeurs ainsi que leur composition en cellules du micro-environnement pour effectuer de manière pertinente des criblages de molécules à haut débit. L'introduction d'une microvascularisation et l'utilisation de *body-on-chip* pourraient optimiser encore les tests en étudiant la pharmacodynamie et le métabolisme des molécules.

« La culture 3D : nouveau standard pour le criblage de molécule »

Les modèles d'études *in vitro* en 3D sont certainement amenés à devenir, dans un futur proche, les nouveaux standards pour le criblage de nouveaux médicaments. Cependant, ces modèles doivent répondre à certaines contraintes liées aux tests à haut débit. Ces contraintes supposent que les sphéroïdes soient produits en grande quantité, qu'ils soient de taille homogène et facilement manipulables. De plus, du fait des difficultés d'analyse de la cytotoxicité liées à la structure tridimensionnelle des

sphéroïdes, il est absolument nécessaire de comparer et de valider les résultats obtenus avec les modèles en 3D sur des modèles animaux existants avant d'envisager leur utilisation en routine.

Médecine de précision

La prédiction précise de la progression de la tumeur ou de la réponse aux chimiothérapies d'un patient donné est un des plus grands défis de la cancérologie actuelle. La prescription de médicaments est le plus souvent basée sur son taux de succès en général et non sur la réponse spécifique d'un individu à celle-ci. Récemment, le concept de médecine de précision ou personnalisée a évolué pour répondre à ce problème en utilisant le profil génétique du patient pour identifier les bonnes cibles thérapeutiques [40]. Cependant, la mise en pratique de la médecine de précision n'est pas si simple. Deux principales approches ont été utilisées pour tester la sensibilité aux médicaments sur des échantillons tumoraux de patients : la culture à court terme d'explants et les xénogreffes dans des souris immunodéficientes (*patient-derived xenografts* [PDX]). La méthode des explants est principalement limitée par la faible prolifération des cellules en culture et les PDX, même si elles permettent de faire un criblage des médicaments *in vivo*, sont laborieuses à mettre en place, longues et incompatibles parfois avec l'urgence du traitement, et éthiquement critiquables car consommatrices d'un grand nombre de souris. Dans ce contexte, il apparaît que les STMC obtenus à partir de tumeurs de patients peuvent apporter une contribution majeure à la mise en place d'une médecine de précision (figure 5). En effet, plusieurs études, principalement effectuées sur les cancers de la prostate et du côlon [41, 42], ont montré que les profils génétiques et protéiques des sphéroïdes conservaient les principales caractéristiques des tumeurs initiales, ainsi que leur polyclonalité [43]. Cela, combiné à la possibilité d'appliquer des analyses de cytotoxicité à haut débit sur ces modèles, souligne le potentiel des STMC pour la médecine de précision. De plus, la bonne fidélité des modèles de culture en 3D de patient vis-à-vis des tumeurs d'origine permet d'envisager la constitution de banques de sphéroïdes dans l'objectif d'offrir un panel de tumeurs à tester beaucoup plus vaste que les lignées existantes, et donc pouvant potentiellement représenter les tumeurs les moins fréquentes [43, 44]. Enfin, dans un futur proche, en mimant des systèmes de circulation reliant plusieurs sphéroïdes de différents tissus sur une même puce (*body-on-chip*), les techniques de microfluidique pourraient permettre de tester avec une grande précision l'efficacité de médicaments ciblant les processus métastatiques, ou encore d'observer les effets indésirables de certains médicaments susceptibles d'affecter leur efficacité chez les patients [45]. Ainsi, les STMC issus de patients semblent bien pouvoir combler le vide existant entre la détermination des altérations génétiques des cancers et les essais cliniques, en identifiant des schémas thérapeutiques personnalisés.

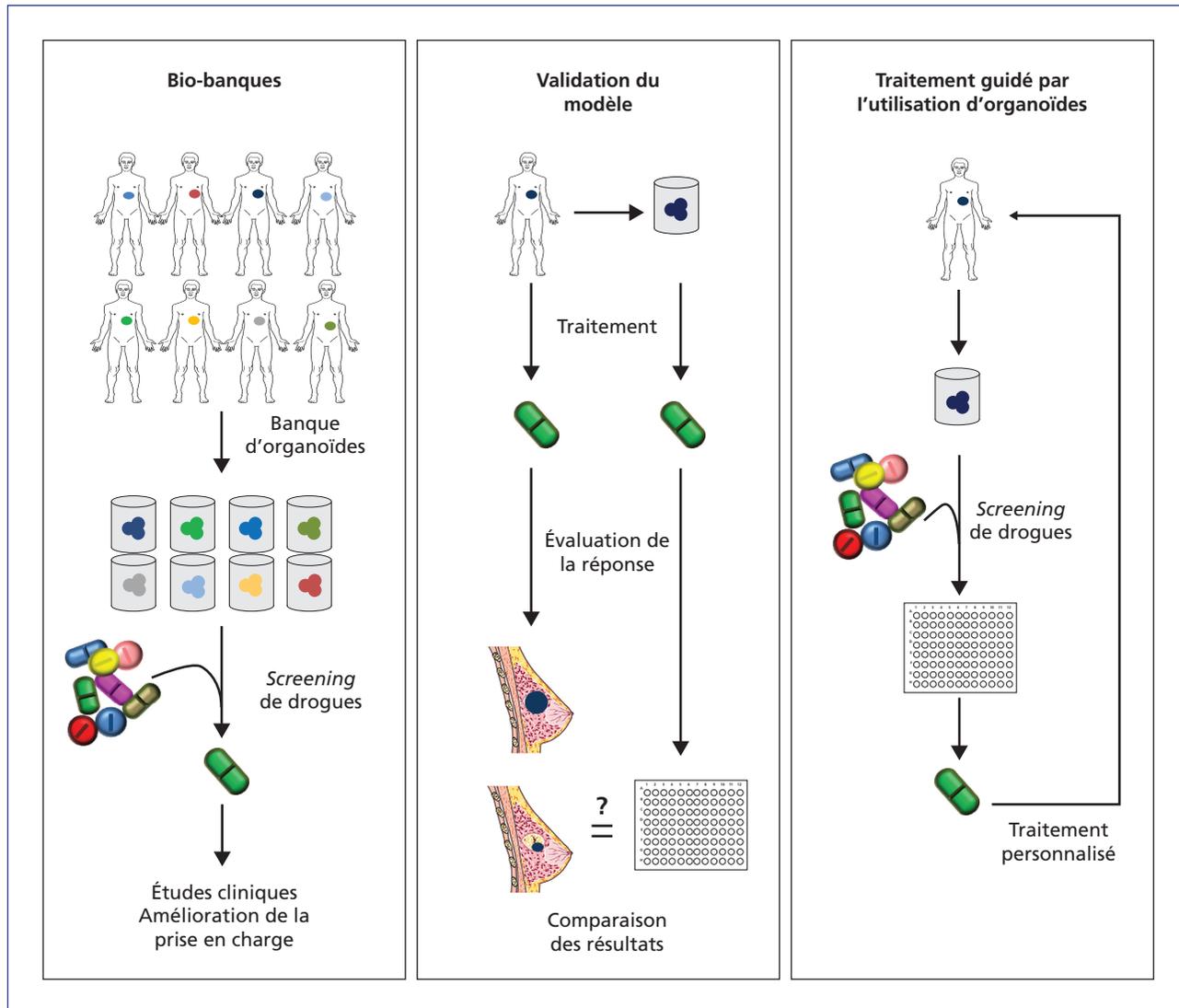


Figure 5. Application de la culture en 3D à la médecine de précision. Grâce à l'obtention de sphéroïdes avec un haut rendement, il est possible d'établir des bio-banques constituées d'organoïdes représentant tous les sous-types moléculaires d'un type de cancer. Cela pourrait faciliter le *screening* de molécules à grande échelle. La validation du modèle peut être facilement effectuée en comparant la réponse de l'organoïde et de la tumeur du patient à une molécule donnée. Enfin, les organoïdes issus d'une tumeur d'un patient donné peuvent permettre de sélectionner la meilleure thérapie pour ce patient.

Figure 5. Application of 3D cell culture to precision medicine. Because of the high yield of spheroids, it is possible to establish biobanks containing organoids which represent the entire spectrum of molecular subtypes of a cancer type. This could facilitate molecular screening on a large scale. The model can be easily validated by comparing the patient's organoid and tumour response to a given molecule. Finally, patient-derived tumour organoids can be used to select the best therapy for the individual patient.

Conclusion

Depuis une dizaine d'années, les modèles précliniques pour le développement de molécules anticancéreuses ont été bien améliorés par la prise en compte de l'architecture 3D de la tumeur et par l'introduction des cellules stromales. Néanmoins, il est évident qu'aujourd'hui seule une partie de la complexité des tumeurs cancéreuses peut être mimée avec les modèles que nous avons

présentés dans cette revue. Les modèles 3D de cancer utilisant les techniques de microfluidique nous paraissent être ceux qui ont le plus fort potentiel pour se rapprocher de la complexité de la biologie tumorale, car ils ouvrent la perspective de « multiplexer » les organoïdes. Néanmoins, si des modèles plus simples de STMC sont déjà utilisés en criblage à haut débit, les autres modèles (tels que la bio-impression ou la microfluidique) nécessitent encore recherches et développements pour

Take home messages

- Les modèles de culture cellulaire en 3D sont des modèles d'études particulièrement bien adaptés pour comprendre la physiopathologie du cancer.
- Les progrès de l'ingénierie tissulaire permettent de reproduire la complexité du micro-environnement tumoral ce qui rend ces modèles de culture 3D pertinents pour le criblage de molécules et la médecine de précision.

standardiser la production d'organoïdes et pour optimiser les techniques d'analyses afin de les rendre compatibles avec le haut débit. Dans le but de valider les STMC comme modèles précliniques, un consortium nommé PREDECT (<http://www.predect.eu>) a lancé une étude comparative des profils moléculaires et des réponses aux médicaments des différents modèles *in vitro* (2D et 3D) et des tumeurs des patients.

En réunissant l'ingénierie tissulaire et la biologie des cancers, nous devrions observer des avancées considérables dans la modélisation du cancer dans un futur relativement proche. Ces modèles 3D de plus en plus aboutis (haut rendement de production des sphéroïdes avec une taille homogène, présence de MEC, de stroma et de cellules du système immunitaire, multiplexage des tissus) devraient contribuer à une meilleure compréhension des processus oncogéniques et permettre une identification, une caractérisation et une toxicité des molécules anticancéreuses mieux maîtrisées ainsi que le développement de la médecine personnalisée.

RÉFÉRENCES

- Hay M, Thomas DW, Craighead JL, Economides C, Rosenthal J. Clinical development success rates for investigational drugs. *Nat Biotechnol* 2014 ; 32 : 40-51.
- Bissell MJ, Radisky D. Putting tumours in context. *Nat Rev Cancer* 2001 ; 1 : 46-54.
- Qin J, Liu Y, Lu Y, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha promotes cancer stem cells-like properties in human ovarian cancer cells by upregulating SIRT1 expression. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 10592.
- Seebacher N, Lane DJ, Richardson DR, Jansson PJ. Turning the gun on cancer: Utilizing lysosomal P-glycoprotein as a new strategy to overcome multi-drug resistance. *Free Radic Biol Med* 2016 ; 96 : 432-45.
- Barretina J, Caponigro G, Stransky N, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature* 2012 ; 483 : 603-7.
- Gillet JP, Varma S, Gottesman MM. The clinical relevance of cancer cell lines. *J Natl Cancer Inst* 2013 ; 105 : 452-8.
- Groebe K, Mueller-Klieser W. Distributions of oxygen, nutrient, and metabolic waste concentrations in multicellular spheroids and their dependence on spheroid parameters. *Eur Biophys J* 1991 ; 19 : 169-81.
- Thoma CR, Zimmermann M, Agarkova I, Kelm JM, Krek W. 3D cell culture systems modeling tumor growth determinants in cancer target discovery. *Adv Drug Deliv Rev* 2014 ; 69-70 : 29-41.
- Hirschhaeuser F, Menne H, Dittfeld C, West J, Mueller-Klieser W, Kunz-Schughart LA. Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. *J Biotechnol* 2010 ; 148 : 3-15.
- Zilkens C, Logters T, Bittersohl B, Krauspe R, Lensing-Hohn S, Jager M. Spinning around or stagnation - what do osteoblasts and chondroblasts really like? *Eur J Med Res* 2010 ; 15 : 35-43.
- Friedrich J, Seidel C, Ebner R, Kunz-Schughart LA. Spheroid-based drug screen: considerations and practical approach. *Nat Protoc* 2009 ; 4 : 309-24.
- Kelm JM, Timmins NE, Brown CJ, Fussenegger M, Nielsen LK. Method for generation of homogeneous multicellular tumor spheroids applicable to a wide variety of cell types. *Biotechnol Bioeng* 2003 ; 83 : 173-80.
- Ekert JE, Johnson K, Strake B, et al. Three-dimensional lung tumor microenvironment modulates therapeutic compound responsiveness *in vitro* — implication for drug development. *PLoS One* 2014 ; 9 : e92248.
- Fessart D, Begueret H, Delom F. Three-dimensional culture model to distinguish normal from malignant human bronchial epithelial cells. *Eur Respir J* 2013 ; 42 : 1345-56.
- Vinci M, Gowan S, Boxall F, et al. Advances in establishment and analysis of three-dimensional tumor spheroid-based functional assays for target validation and drug evaluation. *BMC Biol* 2012 ; 10 : 29.
- Lam CR, Wong HK, Nai S, Chua CK, Tan NS, Tan LP. A 3D biomimetic model of tissue stiffness interface for cancer drug testing. *Mol Pharm* 2014 ; 11 : 2016-21.
- Weiss MB, Abel EV, Mayberry MM, Basile KJ, Berger AC, Aplin AE. TWIST1 is an ERK1/2 effector that promotes invasion and regulates MMP-1 expression in human melanoma cells. *Cancer Res* 2012 ; 72 : 6382-92.
- Nguyen-Ngoc KV, Cheung KJ, Brenot A, et al. ECM microenvironment regulates collective migration and local dissemination in normal and malignant mammary epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : E2595-604.
- Konur A, Kreutz M, Knuchel R, Krause SW, Andreesen R. Three-dimensional co-culture of human monocytes and macrophages with tumor cells: analysis of macrophage differentiation and activation. *Int J Cancer* 1996 ; 66 : 645-52.
- Rama-Esendagli D, Esendagli G, Yilmaz G, Guc D. Spheroid formation and invasion capacity are differentially influenced by co-cultures of fibroblast and macrophage cells in breast cancer. *Mol Biol Rep* 2014 ; 41 : 2885-92.
- Alessandri K, Andrique L, Feyeux M, Bikfalvi A, Nassoy P, Recher G. All-in-one 3D printed microscopy chamber for multidimensional imaging, the UniverSlide. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 42378.
- Boland T, Xu T, Damon B, Cui X. Application of inkjet printing to tissue engineering. *Biotechnol J* 2006 ; 1 : 910-7.
- Devillard R, Pages E, Correa MM, et al. Cell patterning by laser-assisted bioprinting. *Methods Cell Biol* 2014 ; 119 : 159-74.
- Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials* 2016 ; 76 : 321-43.
- Knowlton S, Onal S, Yu CH, Zhao JJ, Tasoglu S. Bioprinting for cancer research. *Trends Biotechnol* 2015 ; 33 : 504-13.
- Zhang YS, Arneri A, Bersini S, et al. Bioprinting 3D microfibrillar scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart-on-a-chip. *Biomaterials* 2016 ; 110 : 45-59.
- Bertassoni LE, Cecconi M, Manoharan V, et al. Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs. *Lab Chip* 2014 ; 14 : 2202-11.
- Kolesky DB, Homan KA, Skylar-Scott MA, Lewis JA. Three-dimensional bioprinting of thick vascularized tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016 ; 113 : 3179-84.
- Lee VK, Kim DY, Ngo H, et al. Creating perfused functional vascular channels using 3D bioprinting technology. *Biomaterials* 2014 ; 35 : 8092-102.
- Dai G, Lee V. 3-D bio-printed glioblastoma-vascular niche. *Front Bioeng Biotechnol* 2016. doi: 10.3389/conf.FBIOE.2016.01.01980.
- van Duinen V, Trietsch SJ, Joore J, Vulto P, Hankemeier T. Microfluidic 3D cell culture: from tools to tissue models. *Curr Opin Biotechnol* 2015 ; 35 : 118-26.
- Alessandri K, Sarangi BR, Gurchenkov VV, et al. Cellular capsules as a tool for multicellular spheroid production and for investigating the mechanics of tumor progression *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 14843-8.
- Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends Cell Biol* 2011 ; 21 : 745-54.
- Sung JH, Shuler ML. A micro cell culture analog (microCCA) with 3D hydrogel culture of multiple cell lines to assess metabolism-dependent cytotoxicity of anticancer drugs. *Lab Chip* 2009 ; 9 : 1385-94.
- Skardal A, Devarasetty M, Forsythe S, Atala A, Soker S. A reductionist metastasis-on-a-chip platform for *in vitro* tumor progression modeling and drug screening. *Biotechnol Bioeng* 2016 ; 113 : 2020-32.

36. Lovitt CJ, Shelper TB, Avery VM. Evaluation of chemotherapeutics in a three-dimensional breast cancer model. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015 ; 141 : 951-9.

37. Ma HL, Jiang Q, Han S, et al. Multicellular tumor spheroids as an *in vivo*-like tumor model for three-dimensional imaging of chemotherapeutic and nano material cellular penetration. *Mol Imaging* 2012 ; 11 : 487-98.

38. Pickl M, Ries CH. Comparison of 3D and 2D tumor models reveals enhanced HER2 activation in 3D associated with an increased response to trastuzumab. *Oncogene* 2009 ; 28 : 461-8.

39. Hoffmann OI, Ilmberger C, Magosch S, Joka M, Jauch KW, Mayer B. Impact of the spheroid model complexity on drug response. *J Biotechnol* 2015 ; 205 : 14-23.

40. Tran NH, Cavalcante LL, Lubner SJ, et al. Precision medicine in colorectal cancer: the molecular profile alters treatment strategies. *Ther Adv Med Oncol* 2015 ; 7 : 252-62.

41. Cristobal A, van den Toorn HWP, van de Wetering M, Clevers H, Heck AJR, Mohammed S. Personalized proteome profiles of healthy and tumor human colon organoids reveal both individual diversity and basic features of colorectal cancer. *Cell Rep* 2017 ; 18 : 263-74.

42. Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell* 2014 ; 159 : 176-87.

43. van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell* 2015 ; 161 : 933-45.

44. Weeber F, Ooft SN, Dijkstra KK, Voest EE. Tumor organoids as a preclinical cancer model for drug discovery. *Cell Chem Biol* 2017 ; 24 : 1092-100.

45. Skardal A, Shupe T, Atala A. Organoid-on-a-chip and body-on-a-chip systems for drug screening and disease modeling. *Drug Discov Today* 2016 ; 21 : 1399-411.



Bulletin infirmier du **CANCER**

Revue officielle de l'Association Française des Infirmier(e)s en Cancérologie

1^{ère} revue de formation, d'information et de témoignage spécialement dédiée aux infirmier(e)s en cancérologie

- Le **Bulletin Infirmier du Cancer** est un outil d'évolution et de promotion des connaissances infirmières en cancérologie ainsi qu'un support pour la bonne pratique de ces soins.
- Le **BIC** permet de renforcer les échanges et le partage d'expériences des soignants, d'informer des nouveautés dans la prise en charge des patients atteints de cancer et de compléter la formation continue.

Nouvelle équipe de rédaction en chef :
Monique Debard et Marie-Laure De Botton

Découvrez la revue sur
www.jle.com