

Organoïdes hypophysaires : des outils pour caractériser le développement, la plasticité et les pathologies hypophysaires ?

TARAGNAT Catherine¹, CAYLA Xavier¹, PAIN Bertrand²

¹CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, Nouzilly, France

²University of Lyon, Université Lyon 1, INSERM, INRAE, Stem Cell and Brain Research Institute, U1208, USC1361, Bron, France

Courriel : catherine.taragnat@inrae.fr

■ L'hypophyse, chef d'orchestre des grandes fonctions de l'organisme, doit sans cesse s'adapter aux variations de son microenvironnement, qu'elles soient d'origine physiologique (puberté, cycles œstriens, vieillissement...), contextuelles (nutrition, environnement...) ou pathologiques (adénomes, infections bactériennes ou virales...). Pour tenter de comprendre les mécanismes mis en œuvre dans cette adaptation, des modèles *in vitro* tels que les organoïdes apparaissent comme des outils pertinents pour étudier le développement de l'hypophyse et sa fonction sécrétoire si variée. Les applications qui en découlent peuvent s'inscrire dans des situations physiologiques, pathologiques ou agronomiques.

Introduction

Chez un grand nombre d'animaux, l'adaptation aux variations de l'environnement extérieur ou interne, qu'elles soient d'origine physiologique (puberté, cycles œstriens, vieillissement...), contextuelles (nutrition, environnement...) ou pathologiques (adénomes, infections bactériennes ou virales...) s'appuie en partie sur la glande hypophysaire, qualifiée de glande « maîtresse ». Celle-ci est constituée de 2 lobes : le lobe antérieur (ou adénohypophyse) responsable de la synthèse d'hormones et le lobe postérieur (neurohypophyse) composé de tissu nerveux. De la taille d'un pois chez l'humain ou les ovins, l'hypophyse est située sous le cerveau dans une cavité osseuse appelée selle turcique. Elle est reliée à l'hypothalamus, région du cerveau localisée sous le thalamus, grâce à la tige hypophysaire. Cette dernière

assure une relation anatomique et fonctionnelle entre les deux organes notamment *via* le système vasculaire située dans l'éminence médiane (figure 1).

Sous l'influence de l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure produit des hormones clés qui agissent sur des organes cibles et régulent ainsi des processus physiologiques fondamentaux tels que la croissance, le métabolisme, le stress ou encore la reproduction. Ces hormones sont synthétisées et sécrétées

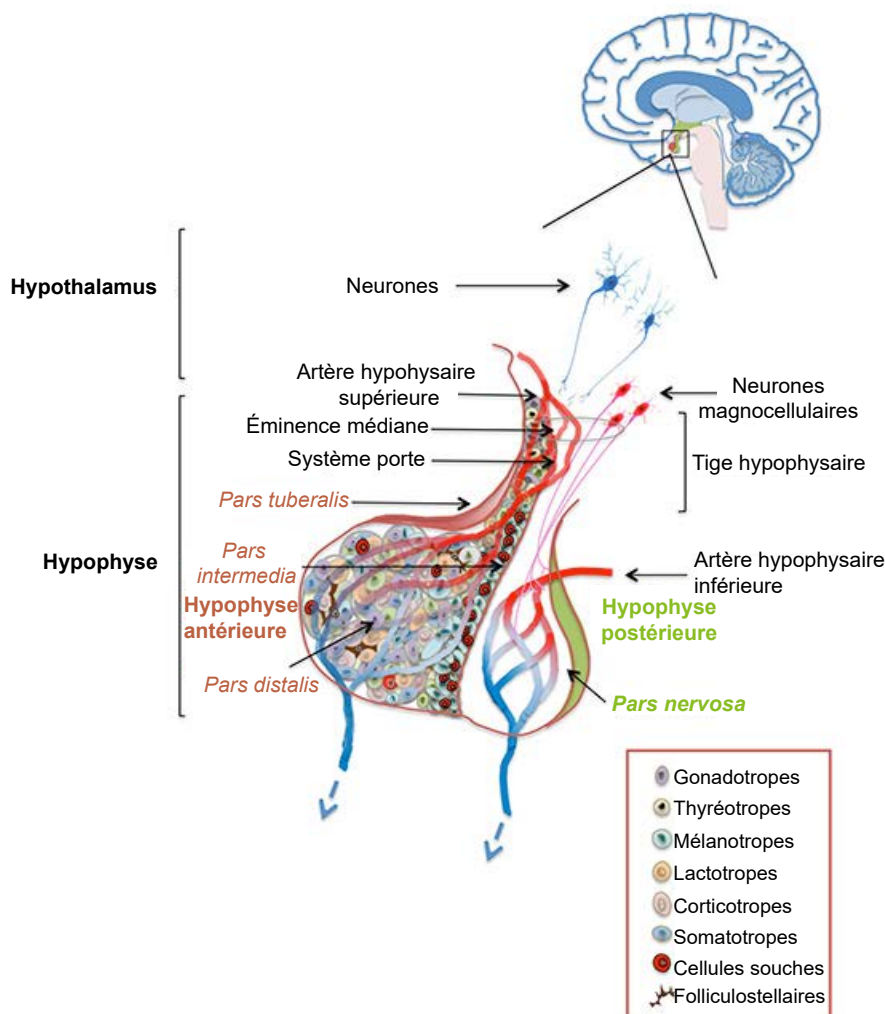
par des types cellulaires spécialisés pour chaque fonction (figure 1). Afin de parvenir à une régulation optimale des processus physiologiques, l'hypophyse doit contrôler de manière précise la production de ces hormones et l'ajuster en permanence en réponse aux changements d'environnement pour maintenir l'homéostasie (encadré 1).

La plasticité hypophysaire repose sur des variations de la synthèse et de la sécrétion d'hormones, du nombre

Encadré 1. Qu'est-ce que l'homéostasie ?

Homéostasie est un mot créé par W. B. Cannon (1871-1945) à partir de 2 mots grecs : stasis (« état ») et homiois (« semblable ») et inspiré du concept élaboré par Claude Bernard (1813-1878) selon lequel « Tous les mécanismes vitaux, quelque variés qu'ils soient, n'ont toujours qu'un but, celui de maintenir l'unité des conditions de la vie dans le milieu intérieur ». L'homéostasie définit la capacité d'un organisme à maintenir l'équilibre de son milieu intérieur malgré les variations du milieu extérieur. Cet équilibre concerne les constantes physiologiques (débit sanguin, température corporelle, tension artérielle, concentrations hormonales...). Pour maintenir cet équilibre, deux systèmes jouent un rôle essentiel : le système nerveux autonome et le système endocrinien, capables de détecter et de corriger des changements dans le milieu interne.

Figure 1. Organisation du complexe hypothalamo-hypophysaire chez les mammifères (adaptée de Trudeau et Somoza, 2020).



de cellules impliquées dans une fonction ainsi que sur des modifications structurales.

À titre d'exemple, dans de nombreuses espèces, la fonction de reproduction se caractérise chez la femelle par des variations importantes des niveaux circulants d'hormones gonadotropes produites par l'hypophyse, LH (hormone lutéinisante ; *Luteinizing Hormone* en anglais) et FSH (hormone folliculostimulante ; *Follicle Stimulating Hormone* en anglais) lors du déclenchement de la puberté puis au cours des cycles œstriens en réponse à des régulateurs hypothalamiques et ovariens mais également hypophysaires (McNeilly *et al.*, 2003 ; Derouin-Tochon *et al.*, 2019). Ces changements, associés à des modifications de la synthèse des hormones LH et FSH ainsi que de la proportion de cellules gonadotropes hypophysaires, peuvent également être

modulés par des facteurs externes environnementaux tels que l'alimentation, le stress, les xénobiotiques ou encore la durée du jour chez les espèces à reproduction saisonnée. Si l'ajustement précis du ratio LH/FSH à des périodes clés est un élément essentiel pour assurer le contrôle du moment et du nombre ovulations, comme en témoignent les altérations de fertilité liées aux perturbations de ce rapport, les mécanismes associés à la régulation de ce taux et à la plasticité des cellules gonadotropes sont encore peu connus. De récents travaux suggèrent que les cellules souches/progénitrices, identifiées dans l'hypophyse adulte pourraient être des acteurs importants (Rizzoti *et al.*, 2013 ; Cox *et al.*, 2019).

Dans l'objectif de décrypter les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents à ces processus d'ajustement ainsi que l'implication des cellules

souches, des modèles cellulaires *in vitro* sont très utiles à condition qu'ils reproduisent au plus près le fonctionnement de l'organe. Depuis peu, les modèles de culture tridimensionnels (3D) de type organoïde, qui visent à recréer *in vitro* des mini-organs à partir de cellules souches ou progénitrices, constituent un outil séduisant pour explorer les fonctions physiologiques. En effet, ces cellules cultivées en 3D dans un environnement adapté s'auto-organisent pour reconstituer l'architecture de l'organe d'origine, ce que ne permettent pas les cultures 2D plus conventionnelles. Cette dimension tridimensionnelle permet à ces organoïdes d'exprimer certaines des fonctions physiologiques du tissu qu'ils essaient de mimer le plus précisément possible. Ces organoïdes peuvent ainsi être utilisés pour étudier les processus de développement, d'organisation et d'arrangement des tissus. De plus, ils représentent aussi des modèles d'étude pour la compréhension des mécanismes de physiologie et physiopathologie ou pour évaluer l'impact de certaines molécules à visée thérapeutique. En outre, ces nouveaux modèles s'imposent comme des alternatives prometteuses aux expérimentations animales et, en les « remplaçant » ou au moins les « réduisant », contribuent au respect de la règle des 3R. Les modèles d'organoïdes, tous tissus confondus, actuellement développés sont surtout des modèles murins et humains, susceptibles de répondre aux enjeux de santé humaine. Les organoïdes issus de tissus d'animaux de rente, même si encore peu présents dans la littérature, sont en cours de déploiement, par exemple pour l'intestin, le poumon ou le muscle. Pour l'hypophyse, la mise en place des organoïdes est encore balbutiante et elle n'est abordée actuellement que sur les modèles murins et humains. Quelle que soit l'espèce concernée, l'ensemble de ces nouveaux modèles représente des outils attrayants qui pourraient permettre de répondre aussi bien à des questions de recherche fondamentale pour comprendre le fonctionnement physiologique normal, que pour des applications en santé animale ou d'agro-écologie, concernant par exemple les questionnements autour de l'adaptation au changement climatique.

Dans cette revue visant à faire un état des lieux des modèles d'organoïdes hypophysaires disponibles ou en cours de développement, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'hypophyse antérieure. Nous commencerons par décrire l'anatomie et l'histologie de l'hypophyse, sa mise en place au cours du développement de l'animal, puis son aptitude à la plasticité chez l'adulte avant d'évoquer les modèles *in vitro* permettant son étude et notamment le modèle organoïde, en cours de développement dans les espèces murine et humaine, dont les potentielles applications sont multiples.

1. L'hypophyse : une glande orchestre

■ 1.1. Anatomie et histologie de l'hypophyse

a. Anatomie

L'hypophyse est constituée de deux lobes formés de tissus différents (figure 1) :

- le lobe antérieur ou adénohypophyse, tissu glandulaire, qui regroupe la *pars distalis*, la *pars tuberalis* et la *pars intermedia*. La *pars distalis*, formée de cellules endocrines, représente la majeure partie de la glande tandis que la *pars tuberalis* prolongeant la *pars distalis* vers le haut enveloppe la tige hypophysaire. Quant à la *pars intermedia*, située entre la *pars distalis* et le lobe postérieur, elle est présente ou non selon les espèces. On la retrouve chez de nombreuses espèces mais elle est absente chez les oiseaux et peu développée chez l'humain. L'adénohypophyse contient des cellules sécrétrices qui produisent des hormones régulant les grandes fonctions de l'organisme.

- le lobe postérieur ou neurohypophyse, tissu nerveux, qui est composé de la *pars nervosa*. Ce lobe se trouve en continuité avec la tige hypophysaire qui assure la liaison de l'hypophyse à l'hypothalamus. La *pars nervosa* contient les terminaisons axonales de neurones appelés magnocellulaires, du fait de leur grande taille, dont les corps cellulaires siègent dans l'hypothalamus. Ces terminaisons stockent l'ocytocine et la

vasopressine, aussi appelée hormone anti-diurétique, (ADH pour *Antidiuretic Hormone* en anglais) dans des vésicules. Sous l'effet d'un influx nerveux, ces hormones sont libérées dans des capillaires sanguins. L'ocytocine intervient dans la lactation et les contractions utérines et l'ADH régule l'équilibre hydrique de l'organisme. La neurohypophyse dispose d'un réseau de capillaires sanguins ainsi que de cellules de type glial, les pituicytes, qui assurent l'interface entre les hormones et le réseau vasculaire.

L'hypophyse est vascularisée grâce aux artères hypophysaires supérieures et inférieures, issues de l'artère carotide interne. L'adénohypophyse est irriguée par l'artère hypophysaire supérieure via le système porte hypothalamo-hypophysaire qui réside dans l'éminence médiane au cœur de la *pars tuberalis*. Ce système porte assure les relations neurovasculaires entre l'hypothalamus et l'hypophyse et convoie les facteurs hypothalamiques régulant l'activité de l'adénohypophyse. La vascularisation de la neurohypophyse s'effectue séparément à partir de l'artère hypophysaire inférieure.

Il est intéressant de remarquer que si l'anatomie du complexe hypothalamo-hypophysaire est similaire chez beaucoup de vertébrés, l'éminence médiane et le système porte hypothalamo-hypophysaire sont absents chez les poissons téléostéens représentant la majorité des espèces de poissons actuels (on y trouve le saumon, la truite, le thon...). Dans ce cas, une innervation directe de l'hypophyse par les terminaisons des neurones hypothalamiques est observée (Trudeau et Somoza, 2020). Chez le poisson zèbre et le medaka, poissons téléostéens utilisés comme modèles en biologie, les projections des neurones hypothalamiques suivent de près la vascularisation de l'hypophyse, suggérant un possible système de transport vasculaire chez les poissons (Fontaine *et al.*, 2020a).

b. Histologie de l'adénohypophyse

L'adénohypophyse est une des glandes les plus complexes de l'organisme, constituée de plusieurs populations cellulaires distinctes. Il s'agit

d'une glande réticulée au sein de laquelle les cellules sont regroupées dans des cordons, sorte d'îlots entre lesquels se trouvent les capillaires sanguins constitués notamment de cellules endothéliales, ainsi que des cellules immunitaires et du tissu de soutien (figure 1). Les approches de microscopie bi-photonique permettant d'imager les cellules dans la profondeur de la glande ont mis en évidence que les cellules d'un même type cellulaire s'organisent en réseau tridimensionnel en se connectant entre elles formant ainsi des réseaux homotypiques (Bonfont *et al.*, 2005). De plus, les cellules de différents types cellulaires peuvent se connecter entre elles pour former des réseaux hétérotypiques.

Au sein des cordons de la *pars distalis*, cinq types cellulaires endocrines se distinguent alors qu'un sixième type est présent dans la *pars intermedia*. Chacune de ces populations cellulaires se distinguent par la production d'hormones qui leur sont spécifiques (tableau 1).

Les cellules les plus nombreuses sont les cellules somatotropes représentant environ 50 % de l'ensemble des cellules tandis que les moins abondantes sont les cellules thyrotropes (environ 5 %). Chacun des autres types cellulaires constitue 5 à 15 %. On retrouve des cellules thyrotropes et gonadotropes dans la *pars tuberalis*.

Chez les poissons téléostéens, un type cellulaire supplémentaire est trouvé dans la *pars distalis*. Il s'agit des cellules somatolactotropes qui produisent la somatolactine, impliquée dans la pigmentation de la peau (Kaneko, 1996).

Alors que chez la plupart des mammifères, les types cellulaires, répartis de manière régionalisée pendant l'embryogenèse, se retrouvent dispersés au sein du tissu chez l'adulte, les populations cellulaires des poissons téléostéens respectent une distribution fortement régionalisée tout au long de la vie (Trudeau et Somoza, 2020). Chez les oiseaux, les cellules gonadotropes sont réparties dans l'ensemble de la *pars distalis* tandis que les cellules lactotropes, corticotropes et thyrotropes

Tableau 1. Types cellulaires endocrines de l'adénohypophyse et hormones produites.

	Type cellulaire	Hormones	Organes cibles	Effets principaux	Fonction régulée	Facteurs de régulation hypothalamiques
<i>Pars distalis</i>	Corticotrope	ACTH	Glandes surrénales	Production de glucocorticoïdes	Stress	CRH : stimulateur
	Gonadotrope	LH, FSH	Gonades	Production d'hormones sexuelles/ Production de gamètes	Reproduction	GnRH : stimulateur
	Lactotrope	PRL	Glande mammaire	Production de lait	Lactation	DA : inhibiteur TRH : stimulateur
	Somatotrope	GH	Os, muscles, Foie, tissu adipeux	Production d'IGF/ néoglucogenèse	Croissance	GHRH : stimulateur Somatostatine : inhibiteur
	Thyréotrope	TSH	Thyroïde	Production d'hormones thyroïdiennes	Métabolisme du corps	TRH : stimulateur
<i>Pars tuberalis</i>	Thyréotrope	TSH	Hypothalamus	Conversion des hormones thyroïdiennes	Reproduction saisonnée, régulation photopériodique de l'appétit, prise alimentaire, comportement	Mélatonine (Glande pinéale)
	Gonadotrope	LH				
<i>Pars intermedia</i>	Mélanotrope	MSH	Peau	Synthèse de mélanine		DA : inhibiteur TRH : stimulateur + autres facteurs

ACTH : AdrenoCorticoTropin ou hormone adrenocorticotrope, **LH** : Luteinizing Hormone ou hormone lutéinisante, **FSH** : FolliculoStimulating Hormone ou hormone folliculostimulante, **PRL** : prolactine, **GH** : Growth Hormone ou hormone de croissance, **TSH** : Thyroid Stimulating Hormone ou hormone stimulant la thyroïde ou thyroïdopine, **MSH** : Melanocyte Stimulating Hormone ou hormone mélanotrope, **IGF** : Insulin Growth Factor, **CRH** : Corticotropin Releasing Hormone ou corticolibérinetrudeau, **GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone ou hormone de libération des gonadotropines, **DA** : dopamine, **TRH** : Thyrotropin Releasing Hormone ou hormone thyroïdopine, **GHRH** : Growth Hormone Releasing Hormone ou hormone de libération de GH.

sont restreintes à la partie céphalique et les cellules somatotropes à la partie caudale de la *pars distalis* (Mikami et Yamada, 1984).

Les cellules endocrines libèrent leur sécrétion vers les capillaires veineux situés à proximité qui rejoignent la circulation générale.

Dans les cordons, à ces cellules endocrines aux fonctions bien spécifiées, s'ajoutent des cellules folliculostellaires. Il s'agit de cellules non endocrines, à la forme étoilée qui peuvent représenter jusqu'à 10 % des cellules hypophysaires. Elles sont étroitement connectées aux cellules endocrines et contribuent de manière essentielle à la régulation et au

maintien de ces dernières grâce à leur organisation en réseau (Vila-Porcile, 1972 ; Fauquier *et al.*, 2001 ; Le Tissier et Mollard, 2021). Au sein de cette population, l'expression de gènes typiques des cellules souches a été observée (Fauquier *et al.*, 2008 ; Yoshida *et al.*, 2011 ; Andoniadou *et al.*, 2013). D'après le profil d'expression de gènes établi par étude transcriptomique à l'échelle de la cellule unique, les cellules folliculostellaires se répartiraient en deux populations : l'une située dans la zone située entre la *pars intermedia* et la *pars distalis* de l'hypophyse appelée zone marginale, présentant des propriétés de cellules souches et l'autre répartie dans la *pars distalis* correspondant à des cellules différenciées typiques des cellules

folliculostellaires initialement décrites (Fletcher *et al.*, 2023).

Plus récemment, l'existence de cellules souches/progénitrices dans l'hypophyse chez l'adulte a été démontrée, notamment chez les rongeurs, l'humain, la vache ou encore le poisson zèbre et le médaka (Chen *et al.*, 2005 ; Lepore *et al.*, 2005 ; Fauquier *et al.*, 2008 ; Chen *et al.*, 2009 ; Garcia-Lavandeira *et al.*, 2009 ; Weiss *et al.*, 2009 ; Garcia-Lavandeira *et al.*, 2012 ; Rizzoti *et al.*, 2013 ; Oguchi *et al.*, 2021). Les cellules souches/progénitrices aussi détectées chez le jeune animal, présentent des caractéristiques typiques des cellules souches trouvées chez l'embryon : elles expriment des marqueurs protéiques de cellules

souches/progénitrices tels que SCA-1, OCT-4, SOX2, SOX9, CD133, NESTIN, NOTCH1, et ne synthétisent pas d'hormone (encadré 2).

De plus, placées *in vitro*, les cellules souches/progénitrices sont capables de former des sphères non adhérentes, pituisphères, dont les cellules peuvent s'auto-renouveler ou se différencier dans les différents lignages cellulaires hypophysaires en présence de milieux de culture adaptés (encadré 3) (Vankelecom, 2010 ; Rizzoti *et al.*, 2016 ; Haston *et al.*, 2018 ; Laporte *et al.*, 2021).

Au sein de l'hypophyse, les cellules souches identifiées chez l'adulte à l'aide du marqueur SOX2 se trouvent essentiellement dans la zone marginale, région située entre la *pars intermedia* et la *pars distalis* et quelques-unes sont dispersées dans la *pars distalis* (figure 1) (Fauquier *et al.*, 2008). Ces cellules souches multipotentes résident dans un microenvironnement spécifique, appelé niche, qui fournit les facteurs indispensables à leur maintien. À l'intérieur de cette niche, les cellules souches interagissent avec les autres types cellulaires présents comme les cellules endothéliales ou les pituicytes et également avec leurs descendants, c'est-à-dire les cellules destinées à devenir des cellules endocrines, pour assurer leur prolifération et leur expansion (Russell *et al.*, 2021 ; Willis *et al.*, 2022 ; Fletcher *et al.*, 2023).

Une des questions qui est apparue est de savoir si ces cellules souches/progénitrices forment une seule population apte à se différencier en différents types cellulaires ou s'il existe différentes populations possédant chacune une possibilité de différenciation plus restreinte. De récentes études basées sur l'analyse du transcriptome de cellules uniques révèlent que ces cellules souches/progénitrices présentes dans l'hypophyse adulte ne forment pas un seul groupe (Haston *et al.*, 2018, Ruf-Zamojski *et al.*, 2021, Zhang *et al.*, 2022). Grâce à des analyses du transcriptome de chaque noyau cellulaire individualisé (« *single nucleus RNA sequencing* », en anglais), Zhang *et al.* (2022) ont montré chez l'humain que les cellules souches hypophysaires se répartissaient en une

Encadré 2. Exemple de marqueurs protéiques utilisés pour identifier des cellules souches/progénitrices.

Marqueurs spécifiques des cellules souches :

NANOG : Il s'agit d'un facteur de transcription impliqué de manière critique dans l'auto-renouvellement des cellules souches indifférenciées

NOTCH1 : « *Neurogenic locus notch homolog protein 1* » est un récepteur membranaire

OCT-4 : « *Octamer-binding transcription factor 4* » est un facteur de transcription qui s'exprime dans les cellules souches pluripotentes. Il est essentiel pour assurer l'auto-renouvellement des cellules souches

SOX2 : « *Sex determining region Y-box 2* » est un facteur de transcription critique pour le maintien de l'auto-renouvellement des cellules souches indifférenciées

Marqueurs trouvés dans les cellules souches et les cellules progénitrices :

CD133 : L'antigène CD133, également connu sous le nom de prominine-1, est une glycoprotéine transmembranaire

NESTIN : Il s'agit d'une protéine du cytosquelette exprimée dans les cellules souches mais aussi dans des cellules progénitrices. Ce marqueur n'est donc pas spécifique des cellules souches

SCA-1 : « *Stem Cell Antigen 1* » est une protéine de surface

SOX9 : « *Sex determining region Y-box 9* » est un facteur de transcription exprimé dans les cellules souches et progénitrices

population de cellules souches non programmées et une population de cellules progénitrices déjà engagées dans une voie de différenciation, chacune de ces populations étant caractérisée par une expression génique spécifique. Parmi les cellules souches qui expriment SOX2 se trouvent une sous-population de cellules folliculostellaires qui disposent de capacités d'auto-renouvellement et de différenciation (Fauquier *et al.*, 2008 ; Yoshida *et al.*, 2011 ; Andoniadou *et al.*, 2013 ; Le Tissier et Mollard, 2021). Les données issues des technologies de séquençage de la cellule ou du noyau unique, de plus en plus nombreuses, représentent des informations inestimables qui permettront de mieux définir les compositions cellulaires des cellules souches notamment ainsi que les interactions entre toutes les cellules composant l'adénohypophyse.

Le rôle fonctionnel des cellules souches/progénitrices est loin d'être élucidé. Elles pourraient participer à renforcer des pools de cellules endocrines lors de changements physiologiques et/ou contribuer à la régénération de l'organe suite à une lésion pathologique (cf. paragraphe 1.3). Des études de lignages cellulaires, suivis par la dynamique d'expression de SOX2, ont

montré la génération de cellules endocrines chez l'adulte, mais à un très faible taux suggérant un caractère essentiellement quiescent de ces cellules au sein de l'hypophyse (Andoniadou *et al.*, 2013 ; Rizzoti *et al.*, 2013 ; Laporte *et al.*, 2021). Il faut noter que leur contribution aux cellules endocrines est plus forte pendant la période néonatale (Andoniadou *et al.*, 2013 ; Rizzoti *et al.*, 2013 ; Laporte *et al.*, 2022). C'est en effet au moment de la naissance que le nombre de ces cellules est le plus important avant une diminution qui se poursuit tout au long de la vie (Garcia-Lavandeira *et al.*, 2009 ; Gremeaux *et al.*, 2012). Chez la souris adulte, une lésion induite expérimentalement des cellules somatotropes entraîne une prolifération importante des cellules souches, suivie par l'expression de l'hormone somatotrope GH les mois suivants (Fu *et al.*, 2012 ; Willems *et al.*, 2016).

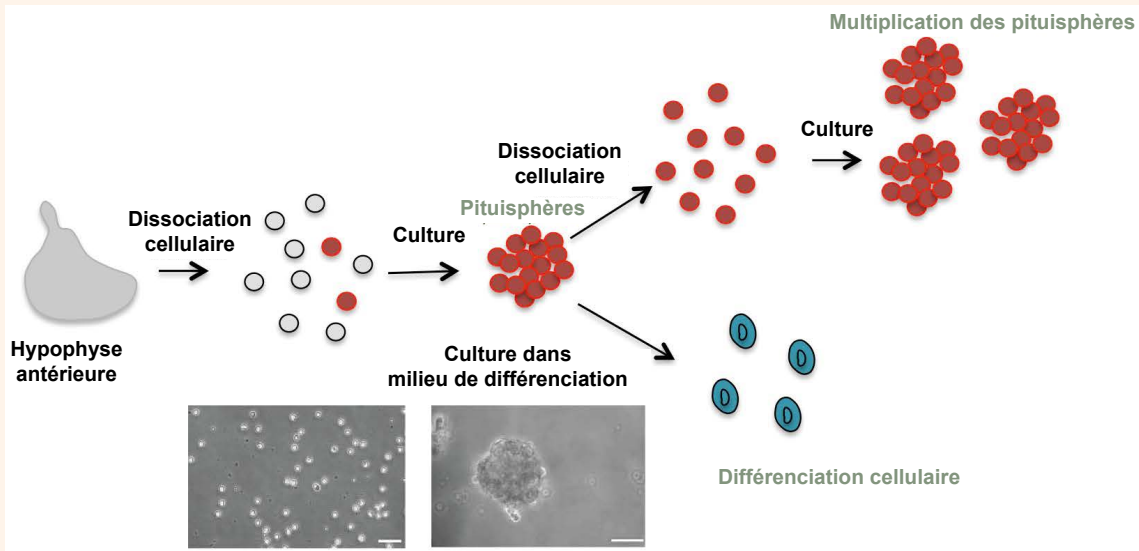
■ 1.2. Développement de l'hypophyse au cours de l'organogenèse

a. Mise en place de l'hypophyse et des différents types cellulaires

Au cours de l'embryogenèse, l'hypophyse antérieure naît à partir de la crête

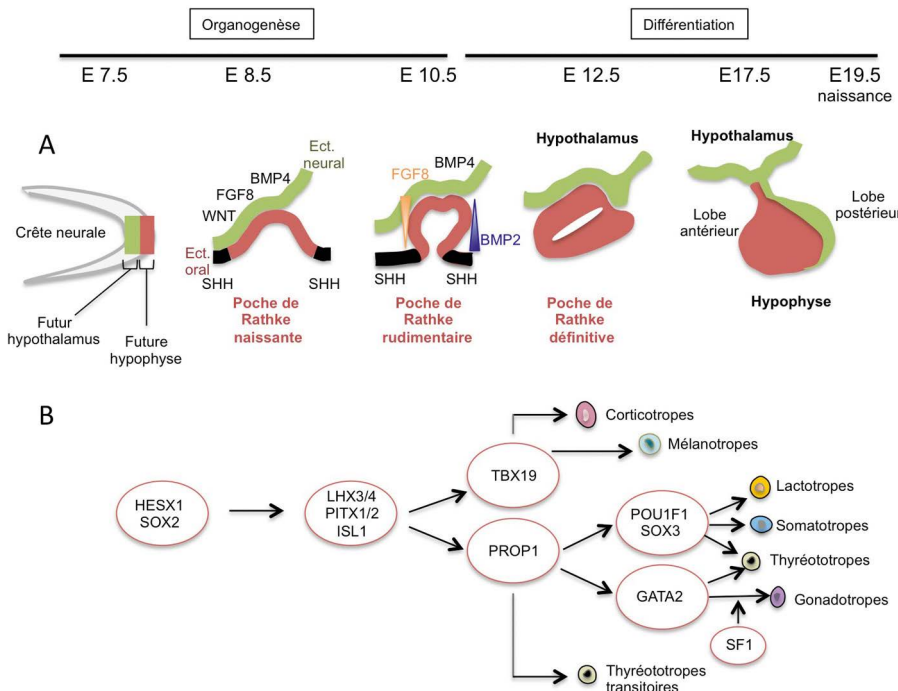
Encadré 3. Qu'est-ce qu'une pituisphère ?

Les pituisphères, prémisses d'organoïdes hypophysaires, sont des groupes de cellules souches issues de l'hypophyse, de forme sphérique, qui se forment *in vitro* dans des conditions de culture non adhérentes. Ces sphères cellulaires clonales (chaque sphère provient de la multiplication d'une seule cellule) peuvent être multipliées par dissociation et remise en culture des cellules dissociées, selon un processus d'auto-renouvellement qui est une propriété caractéristique d'une cellule-souche. Dans les conditions de culture actuellement utilisées, ces étapes de dissociation-remise en culture perdent de leur efficacité au bout de 3 ou 4 cycles. Les pituisphères peuvent également être mises en présence d'un milieu adapté pour être induites par différenciation en un type cellulaire mature donné. Elles offrent ainsi la possibilité d'étudier la fonction des cellules souches/progénitrices et d'identifier les facteurs susceptibles de modifier leur devenir.



Représentation schématique de l'obtention de pituisphères (prémisses d'organoïdes) (représentées par le groupement de cellules rouges) à partir d'hypophyses. Les images représentant les cellules hypophysaires dissociées et les pituisphères (à J9 de culture) sont issues de Chen *et al.*, 2005.

Figure 2. Représentation schématique de l'organogenèse hypophysaire et des facteurs de transcription principaux intervenant dans le développement hypophysaire.



Organogenèse hypophysaire et ses facteurs de croissance et molécules morphogènes (A) et facteurs de transcription principaux intervenant dans le développement hypophysaire (B) chez la souris entre les stades embryonnaires E 8.5 (signifiant 8,5 jours d'âge embryonnaire) et E17.5. La naissance intervient à E21. **Ect. Oral** : Ectoderme Oral ; **Ect. Neural** : Ectoderme Neural. Les abréviations sont définies dans l'encadré 4.

neurale antérieure par invagination de l'ectoderme oral qui, en proliférant, forme une structure appelée la poche de Rathke, précurseur de l'hypophyse antérieure (Couly et Le Douarin, 1988) (figure 2A). Cette dernière est constituée de cellules souches qui ne produisent pas encore d'hormone.

La formation de la poche de Rathke débute au milieu de la quatrième semaine de gestation chez l'humain et à 8,5 jours de stade embryonnaire (E8.5) chez la souris. La partie adjacente de la crête neurale antérieure, l'ectoderme neural, est, à l'origine de l'hypothalamus et du lobe postérieur de l'hypophyse qui se développe en étroite proximité avec la poche de Rathke.

Le contact entre l'ectoderme neural du diencephale ventral (le diencephale est la partie du cerveau située entre les deux hémisphères cérébraux) qui s'évagine et s'épaissit (dès E10.5 chez la souris) et la poche de Rathke est essentiel au succès de l'organogenèse hypophysaire (Treier et Rosenfeld, 1996 ; Treier *et al.*, 1998). Outre l'induction et la

Encadré 4. Glossaire des molécules morphogènes et des principaux facteurs de transcription impliqués dans l'organogenèse hypophysaire.

Molécules morphogènes :

BMP2 : *Bone Morphogenetic Protein 2*, protéine 2 de morphogenèse des os

BMP4 : *Bone Morphogenetic Protein 4*, protéine 4 de morphogenèse des os

FGF8 : *Fibroblast Growth Factor 8*, facteur de croissance des fibroblastes

SHH : *Sonic Hedgehog*

WNT : *Wingless iNTEGRation*

Facteurs de croissance :

GATA2 : Protéine à doigt de zinc se fixant sur la séquence ADN « GATA » 2

HESX1 : « *Homeobox ES cell expressed 1* », facteur de transcription à homéodomaine exprimé dans les cellules ES 1

ISL1 : « *Insulin gene enhancer binding protein* », protéine de liaison à la séquence régulatrice du gène de l'insuline 1

LHX3 : « *LIM Homeobox 3* », facteur de transcription à homéodomaine LIM 3

LHX4 : « *LIM Homeobox 4* », facteur de transcription à homéodomaine LIM 4

PITX1 : « *Paired-like homeodomain transcription factor 1* », facteur de transcription à homéodomaine de type apparié 1

PITX2 : « *Paired-like homeodomain transcription factor 2* », facteur de transcription à homéodomaine de type apparié 2

POU1F1 : « *Pituitary-specific positive transcription factor 1* », facteur de transcription positif spécifique de l'hypophyse 1

PROP1 : « *PROP paired-like homeobox 1* », facteur de transcription PROP à homéodomaine de type apparié 1

SF1 : « *Steroidogenic factor 1* », facteur stéroïdogène 1

SOX2 : « *SRY (Sex Determining Region Y)-Box 2* », facteur de transcription à domaine SRY (région de détermination du sexe) 2

SOX3 : « *SRY (Sex Determining Region Y)-Box 3* », facteur de transcription à domaine SRY (région de détermination du sexe) 3

TBX19 : « *T-box transcription factor 19* », facteur de transcription à domaine T 19

forme de l'hypophyse, il permet, entre E12.5 et E17.5, la prolifération des cellules progénitrices des différents types de cellules endocrines et leur mise en place progressive (Dasen et Rosenfeld, 2001). Ces cellules progénitrices, présentes dans la poche de Rathke, expriment le facteur de transcription SOX2. Une petite proportion des cellules SOX2 persistera dans l'hypophyse adulte où elles se retrouveront localisées dans la zone marginale (cf. paragraphe 1.1). À E12.5, la poche de Rathke s'individualise de l'ectoderme oral afin de devenir la future hypophyse : la partie ventrale for-

mera la *pars distalis* tandis que la partie dorsale deviendra la *pars intermedia*. À partir de ce stade, la différenciation cellulaire débute selon une régionalisation dorso-ventrale marquée. Le premier marqueur de différenciation hormonale à apparaître est la sous-unité alpha des hormones glycoprotéiques (hormones thyroïdiques et gonadotropes) (encadré 5). Son expression est restreinte à la partie la plus ventrale de la poche de Rathke (Ericson *et al.*, 1998).

Une partie de ces cellules exprime le facteur de transcription Islet-1 (ISL1),

responsable de l'apparition de la sous-unité β de TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*) formant ainsi une population de cellules thyroïdiques. Ces dernières ont une existence transitoire et disparaissent à la naissance. Les cellules thyroïdiques définitives, définies par la présence des sous-unités alpha et bêta de l'hormone thyroïdique, apparaissent vers E14.5 (Ericson *et al.*, 1998 ; Kelberman *et al.*, 2009). Dans la région intermédiaire de la poche de Rathke, les cellules corticotropes commencent leur différenciation à E12.5. Plus tardivement, vers E15.5, les expressions de GH (*Growth Hormone*) et de PRL (prolactine) caractérisent la différenciation des cellules somatotropes et lactotropes : les premières apparaissant dans la région antérolatérale de la poche de Rathke et les deuxièmes dans une zone plus médiane (Dasen et Rosenfeld, 1999).

Les cellules gonadotropes sont les dernières cellules à être identifiées dès E16.5 grâce à l'expression de la sous-unité bêta de LH (LH β) puis de celle de FSH (FSH β) dans la partie ventrale de la poche de Rathke (Kelberman *et al.*, 2009). La différenciation de ces cellules requiert l'expression de plusieurs facteurs de transcription parmi lesquels se trouvent les facteurs de transcription LHX3 et LHX4, également indispensables à l'apparition des cellules thyroïdiques, somatotropes et lactotropes (Ellsworth *et al.*, 2008 ; Alatzoglou *et al.*, 2020).

Alors que la période d'apparition des cellules endocrines est évaluée à l'aide de marqueurs spécifiques correspondant aux hormones qu'elles produisent, il est probable que les types cellulaires soient déterminés bien plus précocement puis que les cellules migrent pour rejoindre leur localisation avant d'être identifiées (Davis *et al.*, 2011). Les différents types cellulaires s'étendent alors dans l'adénohypophyse pendant les semaines qui suivent la naissance, période pendant laquelle une phase de croissance et de maturation importante a lieu. À ce moment, la répartition des types cellulaires perd ses restrictions géographiques et devient plus dispersée.

La séquence des événements guidant le développement hypophysaire

Encadré 5. Hormones hypophysaires et leur structure.

Les hormones hypophysaires sont des protéines qui peuvent être classées, en fonction de leur structure, en plusieurs groupes :

Hormones glycoprotéines : LH, FSH et TSH

Ces hormones sont constituées de 2 sous-unités α et β . La sous-unité α est commune à ces 3 hormones tandis que la sous-unité β est spécifique de chacune d'entre elles. Chaque sous-unité est codée par un gène qui lui est propre. Les masses moléculaires de LH, FSH et TSH sont respectivement de 29 000, 29 000 et 28 000 daltons chez l'Homme.

Hormones polypeptidiques : GH, PRL

La GH est formée d'une seule chaîne polypeptidique dont la masse moléculaire est d'environ 20 000 daltons. La PRL est également constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 23 000 daltons, dont la séquence en acides aminés partage une grande homologie (environ 70 %) avec celle de la GH.

Hormones polypeptidiques : ACTH, MSH

L'ACTH est une protéine issue de la maturation d'une protéine précurseur : la POMC, elle-même codée par un gène. L'ACTH est formée de 39 acides aminés qui lui confèrent une masse moléculaire de 4 500 daltons. Dans la *pars intermedia* de l'adénohypophyse, la séquence de 39 acides aminés de l'ACTH est scindée en 2 parties par des enzymes spécifiques : les 13 premiers acides aminés donneront l' α MSH.

est orchestrée selon une organisation spatio-temporelle extrêmement précise qui s'appuie sur des molécules morphogènes, des facteurs de croissance puis des facteurs de transcription. Plus précisément, les concentrations de facteurs de croissance et de molécules morphogènes se retrouvent sous forme de gradients dorso-ventraux. Le ratio entre les concentrations de facteurs de croissance dans une zone donnée dicte le patron d'expression de facteurs de transcription à cet endroit, définissant ainsi l'identité des cellules présentes (cf. ci-dessous).

b. Facteurs essentiels impliqués dans le développement hypophysaire**Induction et formation de la poche de Rathke**

L'un des facteurs de croissance essentiels à l'induction et à la formation de la poche de Rathke est la protéine BMP4 (*Bone Morphogenetic Protein 4*). Celle-ci est sécrétée très tôt, dès E8.5 dans le diencéphale ventral, donc dans le tissu se développant en contact avec l'ectoderme oral, et initie l'expression du facteur de transcription ISL1 et la sous-unité alpha des glycoprotéines dans la poche de Rathke (figure 2). BMP4 étant impliquée dans le développement de nombreux tissus, l'ablation de son

gène conduit à la mort très précoce des souris, généralement avant E10 et à l'absence d'hypophyse (Takuma *et al.*, 1998). Lorsque l'action de BMP4 est inhibée spécifiquement dans l'ectoderme oral, par surexpression locale de son antagoniste NOGGIN, l'ébauche hypophysaire arrête son développement à E10 et la différenciation des différents types cellulaires n'a pas lieu soulignant ainsi l'importance de BMP4 (Treier *et al.*, 1998). BMP4 joue également un rôle dans la forme de l'hypophyse (Rizzoti et Lovell-Badge, 2005).

D'autres facteurs de croissance importants sécrétés dès E9.5 dans le diencéphale ventral sont les FGFs (*Fibroblast Growth Factors*) dont FGF8. Ce dernier exerce un effet prolifératif sur l'épithélium de la poche de Rathke, juste après l'induction de celle-ci par BMP4, via l'expression des facteurs de transcription LHX3 et LHX4 (Treier *et al.*, 1998 ; Dasen et Rosenfeld, 2001 ; Treier *et al.*, 2001).

Au-delà des facteurs de croissance BMP4/FGF8, il faut également mentionner la molécule morphogène SHH (*Sonic Hedgehog*), exprimée dans le diencéphale ventral et dans l'ectoderme oral dès l'apparition de la poche de Rathke (figure 2A). Au niveau de l'ectoderme oral, son expression est

restreinte à la région non impliquée dans l'invagination conduisant à la poche de Rathke (figure 2). Son profil d'expression matérialise ainsi une frontière moléculaire entre l'ectoderme oral et la poche de Rathke, participant à l'induction du facteur de croissance BMP2, responsable de l'apparition des types cellulaires ventraux (cellules gonadotropes et thyrotropes). L'inhibition expérimentale de l'action de SHH entraîne un arrêt de développement de la poche de Rathke et l'absence de BMP2 (Treier *et al.*, 2001).

Engagement dans la différenciation cellulaire

BMP2 est un facteur de croissance essentiel pour l'expression des phénotypes cellulaires qui apparaissent selon une orchestration spatio-temporelle précise. Il est également critique pour la perte de dépendance de la poche de Rathke vis-à-vis du diencéphale ventral. BMP2 est produite dans la partie ventrale de la poche de Rathke dès E10.5 et ses concentrations s'atténuent selon un gradient ventro-dorsal (figure 2). À ce gradient s'oppose un gradient dorso-ventral des concentrations de FGF8 (Treier *et al.*, 1998). Le ratio des concentrations de BMP2 et FGF8 dicte un patron d'expression de facteurs de transcription spécifiques au niveau de chaque région, responsables de la différenciation des types cellulaires. La modulation des concentrations de BMP2 de ce ratio est sous le contrôle d'antagonistes de BMP2 produits dans la poche de Rathke (Davis et Camper, 2007). Les concentrations de FGF8 reflètent, elles, la diffusion de ce facteur provenant du diencéphale ventral. Dans la partie ventrale de la poche de Rathke, les concentrations favorables de BMP2 induisent l'expression du facteur de transcription GATA2, indispensable à l'apparition des cellules gonadotropes et thyrotropes (Treier *et al.*, 1998). D'ailleurs, l'inhibition expérimentale de GATA2 dans la partie ventrale de la poche de Rathke entraîne une perte des cellules gonadotropes et une réduction des cellules thyrotropes (Dasen *et al.*, 1999). Au contraire, une surexpression expérimentale de ce facteur conduit à une expansion des cellules gonadotropes vers la région plus dorsale (Dasen *et al.*, 1999).

Dans la dimension ventro-dorsale, les concentrations de GATA2 s'atténuent progressivement au profit d'un autre facteur de transcription, POU1F1 (appelé PIT1 dans les années précédentes) apparaissant dès E13.5. Celui-ci contrôle la différenciation terminale des cellules somatotropes, lactotropes et thyrotropes de la région plus dorsale (figure 2). Dans la partie ventrale, la prédominance de GATA2 permet la différenciation des cellules gonadotropes tandis que, dorsalement, en présence de plus fortes concentrations de POU1F1, GATA2 est inhibée permettant l'induction des cellules lactotropes et somatotropes (Dasen *et al.*, 1999). Dans la partie médiane, les concentrations modérées de GATA2 et POU1F1 permettent la coopération de ces deux facteurs et entraînent la différenciation des cellules thyrotropes (figure 2). Il est à noter que l'atténuation de BMP2 est ensuite requise pour finaliser la différenciation terminale des types cellulaires ventraux de l'adénohypophyse (Treier *et al.*, 1998).

Le développement de l'hypophyse fait intervenir toute une série de facteurs de transcription dont les actions se combinent pour réguler finement les différentes étapes, du développement précoce de l'hypophyse à la différenciation des cellules. Parmi ceux-ci, HESX1 est un important régulateur du développement précoce de l'hypophyse (encadré 4). Son activité est elle-même contrôlée par les récepteurs NOTCH et leurs voies de signalisation qui fonctionnent dans les premières phases de l'organogenèse de l'hypophyse pour empêcher la différenciation prématurée des premières cellules à apparaître, soit les corticotropes et les mélanotropes (Zhu *et al.*, 2006 ; Cheung *et al.*, 2018). *A contrario*, ces voies de signalisation NOTCH induisent les facteurs de transcription PROP1 et POU1F1 et l'émergence des cellules lactotropes, somatotropes et thyrotropes (Zhu *et al.* 2006). Pour ce qui concerne la spécification des gonadotropes, outre GATA2, les facteurs SF1, PITX1, PROP1 participent aussi à ce processus (Alatzoglou *et al.*, 2020). En plus des facteurs de transcription, des hormones et des cytokines (molécules du système immunitaire) contribuent à la maturation des cellules.

Par exemple, la différenciation, la fonctionnalité et le maintien des cellules somatotropes requièrent, en plus de POU1F1 et de PROP1, la présence et l'action des œstrogènes, des glucocorticoïdes (en particulier la corticostérone), de chimiokines ainsi que du facteur hypothalamique GHRH (Nogami et Hisano, 2008).

L'importance de ces facteurs de transcription dans la différenciation et l'expansion des cellules endocrines hypophysaires est mise en évidence, chez l'Homme, par les conséquences que peuvent avoir des mutations génétiques affectant certains d'entre eux, menant à des formes d'hypopituitarisme, c'est-à-dire des déficiences en une ou plusieurs hormones (Kelberman et Dattani, 2006). Par exemple, des mutations dans POU1F1 entraînent une insuffisance en GH, PRL et TSH, parfois accompagnée d'une hypoplasie de l'adénohypophyse (Alatzoglou *et al.*, 2020).

Le décryptage des événements moléculaires régissant le développement hypophysaire a surtout été étudié chez la souris, car celle-ci représente un modèle animal chez lequel les ablations ou les surexpressions de gènes, ciblées dans le temps ou dans un type cellulaire, sont parfaitement maîtrisées grâce aux outils de génétique moléculaire. Néanmoins, l'ontogenèse hypophysaire semble suivre des séquences spatio-temporelles et des mécanismes moléculaires très conservés dans de nombreuses espèces de la souris à l'Homme en passant par le poisson et l'oiseau (Zhang *et al.*, 2020). L'ensemble de ces processus permet d'aboutir à une hypophyse mature dotée d'une capacité de plasticité importante.

■ 1.3. Fonction hypophysaire et plasticité cellulaire tout au long de la vie

Les sécrétions hormonales hypophysaires sont essentielles pour le contrôle de nombreuses fonctions physiologiques de l'organisme. Pour assurer ce rôle, les cellules répondent à des stimuli hypothalamiques qui induisent des épisodes (appelés « pulses ») de sécrétion hormonale dans la circulation générale

selon une temporalité bien précise. Cependant, si l'hypothalamus fournit le signal primaire pour induire ces sécrétions, cette action est elle-même modulée au niveau hypophysaire par des hormones circulantes exerçant un rétrocontrôle endocrine, telles les hormones stéroïdes, ainsi que par des facteurs paracrines/autocrines (encadré 6).

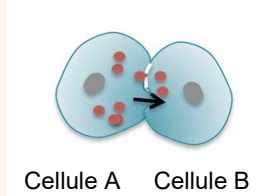
a. Des réseaux cellulaires pour améliorer et synchroniser l'efficacité de la sécrétion hormonale

L'intégration de l'ensemble des signaux reçus par les cellules repose sur une structure très organisée dans laquelle chaque cellule n'agit pas seule mais en interaction avec d'autres cellules, formant ainsi des réseaux homotypiques (formés de cellules d'un même type) ou hétérotypiques (lorsque des réseaux homotypiques s'interconnectent) (Bonnefont *et al.*, 2005 ; Le Tissier *et al.*, 2012). Ces réseaux, qui se mettent en place au cours du développement et se retrouvent chez l'ensemble des vertébrés, sont extrêmement importants pour la genèse des pulses de sécrétion hormonale et leur synchronisation (Le Tissier *et al.*, 2018). Chez le poisson zèbre, utilisé comme organisme modèle, il a été montré que lorsque les réseaux gonadotropes sont perturbés par blocage des jonctions communicantes, aussi appelées jonctions gap, la sécrétion et l'action biologique des hormones sont compromises (Fontaine *et al.*, 2020a). Tous les types cellulaires endocrines hypophysaires, à l'exception des cellules thyrotropes, établissent des réseaux. Certains de ces réseaux homotypiques se trouvent à très grande proximité les uns des autres, tels que les réseaux gonadotropes et lactotropes, et ils sont souvent proches des capillaires sanguins, afin de faciliter l'accès des sécrétions à la circulation générale (Seuntjens *et al.*, 1999). Les cellules non endocrines folliculostellaires se constituent également en réseaux homotypiques (Fauquier *et al.*, 2001). Ces réseaux se forment soit par des regroupements cellulaires qui établissent des connexions par des jonctions cellulaires pour les cellules largement représentées telles que les somatotropes, soit à l'aide de prolongements cellulaires pour les cellules

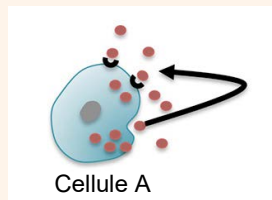
Encadré 6. Les différents types de communication cellulaire.

Pour assurer la prolifération, la différenciation ou le fonctionnement des cellules, de nombreuses molécules (hormones, facteurs de croissance...) transmettent des informations aux cellules. Cette communication chimique peut se faire selon différentes stratégies :

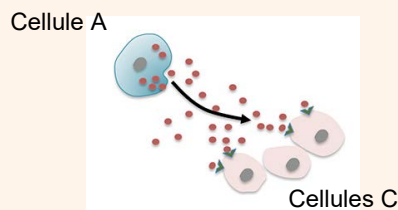
Communication juxtacrine : les cellules établissent des contacts directs entre elles grâce aux jonctions perméables (jonctions gap) : ces jonctions permettent le passage passif de molécules de la cellule A agit sur la cellule B.



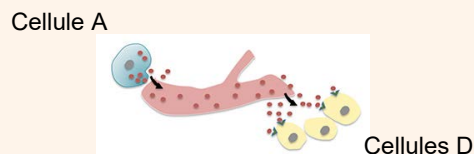
Communication autocrine : une molécule « signal » (hormone, facteur de croissance, cytokine) est sécrétée par une cellule A et agit sur cette même cellule A.



Communication paracrine : une molécule « signal » (hormone, facteur de croissance, cytokine) est sécrétée par une cellule A et agit sur une cellule C située à courte distance dans le même organe.



Communication endocrine : une molécule « signal » (hormone, facteur de croissance, cytokine) est sécrétée par une cellule A dans la circulation sanguine et agit sur une cellule D située à longue distance dans un autre organe.



plus isolées comme les corticotropes (Fontaine *et al.*, 2020a). De telles modifications morphologiques qui favorisent la communication cellulaire permettent de synchroniser l'activité des cellules et impactent la libération hormonale. Ainsi, chez la souris mâle, l'organisation des cellules somatotropes en réseau s'accroît au moment de la maturation sexuelle, correspondant à une augmentation de sécrétion de GH nécessaire à la

croissance post-pubertaire (Bonneton *et al.*, 2005). De la même façon, l'allaitement entraîne une intensification des contacts entre les cellules lactotropes qui aboutit à une production plus forte de prolactine (Hodson *et al.*, 2012). Un autre exemple concerne les cellules gonadotropes pour lesquels le facteur hypothalamique GnRH stimule la formation de contacts entre les cellules et la sécrétion de LH (Navratil *et al.*, 2007).

Ces différents réseaux homotypiques interagissent aussi entre eux, formant ainsi des réseaux hétérotypiques. Des entrelacements des réseaux gonadotrope et corticotrope ou gonadotrope et lactotrope ont été observés suggérant l'influence des uns sur les autres (Seuntjens *et al.*, 1999). Les réseaux de cellules folliculostellaires communiquent avec plusieurs autres réseaux cellulaires, favorisant ainsi la

coordination de la sécrétion (Fauquier *et al.*, 2001). La communication entre les cellules des différents réseaux peut faire intervenir des facteurs paracrines, tels des facteurs de croissance ou des cytokines.

Ces réseaux montrent un fort degré de plasticité permettant à l'hypophyse d'adapter ses sécrétions hormonales aux besoins physiologiques (Le Tissier *et al.*, 2012 ; Fontaine *et al.*, 2020a).

b. La plasticité hypophysaire tout au long de la vie pour adapter les réponses cellulaires

Au cours de la vie, des modifications de l'environnement interne ou externe vont obliger l'hypophyse à adapter ses sécrétions hormonales pour répondre au mieux aux besoins de l'organisme et maintenir l'homéostasie.

Parmi ces modifications se trouvent des événements physiologiques clés. Ainsi, chez les mammifères, à la puberté, une augmentation des hormones gonadotropes, LH et FSH, et de l'hormone somatotrope GH est essentielle pour assurer la maturité des gonades et réguler la croissance. Pendant la gestation et la lactation, des concentrations circulantes de prolactine plus élevées sont nécessaires pour préparer la glande mammaire à une production de lait. Lors d'épisodes de stress subis par un individu, des niveaux supérieurs d'hormone corticotrope, ACTH, sont sécrétés pour faire face à la situation et s'y adapter. D'autres perturbations vont être plus contextuelles, liées à la qualité de l'environnement extérieur, à la nutrition ou à des maladies. Plus largement, tout type de modifications, quelle que soit son origine, nécessitera une adaptation des sécrétions, qui peut avoir lieu dans un délai variable pouvant être immédiat ou à long terme. Pour ce faire, l'hypophyse fait preuve d'une grande flexibilité. Plusieurs scénarios permettent d'envisager les mécanismes mis en œuvre pour adapter les réponses sécrétoires (figure 3) :

- au niveau cellulaire

Chaque cellule peut modifier sa synthèse et sa libération d'hormone

sous l'action combinée de facteurs hypothalamiques, périphériques et/ou paracrines en modifiant sa réceptivité aux facteurs et les voies intracellulaires de signalisation mobilisées. Par exemple, lors de la période précédant l'ovulation chez des femelles, la fréquence des pulses de GnRH augmente considérablement provoquant une élévation du nombre de récepteurs à cette neurohormone au niveau des cellules gonadotropes. Le signal reçu par la cellule s'en trouve modifié conduisant à une augmentation de la sécrétion de LH comme cela a été démontré chez la brebis (Fafioffe *et al.*, 2004). La lactation quant à elle induit l'élévation de l'activité calcique dans les cellules lactotropes chez la rate résultant en une libération accrue de prolactine (Hodson *et al.*, 2012).

- au niveau d'une population cellulaire spécifique

Au sein d'une population cellulaire spécifique, un plus grand nombre de cellules peuvent être mobilisées et contribuer à la production hormonale. Cela est démontré dans la population de cellules gonadotropes dont la proportion de cellules libérant LH s'élève après traitement *in vitro* avec le facteur hypothalamique GnRH (Taragnat et Durand, 1993). Selon les situations ou les types cellulaires, ce mécanisme n'est pas toujours adopté. Ainsi le nombre de cellules lactotropes n'est pas modifié de façon évidente au moment de la lactation (Hodson *et al.*, 2012). Dans le cas où une élévation du nombre de cellules sécrétant une hormone se produit, celle-ci peut provenir soit d'une mitose de cellules différenciées soit d'une prolifération et une différenciation de cellules souches/progénitrices ou encore d'une conversion phénotypique d'un type cellulaire vers un autre (figure 3).

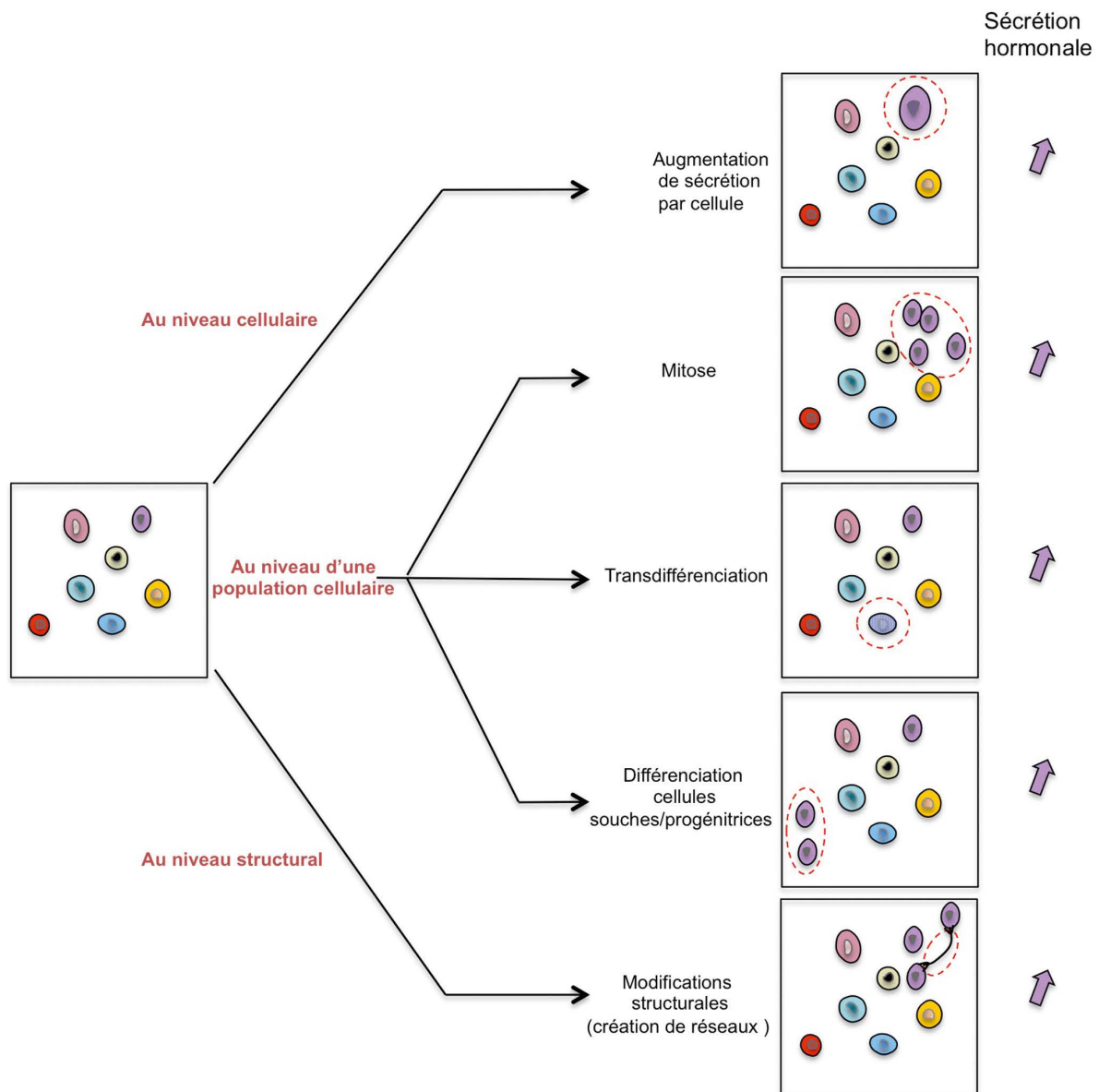
* mitoses de cellules déjà différenciées : l'hypophyse montre un faible renouvellement cellulaire, avec une fréquence survenant tous les 70 jours chez le rat adulte (Nolan *et al.*, 1998). Le taux de mitoses est cependant plus élevé dans les jours qui suivent la naissance au moment où l'hypophyse augmente de taille (Carbajo-Pérez et Watanabe, 1990 ; Laporte *et al.*, 2021). Dans l'ensemble,

ces observations ne plaident pas en faveur d'une forte implication de ce phénomène dans la contribution à une réponse sécrétoire physiologique massive et immédiate chez l'adulte. En revanche, le taux de mitoses augmente après retrait d'un organe cible. Par exemple, il a été montré chez le rat que le nombre de cellules corticotropes en division est plus important après le retrait des surrénales, de même que celui des cellules gonadotropes après suppression des gonades (Taniguchi *et al.*, 2002).

* La conversion d'un type cellulaire en un autre

Ce phénomène, appelé transdifférenciation, peut également participer à une production plus importante d'hormone comme cela a été observé dans plusieurs situations et notamment chez plusieurs espèces (Childs *et al.*, 2020). Par exemple, les cellules somatotropes peuvent se convertir de manière réversible en cellules lactotropes au moment de la lactation ou en thyrotropes chez le rat en hypothyroïdie (Horvath *et al.*, 1990 ; Porter *et al.*, 1991). Les cellules somatotropes ont également la capacité à produire des hormones gonadotropes sous l'influence du facteur hypothalamique GnRH pour supporter la forte sécrétion de LH lors du pic préovulatoire, au moins chez les rongeurs (Childs *et al.*, 1994 ; Childs, 2002). Au sein d'une même population cellulaire telle que la population gonadotrope, des conversions de cellules bi-hormonales (LH/FSH) en mono-hormonales (LH ou FSH) ou *vice versa* sont observées au cours du cycle œstrien sous l'action de GnRH et de l'œstradiol chez la brebis (Taragnat *et al.*, 1998 ; Molter-Gérard *et al.*, 1999 ; Molter-Gérard *et al.*, 2000). Chez le macaque, des cellules mono-hormonales FSH peuvent se convertir en cellules bi-hormonales (LH/FSH) au cours de la puberté (Meeran *et al.*, 2003). Un phénomène similaire a été observé chez le médaka, poisson téléostéen (Fontaine *et al.*, 2020b). Récemment, des analyses transcriptomiques hypophysaires menées à l'échelle de la cellule unique, combinées à des études d'immunofluorescence ont confirmé l'existence de populations cellulaires multi-hormonales capables

Figure 3. Schéma illustrant les différents scénarios susceptibles d'expliquer la plasticité hypophysaire.



L'augmentation de sécrétion d'une hormone peut s'expliquer par différents scénarios agissant soit au niveau cellulaire, soit au niveau d'une population cellulaire. Dans le premier cas, sous l'action de facteurs régulateurs, chaque cellule peut accroître la libération d'une hormone. Dans le deuxième cas, le nombre de cellules sécrétrices peut augmenter par mitoses de cellules déjà différenciées, par transdifférenciation (conversion d'un type cellulaire en un autre) ou par différenciation de cellules souches/progénitrices. Des modifications structurales, telles que le remodelage de réseaux intercellulaires, peuvent également contribuer à la plasticité cellulaire.

de conversion en réponse à des stress physiologiques chez la souris (Ho *et al.*, 2020).

* *Implication des cellules souches/progénitrices présentes dans l'hypophyse mature*

Dans de nombreux tissus, les processus d'adaptation ou de régénération après lésion impliquent les cellules souches locales. Pour l'hypophyse, il reste encore beaucoup d'interrogations sur leur possible contribution à

ces phénomènes. Des études de suivi du devenir des cellules souches/progénitrices exprimant SOX2 chez la souris sont en faveur d'un rôle dans le renouvellement cellulaire puisqu'elles sont aptes à générer des cellules différenciées (Rizzoti *et al.*, 2013). Cependant, ce processus se produit avec une faible occurrence. Il faut noter que la déplétion de la majorité des cellules exprimant SOX2 n'affecte pas l'homéostasie des cellules hormonales, mettant en question leur implication (Roose *et al.*, 2017). Il se peut toutefois que d'autres

populations de cellules souches interviennent. L'activation des cellules souches est beaucoup plus évidente pendant la période de croissance et de fin de maturation de l'hypophyse suivant la naissance (Gremeaux *et al.*, 2012 ; Rizzoti *et al.*, 2013). Chez l'adulte, une activation importante de ces cellules a été observée après une lésion induite expérimentalement visant à éliminer les cellules somatotropes (Fu *et al.*, 2012). Cette suppression est suivie d'une forte prolifération et d'une différenciation des cellules SOX2 en cellules

somatotropes. Ces résultats suggèrent que les mécanismes sous-jacents au remodelage de l'hypophyse peuvent être différents entre maintien basique de l'homéostasie, réponses aux variations physiologiques et adaptation à un événement pathologique.

Les stratégies utilisées peuvent varier selon le type cellulaire ou les raisons du changement qui peuvent être prévisibles (puberté, pic pré-ovulatoire de LH...) ou non (stress, pathologies...) et plus ou moins sévères. Ainsi, alors que le maintien des cellules corticotropes au cours de la vie chez la souris implique essentiellement la duplication de cellules déjà différenciées, leur renouvellement après l'ablation des glandes surrénales repose sur la prolifération puis la différenciation de cellules progénitrices exprimant SOX2 (Langlais *et al.*, 2013).

- au niveau structural

De nombreuses évidences pointent un rôle essentiel de l'interaction des cellules au sein des réseaux cellulaires dans la coordination et l'optimisation des changements de sécrétion. La plasticité de cette organisation spatiale, modulée par des facteurs hypothalamiques et périphériques tels que les hormones stéroïdes, est illustrée, par exemple, par la formation de multiples clusters de cellules somatotropes en contact lors de la puberté chez le mâle coïncidant avec une augmentation des pulsés de GH contrôlant la croissance (Le Tissier *et al.*, 2012). À cette même période, la formation de clusters entre cellules gonadotropes est favorisée. La GnRH participe à cette réorganisation en augmentant le nombre de prolongements des cellules gonadotropes et en promouvant une réorganisation spatiale associée à une augmentation de la sécrétion de LH (Navratil *et al.*, 2007). Le réseau lactotrope est également remodelé, comme montré chez la rate, lors de la lactation et dans ce cas, ces modifications persistent jusqu'aux lactations suivantes pour stimuler la sécrétion de prolactine (Hodson *et al.*, 2012). Au-delà des réseaux homotypiques, la connexion de ces réseaux entre eux pour former des réseaux hétérotypiques suggère un rôle pour

maintenir l'homéostasie du système. Par exemple, l'ablation des cellules corticotropes entraîne l'expansion des cellules gonadotropes ainsi que l'extension de ce réseau suggérant le contrôle exercé par un réseau sur l'autre. De la même façon, l'ablation des gonadotropes modifie l'organisation des lactotropes. La régulation et le maintien des populations cellulaires hormonales différentes impliquent également des cellules non hormonales telles que les cellules souches exprimant SOX2. Pendant la période qui suit la naissance, ces cellules sécrètent de nombreux facteurs au sein de la niche où elles résident, dont les ligands WNT qui régulent la prolifération et l'expansion des cellules voisines en cours de différenciation (Russell *et al.*, 2021 ; Laporte *et al.*, 2022 ; Willis *et al.*, 2022). Le Tissier *et al.* (2022) proposent un modèle selon lequel le réseau de cellules exprimant SOX2 régulerait la masse des cellules endocrines. Ce réseau jouerait ainsi un rôle de sentinelle visant à prioriser et à coordonner les réponses cellulaires aux signaux reçus grâce à des interactions paracrines.

2. Les modèles in vitro 2D

L'adaptation au microenvironnement et aux diverses situations changeantes au cours de la vie, qu'elles soient physiologiques, environnementales ou pathologiques, est une caractéristique essentielle de l'hypophyse. Néanmoins, les mécanismes qui l'accompagnent sont encore mal décryptés. Pour gagner en compréhension, les modèles cellulaires *in vitro* 2D ou plus récemment 3D sont une aide précieuse. Ils procurent également l'avantage d'ouvrir les études vers des modèles autres que les rongeurs permettant ainsi de mettre en évidence de potentielles spécificités d'espèces et de faire progresser les connaissances et leurs applications.

■ 2.1 Culture cellulaire primaire

Parmi les méthodes les plus largement utilisées se trouvent les cultures de cellules hypophysaires dissociées. Dans ce cas, l'hypophyse est prélevée et l'ensemble des cellules est dissocié

à l'aide d'enzymes qui permettent d'individualiser les cellules. Celles-ci sont alors mises en culture dans des puits de culture en présence de milieu de culture leur fournissant les éléments essentiels pour assurer leur fonctionnement. Ce type de culture a été mis en place à partir d'hypophysies de nombreuses espèces (rongeurs, mouton, vache, porc, poissons, poulet, humains...). Les cultures primaires permettent de tester de nombreuses conditions expérimentales de doses hormonales ou de facteurs susceptibles de modifier le comportement cellulaire (hormones, facteurs de croissance, xénobiotiques...), avec des durées d'exposition variables. L'analyse des réponses cellulaires peut s'effectuer par le suivi de l'expression de gènes, de protéines ou de sécrétions hormonales. Elles ont ainsi permis de démontrer le rôle des facteurs hypothalamiques (GnRH, GHRH, CRH...) et de nombreux autres facteurs de régulation putatifs (par exemple des facteurs de croissance...) sur la synthèse et la sécrétion de leurs hormones cibles respectives mais également de décortiquer leurs mécanismes d'action. Toutefois ces cultures en monocouche, en format 2D, ne respectent pas la structure intrinsèque du tissu et les connexions complexes entre cellules limitant ainsi l'amplitude des réponses cellulaires (Le Tissier *et al.*, 2012). En outre, elles présentent une durée de vie et d'utilisation limitée (environ 2 semaines) puisque, dans ces conditions, les cellules ont une capacité proliférative faible. Enfin, elles peuvent nécessiter un grand nombre d'animaux car le nombre de cellules isolées dépend de la taille de l'hypophyse et donc de l'animal considéré.

■ 2.2 Lignées cellulaires

Une lignée cellulaire est une population de cellules issues d'une même cellule par mitoses successives. Les lignées sont établies à partir soit de tumeurs existantes ou induites expérimentalement chez un animal soit de cellules en culture transformées par un agent oncogène. Les cellules d'une lignée ont la capacité à se diviser de nombreuses fois, théoriquement de manière indéfinie, tout en conservant les propriétés de la cellule d'origine. Elles peuvent être congelées et réutilisées de nombreuses

fois. Des lignées représentant des types cellulaires hypophysaires spécifiques ont été établies (tableau 2).

Des lignées de cellules corticotropes (AtT20), lactotropes (MMQ, HPA), somatotropes voire lactosomatotropes, exprimant donc à la fois PRL et GH (GH3, GH4C1), ou gonadotropes telle la lignée LBT2 sont très utilisées. Leurs avantages résident dans leur accessibilité facile puisqu'elles sont majoritairement commercialisées, leur longue durée d'utilisation et leur aptitude à être manipulées génétiquement.

En revanche, ces lignées sont essentiellement d'origine murine. Par exemple, des lignées humaines ne sont pas disponibles pour tous les types cellulaires. De plus, si ces lignées constituent une population cellulaire spécifique homogène, elles ne représentent pas la composition cellulaire complexe d'une hypophyse entière. De surcroît, leur caractère tumoral peut modifier les caractéristiques fonctionnelles des cellules et affecter leur réponse aux stimulations et aux facteurs testés. Par exemple, dans la lignée GH3, la sécrétion de PRL n'est pas sensible à la dopamine qui est un régulateur majeur, inhibiteur de la sécrétion de PRL *in vivo*.

sible à la dopamine qui est un régulateur majeur, inhibiteur de la sécrétion de PRL *in vivo*.

3. Les modèles *in vitro* 3D

Bien que les différents modèles *in vitro* précités aient permis d'apporter des résultats précieux et pertinents sur le fonctionnement hypophysaire, des systèmes conservant ou reproduisant l'architecture tissulaire et les interactions cellulaires présentes *in vivo* sont nécessaires.

Tableau 2. Principales lignées cellulaires hypophysaires disponibles.

	Type cellulaire représenté	Hormones produites	Nom de la lignée	Espèce d'origine	Origine
Cellules endocrines	Corticotrope	ACTH	AtT-20	Souris	Tumeur existante
	Gonadotrope immature	Sous-unité alpha gonadotrope	α T3-1	Souris	Tumeur induite expérimentalement
	Gonadotrope	LH, FSH	LbetaT2	Souris	Tumeur induite expérimentalement
	Gonadotrope	FSH	HP75	Homme	Tumeur induite expérimentalement
	Lactotrope	PRL	MMQ	Rat	Tumeur existante
	Lactotrope	PRL	HPA	Homme	Tumeur existante
	Somatotrope	GH et faibles concentrations de PRL	GH3	Rat	Tumeur existante
	Somatotrope	Faibles concentrations de GH et plus fortes concentrations de PRL	GH4C1	Rat	Tumeur existante
	Somatotrope	GH	GX	Homme	Tumeur existante
	Thyréotrope	TSH	T α T1	Souris	Tumeur induite expérimentalement
	Thyréotrope	TSH	TtT-97	Souris	Tumeur existante
	Tous les types cellulaires	LH, FSH, PRL, GH, TSH, ACTH	RC4B	Rat	Tumeur existante
Cellules non endocrines	Folliculostellaire		TtT/GF	Souris	Tumeur existante
	Folliculostellaire		Tpit/F1	Souris	Tumeur induite expérimentalement
	Folliculostellaire		PDFS	Homme	Tumeur existante

Les abréviations sont définies dans la légende du tableau 1. Pour revue sur ces lignées : (Ooi *et al.*, 2004).

■ 3.1 Culture d'explants ou de tranches hypophysaires

Des fragments ou des tranches d'hypophyses peuvent être cultivés soit en immersion dans un milieu de culture adapté soit posés sur une membrane à l'interface air-milieu de culture. Ces systèmes ont l'avantage de conserver les relations architecturales présentes dans la glande et les réponses cellulaires attendues mais la durée d'utilisation est assez limitée, surtout pour le tissu adulte (quelques heures à quelques jours selon la méthode de culture). De plus, les fragments issus de différentes parties de la glande peuvent produire des réponses variables, d'autant que la diffusion des constituants du milieu de culture ainsi que l'oxygénation au sein du tissu peuvent être inégales au sein d'un fragment.

■ 3.2 Sphéroïdes

Un modèle de culture cellulaire en 3D partant de cellules dissociées permet de recréer une organisation et une fonctionnalité plus proches de celles observées *in vivo* que les cultures 2D.

Il est ainsi possible d'obtenir la formation d'agrégats cellulaires, aussi appelés sphéroïdes, en plaçant les cellules dissociées dans un gel, tel que le Matrigel®, qui mime une structure de membrane basale proche de la matrice extracellulaire ou dans des boîtes de culture à faible adhésion. Pour l'hypophyse, des agrégats cellulaires ont été initialement développés en cultivant des cellules dissociées sous agitation giratoire (Van der Schueren *et al.*, 1982). Ces agrégats présentent une organisation similaire au tissu d'origine en maintenant la représentation des types cellulaires et leur fonctionnalité pendant au moins un mois.

■ 3.3 Organoïdes

Une alternative aux modèles précédents repose sur le développement d'organoïdes hypophysaires. Les organoïdes sont des systèmes multicellulaires tridimensionnels qui s'auto-organisent et recréent ainsi des mini-organes mimant leur structure et leur fonctionnalité au moins partiel-

lement, rarement encore en totalité selon les tissus étudiés. À la différence des sphéroïdes formés de l'ensemble des cellules présentes dans le tissu au moment de la dissociation, les organoïdes sont développés à partir de cellules souches pluripotentes (PSC pour *Pluripotent Stem Cell*) ou de cellules souches/progénitrices issues d'individus adultes (ASC pour *Adult Stem Cells*) qui prolifèrent et se différencient en différents types cellulaires tout en reconstituant les interactions cellulaires.

a. À partir de cellules souches pluripotentes (PSC pour pluripotent stem cell)

Les PSC sont soit des cellules souches embryonnaires (ESC pour *Embryonic Stem Cell*), soit des cellules souches pluripotentes induites (iPSC pour *Induced Pluripotent Stem Cell*). Ces dernières sont obtenues à partir de cellules somatiques, différenciées, présentes à tout âge et qu'il est possible de reprogrammer en cellules pluripotentes. Les organoïdes issus de PSC reproduisent les étapes du développement tissulaire. Ils sont obtenus en exposant de manière séquentielle les cellules aux facteurs activateurs ou inhibiteurs des voies spécifiques impliquées dans l'embryogenèse. Les pituïosphères qui en résultent sont placées dans un gel, tel que le Matrigel®, qui mime la structure de la membrane basale composant la matrice extracellulaire, dans lequel les organoïdes peuvent se développer. L'utilisation des PSC est recommandée pour les tissus composés de différentes structures ou compartiments tel que le cerveau. En revanche, il n'est pas possible de multiplier de tels organoïdes qui doivent être reproduits à partir des PSC initiales (Laporte *et al.*, 2021).

Depuis une dizaine d'années, des modèles d'organoïdes hypophysaires développés à partir de PSC ont émergé. Le travail pionnier a été conduit par l'équipe de Suga (Suga *et al.*, 2011). Les ESC de souris cultivées en agrégats, donc en configuration 3D, ont montré leur aptitude à reproduire, avec l'utilisation de milieux de culture adéquats contenant notamment BMP4 et un agoniste de SHH, l'organogenèse hypophysaire. Ce système de culture reproduit l'apparition des ectodermes

neural et oral, leur interaction conduisant à l'invagination de l'ectoderme oral à l'origine de la poche de Rathke, l'expression des facteurs de transcription PITX1 et LHX3 et du morphogène SHH, puis la différenciation des types cellulaires. La différenciation des cellules corticotropes est réalisée grâce à l'inhibition expérimentale de la voie NOTCH, celles des somatotropes et des lactotropes requièrent la stimulation de la voie WNT (Wingless iNTEgration, une famille de glycoprotéines intervenant au cours de l'embryogenèse), suivie de l'exposition soit aux glucocorticoïdes pour les premières, soit à l'œstradiol pour les deuxièmes. Ce processus représente parfaitement les étapes décrites *in vivo* et dans une temporalité similaire. La même équipe a montré plus tard que BMP4 et FGF8 favorisaient l'induction de l'ectoderme oral comme observé *in vivo* (Ochiai *et al.*, 2015). La fonctionnalité de ce système est démontrée pour les cellules corticotropes dont la libération d'ACTH est accrue lors d'un traitement avec le facteur hypothalamique CRH (*Corticotrope Releasing Hormone*). De plus, le placement de ces organoïdes *in vivo* par transplantation sous-rénale¹ dans un modèle de souris hypophysectomisées, restaure les concentrations circulantes d'ACTH, démontrant la faisabilité de la thérapie cellulaire (Suga *et al.*, 2011). Des résultats comparables ont été obtenus en partant d'ESC humaines, exceptés que les corticotropes apparaissent spontanément tandis que l'inhibition de la voie NOTCH entraîne l'apparition des cellules gonadotropes, suggérant des différences des voies de signalisation induites entre espèces (Ozone *et al.*, 2016).

Les premiers travaux menés avec les hiPSC (iPSC humaines), réalisés dans un système de culture bidimensionnelle, ont permis de montrer que ces cellules étaient capables de générer les types cellulaires endocrines hypophysaires (Dincer *et al.*, 2013). Lorsqu'elles sont exposées à l'environnement existant *in vivo* par transplantation sous la peau de souris immunodéficientes

¹ Le placement sous-rénal de greffons leur permet de maintenir leur fonctionnalité. Le placement dans la selle turcique hébergeant l'hypophyse est quasiment impossible du fait de la difficulté d'accès.

et/ou atteintes d'une déficience hypophysaire, ces cellules produisent des hormones hypophysaires telles que ACTH, GH et LH dès 21 jours de culture sur une longue période (Dincer *et al.*, 2013 ; Zimmer *et al.*, 2016). De façon intéressante, le traitement de ces cultures *in vitro* avec des concentrations de FGF8 et BMP2 variables visant à mimer les gradients de ces deux facteurs observés *in vivo* lors de l'organogenèse hypophysaire produit les mêmes effets qu'*in vivo* : l'apparition des cellules gonadotropes est favorisée par un excès de BMP2 par rapport à FGF8 alors que des fortes concentrations de FGF8 favorisent les cellules corticotropes comme cela est décrit dans la partie 1.2.b. (Zimmer *et al.*, 2016). Des concentrations intermédiaires de BMP2 et FGF8 entraînent l'augmentation des cellules somatotropes et thyrotropes. Ces stratégies (traitement avec des facteurs de croissance appropriés/transplantation) représentent donc une voie prometteuse pour restaurer une déficience d'une fonction hypophysaire spécifique. Mais dans le cas de déficits multiples, il est nécessaire de transplanter plusieurs types cellulaires.

Plus récemment, des modèles d'organoïdes sophistiqués ont fait leur apparition. Ainsi, en utilisant des iPSC humaines, cultivées en agrégats dans un milieu de culture adapté et en prolongeant le temps de culture, Kasai *et al.*, (2020) ont réussi à obtenir le développement simultané des cellules de l'hypophyse antérieure et de neurones hypothalamiques. Cette unité hypophyse antérieure-hypothalamus est capable de sécréter des concentrations d'ACTH comparables à celles observées *in vivo* après 60 à 100 jours de culture. Elle génère également des neurones à CRH (*Corticotropin Releasing Hormone*). En stimulant ces neurones avec de faibles doses de glucose, la sécrétion d'ACTH est stimulée comme attendu. Enfin, ce complexe hypothalamo-hypophysaire montre une coopération fonctionnelle puisque le blocage du CRH endogène avec un inhibiteur de son récepteur entraîne une diminution de la libération d'ACTH. Il faut cependant noter que sur 3 lignées iPSC étudiées,

les résultats les plus probants ont été obtenus avec une seule d'entre elles montrant l'hétérogénéité de réponse de ces lignées. Cette relative hétérogénéité est une donnée connue dans le domaine des hiPSCs dérivées de fonds génétiques variables.

Une des applications de ces organoïdes est de disposer de modèles de maladies pour en identifier les causes. À titre d'exemple, des hiPSC d'une patiente atteinte d'une hypoplasie (hypophyse peu développée) et d'un déficit hypophysaire congénital ont été obtenues par reprogrammation de leucocytes (Matsumoto *et al.*, 2020). Ces défauts hypophysaires sont causés par une mutation dans le facteur de transcription, OTX2 présent dans l'hypothalamus. Les hiPSC de cette patiente ont ensuite été utilisées pour développer des organoïdes qui maintiennent les interactions entre ectoderme oral (précurseur hypophysaire) et hypothalamus. Dans ces organoïdes, comme chez la patiente, la différenciation des progéniteurs cellulaires hypophysaires est perturbée par la mutation d'OTX2 présent dans l'hypothalamus. En corrigeant la mutation par une technique d'édition de gène, les auteurs ont réussi à restaurer une fonction hypophysaire. Il devient donc possible d'imaginer que ces organoïdes corrigés puissent être ré-implantés chez la patiente pour restaurer les déficiences hypophysaires.

Ces modèles d'organoïdes développés à partir d'hiPSCs sont donc des outils très prometteurs pour étudier le développement hypophysaire, les mécanismes sous-jacents aux régulations des sécrétions hormonales ainsi que les pathologies associées. Ils fournissent également un espoir potentiel de thérapie en médecine régénérative (Ozaki *et al.*, 2021). Les traitements actuels pour combler les dysfonctionnements hormonaux hypophysaires reposent sur un remplacement hormonal. Mais, il n'existe pas de solution pour toutes les hormones. De plus, la substitution, dont le dosage est difficile à ajuster, ne reproduit ni la pulsativité ni les rythmes circadiens exprimés par certaines hormones telle l'ACTH. Les thérapies cellulaires,

basées notamment sur l'utilisation des organoïdes, pourraient permettre de contourner ces difficultés.

b. À partir de cellules souches/progénitrices adultes (ASC pour Adult Stem Cells)

La découverte de cellules souches/progénitrices, exprimant le facteur de transcription SOX2 spécifique de ces cellules, chez l'adulte a conduit au développement d'organoïdes issus de ces cellules (Cox *et al.*, 2019). Pour obtenir des organoïdes à partir d'ASC, celles-ci sont mises en culture directement dans le Matrigel® en présence d'un cocktail de facteurs de croissance présents dans le microenvironnement tissulaire (appelé niche) de ces cellules souches. Parmi les composés essentiels utilisés, se trouvent un mitogène, l'EGF (*Epidermal Growth Factor*), des inhibiteurs de la voie de signalisation BMP (*Bone Morphogenetic Protein*) et des activateurs de la voie WNT (*Wingless iNTEgration*) régulant les ASC. Les organoïdes issus des ASC sont des modèles appropriés pour l'étude des cellules souches présentes chez l'adulte, par exemple pour mieux comprendre leur rôle et leur régulation (Laporte *et al.*, 2021). Par contre, ils ne reflètent que le compartiment de cellules endocrines. Pour remédier à cet inconvénient, des développements visant à co-cultiver différents types cellulaires au sein des organoïdes tels que des cellules endothéliales ou immunitaires, présentes également dans l'hypophyse antérieure, sont dès à présent envisagés dans certains modèles.

Les organoïdes obtenus à partir d'ASC peuvent être multipliés par dissociation enzymatique suivie de la remise en culture des cellules ou fragments générés qui formeront d'autres organoïdes tout en conservant leur capacité à exprimer les marqueurs de cellules souches attendus. Toutefois, dans ces organoïdes placés dans un milieu susceptible d'induire une différenciation, aucune expression d'hormone n'est observée. Testant l'hypothèse qu'une exposition à l'environnement existant *in vivo* est nécessaire comme pour les organoïdes de pancréas, une transplantation sous la

capsule rénale de ces organoïdes a été réalisée. Une différenciation limitée a été obtenue faisant apparaître seulement un nombre réduit de cellules lactotropes, somatotropes ainsi que de cellules exprimant la sous-unité alpha des hormones glycoprotéiques (Cox *et al.*, 2019). Il faut noter que le nombre d'organoïdes est plus important lorsqu'ils sont générés à partir d'hypophysés d'animaux nouveau-nés qui possèdent des cellules souches plus nombreuses et plus actives.

Comme pour les systèmes provenant des iPSC, la mise en place d'organoïdes hypophysaires issus de tissu prélevé chez un individu malade offre la possibilité d'explorer les mécanismes liés à la pathogenèse.

c. Les perspectives de développement

En quelques années, de grandes avancées ont vu le jour pour l'établissement des modèles d'organoïdes, à partir de 2 stratégies complémentaires impliquant soit les PSC soit les ASC. Chacune d'entre elles dispose d'avantages et d'inconvénients. Les manipulations avec les PSC, notamment les iPSC, sont plus laborieuses et longues mais elles permettent le développement concomitant de plusieurs types cellulaires et tissulaires, telle qu'une unité hypothalamo-hypophysaire associée à une différenciation cellulaire. Cet outil est parfaitement adapté à l'étude du développement embryonnaire et des lignages cellulaires ainsi qu'à des stratégies thérapeutiques de régénération cellulaire et de supplémentation hormonale en cas de déficit. Néanmoins, des progrès sont encore nécessaires pour obtenir des organoïdes hypophysaires disposant de tous les types cellulaires hormonaux. En effet, jusqu'à ce jour, aucune étude n'a été en mesure d'observer des cellules gonadotropes (Zhou *et al.*, 2022).

Un avantage considérable pour les iPSC est qu'elles peuvent être obtenues à partir de cellules obtenues de manière peu invasive et en provenance de nombreuses espèces laissant envisager la mise en place d'organoïdes de différents animaux. Cependant, il peut être nécessaire d'utiliser plusieurs

lignées d'iPSC car, pour une même espèce, elles présentent une hétérogénéité génétique et fonctionnelle (Kasai *et al.*, 2020).

L'avantage des ASC réside dans leur plus grande facilité de mise en œuvre et un développement d'organoïdes plus rapide. Mais en l'état actuel, leur faible efficacité à se différencier en cellules endocrines reste un écueil majeur. Des modifications des conditions de culture par exemple pourraient être nécessaires. Par ailleurs, le tissu de départ peut être difficile à obtenir, tel que l'hypophyse humaine. Ce modèle n'en reste pas moins très intéressant pour l'étude de la fonction hypophysaire adulte, de l'impact du vieillissement ou des pathologies et de la tumorigenèse (Nys *et al.*, 2022).

Des progrès constants sont réalisés dans l'établissement de modèles organoïdes les plus proches possible physiologiquement de l'hypophyse *in vivo* représentant les différents types cellulaires, endocrines ou non et leurs réseaux de communication mais également les interactions entre différents tissus tels que les tissus hypophysaire et nerveux. Une question encore en suspens concerne la similarité entre les cellules des organoïdes et celles existantes *in vivo* ainsi que des mécanismes impliqués dans leur différenciation. Dans un futur proche, il conviendra donc de comparer le transcriptome des cellules d'organoïdes à celui des cellules hypophysaires tel qu'il a été établi dans des études précédentes pour l'humain et la souris (Ho *et al.*, 2020 ; Zhang *et al.*, 2020 ; Ruf-Zamojski *et al.*, 2021). De plus, aucune donnée ne permet de savoir si la structure tridimensionnelle de l'adénohypophyse est reproduite dans les organoïdes. Une autre question d'importance relève du mode de libération des hormones, pulsatile ou non, adopté dans ces modèles, en particulier dans les unités hypothalamo-hypophysaires. La réplique d'une pulsatilité serait le témoignage d'un modèle physiologique extrêmement pertinent.

L'intégration d'un système vasculaire, de tissu conjonctif et de cellules immunitaires dans ces modèles serait

un atout pour se rapprocher encore un peu plus de l'organe *in situ*. En ce sens, les approches multidisciplinaires permettant d'intégrer un système de vascularisation et de cellules immunitaires pour établir des organoïdes biomimétiques offrent des opportunités excitantes pour améliorer la maturité de ces systèmes. La mise au point d'un organoïde hypothalamo-hypophysaire « sur puce » serait une belle prouesse qui demande encore une longue route.

Enfin, jusqu'à présent, l'établissement de modèles d'organoïdes hypophysaires a surtout été assuré chez la souris et l'Homme, le plus souvent à partir d'iPSC. Le développement de ces mini-organes pour différentes espèces animales, dont les espèces à intérêt agricole, reste encore à faire.

Pourtant, ces modèles pourraient également représenter des outils adéquats pour décrypter des mécanismes physiologiques ou pathologiques chez de nombreux animaux, dont les animaux d'élevage. Compte tenu des similarités de structure et de développement de l'hypophyse entre différentes espèces animales, il est possible d'imaginer que les protocoles utilisés actuellement pour la souris ou l'Homme soient transposables à d'autres animaux. Outre leur intérêt pour la compréhension des mécanismes physiologiques, de tels outils pourraient permettre de cribler *in vitro* un ensemble de molécules candidates à visée thérapeutique pour des troubles hypophysaires. Dans ce contexte, les organoïdes d'hypophysés de chevaux pourraient constituer une approche intéressante pour identifier des méthodes de thérapie ciblée dans le cas des chevaux atteints du syndrome de Cushing (encadré 7).

Les organoïdes hypophysaires peuvent aussi être utiles pour tester l'effet de molécules présentes dans l'environnement, telles que les pesticides, sur le fonctionnement et l'homéostasie de l'organe. Ils pourraient également être des outils avantageux pour estimer les bienfaits de molécules susceptibles d'améliorer les performances des animaux, tels que par exemple les acides gras polyinsaturés supplémentés à l'alimentation.

Encadré 7. Maladie de Cushing chez le cheval.

Le syndrome de Cushing se caractérise par une hypersécrétion d'ACTH par la *pars intermedia* qui entraîne une augmentation de la libération de cortisol, hormone du stress, par les glandes surrénales. La sécrétion accrue d'ACTH est liée à une diminution de la libération de dopamine hypothalamique, qui a pour fonction d'inhiber la sécrétion d'ACTH. Il s'agit d'une maladie qui touche les chevaux âgés : environ 20 % des chevaux de plus de 15 ans et 40 % des chevaux de plus de 30 ans en sont affectés (Doligez et Delarue, 2021). La maladie se développe très progressivement et peut n'être détectée que des années plus tard. L'effet de l'augmentation de cortisol perturbe le métabolisme du glucose, des protéines et des lipides. Ceci se traduit par une fonte musculaire, un amaigrissement, une léthargie, une baisse de performance et de fertilité, voire des signes neurologiques. Le traitement couramment utilisé est un analogue de la dopamine, le pergolide, qui permet de réduire l'hypersécrétion d'ACTH. Ce traitement, bien qu'il ne permette pas la guérison, améliore la qualité de vie du cheval en atténuant les symptômes. Toutefois, les résultats sont variables d'un individu à un autre. Les organoïdes hypophysaires pourraient ainsi représenter un modèle pour aider à identifier et mettre en place des thérapies ciblées.

Conclusion

La faculté d'adaptation de l'hypophyse à des variations de son environnement est une caractéristique importante de ce tissu et fondamentale pour maintenir l'équilibre de l'état intérieur d'un individu malgré les changements extérieurs. Afin d'améliorer les connaissances sur les mécanismes de plasticité mis en jeu pour

maintenir l'homéostasie, un besoin accru de modèles *in vitro* mimant au plus proche le fonctionnement de l'hypophyse s'est fait sentir. En ce sens, les organoïdes représentent des outils adaptés et enthousiasmants. Avec l'émergence de nouvelles techniques sophistiquées d'imagerie cellulaire, d'analyse transcriptomique à l'échelle de la cellule unique ou d'édition génomique par la technique CrispR Cas9 permettant de modifier des gènes de

façon ciblée, les organoïdes offrent un énorme potentiel. Les domaines d'application sont nombreux allant de la recherche fondamentale à la recherche appliquée. De plus, il est important de souligner que ces modèles d'organoïdes constituent une réelle alternative à l'expérimentation animale permettant de respecter le principe des 3R : Remplacer, Réduire, Raffiner (directive européenne 2010/63/UE amendée en 2013).

Pour ces raisons, le développement des organoïdes hypophysaires pour des animaux d'élevage serait un atout pour permettre de décrypter des mécanismes sous-jacents au développement précoce de l'animal et au fonctionnement de l'organe et impliqués dans l'adaptation de l'organe aux changements environnementaux associés par exemple au changement climatique, évaluer la toxicité ou les bienfaits de molécules ou de médicaments, comprendre des maladies et développer des stratégies de correction ou de supplémentation hormonale respectueuses de l'animal.

Références

- Alatzoglou K.S., Gregory L.C., Dattani M.T., 2020. Development of the pituitary gland. *Compr. Physiol.*, 10, 389-413. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150043>
- Andoniadou C.L., Matsushima D., Gharavy S.N.M., Signore M., Mackintosh A.I., Schaeffer M., Gaston-Massuet C., Mollard P., Jacques T.S., Le Tissier P., Dattani M.T., Tulsidas M., Pevny L.H., Martinez-Barbera J.P., 2013. Sox2+ stem/progenitor cells in the adult mouse pituitary support organ homeostasis and have tumor-inducing potential. *Cell Stem Cell*, 13, 433-445. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.07.004>
- Bonnefont X., Lacampagne A., Sanchez-Hormigo A., Fino E., Creff A., Mathieu M.N., Smallwood S., Carmignac D., Fontanaud P., Travo P., Alonso G., Courtois-Coutry N., Pincus S.M., Robinson I.C., Mollard P., 2005. Revealing the large-scale network organization of growth hormone-secreting cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 16880-16885. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508202102>
- Carbajo-Pérez E., Watanabe Y.G., 1990. Cellular proliferation in the anterior pituitary of the rat during the postnatal period. *Cell. Tissue Res.*, 261, 333-338. <https://doi.org/10.1007/BF00318674>
- Chen J., Hersmus N., Van Duppen V., Caesens P., Denef C., Vankelecom H., 2005. The adult pituitary contains a cell population displaying stem/progenitor cell and early embryonic characteristics. *Endocrinology*, 146, 3985-3998. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0185>
- Chen J., Gremeaux L., Fu Q., Liekens D., Van Laere S., Vankelecom H., 2009. Pituitary progenitor cells tracked down by side population dissection. *Stem Cells*, 27, 1182-1195. <https://doi.org/10.1002/stem.51>
- Cheung L., Le Tissier P., Goldsmith S.G., Treier M., Lovell-Badge R., Rizzoti K., 2018. NOTCH activity differentially affects alternative cell fate acquisition and maintenance. *Elife*, 7, e33318. <https://doi.org/10.7554/eLife.33318>
- Childs G.V., 2002. Development of gonadotropes may involve cyclic transdifferentiation of growth hormone cells. *Arch. Physiol. Biochem.*, 110, 42-49. <https://doi.org/10.1076/apab.110.1.42.906>
- Childs G.V., Unabia G., Rougeau D., 1994. Cells that express luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) beta-subunit messenger ribonucleic acids during the estrous cycle: the major contributors contain LH beta, FSH beta, and/or growth hormone. *Endocrinology*, 134, 990-997. <https://doi.org/10.1210/endo.134.2.8299592>
- Childs G.V., MacNicol A.M., MacNicol M.C., 2020. Molecular Mechanisms of Pituitary Cell Plasticity. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 11, 656. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00656>
- Couly G., Le Douarin N.M., 1988. The fate map of the cephalic neural primordium at the presomitic to the 3-somite stage in the avian embryo. *Development*, 103, 101-113. <https://doi.org/10.1242/dev.103.Supplement.101>
- Cox B., Laporte E., Vennekens A., Kobayashi H., Nys C., Van Zundert I., Uji-I H., Vercauteren Drubbel A., Beck B., Roose H., Boretto M., Vankelecom H., 2019. Organoids from pituitary as a novel research model toward pituitary stem cell exploration. *J. Endocrinol.*, 240, 287-308. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0462>
- Dasen J.S., Rosenfeld M.G., 1999. Signaling mechanisms in pituitary morphogenesis and cell fate determination. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 11, 669-677. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(99\)00034-4](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(99)00034-4)
- Dasen J.S., O'Connell S.M., Flynn S.E., Treier M., Gleiberman A.S., Szeto D.P., Hooshmand F., Aggarwal A.K., Rosenfeld M.G., 1999. Reciprocal interactions of Pit1 and GATA2 mediate signaling gradient-induced determination of pituitary cell types. *Cell*, 97, 587-598. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80770-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80770-9)
- Dasen J.S., Rosenfeld M.G., 2001. Signaling and transcriptional mechanisms in pituitary development. *Annu. Rev. Neurosci.*, 24, 327-355. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.327>
- Davis S.W., Camper S.A., 2007. Noggin regulates Bmp4 activity during pituitary induction. *Dev.*

- Biol., 305, 145-160. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.02.001>
- Davis S.W., Mortensen A.H., Camper S.A., 2011. Birthdating studies reshape models for pituitary gland cell specification. *Dev. Biol.*, 352, 215-227. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.01.010>
- Derouin-Tochon F., Beltramo M., Decourt C., Fleurot R., Gérard N., Pinet-Charvet C., Martinet S., Robert V., Taragnat C., Tillet Y., Duittoz A., 2019. L'ovulation chez les mammifères. *INRA Prod. Anim.*, 32, 445-460. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2019.32.3.2583>
- Dincer Z., Piao J., Niu L., Ganat Y., Kriks S., Zimmer B., Shi S.H., Tabar V., Studer L., 2013. Specification of functional cranial placode derivatives from human pluripotent stem cells. *Cell Rep.*, 5, 1387-1402. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.10.048>
- Doligez P., Delarue M., 2021. Le syndrome de Cushing. *Equipédia, ifce.*
- Ellsworth B.S., Butts D.L., Camper S.A., 2008. Mechanisms underlying pituitary hypoplasia and failed cell specification in Lhx3-deficient mice. *Dev. Biol.*, 313, 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.10.006>
- Ericson J., Norlin S., Jessell T., Edlund T., 1998. Integrated FGF and BMP signaling controls the progression of progenitor cell differentiation and the emergence of pattern in the embryonic anterior pituitary. *Development*, 125, 1005-1015. <https://doi.org/10.1242/dev.125.6.1005>
- Fafioffe A., Ethier J.F., Fontaine J., JeanPierre E., Taragnat C., Dupont J., 2004. Activin and inhibin receptor gene expression in the ewe pituitary throughout the oestrous cycle. *J. Endocrinol.*, 182, 55-68. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1820055>
- Fauquier T., Guérineau N.C., McKinney R.A., Bauer K., Mollard P., 2001. Folliculostellate cell network: a route for long-distance communication in the anterior pituitary. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 8891-8896. <https://doi.org/10.1073/pnas.151339598>
- Fauquier T., Rizzoti K., Dattani M., Lovell-Badge R., Robinson I.C., 2008. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105, 2907-2912. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707886105>
- Fletcher P.A., Smiljanic K., Prévêre R.M., Constantin S., Sherman A.S., Coon S.L., Stojilkovic S.S., 2023. The astroglial and stem cell functions of adult rat folliculostellate cells *Glia* 71, 205-228. <https://doi.org/10.1002/glia.24267>
- Fontaine R., Ciani E., Haug T.M., Hodne K., Ager-Wick E., Baker D.M., Weltzien F.A., 2020a. Gonadotrope plasticity at cellular, population and structural levels: A comparison between fishes and mammals. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 287, 113344. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113344>
- Fontaine R., Ager-Wick E., Hodne K., Weltzien F.A., 2020b. Plasticity in medaka gonadotropes via cell proliferation and phenotypic conversion. *J. Endocrinol.*, 245, 21-37. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0405>
- Fu Q., Gremeaux L., Luque R.M., Liekens D., Chen J., Buch T., Waisman A., Kineman R., Vankelecom H., 2012. The adult pituitary shows stem/progenitor cell activation in response to injury and is capable of regeneration. *Endocrinol.*, 153, 3224-3235. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1152>
- Garcia-Lavandeira M., Quereda V., Flores I., Saez C., Diaz-Rodriguez E., Japon M.A., Ryan A.K., Blasco M.A., Dieguez C., Malumbres M., Alvarez C.V., 2009. A GRFa2/Prop1/stem (GPS) cell niche in the pituitary. *PLoS One*, 4, e4815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004815>
- Garcia-Lavandeira M., Saez C., Diaz-Rodriguez E., Perez-Romero S., Senra A., Dieguez C., Japon M.A., Alvarez C.V., 2012. Craniopharyngiomas express embryonic stem cell markers (SOX2, OCT4, KLF4, and SOX9) as pituitary stem cells but do not coexpress RET/GFRA3 receptors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 97, E80-87. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2187>
- Gremeaux L., Fu Q., Chen J., Vankelecom H., 2012. Activated phenotype of the pituitary stem/progenitor cell compartment during the early-postnatal maturation phase of the gland. *Stem Cells Dev.*, 21, 801-813. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0496>
- Haston S., Manshaei S., Martinez-Barbera J.P., 2018. Stem/progenitor cells in pituitary organ homeostasis and tumorigenesis. *J. Endocrinol.*, 236, R1-R13. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0258>
- Ho Y., Hu P., Peel M.T., Chen S., Camara P.G., Epstein D.J., Wu H., Liebhaber S.A., 2020. Single-cell transcriptomic analysis of adult mouse pituitary reveals sexual dimorphism and physiologic demand-induced cellular plasticity. *Protein Cell.*, 11, 565-583. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00705-x>
- Hodson D.J., Schaeffer M., Romanò N., Fontanaud P., Lafont C., Birkenstock J., Molino F., Christian H., Lockey J., Carmignac D., Fernandez-Fuente M., Le Tissier P., Mollard P., 2012. Existence of long-lasting experience-dependent plasticity in endocrine cell networks. *Nat. Commun.*, 3, 605. <https://doi.org/10.1038/ncomms1612>
- Horvath E., Lloyd R.V., Kovacs K., 1990. Propylthiouracyl-induced hypothyroidism results in reversible transdifferentiation of somatotrophs into thyroidectomy cells. A morphologic study of the rat pituitary including immunoelectron microscopy. *Lab. Invest.* 63, 511-520.
- Kaneko T., 1996. Cell biology of somatolactin. *Int. Rev. Cytol.* 169, 1-24. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61983-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61983-X)
- Kasai T., Suga H., Sakakibara M., Ozone C., Matsumoto R., Kano M., Mitsumoto K., Ogawa K., Kodani Y., Nagasaki H., Inoshita N., Sugiyama M., Onoue T., Tsunekawa T., Ito Y., Takagi H., Hagiwara D., Iwama S., Goto M., Banno R., Takahashi J., Arima H., 2020. Hypothalamic contribution to pituitary functions is recapitulated in vitro using 3D-cultured human iPSCs. *Cell Rep.*, 30, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.12.009>
- Kelberman D., Dattani M.T., 2006. The role of transcription factors implicated in anterior pituitary development in the aetiology of congenital hypopituitarism. *Ann. Med.*, 38, 560-577. <https://doi.org/10.1080/07853890600994963>
- Kelberman D., Rizzoti K., Lovell-Badge R., Robinson I.C., Dattani M.T., 2009. Genetic regulation of pituitary gland development in human and mouse. *Endocr. Rev.*, 30, 790-829. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0008>
- Langlais D., Couture C., Kmita M., Drouin J., 2013. Adult pituitary cell maintenance: lineage-specific contribution of self-duplication. *Mol. Endocrinol.*, 27, 1103-1112. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1407>
- Laporte E., Vennekens A., Vankelecom H., 2021. Pituitary Remodeling Throughout Life: Are Resident Stem Cells Involved? *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 11, 604519. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.604519>
- Laporte E., Hermans F., De Vriendt S., Vennekens A., Lambrechts D., Nys C., Cox B., Vankelecom H., 2022. Decoding the activated stem cell phenotype of the neonatally maturing pituitary. *Elife*, 11, e75742. <https://doi.org/10.7554/eLife.75742>
- Lepore D.A., Roeszler K., Wagner J., Ross S.A., Bauer K., Thomas P.Q., 2005. Identification and enrichment of colony-forming cells from the adult murine pituitary. *Exp. Cell. Res.*, 308, 166-176. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.04.023>
- Le Tissier P.R., Hodson D.J., Lafont C., Fontanaud P., Schaeffer M., Mollard P., 2012. Anterior pituitary cell networks. *Front. Neuroendocrinol.*, 33, 252-266. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2012.08.002>
- Le Tissier P., Fiordelisio Coll T., Mollard P., 2018. The Processes of Anterior Pituitary Hormone Pulse Generation. *Endocrinology*, 159, 3524-3535. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00508>
- Le Tissier P.R., Mollard P., 2021. Renewing an old interest: Pituitary folliculostellate cells. *J. Neuroendocrinol.*, 33, e13053. <https://doi.org/10.1111/jne.13053>
- Le Tissier P.R., Murray J.F., Mollard P., 2022. A New Perspective on Regulation of Pituitary Plasticity: The Network of SOX2-Positive Cells May Coordinate Responses to Challenge. *Endocrinology*, 163, bqac089. <https://doi.org/10.1210/endo/bqac089>
- McNeilly A.S., Crawford J.L., Taragnat C., Nicol L., McNeilly J.R., 2003. The differential secretion of FSH and LH: regulation through genes, feedback and packaging. *Reprod. Suppl.*, 61, 463-476.
- Matsumoto R., Suga H., Aoi T., Bando H., Fukuoka H., Iguchi G., Narumi S., Hasegawa T., Muguruma K., Ogawa W., Takahashi Y., 2020. Congenital pituitary hypoplasia model demonstrates hypothalamic OTX2 regulation of pituitary progenitor cells. *J. Clin. Invest.*, 130, 641-654. <https://doi.org/10.1172/JCI127378>
- Meeran D., Urbanski H.F., Gregory S.J., Townsend J., Tortonesi D.J., 2003. Developmental changes in the hormonal identity of gonadotroph cells in the rhesus monkey pituitary gland. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88, 2934-2942. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021001>

- Mikami S., Yamada S., 1984. Immunohistochemistry of the hypothalamic neuropeptides and anterior pituitary cells in the Japanese quail. *J. Exp. Zool.*, 232, 405-417. <https://doi.org/10.1002/jez.1402320305>
- Molter-Gérard C., Fontaine J., Guérin S., Taragnat C., 1999. Differential regulation of the gonadotropin storage pattern by gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in the ewe. *Biol. Reprod.*, 60, 1224-1230. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.5.1224>
- Molter-Gérard C., Caraty A., Guérin S., Fontaine J., Taragnat C., 2000. Dynamic changes in the gonadotrope cell subpopulations during an estradiol-induced surge in the ewe. *Biol. Reprod.*, 63, 1084-1091. <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.4.1084>
- Navratil A.M., Knoll J.G., Whitesell J.D., Tobet S.A., Clay C.M., 2007. Neuroendocrine plasticity in the anterior pituitary: gonadotropin-releasing hormone-mediated movement in vitro and in vivo. *Endocrinology*, 148, 1736-1744. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1153>
- Nogami H., Hisano S., 2008. Functional maturation of growth hormone cells in the anterior pituitary gland of the fetus. *Growth Horm. IGF Res.*, 18, 379-388. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2008.01.007>
- Nolan, L. A., Kavanagh, E., Lightman, S. L., Levy, A., 1998. Anterior pituitary cell population control: basal cell turnover and the effects of adrenalectomy and dexamethasone treatment. *J. Neuroendocr.*, 10, 207-215. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.1998.00191.x>
- Nys C., Lee Y.L., Roose H., Mertens F., De Pauw E., Kobayashi H., Scirot R., Bex M., Versyck G., De Vleeschouwer S., Van Loon J., Laporte E., Vankelecom H., 2022. Exploring stem cell biology in pituitary tumors and derived organoids. *Endocr. Relat. Cancer*, 29, 427-450. <https://doi.org/10.1530/ERC-21-0374>
- Ochiai H., Suga H., Yamada T., Sakakibara M., Kasai T., Ozone C., Ogawa K., Goto M., Banno R., Tsunekawa S., Sugimura Y., Arima H., Oiso Y., 2015. BMP4 and FGF strongly induce differentiation of mouse ES cells into oral ectoderm. *Stem Cell Res.*, 15, 290-298. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2015.06.011>
- Oguchi A., Higuchi M., Yamano Y., 2021. Localization of putative pituitary stem/progenitor cells in female dairy cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, 83, 1031-1038. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0091>
- Ooi G.T., Tawadros N., Escalona R.M., 2004. Pituitary cell lines and their endocrine applications. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 228, 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.07.018>
- Ozaki H., Suga H., Arima H., 2021. Hypothalamic-pituitary organoid generation through the recapitulation of organogenesis. *Dev. Growth Differ.*, 63, 154-165. <https://doi.org/10.1111/dgd.12719>
- Ozone C., Suga H., Eiraku M., Kadoshima T., Yonemura S., Takata N., et al., 2016. Functional anterior pituitary generated in self-organizing culture of human embryonic stem cells. *Nat. Commun.*, 7, 10351. <https://doi.org/10.1038/ncomms10351>
- Porter T.E., Wiles C.D., Frawley L.S., 1991. Evidence for bidirectional interconversion of mammothropes and somatotropes: rapid reversion of acidophilic cell types to pregestational proportions after weaning. *Endocrinology*, 129, 1215-1220. <https://doi.org/10.1210/endo-129-3-1215>
- Rizzotti K., Lovell-Badge R., 2005. Early development of the pituitary gland: induction and shaping of Rathke's pouch. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 6, 161-172. <https://doi.org/10.1007/s11154-005-3047-7>
- Rizzotti K., Akiyama H., Lovell-Badge R., 2013. Mobilized Adult Pituitary Stem Cells Contribute to Endocrine Regeneration in Response to Physiological Demand. *Cell Stem Cell.*, 13, 419-432. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.07.006>
- Rizzotti K., Pires C., Lovell-Badge R., 2016. Perspective on Stem Cells in Developmental Biology, with Special Reference to Neuroendocrine Systems. In: Pfaff D, Christen Y, editors. *Stem Cells in Neuroendocrinology* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41603-8_11
- Roose H., Cox B., Boretto M., Gysemans C., Vennekens A., Vankelecom H., 2017. Major depletion of SOX2+stem cells in the adult pituitary is not restored which does not affect hormonal cell homeostasis and remodelling. *Sci. Rep.*, 7, e16940. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16796-2>
- Ruf-Zamojski F., Zhang Z., Zamojski M., Smith G.R., Mendeleev N., Liu H., Nudelman G., Moriwaki M., Pincas H., Castanon R.G., Nair V.D., Seenarine N., Amper M.A.S., Zhou X., Ongaro L., Toufaily C., Schang G., Nery J.R., Bartlett A., Aldridge A., Jain N., Childs G.V., Troyanskaya O.G., Ecker J.R., Turgeon J.L., Welt C.K., Bernard D.J., Sealfon S.C., 2021. Single nucleus multi-omics regulatory landscape of the murine pituitary. *Nat. Commun.*, 12, 2677-2696. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22859-w>
- Russell J.P., Lim X., Santambrogio A., Yianni V., Kemkem Y., Wang B., Fish M., Haston S., Grabek A., Hallang S., Lodge E.J., Patist A.L., Schedl A., Mollard P., Nusse R., Andoniadou C.L., 2021. Pituitary stem cells produce paracrine WNT signals to control the expansion of their descendant progenitor cells. *Elife.*, 10, e59142. <https://doi.org/10.7554/eLife.59142>
- Seuntjens E., Vankelecom H., Quaegebeur A., Vande Vijver V., Deneff C., 1999. Targeted ablation of gonadotrophs in transgenic mice affects embryonic development of lactotrophs. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 150, 129-139. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(99\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(99)00011-8)
- Suga H., Kadoshima T., Minaguchi M., Ohgushi M., Soen M., Nakano T., Takata N., Wataya T., Mugeruma K., Miyoshi H., Yonemura S., Oiso Y., Sasai Y., 2011. Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. *Nature*, 480, 57-62. <https://doi.org/10.1038/nature10637>
- Takuma N., Sheng H.Z., Furuta Y., Ward J.M., Sharma K., Hogan B.L., Pfaff S.L., Westphal H., Kimura S., Mahon K.A., 1998. Formation of Rathke's pouch requires dual induction from the diencephalon. *Development*, 125, 4835-4840. <https://doi.org/10.1242/dev.125.23.4835>
- Taniguchi Y., Yasutaka S., Kominami R., Shinohara H., 2002. Proliferation and differentiation of rat anterior pituitary cells. *Anat. Embryol.*, 206, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s00429-002-0271-8>
- Taragnat C., Durand P., 1993. Functional heterogeneity of gonadotrophs in the ovine fetus: analysis by reverse hemolytic plaque assay. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 96, 7-17. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(93\)90089-3](https://doi.org/10.1016/0303-7207(93)90089-3)
- Taragnat C., Bernier A., Fontaine J., 1998. Gonadotrophin storage patterns in the ewe during the oestrous cycle or after long-term treatment with a GnRH agonist. *J. Endocrinol.*, 156, 149-157. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1560149>
- Treier M., Rosenfeld M.G., 1996. The hypothalamic-pituitary axis: co-development of two organs. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 6, 833-843. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(96\)80085-8](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(96)80085-8)
- Treier M., Gleiberman A.S., O'Connell S.M., Szeto D.P., McMahon J.A., McMahon A.P., Rosenfeld M.G., 1998. Multistep signaling requirements for pituitary organogenesis in vivo. *Genes Dev.*, 12, 1691-1704. <https://doi.org/10.1101/gad.12.11.1691>
- Treier M., O'Connell S., Gleiberman A., Price J., Szeto D.P., Burgess R., Chuang P.T., McMahon A.P., Rosenfeld M.G., 2001. Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development*, 128, 377-386. <https://doi.org/10.1242/dev.128.3.377>
- Trudeau V.L., Somoza G.M., 2020. Multimodal hypothalamo-hypophysial communication in the vertebrates. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 293, 113475. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113475>
- Van der Schueren B., Deneff C., Cassiman J.J., 1982. Ultrastructural and functional characteristics of rat pituitary cell aggregates. *Endocrinology*, 110, 513-523. <https://doi.org/10.1210/endo-110-2-513>
- Vankelecom H., 2010. Pituitary stem/progenitor cells: embryonic players in the adult gland? *Eur. J. Neurosci.*, 32, 2063-2081. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07523.x>
- Vila-Porcile E., 1972. The network of the folliculo-stellate cells and the follicles of the adenohypophysis in the rat (pars distalis). *Z. Zellforsch Mikrosk. Anat.*, 129, 328-369. <https://doi.org/10.1007/BF00307293>
- Weiss S., Siebzehnrübl F.A., Kreutzer J., Blümcke I., Buslei R., 2009. Evidence for a progenitor cell population in the human pituitary. *Clin. Neuropathol.*, 28, 309-318. <https://doi.org/10.5414/NPP28309>
- Willems C., Fu Q., Roose H., Mertens F., Cox B., Chen J., Vankelecom H., 2016. Regeneration in the Pituitary After Cell-Ablation Injury: Time-Related Aspects and Molecular Analysis. *Endocrinology*, 157, 705-721. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1741>
- Willis T.L., Lodge E.J., Andoniadou C.L., Yianni V., 2022. Cellular interactions in the pituitary stem cell niche. *Cell. Mol. Life Sci.*, 79, 612. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04612-8>

Yoshida S., Kato T., Yako H., Susa T., Cai L.Y., Osuna M., Inoue K., Kato Y., 2011. Significant quantitative and qualitative transition in pituitary stem / progenitor cells occurs during the postnatal development of the rat anterior pituitary. *J. Neuroendocrinol.*, 23, 933-943. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02198.x>

Zhang S., Cui Y., Ma X., Yong J., Yan L., Yang M., Ren J., Tang F., Wen L., Qiao J., 2020. Single-cell transcriptomics identifies divergent developmental lineage trajectories during human pituitary development. *Nat. Commun.*, 2020 11, 5275. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19012-4>

Zhang Z., Zamojski M., Smith G.R., Willis T.L., Yianni V., Mendeleev N., Pincas H., Seenarine N., Amper M.A.S., Vasoya M., Cheng W.S., Zaslavsky E., Nair V.D., Turgeon J.L., Bernard D.J., Troyanskaya O.G., Andoniadou C.L., Sealfon S.C., Ruf-Zamojski F., 2022. Single nucleus transcriptome and chromatin accessibility of post-mortem human pituitaries reveal diverse stem cell regulatory mechanisms. *Cell Rep.*, 38, 110467. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110467>

Zhou Y., Wilson R.R.A., Udaiyar A., McLemore J., Sadri-Ardekani H., Criswell T., 2022. Pituitary Lineage Differentiation from Human Induced Pluripotent Stem Cells in 2D and 3D Cultures. *Stem*

Cells Dev., 31, 239-249. <https://doi.org/10.1089/scd.2021.0354>

Zhu X., Zhang J., Tollkuhn J., Ohsawa R., Bresnick E.H., Guillemot F., Kageyama R., Rosenfeld M.G., 2006. Sustained Notch signaling in progenitors is required for sequential emergence of distinct cell lineages during organogenesis. *Genes Dev.*, 20, 2739-2753. <https://doi.org/10.1101/gad.1444706>

Zimmer B., Piao J., Ramnarine K., Tomishima M.J., Tabar V., Studer L., 2016. Derivation of diverse hormone-releasing pituitary cells from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep.*, 6, 858-872. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.05.005>

Résumé

L'hypophyse, glande maîtresse de l'organisme, occupe une place centrale dans le système endocrinien. Composée d'un lobe antérieur (adénohypophyse) responsable de la synthèse d'hormones et d'un lobe postérieur (neurohypophyse) de structure nerveuse, elle reçoit des informations hormonales en provenance de l'hypothalamus, des organes périphériques et de ses propres cellules lui permettant de réguler les grandes fonctions physiologiques telles que la croissance, le métabolisme, la reproduction ou le stress. Constituée de plusieurs types cellulaires, chacun dédié à une fonction, l'adénohypophyse doit adapter ses sécrétions hormonales en fonction de la demande physiologique ou des modifications de son microenvironnement liées à des causes physiologiques, contextuelles ou pathologiques. Pour cela, elle fait preuve d'une grande plasticité qui met en jeu des changements dans le nombre, voire l'identité, des cellules sécrétrices. Des cellules souches/progénitrices présentes dans l'hypophyse chez l'adulte pourraient être impliquées. Les mécanismes sous-jacents à cette plasticité sont mal élucidés. Afin de mieux les comprendre, des systèmes d'étude *in vitro*, tels que les organoïdes capables de mimer la structure architecturale et la fonction tissulaires, offrent une opportunité intéressante. Ils permettent également d'appréhender les dysfonctionnements hypophysaires et d'envisager des approches thérapeutiques chez l'Homme et l'animal d'élevage. En outre, leur utilisation permet de contribuer au principe des 3R pour les approches expérimentales : remplacer, réduire et raffiner. Si les modèles hypophysaires actuels sont en cours d'émergence chez l'humain et les rongeurs, leur mise en place chez les espèces à intérêt agronomique représente un enjeu important. Le but de cette revue est de faire un état des lieux sur l'avancée des travaux visant à développer les modèles d'organoïdes hypophysaires en évaluant leurs avantages et leurs inconvénients. Auparavant, des éléments concernant l'histologie de l'hypophyse, son développement lors de l'embryogénèse et ses capacités d'adaptation à des variations de son environnement seront décrits.

Abstract

Pituitary organoids : tools to characterize pituitary development, plasticity and pathologies ?

The pituitary gland, the master gland of the body, occupies a central place in the endocrine system. Composed of an anterior lobe responsible for hormone synthesis (adenohypophysis) and a posterior lobe with a nervous structure (neurohypophysis), it receives hormonal information from the hypothalamus, peripheral organs and its own cells, allowing it to regulate the major physiological functions such as growth, metabolism, reproduction or stress. Consisting of several cell types, each dedicated to a main function, the anterior pituitary must adapt its hormonal secretions according to the physiological demand or changes in its microenvironment related to contextual or pathological causes. For that, it shows a great plasticity involving changes in the number or the identity of the secreting cells. Stem/progenitor cells present in the adult tissue could be involved. The mechanisms underlying this plasticity are poorly understood. In order to clarify them, in vitro systems such as organoids capable of mimicking tissue architectural structure and function offer an interesting opportunity. They also allow to understand pituitary dysfunctions and to consider therapeutic approaches in humans and farm animals. In addition, their use contributes to the 3Rs principle for experimental approaches: replace, reduce and refine. Although current pituitary models are mainly developed in humans and rodents, their implementation in species of agronomic interest represents an important issue. The objective of this review is to provide an update on the studies aimed at developing pituitary organoid models by assessing their advantages and disadvantages. First, anterior pituitary histology and embryonic development as well pituitary plasticity to adapt to variations in its environment will be described.

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>



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.

