



HAL
open science

Modélisation de l'épithélium bronchique dans la bronchopneumopathie chronique obstructive par les cellules souches pluripotentes induites humaines

M. Fieldès, E. Ahmed, C. Bourguignon, J. Mianné, C. Vernisse, A. Fort, I. Vachier, A. Bourdin, Said Assou, John de Vos

► To cite this version:

M. Fieldès, E. Ahmed, C. Bourguignon, J. Mianné, C. Vernisse, et al.. Modélisation de l'épithélium bronchique dans la bronchopneumopathie chronique obstructive par les cellules souches pluripotentes induites humaines. *Revue des Maladies Respiratoires*, 2020, 37 (3), pp.197-200. 10.1016/j.rmr.2020.02.003 . hal-02507653

HAL Id: hal-02507653

<https://hal.science/hal-02507653>

Submitted on 4 Aug 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Modélisation de l'épithélium bronchique dans la bronchopneumopathie chronique obstructive par les cellules souches pluripotentes induites humaines

Modelling the bronchial epithelium in chronic obstructive pulmonary disease using human induced pluripotential stem cells

M. Fieldès^{a,*}, E. Ahmed^{a,b}, C. Bourguignon^a,
J. Mianné^a, C. Vernisse^c, A. Fort^b, I. Vachier^b,
A. Bourdin^{b,c}, S. Assou^a, J. De Vos^a

^a IRMB (Institut de Médecine Régénératrice et de Biothérapies de Montpellier), UMR 1183, CHU Montpellier, Montpellier, France

^b Département de Pneumologie, CHU Montpellier, Montpellier, France

^c PhyMedExp, Université de Montpellier, Inserm U1046, CNRS UMR 9214, Montpellier, France

MOTS CLÉS

Bronchopneumopathie chronique obstructive ;
Cellule souche pluripotente induite humaine ;
Différenciation dirigée ;
Épithélium bronchique

Résumé La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une atteinte chronique des voies aériennes distales caractérisée par une destruction irréversible des bronchioles terminales. Bien que les mécanismes physiopathologiques demeurent incompris à ce jour, l'épithélium bronchique semble être le chef d'orchestre de la maladie. De récentes études ont montré l'existence de différentes trajectoires de la maladie incluant dans la moitié des cas une origine pédiatrique. La modélisation de la BPCO constitue donc un enjeu majeur mais les modèles actuels sont imparfaits. La différenciation des cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSC) en épithélium bronchique représente un nouvel outil pour étudier les racines pédiatriques de la maladie et identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : m.fieldes@hotmail.com (M. Fieldès).

KEYWORDS

Chronic obstructive pulmonary disease;
Human induced pluripotent stem cells;
Directed differentiation;
Bronchial epithelium

Summary Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic lung disease leading to irreversible destruction of the terminal bronchioles. Although the precise patho-physiological mechanisms remain to be elucidated, the bronchial epithelium seems to play a pivotal role in the disease. Recent studies have highlighted a great heterogeneity among COPD patients, with various disease courses including, in about half the cases, an origin in childhood. Modelling of COPD is a major goal but currently available models are imperfect. Our work aims to create a new in vitro cellular model to study the pathology of the disease. The differentiation of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) in bronchial epithelium is a step towards a better understanding of the developmental origin and the identification of new therapeutic targets.

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est la 3^{ème} cause de mortalité dans le monde avec 3 millions de décès par an [1]. Elle constitue également un problème majeur de santé publique en France avec une prévalence estimée de 8 % à 16 % selon les études, l'âge, le sexe et la région concernée [2,3]. Elle se traduit par une obstruction bronchique non réversible, une destruction irréversible des bronchioles et des modifications structurales telles qu'un remodelage de l'épithélium bronchiolaire [4,5]. Le tabac actif ou passif constitue le principal facteur de risque de cette maladie dans les pays à hauts revenus, contrairement aux pays en développement où la combustion de biomasse et la pollution atmosphérique sont les principaux vecteurs [4,6,7]. De récentes publications attestent d'une origine développementale de la maladie et font état de différents trajectoires dont une pédiatrique dans plus de la moitié des cas [7,8]. Les modèles d'étude actuels sont imparfaits et ne permettent pas d'investiguer les origines développementales de la BPCO. Nos travaux visent donc à créer un nouvel outil de modélisation alternatif grâce à la différenciation des cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSCs) en épithélium bronchique.

La physiopathologie de la BPCO

Elle est définie fonctionnellement par un trouble ventilatoire obstructif persistant et la mesure du rapport VEMS/CVF inférieur à 0,7 (volume expiratoire maximal à la première seconde/capacité vitale forcée). La BPCO est principalement une atteinte des voies aériennes distales caractérisée par une obstruction bronchique chronique. Des modifications structurales des bronchioles surviennent telles que le remaniement de l'épithélium bronchique, un épaississement marqué de la paroi bronchiolaire avec une fibrose péribronchiolaire. Une hyper-sécrétion de mucus couplée à une défaillance de la clairance mucociliaire aboutissent à la formation de bouchons muqueux. L'accumulation du mucus participe à l'activation des macrophages résidents qui, par la sécrétion de molécules actives, créent une inflammation chronique avec amplification du phénomène de sécrétion de mucus [9]. Un défaut de réparation tissulaire semble

également impliqué dans la progression de la maladie vers une destruction significative des alvéoles pulmonaires [10].

Les modèles d'étude de la BPCO

De multiples stratégies et modèles sont utilisés pour étudier les anomalies épithéliales dans la BPCO, chacun disposant de forces et de limites [11].

Le modèle animal

Les modèles animaux utilisés reposent essentiellement sur les rongeurs tels que la souris ou le rat ainsi que sur des modèles plus complexes comme le mouton, le chien ou le singe [12]. Le modèle murin est le plus utilisé mais il existe des discordances anatomiques et fonctionnelles majeures entre l'homme et la souris. En effet, les progéniteurs bipotents SOX2 + SOX9+ décrits chez l'Homme et à l'origine des divisions de l'arbre bronchique et de la formation des voies aériennes distales ne sont pas retrouvés chez la souris [13]. Par ailleurs, une susceptibilité accrue au tabac chez la souris et de grandes variabilités en fonction du fond génétique de la souche murine ont été décrites [14,15]. Une étude récente a également souligné l'absence de similitudes nettes entre les profils transcriptomiques de poumons humains BPCO et de souris développant un emphysème après exposition au tabac [16].

Le modèle cellulaire

Divers modèles cellulaires sont utilisés pour l'étude de l'épithélium bronchique tels que :

- les lignées de cellules primaires « *normal human bronchial epithelial cells* » (NHBE) ;
- les lignées de cellules épithéliales alvéolaires issues d'un carcinome pulmonaire(A549) ;
- les lignées de cellules épithéliales bronchiques immortalisées par l'antigène T de Simian Virus 40 (BEAS-2B).

Le caractère cancéreux ou immortalisé d'une lignée cellulaire pose la question de la pertinence de l'étude des

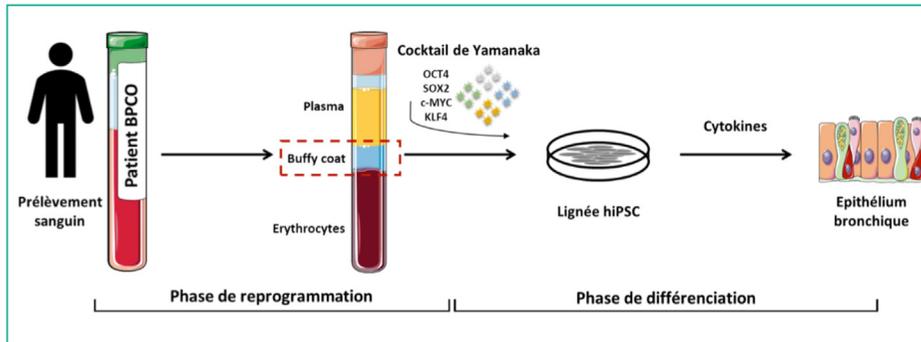


Figure 1. Génération d'un épithélium bronchique à partir d'un échantillon sanguin de patient BPCO. Les cellules mononuclées (CMN) sont isolées à partir d'un gradient de Ficoll sur prélèvement sanguin. Les CMN sont reprogrammées en hiPsc grâce à l'expression forcée de 4 facteurs de Yamanaka. Notre protocole de recherche permet la différenciation sélective des hiPsc en épithélium bronchique de sujet BPCO (infographies issues de SMART Servier).

profils métaboliques tels que la réponse au stress oxydatif, à la sénescence cellulaire ainsi qu'à l'inflammation. Une réponse à cette problématique consiste à cultiver en interface air liquide (ALI) des cellules épithéliales primaires bronchiques (HBECS) dérivées à partir de biopsies bronchiques de patient BPCO [17]. Cette technique permet notamment de conserver fidèlement les caractéristiques des cellules épithéliales primaires [18]. Cependant, ce modèle présente des limites similaires aux NHBE, à savoir une quantité de cellules limitée avec une capacité proliférative modeste. De plus, la fibroscopie bronchique nécessaire à l'obtention du pool cellulaire d'origine reste un geste invasif. Par ailleurs, ce modèle ne permet pas d'accéder au stade précoce de développement de l'épithélium bronchique.

Modélisation de l'hypothèse développementale dans la BPCO : la différenciation dirigée des cellules souches pluripotentes induites (iPSC)

Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC) sont reprogrammées à partir de cellules différenciées grâce à l'expression forcée et transitoire des 4 facteurs de Yamanaka (OCT4, SOX2, KLF4 et cMYC) [19,20]. Elles sont caractérisées par une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation vers les trois feuillets embryonnaires : ectoderme, mésoderme, endoderme. Ces cellules conservent le patrimoine génétique du donneur et permettent ainsi de modéliser *in vitro* le développement humain sain ou pathologique. Par exemple, la modulation spécifique des grandes voies de signalisation telles que TGF β , Wnt, Notch permettent la différenciation dirigée de ces hiPSC en épithélium bronchique mature et fonctionnel [21] (Fig. 1).

Nos travaux permettent d'ores et déjà d'obtenir un tapis épithélial 2D en culture en ALI présentant l'ensemble des principales cellules des voies aériennes distales : les cellules basales, les cellules club, les cellules ciliées et les cellules à mucus. La conservation de cet épithélium pendant plusieurs mois en culture autorise une exposition chronique au tabac. L'idée est donc de recréer un phénotype BPCO-like caractérisé par un remaniement de l'épithélium bronchique avec une hyperplasie des cellules à mucus et des cellules basales

[22]. Cet outil permettra surtout d'investiguer la trajectoire pédiatrique de la BPCO et de potentiellement découvrir des biomarqueurs ou des voies de signalisation impliqués dans la pathologie. Nous pourrions également investiguer l'impact du versant génétique et du versant épigénétique dans la survenue de la maladie.

Par ailleurs, d'autres équipes développent des modèles 3D en encapsulant des progéniteurs bronchiques NKX2.1 positifs issus de la différenciation d'hiPSC dans une matrice extraite du sarcome murin d'Engelbreth-Holm-Swarm (Geltrex®). Ce procédé permet la formation d'organoïdes pulmonaires qui recréent les interactions cellules - matrice extracellulaire et miment ainsi finement l'architecture pulmonaire. Ce modèle est par exemple incontournable dans l'étude du processus de ramification au cours de la formation des voies aériennes distales [23,24]. L'équipe de Snoeck a montré que ces organoïdes pouvaient être conservés au-delà de 170 jours en culture. L'analyse transcriptomique a également montré une signature spécifique du stade canaliculaire retrouvé physiologiquement au deuxième trimestre de gestation chez l'Homme [25].

Conclusion et perspectives

La publication de protocoles robustes et fiables de différenciation d'hiPSC en épithélium bronchique en font une alternative de plus en plus crédible pour la modélisation des pathologies pulmonaires. La force de ce nouveau modèle repose sur sa capacité à générer des quantités quasi illimitées de cellules bronchiques et autorise la mise en place de stratégies de screening à grande échelle. Sa capacité à recréer *in vitro* par bio mimétisme toutes les étapes du développement *in vivo* constitue donc une réelle avancée dans la compréhension des origines développementales de la BPCO. *In fine*, cet outil devrait permettre à plus long terme d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Rabe KF, Watz H. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 2017;389:1931–40.
- [2] Landis SH, Muellerova H, Mannino DM, et al. Continuing to Confront COPD International Patient Survey: methods, COPD prevalence, and disease burden in 2012-2013. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2014;9:597–611.
- [3] Quach A, Giovannelli J, Chérot-Kornobis N, et al. Prevalence and underdiagnosis of airway obstruction among middle-aged adults in northern France: The ELISABET study 2011-2013. *Respir Med* 2015;109:1553–61.
- [4] Mannino DM, Buist AS. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *Lancet* 2007;370:765–73.
- [5] McDonough JE, Yuan R, Suzuki M, et al. Small-airway obstruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl JMed* 2011;365:1567–75.
- [6] Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009;374:733–43.
- [7] Martinez FD. Early-life origins of chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl J Med* 2016;375:871–8.
- [8] Agusti A, Faner R. Lung function trajectories in health and disease. *Lancet Respir Med* 2019;7:358–64.
- [9] Boucher RC. Muco-obstructive lung diseases. *N Engl J Med* 2019;380:1941–53.
- [10] Agustí A, Hogg JC. Update on the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2019;381:1248–56.
- [11] Bonniaud P, Fabre A, Frossard N, et al. Optimising experimental research in respiratory diseases: an ERS statement. *Eur Respir J* 2018;51 [pii: 1702133].
- [12] Ghorani V, Boskabady MH, Khazdair MR, et al. Experimental animal models for COPD: a methodological review. *Tob Induc Dis* 2017;15:25.
- [13] Miller AJ, Hill DR, Nagy MS, et al. In vitro induction and in vivo engraftment of lung bud tip progenitor cells derived from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 2018;10:101–19.
- [14] Eltom S, Stevenson C, Birrell MA. Cigarette smoke exposure as a model of inflammation associated with COPD. *Curr Protoc Pharmacol* 2013;5 [Unit5.64].
- [15] Radder JE, Gregory AD, Leme AS, et al. Variable susceptibility to cigarette smoke-induced emphysema in 34 inbred strains of mice implicates Abi3 bp in emphysema susceptibility. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2017;57:367–75.
- [16] Yun JH, Morrow J, Owen CA, et al. Transcriptomic analysis of lung tissue from cigarette smoke-induced emphysema murine models and human chronic obstructive pulmonary disease show shared and distinct pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2017;57:47–58.
- [17] Gras D, Petit A, Charriot J, et al. Epithelial ciliated beating cells essential for ex vivo ALI culture growth. *BMC Pulm Med* 2017;17:80.
- [18] Ross AJ, Dailey LA, Brighton LE, et al. Transcriptional profiling of mucociliary differentiation in human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;37:169–85.
- [19] Fusaki N, Ban H, Nishiyama A, et al. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2009;85:348–62.
- [20] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–76.
- [21] McCauley KB, Hawkins F, Serra M, et al. Efficient derivation of functional human airway epithelium from pluripotent stem cells via temporal regulation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell* 2017;20:844–57.
- [22] Randell SH. Airway epithelial stem cells and the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:718–25.
- [23] Miller AJ, Dye BR, Ferrer-Torres D, et al. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. *Nat Protoc* 2019;14:518–40.
- [24] Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 2014;345:124–5.
- [25] Chen Y-W, Huang SX, de Carvalho ALRT, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat Cell Biol* 2017;14:542–9.