



Marc Pocard

Département médico-chirurgical de pathologie digestive
Unité Inserm 689 - angiogenèse et cibles thérapeutiques
Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise Paré, 75010 Paris

Propos recueillis par Gérard Tobelem

Cancers du côlon, quels modèles animaux pertinents ?

L'évolution des directives européennes modifie-t-elle de façon importante la pratique de l'expérimentation animale concernant l'étude des cancers ?

Les règles de base qui gouvernent l'expérimentation animale n'ont pas changé. Elles restent valables et doivent toujours être envisagées avant de lancer un projet d'expérimentation. Ces règles ont été baptisées, les « 3 R » : remplacement (i), raffinement (ii) et réduction (iii). Il faut donc vérifier qu'un modèle *in vitro* ne peut pas donner la même réponse à la question posée (i), qu'on ne peut pas diminuer la part d'invasivité imposée à l'animal en conservant le même niveau scientifique (ii) et enfin que le nombre d'animaux nécessaires a été évalué et qu'il est le plus bas possible (iii).

Ce qui vient de changer concerne plus l'obtention de fragments tumoraux de cancer humain et leur greffe sur l'animal.

Quels sont les modèles animaux de cancers du côlon ?

Historiquement, les premiers modèles ont été l'administration à des souris de toxiques, dans le but d'obtenir des cancers divers, y compris des cancers digestifs. Actuellement, le principal apport de ces modèles est de disposer de lignées de cancers coliques de rat ou de souris pouvant être implantées sur des animaux immuno-compétents.

Aujourd'hui, ce sont les souris transgéniques qui permettent d'évaluer la carci-

nogénèse. Il a ainsi été réalisé depuis une dizaine d'années des modèles animaux où étaient inactivées spécifiquement certaines fonctions biologiques portant sur des gènes considérés comme clé de la carcinogénèse colique. Nous disposons ainsi de souris mimant une polypose adénomateuse colique ou un syndrome de Lynch. Une équipe de recherche de l'Institut Curie vient ainsi de publier dans *Gastroenterology* [1] un travail soulignant les interactions entre la perte de fonction d'APC, les mutations de KRAS et les molécules d'adhésion E-cadhérine et bêta-caténine.

Après la découverte en 1968 des souris nude et la compréhension que leur athymie permettait de les utiliser pour greffer des cancers humains, leur utilisation s'est généralisée. Le plus souvent un fragment tumoral est obtenu d'une pièce d'exérèse chirurgicale et greffé en sous-cutané sur la souris nude. Il existe une relative stabilité des tumeurs ainsi obtenues qui peuvent être gardées de nombreuses années. C'est la vitesse de croissance et la chimiosensibilité qui sont au mieux évaluées sur ces modèles. De plus, s'il n'est possible d'étudier que 5 % des cancers coliques humains en lignée *in vitro*, ces greffes permettent d'obtenir près de 50 % de succès, y compris pour les métastases hépatiques dont la culture directe est semble-t-il toujours un échec [2]. Ici le modèle animal peut permettre de traduire la diversité des voies de cancérogenèse possibles chez l'homme et actuellement un grand pro-

jet de ce type est en cours *via* le ministère de l'Industrie dans le cadre du pôle Méditech Santé.

Lesquels de ces modèles vous semblent les plus pertinents ?

Le modèle animal idéal devrait mimer la maladie humaine en termes d'incidence, de morphologie, d'altération biochimique, de comportement biologique et surtout de processus carcinologique y compris métastatique. Bien évidemment aucun modèle ne permet cela. Il importe donc de déterminer au mieux la question posée et de choisir un modèle permettant d'approcher une réponse. Les modèles probablement les plus performants sont aussi souvent les plus complexes à mettre en œuvre.

Ainsi, la greffe sous-cutanée, si simple à réaliser, ne permet pas d'obtenir une métastase chez la souris nude, sauf en cas de mélanome, où elle correspond à une greffe d'un cancer dans son tissu d'origine, le derme. Le modèle de transplantation orthotopique de cellules de cancer colique dans le cæcum paraît le plus adapté pour mimer un cancer primitif. Ces modèles ont été imaginés à la fin des années 1980 par un suisse R. Bresalier et promu par l'américain I.J. Fidler et le japonais T. Kubota. Ces modèles permettent de reproduire une partie du processus tumoral puis d'évaluer la survenue ou non, éventuellement après une chirurgie d'exérèse locale de la tumeur, d'une guérison, d'une récurrence locale ou d'un processus métastatique (*figure 1*). Son pendant pour l'étude des métastases

hépatiques est représenté par les modèles d'injection par voie intra-portale ou intra-splénique de cellules de cancers coliques. Là aussi, des hépatectomies, mimant les prises en charge humaines sont possibles. Ces greffes orthotopiques permettent sur animaux immuno-déficients d'étudier le rôle de certaines modifications géniques induites. Nous avons ainsi montré le rôle de la mutation de p-53 dans la survenue d'une instabilité chromosomique associée à un fort taux de métastases. Sur animaux immuno-compétents, ce sont les traitements adjuvants qui seront au mieux testés.

Comment tester au mieux les anti-angiogéniques dans ces modèles ?

Là encore, il n'y a pas de réponse unique, mais des réponses adaptées à la problématique. L'angiogenèse est impliquée semble-t-il de nombreuses phases du processus tumoral. Si la phase d'invasion ou de migration des premières métastases est évaluée, y compris par un traitement anti-angiogénique, il faut probablement utiliser un modèle de greffe orthotopique par greffe intracaecale. Si au contraire ce sont la croissance des métastases qui constitue le sujet, une injection intra-splénique peut être utilisée, suivie d'un traitement anti-angiogénique.

Tous ces modèles sont complexes, car mimant la clinique. La carcinose péritonéale peut également être étudiée par l'injection de cellules en intra-péritonéal. Là aussi avec un système de quantification similaire à celui des cliniciens, il est possible de tester les anti-angiogéniques sur la quantification des lésions plus que sur la survie des animaux, peu éthique.

L'évaluation de la réponse à un traitement est-elle aujourd'hui possible en gardant l'animal vivant ?

Oui, et cela constitue un progrès très récent, qui va être de plus en plus exploité. Même si ces différentes possibilités ne dispensent pas d'un examen histologique final, elles offrent des possibilités nouvelles enthousiasmantes. Il est en effet possible de suivre un effet thérapeutique, de répéter les mesures et donc d'être capable d'établir une dynamique de cette efficacité thérapeutique. De nombreuses équipes essayent d'établir pour les patients des évaluations thérapeutiques plus précoces que le scanner à 3 mois, dans le but de changer pour une autre thérapie rapidement en cas d'échec. En matière d'angiogenèse une évaluation dynamique est indispensable puisque par exemple des mesures de densité vasculaires vont considérablement varier si la

La réponse à un traitement anti-angiogénique va varier selon le siège de la tumeur

Les résultats expérimentaux d'un traitement par un anticorps monoclonal (mAb) dirigé sur l'endoglin humaine (EDG ; CD 105) ont montré une vraie efficacité sur deux lignées tumorales murines d'adénocarcinome mammaire (4T1) et colique (colon-26). Toutefois, cette efficacité est bien meilleure en site sous-cutané, qu'en site pleural ou péritonéal ($p < 0,05$). Cette observation souligne le rôle majeur comme en clinique, du site tumoral, si on évalue une efficacité thérapeutique, que ce soit d'une chimiothérapie ou d'un traitement ciblé [3].

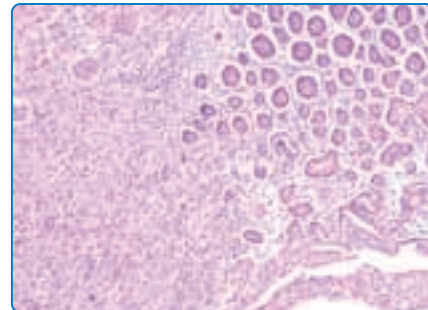


Figure 1. Greffe orthotopique : cellules tumorales de cancer colique humain (en bas à gauche) au sein d'une muqueuse colique murine de souris nude (en haut à droite), ouvert dans la lumière colique (en bas à droite).

tumeur est en phase de croissance avec une nécrose centrale ou pas, ou en phase de régression. On peut donc utiliser l'IRM dynamique, la TEP spécifique ou non, l'imagerie par fluorescence, l'échographie et le doppler ; ce dernier peut dans certains cas quantifier les résistances vasculaires [4] et répéter les mesures.

Il existe donc une multitude de combinaisons possibles de modèles, de souches de souris, de tumeurs et de moyens pour les étudier. Tout comme la biologie moléculaire représente un vrai domaine d'expertise, indispensable dans une équipe de recherche, une compétence en modèles expérimentaux représente une des compétences requise pour une équipe de recherche.

Références

1. Janssen KP, *et al. Gastroenterology* 2006 ; 131 : 1096-109.
2. Dangles-Marie V, *et al. Cancer Res* 2007 ; 67 : 398-407.
3. Tsujie M, *et al. Int J Oncol* 2006 ; 29 : 1087-94.
4. Lassau N. *VEGF Acta* 2006 ; 1 : 8.