

MODÈLES ANIMAUX EN CANCÉROLOGIE

PATRICIA VRIGNAUD

02/10/2015

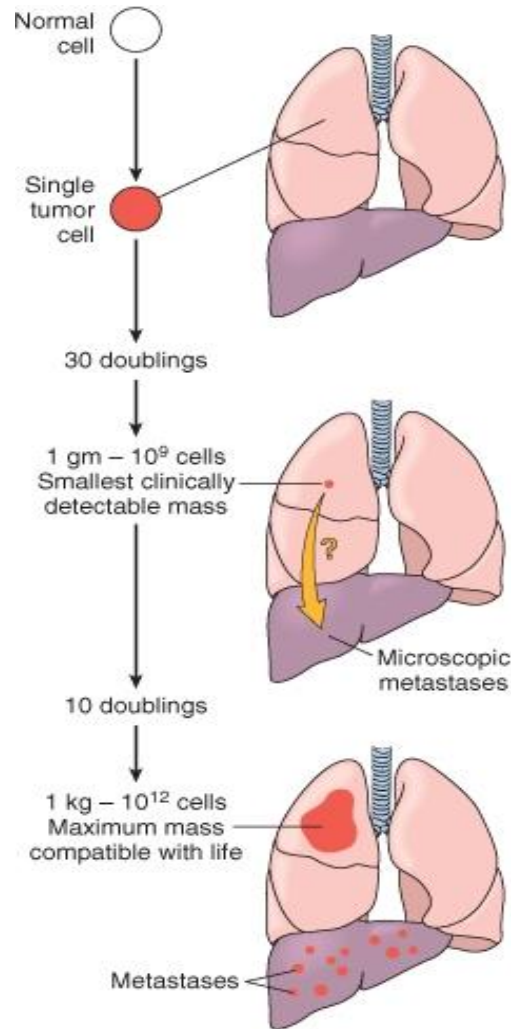
**GUSTAVE
ROUSSY**
CANCER CAMPUS
GRAND PARIS





**QUEL MODÈLE EXPERIMENTAL PEUT
PRÉDIRE L'ÉVOLUTION D'UN CANCER
CHEZ L'HOMME ?**

Cancer – Une multitude de maladies



- > C'est un groupe de maladies où des altérations génétiques successives ont conduit des cellules à une croissance anormale et incontrôlée.
- > 2 patients ayant le même diagnostic peuvent avoir des tumeurs très différentes (altérations génétiques, histologie, infiltration, chimiosensitivité).
- > Les tumeurs sont détectées à un stade avancé de la maladie et le processus métastatique est souvent déjà en place.

QUELS MODÈLES TUMORAUX SONT DISPONIBLES EN ONCOLOGIE ?

Tumeurs spontanées

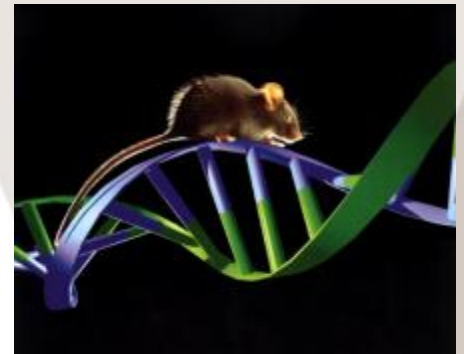
Greffes sous-cutanées

Greffes orthotopiques

Modèles de métastases

Modèles génétiquement modifiés

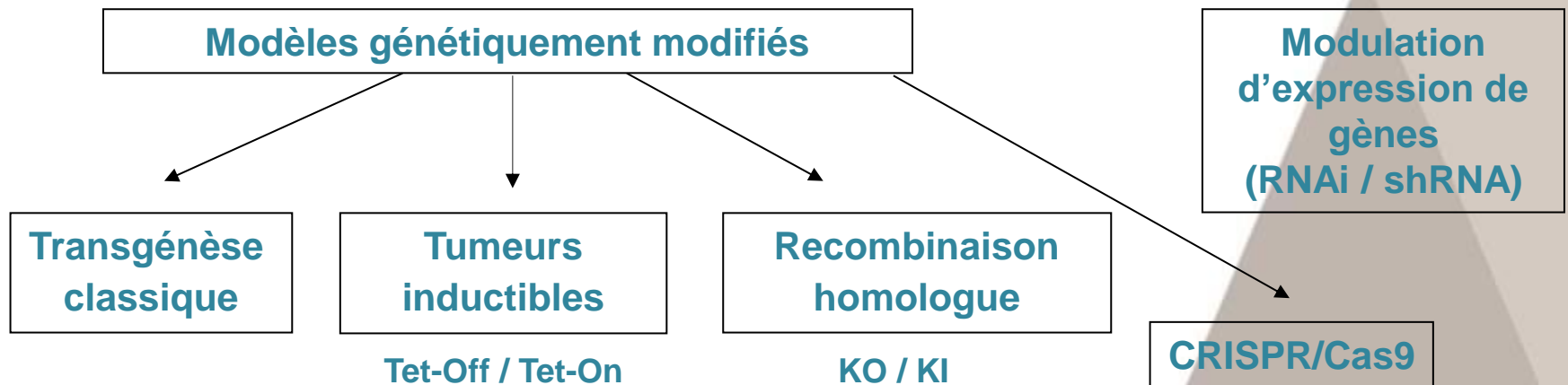
Modèles tumoraux



Première Génération



Seconde Génération



Modèles tumoraux utilisés en Oncologie

- **Tumeurs spontanées, viro-/chimio-induites**
 - > Même fond génétique entre l'hôte et la tumeur
- **Greffes sous-cutanées**
 - > Variété
 - > Accessibilité de la tumeur
- **Greffes orthotopiques**
 - > Développement tumoral dans un environnement approprié
- **Modèles métastatiques**
 - > Modélisation des différentes étapes du processus métastatique
- **Modèles génétiquement modifiés**
 - > Histoire naturelle du développement tumoral

Techniques d'imagerie

- > Stade de progression tumorale
- > Suivi et détection précoce de la croissance tumorale
- > Détection et suivi des métastases
- > Suivi longitudinal et non-invasif de marqueurs moléculaires
- >

Comment choisir le meilleur modèle tumoral ?

- **Modèles cellulaires utilisés dans les études *in vitro* / *ex vivo***
- **Caractéristiques moléculaires**
 - Pertinence par rapport à la cible / voie de signalisation
- **Réponse aux thérapies standards / de référence**
- **Modèles mimant les différentes étapes de la progression d'un cancer**

- **Stabilité du modèle**
 - Morphologie / Histologie
 - Croissance
 - Réponse aux thérapies
 - Caractéristiques moléculaires

- **Critères d'activité antitumorale pertinent du contexte clinique**

Tumeurs greffées sous la peau (sous-cutanées)

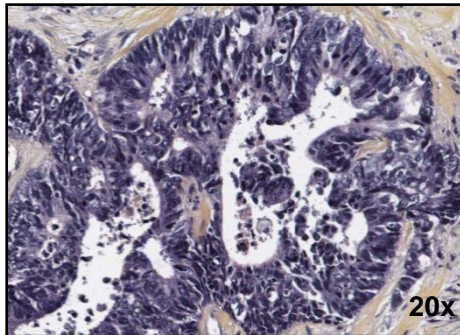
- **Tumeurs consanguines**
 - Même contenu génétique
 - Animaux immunocompétents
- **Tumeurs provenant de tumeurs humaines (ou d'une autre espèce)**
 - Greffe de cellules tumorales ou tissus
 - Environnement de la tumeur d'une espèce différente
 - Animaux immunodéprimés
- **Tumeurs génétiquement modifiées**
 - Cellules transfectées
 - Tumeurs de souris transgéniques
 - Animaux immunocompétents ou immunodéprimés selon les cas

Mesure au pied à coulisse d'une tumeur humaine xéno greffée sur la souris nude



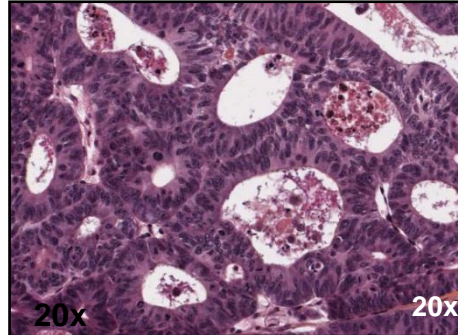
Tumeurs dérivées de Patients (PDX)

Tumeur du patient



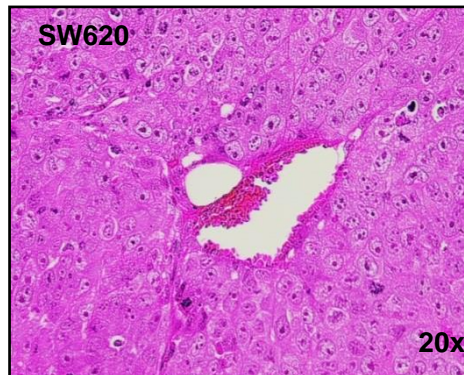
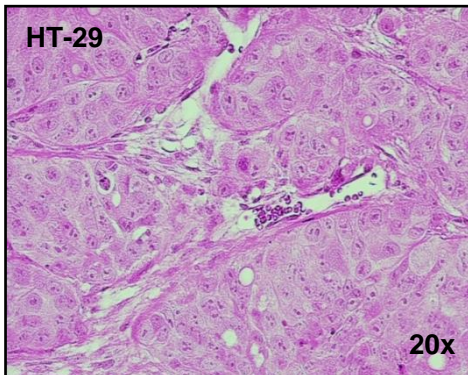
Adénocarcinome lieberkühnien bien différencié du colon gauche
Consortium CReMEC : Clin Cancer Res; 18(19) Oct1, 2012

Tumeur xéno greffée (Passage 8)



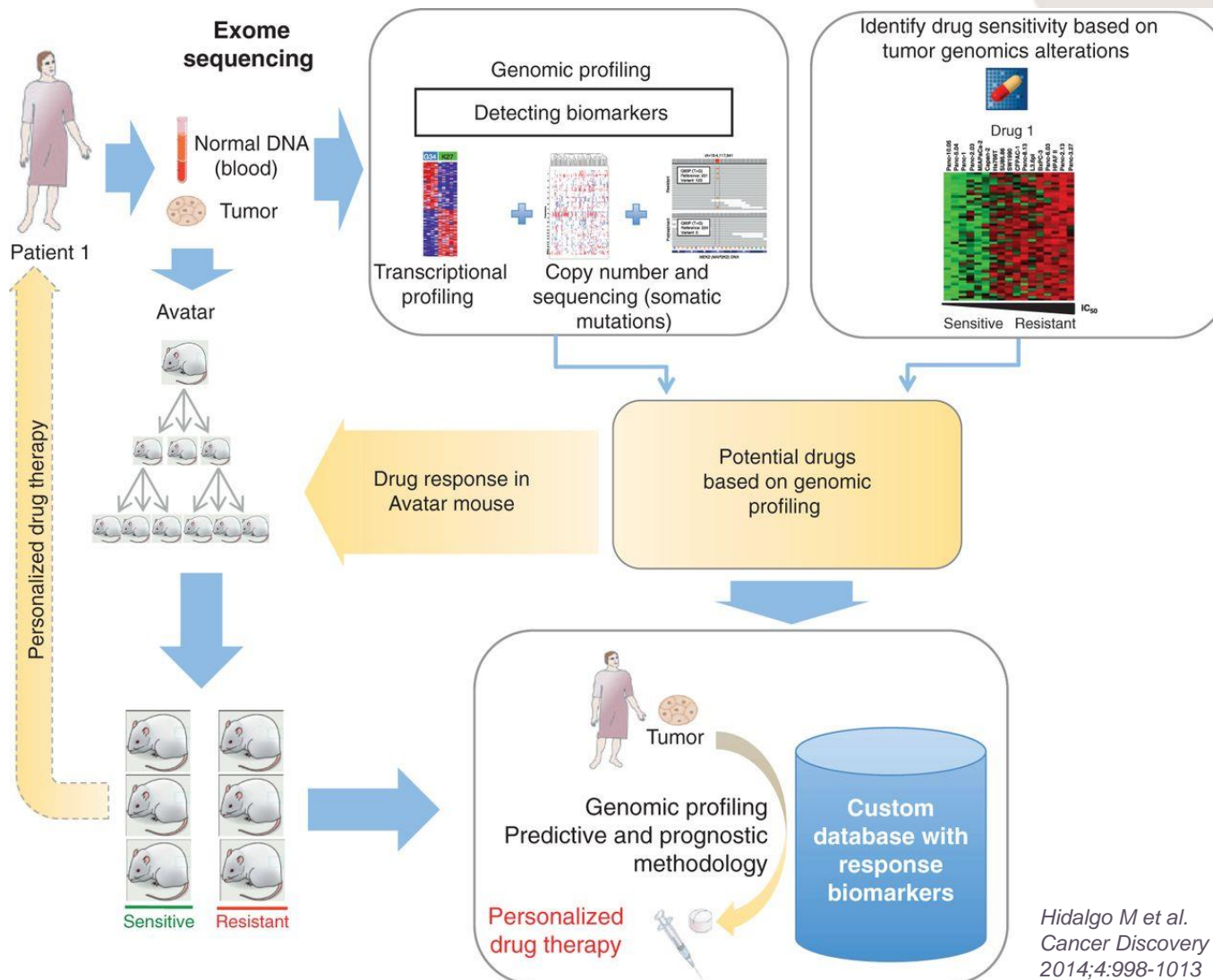
- **Histopathologie reflétant mieux la tumeur originale du patient**
 - que les xéno greffes classiques de lignées cellulaires
- **Outils précieux**
 - En tant qu'avatars à utiliser dans la stratégie de la médecine de précision
 - Comme modèles pour l'évaluation préclinique de nouveaux agents et la découverte de bio-marqueurs

Xéno greffes de lignées cellulaires



*Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research.
Hidalgo M, et al. Cancer Discov. 2014;4:998-1013.*

Les PDX dans la stratégie de la médecine de précision



Hidalgo M et al.
Cancer Discovery
2014;4:998-1013

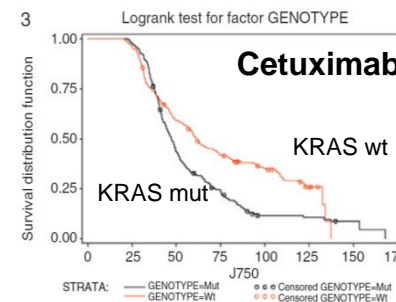
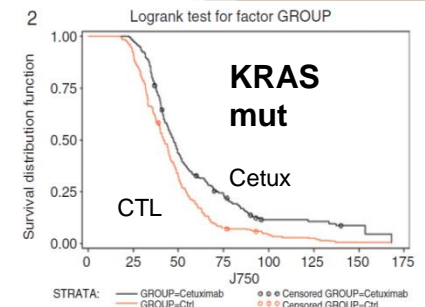
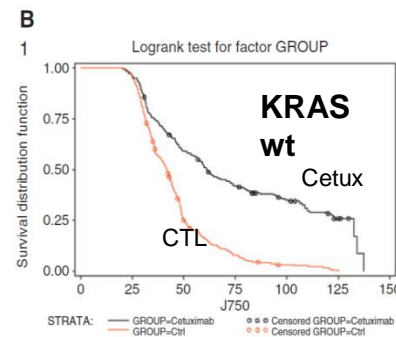
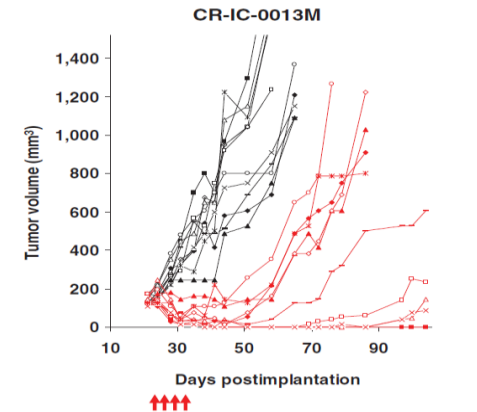
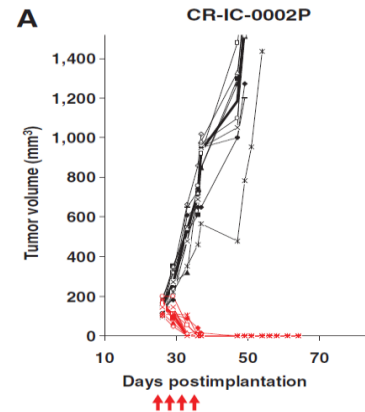
Les PDX sont-ils plus prédictifs de la réponse aux thérapies ciblées que les xénogreffes classiques ?

A. Cetuximab actif sur

- CR-IC-0002P (wild-type KRAS)
- CR-IC-0013M (mutated KRAS)

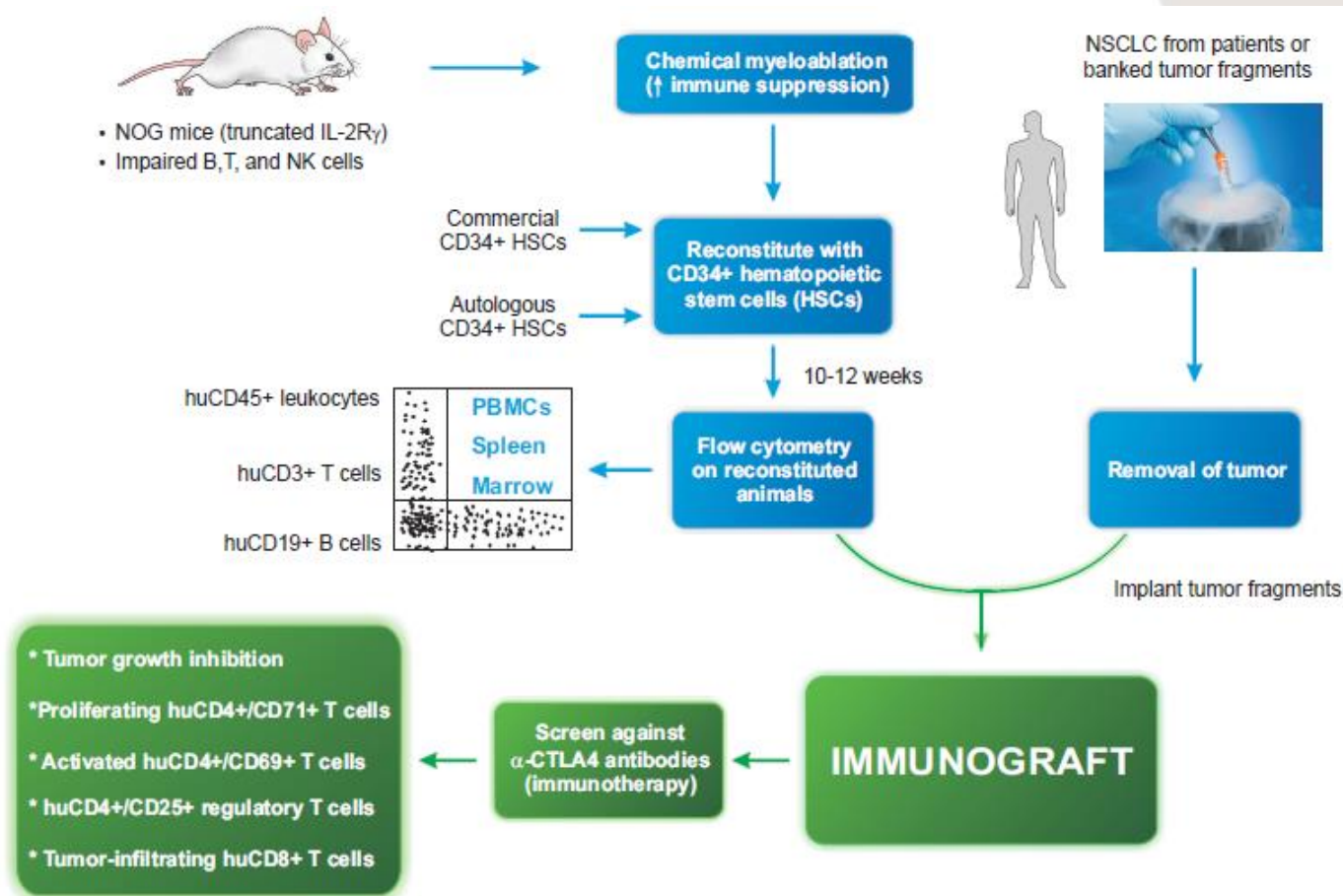
B. Analyse de la survie en fonction du statut KRAs.

1. LogRank analysis on KRAS wild-type populations treated or not with cetuximab.
2. LogRank analysis on KRAS mutated populations treated or not with cetuximab
3. LogRank analysis on KRAS mutated and wild-type populations all treated with cetuximab.



CReMEC consortium: Julien S et al.
Clin Cancer Res; 18(19) October 1, 2012

Les PDX humanisés : Modèles précliniques en immuno-oncologie



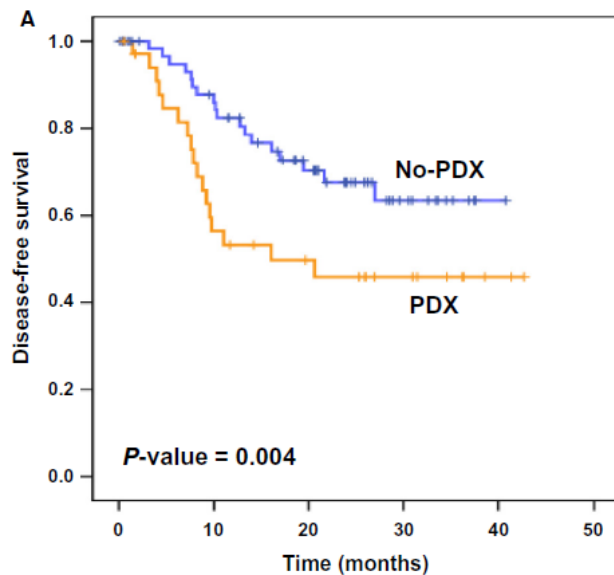
A humanized mouse model for translational assessment of targeted immune checkpoint blockade
Baia GS et al (Champions Oncology / John Hopkins University School of Medicine) - AACR 2015

Taux de prise des PDX très variable :

Exemple de PDX de poumon non à petites cellules

- **Prognostic défavorable**

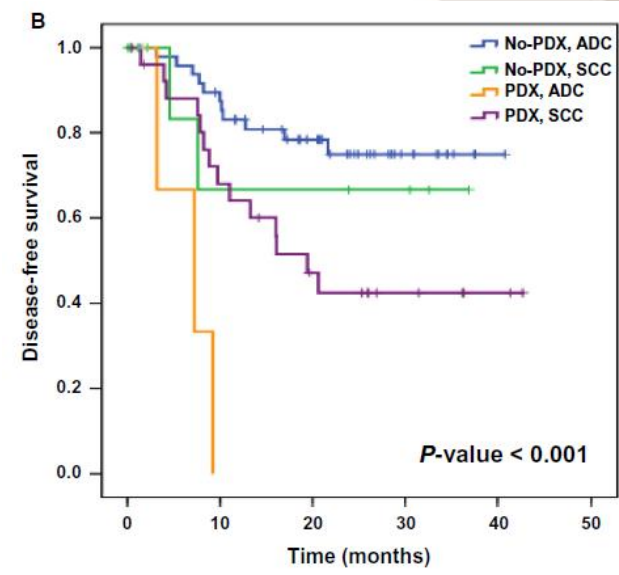
- Pas de PDX (n = 65)
- PDX (n = 35)



(A) Courbes Kaplan–Meier de survie des patients développant ou non un PDX.

- **Fonction du type histologique**

- Carcinome squameux (60%)
- Adénocarcinome (13%)



(B) Survie des patients et taux de prise des PDX en fonction de l'histologie tumorale (Adénocarcinomes ou carcinomes squameux).

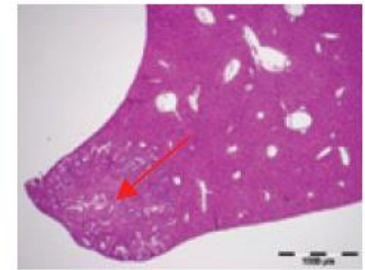
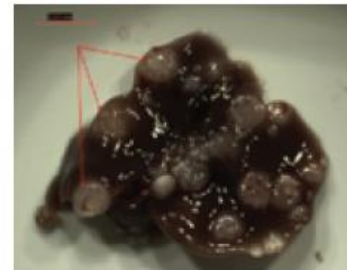
Ilie M et al. Cancer Medicine 2015, 4(2):201–211

Greffes orthotopiques

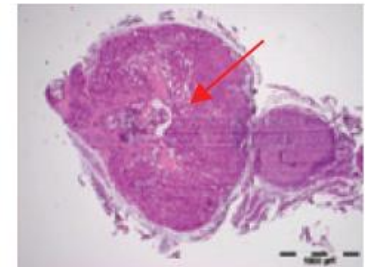
- **(Xéno)greffe tumorale dans le tissu d'origine de la tumeur**
 - Tumeur s'adaptant à son environnement
 - par exemple du fait de l'expression de récepteurs aux facteurs de croissance
 - Favorise le développement de métastases
 - voir l'exemple ci-contre
- **Le site d'implantation peut impacter**
 - La réponse aux traitements
 - La dérive de la tumeur (mutations, voies de signalisation)
 - Bibby MC. *Eur J Cancer* 2004;40:852–7.

Grefe orthotopique de PDX colorectal

Métastases hépatiques



Métastases ganglionnaires

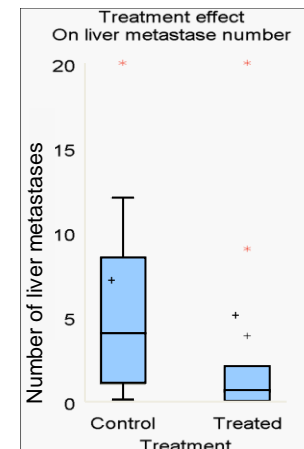
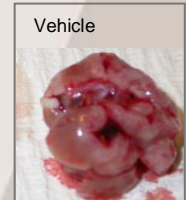
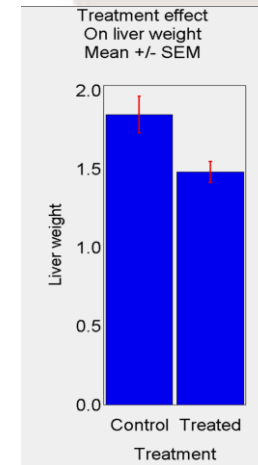
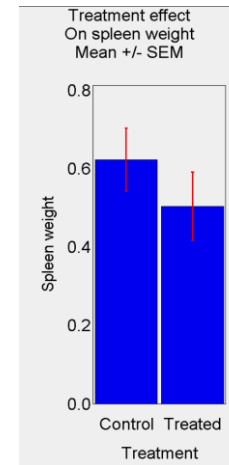


Organes prélevés lors de l'autopsie (à gauche)
Section histologique après coloration H&E (à droite)

CReMEC consortium:
Julien S et al. *Clin Cancer Res.* 18(19), 2012

L'environnement tumoral est important pour les thérapies ciblées : AVE1642 (anticorps IGF-1R)

- **Colon HT29 greffé dans la rate**
 - 10^6 cellules/souris (20 SCIDs / groupe)
 - AVE1642 à 40 mg/kg/day, iv 2x/semaine, 7 semaines à partir du J1 après implantation
- **Pas d'activité sur la tumeur primaire**
 - $p > 0,05$ par rapport au groupe contrôle
- **Diminution significative du poids du foie traité**
 - $p = 0,0112$ par rapport au groupe contrôle
- **Diminution significative du nombre de métastases hépatiques**
 - $p = 0,0455$ par rapport au groupe contrôle



Bladt F et al. Poster # 4775,
AACR 2006

L'environnement tumoral est important pour les thérapies ciblées : AVE1642 (anticorps IGF-1R)

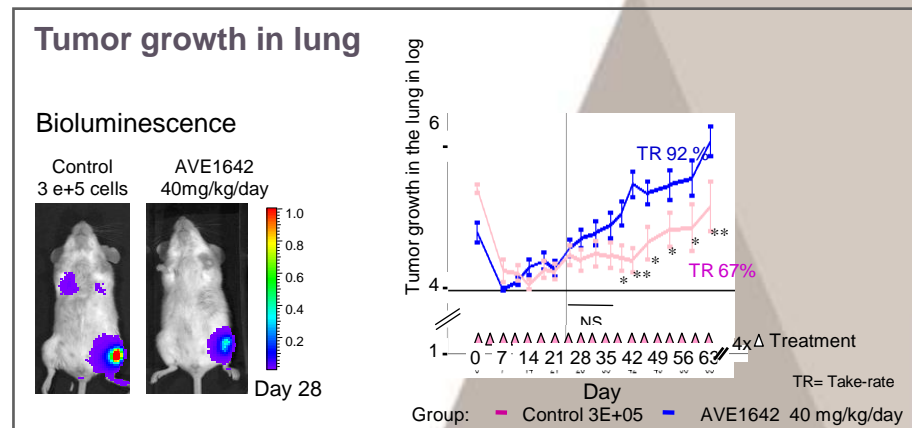
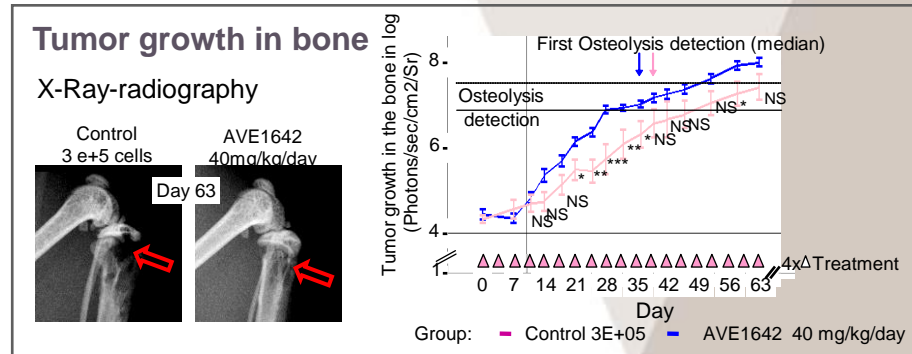
● Sein MDA-MB-231-luc D2H1

> Greffe SC :

- Pas d'activité sur la tumeur primaire

> Greffe dans le tibia

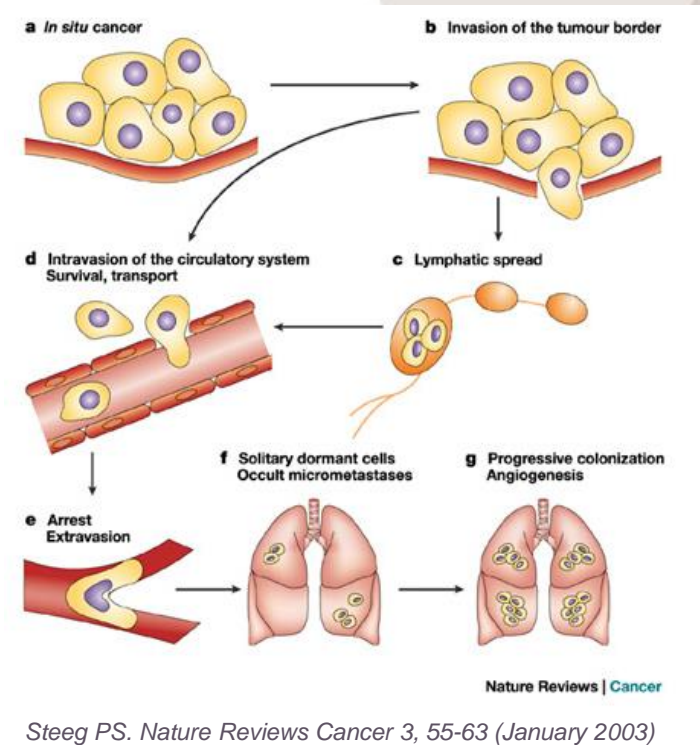
- Retard de l'osteolyse après traitement
- Diminution de la croissance dans le poumon



Bladt F et al. Poster # 4115, AACR 2007

Modèles métastatiques

- **Les différentes étapes du processus métastatique**
 - Les cellules tumorales se détachent de la tumeur primaire
 - Elles entrent dans le flot vasculaire
 - S'embolisent puis quittent les vaisseaux sanguins par extravasation
 - Survivent puis se développent dans des sites secondaires
- **Différents types d'implantation sont à envisager en fonction de l'étape (des étapes) du processus métastatique à étudier**



Le suivi longitudinal du processus métastatique est facilité par des techniques d'imagerie

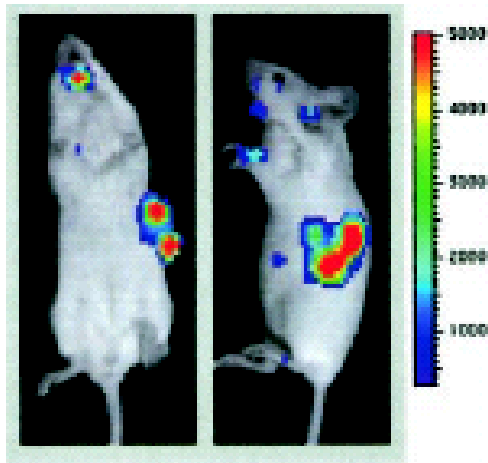
Tomographie à Emission de Positons (TEP)

- **Imagerie anatomique ou morphologique**
 - μ CT
 - Ultra-sons
- **Imagerie physiologique / fonctionnelle**
 - Ultra-sons
 - Nucléaire
 - Optique
- **Imagerie moléculaire**
 - Nucléaire
 - Optique

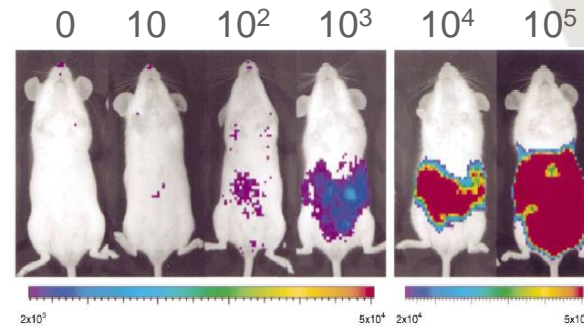


Imagerie optique (Bioluminescence)

a) Souris BALB/C, 4 jours après injection IV de 7×10^3 cellules du lymphome BCL1

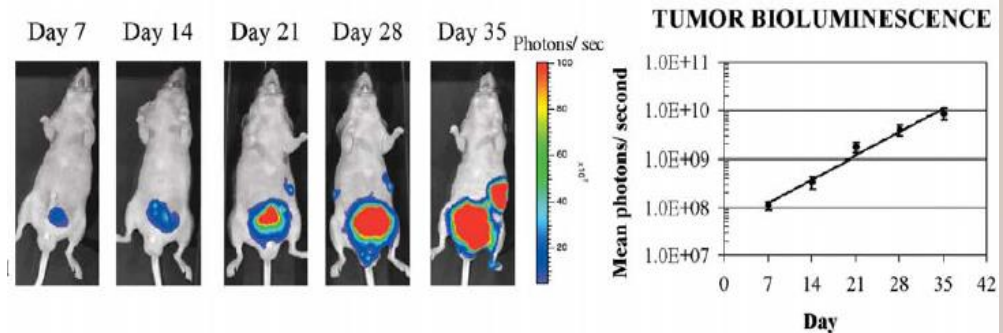


b) Nombre de cellules injectées (sc) / animal



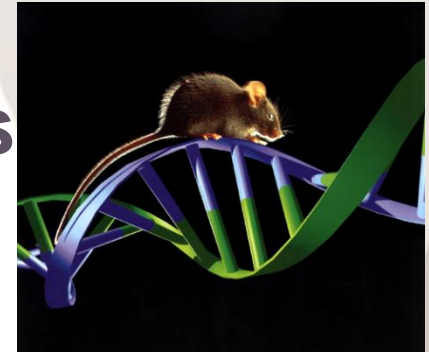
Edinger 2002

c) Croissance d'une tumeur orthotopique de la prostate



Clinical and Experimental Metastasis 20:745, 2003

Modèles génétiquement modifiés



Cellules transfectées

Validation cible
/ modèle

RNAi

Expression
contrôlée de
cible
(tetO/tetR)

Modèle
dépendant
de la cible

Souris transgéniques

Système immunitaire

Tumeur /
environnement

Permettant le suivi
tumoral par imagerie

Développement
tumoral complet

KO / KI models

Cible humanisée
pour les
biothérapeutiques

Humanisation du
métabolisme du
produit

Cible

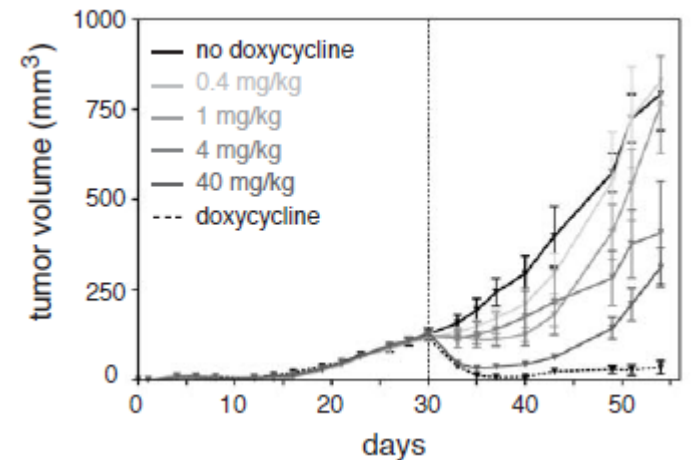
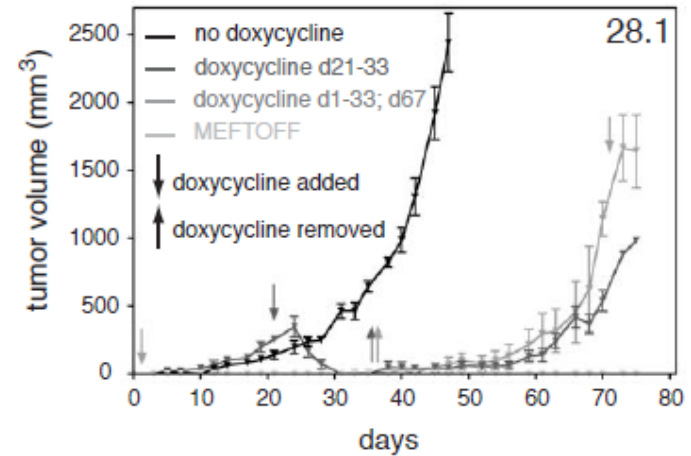
Tête de série

Candidat

Modèle animal permettant d'étudier l'activité et les marqueurs associés d'inhibiteurs d'IGF-1R

● MEF Tetoff IGF-1R

- > Les fibroblastes murins embryonnaires (MEF) non transformés ne peuvent pas pousser dans les souris immunodéprimées
- > MEF Tetoff IGF-1R sont sous le contrôle d'un promoteur tétracycline.
 - - doxycycline : l'IGF-1R exogène est surexprimé et les cellules peuvent croître sous la forme de tumeur chez la souris
 - + doxycycline : Inhibition de l'expression d'IGF-1R induit la régression de la tumeur établie.
- > Dose réponse anticorps IGF-1R
 - 2x/semaine à partir de J30 (tumeurs établies)



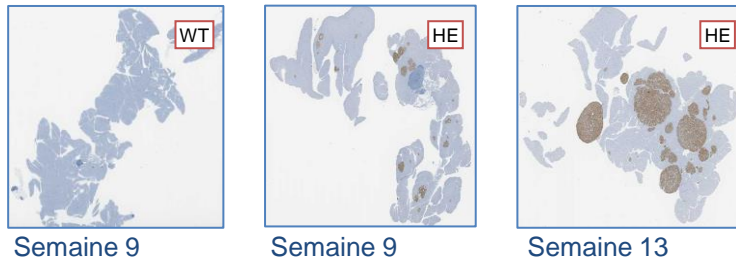
Graeser R et al. *J Biomol Screening* 2012, 17 (3), 339-349.

Souris transgéniques Rip1Tag2 : un modèle de référence pour les inhibiteurs de l'angiogénèse tumorale (*Hanahan D., 1985*)

● Caractérisation du modèle

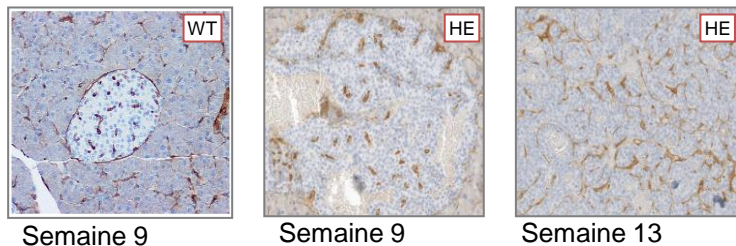
Développement de carcinomes dans les îlots pancréatiques de souris Rip1Tag2

Sections pancréatiques (Anti largeT antigen staining) des contrôles (WT) et Rip1Tag2



Tumeurs très vascularisées des souris Rip1Tag2

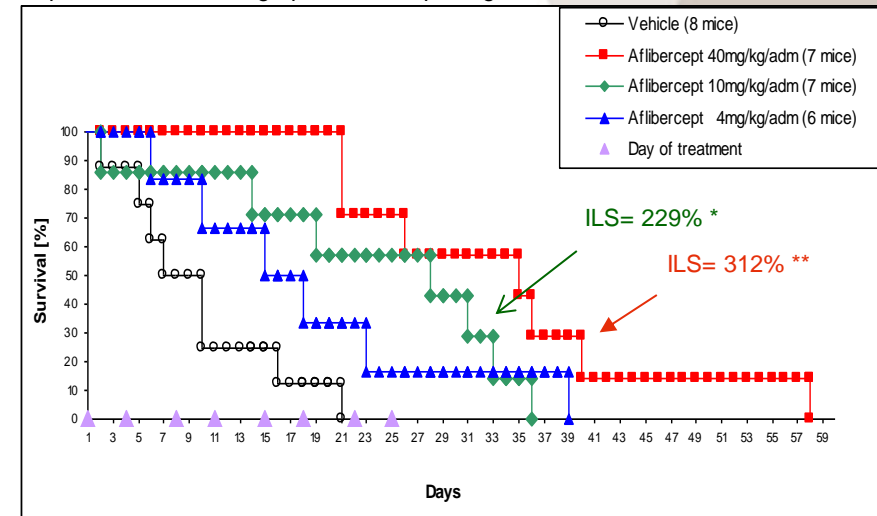
Vasculature des îlots des contrôles (WT) and Rip1Tag2 mice (anti CD34 staining)



● Le VEGF-Trap augmente la survie des souris Rip1Tag2

- > Souris de 12 semaines
- > Aflibercept en dose-réponse 2x/sem (SC)

Kaplan-Meier survival graph: Aflibercept Regression trial



Log-Rank multiple comparisons test was used ($p < 0.05 = *$, $p < 0.01 = **$).

Chiron M. et al. Poster # 380 AACR 2008

Utilisation du rat pour établir les relations PD/PK/Tox

- **Etudes PK/PD/efficacité avec détermination de l'index thérapeutique**
 - Utilisant les mêmes critères que pour les études de toxicologie
 - Et les données de pharmacocinétiques
- **Prélèvements biologiques répétés**
 - Ce qui est un avantage majeur
- **Plus solide, avec une espérance de vie supérieure**

- **Rats immunodéprimés**
 - Acceptant les mêmes xénogreffes tumorales que les souris
 - Nécessitent cependant de fortes doses d'irradiation

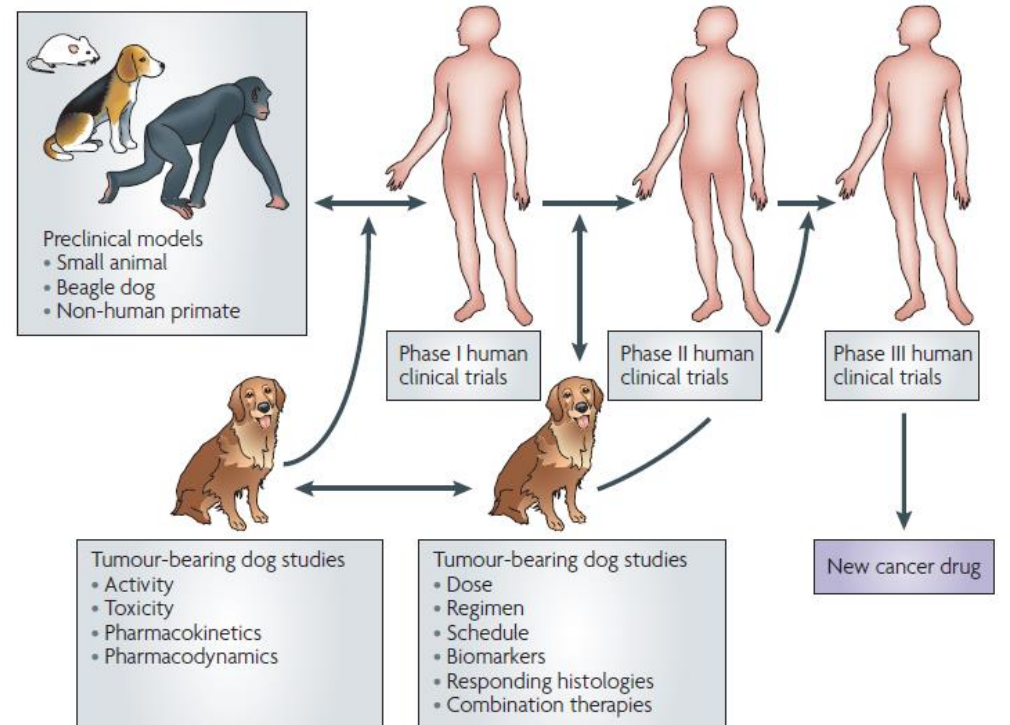


- **Rats développant des tumeurs chimio-induites**

Essais cliniques chez l'animal domestique développant un cancer

- **Essais translationnels**
 - Relations PK/PD
 - Incluant des biopsies pré- et post-traitement
- **Etudes du métabolisme**
 - Quand le métabolisme est différent chez le rongeur
- **Index thérapeutique**

- **En parallèle des études cliniques chez l'homme**
 - Au sein d'un hôpital vétérinaire (Nantes, Lille, ...)
 - ou d'un consortium d'hôpitaux vétérinaires (NCI)
- **Protocoles proches de ceux des essais cliniques chez l'homme**
 - Consentement éclairé du propriétaire



Paoloni M, Khanna C (2008) Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. *Nat Rev Cancer* 8: 147–156.

Les questions précliniques à se poser pour répondre aux questions cliniques

- **Quel est le meilleur modèle en fonction du projet / de la cible ?**
- **Peut-on atteindre au niveau plasmatique la concentration active *in vitro* ?**
- **Est-ce que le principe actif atteint la tumeur ?**
 - > A quelle dose / concentration ?
 - > Cinétique d'inhibition de la cible incluant la réversibilité ?
 - > A quelle concentration par rapport aux études *in vitro* ?
- **A-t-on une activité *in vivo* ?**
 - > De quel type ?
 - > Quel est le niveau minimum de modulation de la cible qui impacte la croissance tumorale ?
- **Quels sont les effets secondaires ?**
- **Quel est l'index thérapeutique ?**

Ethique animale et réglementation

- **La règle des 3R : réduire, raffiner, remplacer**
 - Avant toute étude chez l'animal, il faut s'assurer que
 - le nombre d'animaux par groupe est adéquat pour quantifier les effets d'un agent
 - tout est mis en œuvre pour limiter au maximum le stress et la souffrance de l'animal
 - des méthodes alternatives n'existent pas
- **Les expérimentateurs doivent détenir un livret de compétences personnel**
 - La réglementation (articles R214-114 à 116 et arrêté d'application) définit les compétences requises pour concevoir ou réaliser des procédures expérimentales sur les animaux. Quatre fonctions sont définies:
 - conception ou réalisation
 - application des procédures
 - soins aux animaux
 - mise à mort des animaux.
 - Les formations initiales, les niveaux d'expérience, les compétences spécifiques et les programmes de formation réglementaire sont précisés pour chaque fonction.
- **Chaque protocole d'expérimentation animale doit être revu par un comité d'éthique animale**



Merci de votre attention

