

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	11
LISTE DES TABLEAUX	13
LISTE DES ANNEXES	15
LISTE DES ABRÉVIATIONS	17
 INTRODUCTION	 19
 PREMIÈRE PARTIE : DANS QUELLE MESURE LE CHIEN DOMESTIQUE EST-IL UN BON MODÈLE POUR LA CANCÉROLOGIE HUMAINE ?	 21
 1. INTRODUCTION DE LA PREMIÈRE PARTIE	 23
 2. LE CHIEN DOMESTIQUE PRÉSENTE DES CANCERS DE FAÇON SPONTANÉE : HISTOIRE NATURELLE DES CANCERS.....	 25
 3. LA NATURE DE CERTAINS CANCERS EST PARTAGÉE	 27
3.1. État actuel de l'épidémiologie du cancer chez l'homme	27
3.2. Les modèles tumoraux pertinents pour les études translationnelles	28
3.2.1. L'ostéosarcome.....	28
3.2.2. Les tumeurs mammaires.....	30
3.2.3. Le mastocytome.....	30
3.2.4. Le mélanome de la cavité buccale	30
3.2.5. Le lymphome non-hodgkinien.....	31
3.2.6. Le carcinome à cellules transitionnelles de la vessie	31
3.2.7. Les tumeurs prostatiques	31
3.2.8. Les sarcomes des tissus mous, exemple de l'hémangiosarcome	32
3.3. Formation d'un véritable panel de modèles tumoraux	33
3.4. Des prévalences parfois différentes	33
 4. UN PROCESSUS TUMORAL SIMILAIRE	 35
4.1. Le cancer est une maladie monoclonale, multi-étape et multifactorielle	35
4.2. Le cancer est une maladie du génome.....	35
4.2.1. Les preuves de l'implication des gènes.....	35

4.2.2.	Le cycle cellulaire et la cancérogenèse	36
4.2.2.1.	Les étapes du cycle cellulaire.....	36
4.2.2.2.	Les mutations et les gènes impliqués dans la dérégulation du cycle cellulaire.....	36
4.2.2.2.1.	Les oncogènes	37
4.2.2.2.2.	Les gènes suppresseurs de tumeur.....	38
4.2.3.	Les caractéristiques élémentaires d'une cellule cancéreuse	39
4.2.4.	Biologie de la croissance tumorale	40
4.3.	Des mutations et des profils d'expression génique en commun.....	40
4.3.1.	Exemples de mutations communes	40
4.3.1.1.	Cas de l'ostéosarcome.....	40
4.3.1.2.	Cas des tumeurs mammaires	40
4.3.1.3.	Des mutations et anomalies cytogénétiques semblables	40
4.3.2.	Des profils d'expression génique semblables.....	41
5.	UNE ORGANISATION HISTOLOGIQUE TUMORALE SEMBLABLE.....	45
5.1.	Les tumeurs canines d'intérêt histologique pour l'oncologie comparée	45
5.2.	Hétérogénéité tumorale	48
5.3.	La technique du « tissu micro-array ».....	48
5.4.	Classification histologique.....	48
5.4.1.	Principe.....	48
5.4.2.	Exemple des tumeurs mammaires et cancers du sein « triple-négatifs ».....	48
6.	LES AVANTAGES DE L'UTILISATION DU CHIEN DOMESTIQUE PAR RAPPORT À LA SOURIS	51
6.1.	La souris : un modèle indispensable mais insuffisant.....	51
6.1.1.	La souris, premier modèle in vivo dans la recherche contre le cancer	51
6.1.2.	Un modèle peu prédictif	51
6.2.	Augmentation majeure du taux de médicalisation et de la durée de vie du chien	52
6.3.	L'homme et le chien partagent le même environnement	52
6.4.	Certains cancers partagés sont plus fréquents chez le chien	52
6.5.	Le chien profite des mêmes thérapies que l'homme	53
6.6.	Un génome canin entièrement séquencé présentant beaucoup d'homologies avec le génome humain	53
6.7.	De nouveaux outils sont disponibles pour étudier la biologie du chien	56
7.	CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE	59

DEUXIÈME PARTIE : LES APPORTS HISTORIQUES ET ACTUELS DU CHIEN DOMESTIQUE POUR L'ÉTUDE DU CANCER CHEZ L'HOMME ... 61

1. INTRODUCTION DE LA DEUXIÈME PARTIE	63
2. APPORT DE L'ÉTUDE DU GÉNOME DU CHIEN DANS LA DÉCOUVERTE DES GÈNES DU CANCER.....	65
2.1. Évolution phylogénétique des races canines	65
2.1.1. La domestication du chien	65
2.1.2. La création des races canines.....	65
2.1.3. Bilan : deux goulots d'étranglement.....	66
2.2. Prédisposition au cancer.....	67
2.2.1. Le cancer est une affection majeure chez certaines races.....	67
2.2.2. Des races prédisposées à certains cancers.....	67
2.2.2.1. Sarcome histiocytaire	Erreur ! Signet non défini.
2.2.2.2. Mastocytome	69
2.2.2.3. Lymphome	69
2.2.2.4. Hémangiosarcome.....	69
2.2.2.5. Mélanome.....	69
2.2.3. Conséquences.....	69
2.3. Le séquençage du génome du chien	70
2.3.1. Progrès récents en génétique.....	70
2.3.2. Le génome canin est proche du génome humain	70
2.3.3. Patron bimodal des déséquilibres de liaison chez le chien	72
2.3.4. Avantages du génome canin pour identifier des gènes de prédisposition au cancer.....	72
2.4. Le chien domestique : un modèle d'étude génétique.....	73
2.5. Recherche de gènes de prédisposition au cancer : plusieurs techniques	73
2.5.1. Les études pangénomiques d'association	73
2.5.2. L'analyse de liaison.....	75
2.5.3. Démarche classique.....	75
2.6. Exemples de cancers.....	76
2.6.1. Le cystadénocarcinome rénal du berger allemand et la maladie de Birt-Hogg-Dubé chez l'homme	76
2.6.2. L'ostéosarcome canin : étude pangénomique d'association et mise en évidence d'anomalies chromosomiques	77
2.6.3. Sarcome histiocytaire.....	Erreur ! Signet non défini.
2.6.4. Mélanome canin : études d'association et séquençage d'ARN en cours.....	79
3. APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE EN TANT QUE SENTINELLE POUR LES FACTEURS DE RISQUE ENVIRONNEMENTAUX DU CANCER.....	81
3.1. Le concept d'animal sentinelle.....	81
3.2. Le chien se classe comme une bonne sentinelle des facteurs carcinogènes de l'environnement ...	82
3.3. Etude cas/témoin et odds ratio	82

3.4.	Les apports historiques	83
3.4.1.	Le séminome des chiens comme signal d'alerte d'exposition aux pesticides lors de la guerre du Vietnam (1955-1975)	83
3.4.2.	Les effets carcinogènes de l'amiante et le mésothéliome du chien	83
3.5.	Le cancer du chien marqueur d'un environnement exposé à la fumée de cigarette	84
3.6.	Chien sentinelle de l'exposition aux pesticides et herbicides	84
3.7.	Le chien, sentinelle des cancers causés par un habitat en milieu urbain	85
3.8.	Limites de ces enquêtes épidémiologiques chez le chien	85
3.9.	Des marqueurs biologiques pour objectiver l'exposition à des facteurs de risque	86

4.	L'APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE DANS LA COMPRÉHENSION DE LA BIOLOGIE TUMORALE	87
4.1.	En apprendre plus sur les cellules souches cancéreuses	87
4.1.1.	Les cellules souches	87
4.1.2.	L'origine du cancer : deux modèles principaux	87
4.1.2.1.	La théorie stochastique	87
4.1.2.2.	La théorie des cellules souches cancéreuses ou « modèle hiérarchique »	87
4.1.3.	Découverte des cellules souches cancéreuses chez l'homme	88
4.1.3.1.	Première découverte dans la leucémie myéloïde	88
4.1.3.2.	Découverte dans les tumeurs solides	88
4.1.3.3.	Une théorie encore controversée	88
4.1.4.	Le modèle canin : des preuves supplémentaires de leur existence	89
4.1.4.1.	Découverte de cellules souches dans l'ostéosarcome puis dans d'autres tumeurs canines	89
4.1.4.2.	Conséquences pour la recherche chez l'homme	89
4.2.	Connaissance approfondie du processus métastatique grâce au modèle canin	90
4.2.1.	Le processus métastatique	90
4.2.1.1.	Description	90
4.2.1.2.	Les métastases n'épargnent pas les chiens	91
4.2.2.	Le processus métastatique est synonyme de mortalité due au cancer	91
4.2.2.1.	Atteinte d'organes majeurs	91
4.2.2.2.	Des questions en suspens	92
4.2.3.	Apport du chien dans la connaissance des métastases de l'ostéosarcome de l'enfant	93
4.2.3.1.	Forte mortalité et difficulté de la lutte	93
4.2.3.2.	Le chien fait le pont des connaissances entre la souris et l'enfant	93
4.2.3.3.	Mise en évidence du rôle de la protéine Ezrin	94
4.2.3.3.1.	Description	94
4.2.3.3.2.	Ezrin et souris	95
4.2.3.3.3.	La protéine Ezrin est associée à un mauvais pronostic chez le chien	96
4.2.3.3.4.	Transfert des connaissances pour l'ostéosarcome pédiatrique	96
4.2.3.3.5.	Conclusion	97
4.2.3.4.	La comparaison des profils d'expression génique fait ressortir des gènes d'intérêt	98
4.2.4.	Conclusion	99
4.3.	Apport du chien domestique dans la découverte de nouveaux marqueurs biologiques	100
4.3.1.	Les marqueurs biologiques du cancer	100
4.3.1.1.	Définition	100

4.3.1.2.	Marqueur biologique idéal.....	100
4.3.1.3.	Utilité d'un biomarqueur en cancérologie.....	100
4.3.2.	Un apport modeste du chien domestique pour découvrir des biomarqueurs du cancer	101
4.3.2.1.	Des outils prometteurs pour la découverte de nouveaux biomarqueurs.....	101
4.3.2.2.	L'étude du protéome permet de découvrir de nouveaux biomarqueurs grâce au chien...	101
4.3.2.2.1.	Intérêt de la protéomique	101
4.3.2.2.2.	Études sur le lymphome B canin	101
4.3.2.2.3.	Étude pilote de protéomique pour le diagnostic du carcinome transitionnel de la vessie chez le chien	102
4.3.2.3.	Le chien permet de perfectionner de nouvelles techniques de criblage	102
4.3.2.4.	Le chien modèle d'étude de marqueurs biologique du cancer de l'homme	103
4.3.2.5.	Le chien modèle de la néo-angiogenèse tumorale et de ses biomarqueurs chez l'homme	103
4.3.2.5.1.	Définition de la néo-angiogenèse tumorale.....	103
4.3.2.5.2.	Le chien est un modèle de la néo-angiogenèse tumorale	104
4.3.2.5.3.	VEGF, marqueur biologique majeur de la néo-angiogenèse.....	104
4.4.	Utilisation de l'odorat du chien pour détecter un cancer.....	106
4.4.1.	Introduction	106
4.4.2.	Première découverte pour le mélanome	106
4.4.3.	Nombreuses études sur de multiples cancers	106
4.4.3.1.	Cancer du poumon et air expiré	106
4.4.3.2.	Le chien peut flairer de multiples cancers.....	107
4.4.4.	Avantage de la détection du cancer par l'odorat du chien.....	107
4.4.5.	Composé organique volatil spécifique du cancer	108
4.4.6.	Conclusion.....	108
5.	CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE.....	109

TROISIÈME PARTIE : L'APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX TRAITEMENTS CONTRE LE CANCER..... 111

1. INTRODUCTION DE LA TROISIÈME PARTIE.....113

2. LES THÉRAPIES DU CANCER.....115

- 2.1. Le tragique du cancer 115
- 2.2. Rappel des stratégies thérapeutiques traditionnelles en cancérologie 115
 - 2.2.1. La chirurgie oncologique..... 115
 - 2.2.2. La chimiothérapie..... 116
 - 2.2.2.1. Principe de la chimiothérapie anticancéreuse 116
 - 2.2.2.2. La chimiothérapie est de plus en plus utilisée..... 116
 - 2.2.2.3. Rappel des différents agents anticancéreux..... 116
 - 2.2.3. La radiothérapie..... 117
- 2.3. De nouvelles thérapies du cancer..... 118
 - 2.3.1. L'hormonothérapie..... 118
 - 2.3.2. L'immunothérapie 118
 - 2.3.3. La thérapie génique 119
 - 2.3.4. L'essor de la thérapie ciblée 119
 - 2.3.4.1. Principe..... 119
 - 2.3.4.2. Cibles et stratégies possibles 120
 - 2.3.4.3. Les molécules à action ciblée..... 120

3. DESCRIPTION DES ESSAIS CLINIQUES EN RECHERCHE PHARMACEUTIQUE.....123

- 3.1. Définition 123
- 3.2. Les différentes phases d'un essai clinique..... 123
 - 3.2.1. Essai clinique de phase 1..... 123
 - 3.2.2. Essai clinique de phase 2..... 124
 - 3.2.3. Essai clinique de phase 3..... 124
 - 3.2.4. Essai clinique de phase 4..... 124
 - 3.2.5. Le concept des études précliniques ou de phase 0..... 124
- 3.3. Problématique des molécules à action ciblée dans les essais cliniques conventionnels 126
- 3.4. Le lexique pour décrire l'efficacité d'un agent anticancéreux..... 127

4. LES APPORTS DU CHIEN DOMESTIQUE DANS LE DÉVELOPPEMENT DES THÉRAPIES ANTICANCÉREUSES129

- 4.1. Trois grandes phases historiques de l'apport du chien pour la thérapie anticancéreuse 129
 - 4.1.1. Période 1 : phase descriptive 129
 - 4.1.2. Période 2 : définition de l'activité de certains agents..... 129
 - 4.1.3. Période 3 : période actuelle..... 130

4.2.	Le premier apport historique du chien avec le perfectionnement des protocoles de greffe de moelle osseuse	130
4.2.1.	Les premiers essais chez le chien.....	130
4.2.2.	Les progrès chez l'homme grâce au chien.....	132
4.3.	Le chien modèle pour l'optimisation des techniques de chirurgie.....	133
4.3.1.	Principe.....	133
4.3.2.	Deux grandes approches : matériel exogène ou endogène.....	133
4.3.3.	Les études sur l'ostéosarcome canin et transfert de connaissances.....	133
4.4.	L'apport du chien domestique dans le développement de nouveaux inhibiteurs de tyrosine kinases chez l'homme.....	135
4.4.1.	Les récepteurs à activité tyrosine kinase.....	135
4.4.1.1.	Qu'est-ce qu'une protéine tyrosine kinase ?	135
4.4.1.2.	Implication de ces récepteurs lors de cancers.....	135
4.4.1.3.	Le blocage des récepteurs tyrosine kinase.....	136
4.4.1.4.	Les inhibiteurs de tyrosine kinase développés jusqu'à maintenant chez l'homme et le chien.....	136
4.4.1.5.	Implication de la protéine KIT dans les cancers.....	136
4.4.2.	Le mastocytome canin.....	138
4.4.3.	Les inhibiteurs de tyrosine kinases en oncologie vétérinaire et leur apport pour la oncologie humaine	138
4.4.3.1.	Le Masivet® et son apport pour la oncologie humaine.....	138
4.4.3.1.1.	Des résultats et une activité très concluants chez le chien.....	138
4.4.3.1.2.	Les essais du mésylate de masitinib dans les cancers de l'homme.....	139
4.4.3.2.	Le développement du Palladia® et son apport en oncologie humaine.....	140
4.4.3.2.1.	Le tocéranib (Palladia®) est le premier inhibiteur de tyrosine kinase montrant une association entre la modulation de son activité et les premiers effets bénéfiques.....	140
4.4.3.2.2.	Passage du tocéranib chez le chien au sunitinib (Sutent®) chez l'homme	141
4.5.	Le chien domestique peut être utilisé pour le développement des thérapies personnalisées.....	143
4.5.1.	Définition.....	143
4.5.2.	Enjeux.....	143
4.5.3.	L'avenir chez l'homme.....	143
4.5.4.	Un besoin de modèles précliniques.....	143
4.6.	Le chien a permis de tester l'efficacité de nouvelles molécules innovantes avec un nouveau mécanisme d'action	145
4.6.1.	Utilité du <i>Corynebacterium parvum</i> , un immunostimulant bactérien	145
4.6.2.	Potentialisation de la cytokine TNF α par différentes techniques	146
4.6.2.1.	Définition du TNF α	146
4.6.2.2.	Thérapie à base de TNF α liée au polyéthylène glycol.....	146
4.6.2.3.	Thérapie génique utilisant un adénovirus couplé à un phage pour la vectorisation du gène TNF α dans les cellules endothéliales tumorales	146
4.6.2.3.1.	Principe	146
4.6.2.3.2.	Efficacité et innocuité	147
4.6.3.	Utilisation de la desmopressine en péri-opératoire lors de tumeurs mammaires chez la chienne	148
4.6.4.	Le liposomal muramyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine	149
4.6.4.1.	Description.....	149

4.6.4.2.	Activité in vitro et chez la souris	149
4.6.4.3.	Confirmation de l'efficacité chez le chien domestique	149
4.6.4.4.	Transfert chez l'homme pour l'ostéosarcome pédiatrique	150
4.6.5.	Rapamycine et inhibition de la cascade de signalisation mTOR	151
4.6.5.1.	La protéine mTOR et la rapamycine : définition	151
4.6.5.2.	Utilisation actuelle en thérapeutique et perspective	151
4.6.5.3.	Développement pharmacologique et modèle de l'ostéosarcome canin	151
4.6.6.	Le pamoate d'octréotide à longue action	154
4.6.7.	GS-9819 et thérapie ciblée pour traiter le lymphome non-hodgkinien	155
4.6.8.	Molécule caspase auto-activating compound 1 et induction de l'apoptose	157
4.6.9.	Tester l'efficacité de molécules à activité anti-angiogénique	157
4.6.9.1.	Molécule Thrombospondine 1 et les peptides mimétiques ABT	158
4.6.9.1.1.	La protéine Thrombospondine 1, un inhibiteur direct de l'angiogenèse	158
4.6.9.1.2.	Les essais cliniques sur les peptides mimétiques ABT	158
4.6.9.2.	Utilisation des inhibiteurs des matrix metalloproteases	159
4.6.10.	Utilisation des anti-inflammatoires non-stéroïdiens pour le cancer de la vessie	159
4.6.10.1.	La voie des cyclo-oxygénases et cancer	159
4.6.10.2.	Étude chez le chien	159
4.6.11.	Utilisation du chien en tant que modèle pour tester les inhibiteur de LAT1 dans le traitement du mélanome malin chez l'homme	160
4.6.12.	L'apport du chien domestique dans le développement de l'approche immunothérapeutique.	161
4.6.12.1.	Le vaccin à ADN contre la tyrosinase humaine pour le mélanome canin	161
4.6.12.2.	Le lymphome canin, un modèle pour la chimio-immunothérapie faisant intervenir des vaccins anti-tumoraux et des anticorps monoclonaux	163
4.6.12.2.1.	Les extraits de cellules tumorales adjuvées	163
4.6.12.2.2.	Le lymphome et les anticorps monoclonaux testés chez le chien	163
4.7.	Le chien a permis de tester d'autres stratégies thérapeutiques	164
4.7.1.	L'aérosolthérapie pour traiter les atteintes pulmonaires	164
4.7.1.1.	Avantages	164
4.7.1.2.	Le chien domestique utilisé comme modèle d'étude	164
4.7.2.	L'hyperthermie combinée à la radiothérapie et la radiofréquence percutanée	166

5. INTERVENTION DU CHIEN DOMESTIQUE DANS LES ESSAIS CLINIQUES : ESSOR DE L'ONCOLOGIE COMPARÉE167

5.1.	L'industrie pharmaceutique subit un ralentissement dans le développement de molécules anti-tumorales	167
5.1.1.	L'immense avancée avec la découverte de la chimiothérapie	167
5.1.2.	Industrie pharmaceutique en crise dans le domaine de la cancérologie	167
5.1.2.1.	Des essais cliniques longs et coûteux	167
5.1.2.2.	Des essais cliniques difficiles avec de nombreux échecs	168
5.1.2.3.	Une voie de développement linéaire non adaptée pour la cancérologie	168
5.2.	L'intérêt d'utiliser le chien domestique pour des études précliniques	169
5.3.	L'essor de l'oncologie comparée	171
5.3.1.	Définition et principe	171
5.3.2.	La création du Comparative Oncology Program aux États-Unis	171
5.3.2.1.	Création du Comparative Oncology Program et objectifs	171

5.3.2.2.	Les stratégies adoptées	172
5.3.2.3.	Budget et financement.....	172
5.3.3.	Le Comparative Oncology Trials Consortium	172
5.3.3.1.	Les universités vétérinaires en coopération dans tous les États-Unis.....	173
5.3.3.2.	Les priorités des études précliniques du COTC.....	173
5.3.3.3.	Création du COTC Pharmacodynamic Core.....	175
5.3.3.4.	Le Canine Comparative Oncology and Genomics Consortium et la création d'une banque tissulaire.....	175
5.3.3.5.	Schéma d'une étude préclinique classique du COTC.....	176
5.3.3.6.	État des lieux des études réalisées	176
5.3.4.	Règles, précautions et limites	178
5.3.5.	L'oncologie comparée en Europe et en France.....	178
5.3.6.	Schémas récapitulatifs de l'intervention du chien dans les différentes phases.....	180

6. CONCLUSION DE LA TROISIÈME PARTIE.....181

CONCLUSION..... 183

ANNEXE 185

BIBLIOGRAPHIE 191

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Le cycle cellulaire	37
Figure 2 : Principaux oncogènes impliqués dans la pathogénie des cancers spontanés chez l'homme.....	38
Figure 3 : Les propriétés élémentaires du tissu cancéreux	39
Figure 4 : Comparaison de l'expression génique d'échantillons d'ostéosarcome humains et canins	43
Figure 5 : Coupe histologique d'un lymphome intestinal de haut grade chez le chien.....	46
Figure 6 : Coupe histologique d'un lymphome intestinal de haut grade chez l'homme	46
Figure 7 : Coupe histologique d'un adénocarcinome pulmonaire de type papillaire chez le chien.....	47
Figure 8 : Coupe histologique d'un adénocarcinome pulmonaire de type papillaire chez l'homme.....	47
Figure 9 : Schéma du protocole suivi par l'unité AMaROC pour déterminer le sous-type histologique d'une tumeur mammaire canine.....	50
Figure 10 : Homologie entre l'homme et le chien et entre homme et souris pour 4 gènes associés au cancer (<i>MET</i> , <i>IGF1-R</i> , <i>KIT</i> et <i>mTOR</i>).....	55
Figure 11 : Schéma simplifié de l'évolution du chien représentant les deux goulots d'étranglement	66
Figure 12 : Représentation schématique des relations d'orthologie entre les génomes canins et humains.....	71
Figure 13 : Schéma simplifié de la stratégie en deux étapes des études pangénomiques d'association.....	74
Figure 14 : Déroulement des étapes pour l'identification d'un gène.	75
Figure 15 : Extrait des résultats statistiques obtenus lors de l'étude d'association sur le groupe de chiens greyhound	77
Figure 16 : Les étapes successives du processus métastatique, d'une tumeur primaire jusqu'au développement d'une maladie métastatique touchant les poumons	91
Figure 17 : Résultat de l'imagerie de fluorescence sur le tissu pulmonaire de souris chez lesquelles des cellules d'ostéosarcome ont été injectées	96
Figure 18 : Intervalle de rémission chez le chien et chez l'enfant en fonction de l'expression de la protéine Ezrin dans la tumeur	97
Figure 19 : Les stratégies possibles pour bloquer un récepteur membranaire à l'origine du phénotype cancéreux.....	121

Figure 20 : Les différentes phases d'un essai clinique.	125
Figure 21 : Partie distale du radius d'un chien atteint d'ostéosarcome appendiculaire après mise en place d'une allogreffe	134
Figure 22 : Résultat de l'immunophénotypage par fluorescence du RGD-A-TNF sur des cellules endothéliales tumorales et des cellules endothéliales saines, avant traitement et après traitement (à T0 + 6 heures et T0 + 4 jours)	148
Figure 23 : Graphique représentant la concentration moyenne en rapamycine en fonction du temps (sur 48 heures), après une injection unique à T0, pour différentes doses.....	153
Figure 24 : Image en PET-SCAN réalisée sur un chien atteint de lymphome non-hodgkinien de type B.....	156
Figure 25 : Technique utilisée pour la nébulisation des chiens.....	165
Figure 26 : Mise en parallèle des voies de développement thérapeutique chez le chien et chez l'homme	170
Figure 27 : Les centres universitaires membres du Comparative Oncology Trials Consortium	174
Figure 28 : Protocole d'un essai clinique du COTC	177
Figure 29 : Voie de développement d'une molécule anticancéreuse dans le cadre d'une approche comparative intégrée avec le chien domestique	180

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Comparaison de l'ostéosarcome du chien et de l'homme	29
Tableau 2 : Analyse comparée de la dérégulation des gènes et des voies de signalisation impliquées dans la tumorigenèse mammaires	42
Tableau 3 : Caractéristiques idéales d'un modèle de cancer humain et comparaison entre les modèles in vitro, la souris et les tumeurs spontanées du chien.	57
Tableau 4 : Prédisposition raciale pour certaines tumeurs canines	68
Tableau 5 : Tableau simplifié et non exhaustif des différents inhibiteurs de tyrosine kinase ayant une autorisation de mise sur le marché chez l'homme et chez le chien.....	137

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Arbre phylogénique de la famille des Canidés	185
Annexe 2 : Pedigree d'une famille de bergers allemands où ségrège l'allèle mutant RNCD	186
Annexe 3 : Tableau de comparaison des différents ITK ayant une AMM chez le chien.....	187
Annexe 4 : Tableaux de comparaison des différents ITK ayant une AMM chez l'homme.....	188

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAVP : *adeno-associated virus phage vector*
ACT : *interdisciplinary consortium for accelerated cancer translational research*
ADN : acide désoxyribonucléique
AINS : anti-inflammatoires non stéroïdien
AMARoC : cancer animaux, modèles pour la recherche en oncologie comparée
AMM : autorisation de mise sur le marché
AVIESAN : alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé
BCG : bacille de Calmette Guérin
BOD : dose optimale biologique
CCOGC : *canine comparative oncology genomics consortium*
CGH : hybridation génomique comparative
CML : leucémie myéloïde chronique
CNA : copy number aberration
COG : *children's oncology group*
COP : *comparative oncology program*
COTC : *comparative oncology trials consortium*
CRUK : cancer research UK
CSC : cellule souche cancéreuse
CTV : carcinome transitionnel de la vessie
DDAVP : desmopressine
DMT : dose maximale tolérée
EFC : exposition à la fumée de cigarette
EORTC : organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer
ER : *oestrogen receptor*
FDA : *food and drug administration*
FISH : *fluorescence in situ hybridization*
FLT : F-fluorothymidine
Gb : gigabase
GEM : *genetically engineered mice*
GIST : tumeur stromale gastro-intestinale
GVHD : maladie du greffon contre l'hôte
GWAS : *genome-wide association study*
IC95% : intervalle de confiance à 95 %
IFN γ : interféron gamma
IL : interleukine
INCa : institut national du cancer
IRM : imagerie par résonance magnétique
ITK : inhibiteur du récepteur tyrosine kinase
L-MTP-PE : *liposomal muramyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine*
Mb : mégabase
MEC : matrice extracellulaire
MPCO : maladie pulmonaire chronique obstructive
mTOR : *mammalian target of rapamycin*
NCI : *national cancer institute*
OMS : organisation mondiale de la santé
ONIRIS : école nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes-Atlantique

PAC-1 : *caspase auto-activating compound derivative-1*
PD Core : *Pharmacodynamic Core*
PEG-TNF : TNF conjugué au PEG
PMEG : 9-(2-phosphonulmethoxethyl)guanine
PR : *progesterone receptor*
RCND : cystadénocarcinome rénal et dermatofibrose nodulaire
RECIST : *response evaluation criteria in solid tumors*
RGD : arginine-glycine-aspartate
RTK : récepteur tyrosine kinase
SCF : *stem cell factor*
SCID : *severe combined immunodeficiency*
SNP : *single nucleotid polymorphism*
TMA : *tissu micro-array*
TTP : temps de progression tumorale
VCS : *veterinary cancer society*
VEGF : *vascular endothelial growth factor*

INTRODUCTION

Le cancer est l'une des principales causes de mortalité chez l'homme dans les pays industrialisés. Il s'agit maintenant de la première cause de mortalité humaine tous âges confondus. Sa prévalence ne cesse d'augmenter du fait de l'augmentation de l'espérance de vie et des méthodes de diagnostic plus poussées permettant de déceler des cancers qui jusqu'alors passaient inaperçus (Withrow *et al.*, 2012). C'est la maladie, avec les maladies cardiovasculaires comme l'infarctus, qui fait le plus peur aux Français d'après une enquête TNS-SOFRES réalisée en 2008 (TNS SOFRES. *Les maladies les plus redoutées par les Français*. [En ligne]. (Mise à jour le 05/03/2008). [<http://www.tns-sofres.com/etudes-et-points-de-vue/les-maladies-les-plus-redoutees-par-les-francais>]. (Consulté le 11/02/2014).).

C'est aussi le cas pour les carnivores domestiques. Entre 20 et 25 % de la mortalité chez les chiens domestiques sont attribuables à un cancer (indépendamment de l'âge et du sexe) alors qu'un autre chiffre indiquait que plus de 45 % des chiens de plus de 10 ans mouraient d'un cancer (Bronson, 1982 ; Karayannopoulou *et al.*, 2001). Chaque année, ce ne sont pas moins de six millions de chiens domestiques aux États-Unis qui se voient diagnostiquer un cancer (Paoloni et Khanna, 2008).

Le cancer est une maladie sévissant depuis toujours. Sa première définition fut donnée par Hippocrate au 4^{ème} siècle avant Jésus-Christ, qui l'avait décrit comme une « *tumeur dure, non inflammatoire, ayant tendance à la récurrence et à la généralisation, amenant à une issue fatale* » (Imbault-Huart, 1984). On l'appelait alors « *carcinome* » ou « *squirre* » ce que le latin a traduit en « *cancer* » en raison de l'aspect de sa propagation à l'image des pattes d'un crabe. Il se définit comme un ensemble de maladies d'origine génétique se traduisant par une prolifération illimitée et autonome de cellules ayant acquis des capacités leur permettant d'échapper aux mécanismes de régulation de l'organisme.

En dépit des énormes progrès réalisés ces dernières années, le cancer reste une maladie dont les espoirs de guérison sont faibles. Il évolue de façon insidieuse, se développe lentement et parfois sans manifestation extérieure, peut toucher n'importe quel individu quel que soit son âge, son sexe ou son environnement. Les traitements sont parfois longs et difficiles pour l'individu atteint, avec notamment de nombreux effets secondaires, pour un résultat qui n'est pas certain. Des récurrences sont fréquentes, associées à des phénomènes de résistance et à l'apparition de métastases à distance du foyer initial (Withrow *et al.*, 2012).

Il est donc important de s'intéresser à ces maladies en vue d'améliorer leur diagnostic, leur pronostic, les différentes modalités thérapeutiques mais aussi leur prévention. La recherche contre le cancer a fait de grands pas jusqu'à maintenant, en développant de nouveaux moyens de décortiquer les mécanismes de l'oncogenèse grâce à l'essor de la biologie moléculaire et en créant de nouvelles thérapies, toutefois le chemin semble encore long pour éradiquer ce fléau et il paraît opportun de rechercher de nouveaux modèles d'étude plus représentatifs de l'immense complexité du cancer chez l'homme.

Le cancer apparaît de façon spontanée chez les carnivores domestiques et semble partager de nombreuses caractéristiques avec celui de l'homme comme son aspect histologique, ses mécanismes génétiques, ses cibles moléculaires, son comportement biologique et les réponses aux thérapies conventionnelles que sont la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie (Paoloni et Khanna, 2008 ; Vail et MacEwen, 2000).

C'est à partir de ce constat qu'est née l'oncologie comparée, discipline à part entière qui intègre l'étude des cancers d'apparition spontanée chez les carnivores domestiques, en particulier le chien, dans la recherche contre le cancer chez l'homme. Cet engouement s'est traduit en 2003 par la création du *Comparative Oncology Program* (COP) par le *National Cancer Institute* (NCI) aux États-Unis.

L'objectif de notre travail bibliographique sera d'expliquer l'intérêt d'utiliser le chien domestique comme modèle pour l'oncologie humaine et de rappeler à la communauté scientifique en Europe l'utilité d'une approche comparative pour lutter contre le cancer. Nous avons ainsi l'espoir que se développe dans notre « vieux continent » le même genre de projet.

Dans la première partie, nous démontrons en quoi le chien domestique est un bon modèle pour la cancérologie humaine. Dans la seconde partie, nous rappelons quels ont été les apports du chien domestique dans l'histoire de la recherche contre le cancer. La troisième partie illustre les multiples participations du chien dans l'optimisation et l'élaboration de nouveaux traitements puis s'attarde sur l'initiative du NCI qui intègre, dans un travail collaboratif, les chiens de propriétaire atteints de cancer dans des essais cliniques pour l'homme.

**PREMIÈRE PARTIE : DANS QUELLE MESURE
LE CHIEN DOMESTIQUE EST-IL UN BON MODÈLE
POUR LA CANCÉROLOGIE HUMAINE ?**

1. INTRODUCTION DE LA PREMIÈRE PARTIE

Nos carnivores domestiques et en particulier le chien partagent avec l'homme une multitude de maladies. Parmi ces maladies figure le cancer qui ne semble épargner aucune espèce. Le besoin de nouveaux modèles pertinents et efficaces dans la lutte contre le cancer provient du constat que ceux que l'on utilise de façon commune (rongeurs, cultures cellulaires, simulations mathématiques) ne permettent pas toujours de diminuer suffisamment les risques d'échec lors des essais cliniques chez l'homme ni d'optimiser le traitement médical administré (Peterson et Houghton, 2004 ; Porrello *et al.*, 2004). Cela nous amène à nous intéresser au meilleur ami de l'homme qui paraît, par bien des points, être un bon modèle pour les études translationnelles sur le cancer.

Certains se sont attachés à établir les paramètres nécessaires à un modèle animal pour étudier les cancers (Knapp et Waters, 1997). On doit retrouver :

- des caractéristiques histologiques semblables ;
- des caractéristiques moléculaires proches comme l'expression de facteurs de croissance et de leurs récepteurs, des anomalies cytogénétiques dans les gènes suppresseurs de tumeurs, des anomalies de ploïdie de l'ADN ;
- un comportement biologique tumoral similaire, notamment une propension à envahir les tissus voisins et à métastaser ;
- le même profil de réponse aux traitements conventionnels comme la chimiothérapie et la radiothérapie.

Cette première partie de travail bibliographique va démontrer en quoi le chien est un bon modèle pour l'étude du cancer chez l'homme. Tout d'abord, le chien présente des cancers de façon spontanée sur tous les appareils de l'organisme. La nature de certains cancers et leur localisation sont partagées entre ces deux espèces. Le développement tumoral et les mécanismes de l'oncogenèse sont similaires. Enfin, le chien présente des avantages certains par rapport à la souris utilisée comme modèle.

2. LE CHIEN DOMESTIQUE PRÉSENTE DES CANCERS DE FAÇON SPONTANÉE : HISTOIRE NATURELLE DES CANCERS

Le cancer est l'une des principales causes de mortalité chez les chiens domestiques. Selon les études environ 25 % des morts chez les chiens âgés sont attribuables à un cancer (tous types confondus) et certaines races semblent être surreprésentées en terme d'incidence et de mortalité (Adams *et al.*, 2010 ; Cadieu et Ostrander, 2007 ; Paoloni et Khanna, 2007). D'autres chiffres indiquent que parmi plus de 60 millions de chiens vivant aux États-Unis, pas moins de 45 % des plus de dix ans meurent d'un cancer (Bronson, 1982 ; Withrow *et al.*, 2012).

Selon une étude menée sur des chiens dans le nord de l'Italie, la prévalence du cancer serait de 143 pour 100 000 chiens (Merlo *et al.*, 2008). Ce taux ne cesse d'augmenter chaque année. Cela résulte d'une augmentation de l'incidence globale du cancer, d'une augmentation de la population de chiens qui sembleraient plus « à risque », et surtout d'un besoin grandissant des propriétaires d'obtenir un diagnostic et de déployer l'ensemble des options thérapeutiques pour sauver leur animal.

Il convient de rappeler la difficulté d'obtenir des chiffres fiables concernant la prévalence et l'incidence ; cela varie selon les populations étudiées (chiens assurés ou non, pays de la population cible) et les protocoles utilisés. La présence de biais est certaine. Le grand nombre de nouveaux individus atteints chaque année permet de réunir un nombre suffisant de cas pour mener des études ou des essais cliniques et obtenir des résultats pertinents.

De façon similaire à l'homme, les études épidémiologiques indiquent que certains types tumoraux sont beaucoup plus fréquents chez le chien. Citons, par ordre décroissant de fréquence : le mastocytome, le lymphome non-hodgkinien puis les tumeurs mammaires (âge et sexe confondus). Les tumeurs sont principalement de type sarcome, c'est-à-dire des tumeurs dont l'origine est une cellule mésenchymateuse, tandis que l'homme présente surtout des tumeurs de type carcinome dont l'origine est une cellule épithéliale (Khanna *et al.*, 2009).

De même, les cancers spontanés du chien produisent des métastases et sont l'objet de résistances et de récidives face aux traitements conventionnels. Certaines thérapies amènent à une rémission mais la guérison totale est rare. La cause de la mort est majoritairement due au processus métastatique plutôt qu'à la tumeur initiale, se répartissant sur les poumons, le foie et le système nerveux (Khanna et Hunter, 2005 ; Paoloni et Khanna, 2008).

L'ensemble des appareils de l'organisme peut être touché et aucun type cellulaire n'est épargné : peau (mastocytome, mélanome, histiocytome, fibrosarcome,...), os (ostéosarcome), cellules circulantes (leucémie), tissus mous (hémangiosarcome, rhabdomyosarcome), système nerveux (méningiome, gliome), système lymphatique (lymphome), système uro-génital (carcinome transitionnel de la vessie (CTV), adénocarcinome prostatique), glandes mammaires. La liste est bien évidemment non exhaustive.

Les tumeurs peuvent être bénignes avec une croissance lente, bien délimitée, bien différenciée, une concentration cellulaire faible, une faible activité mitotique, une absence de métastases et des récidives rares, ou malignes avec une croissance rapide, invasive, mal délimitée, un tissu hétérogène et non différencié, des divisions cellulaires en grande quantité, un taux de métastases élevé et des

récidives fréquentes. Ces dernières prennent communément le nom de cancer. Notre travail traitera exclusivement des tumeurs malignes ou cancer compte tenu de leur intérêt médical.

3. LA NATURE DE CERTAINS CANCERS EST PARTAGÉE

3.1. État actuel de l'épidémiologie du cancer chez l'homme

En France, le cancer est la première cause de décès chez l'homme derrière les maladies cardiovasculaires, depuis 1988 chez l'homme et depuis 2002 chez la femme comme l'indiquent les estimations de 2012 de l'institut Gustave Roussy pour la population française (GUSTAVE ROUSSY. *Épidémiologie du cancer en France* [En ligne]. (Mise à jour le 09/06/2013). [http://www.gustaveroussy.fr/fr/page/epidemiologie-du-cancer-en-france_81]. (Consulté le 16/02/2014).). Il s'agit d'une maladie redoutable et redoutée dont l'incidence ne cesse d'augmenter tandis que la mortalité reste à un niveau constant.

En France en 2011, on estime à environ 365 000 les nouveaux cas de cancers (207 000 pour les hommes et 158 500 pour les femmes). Le nombre de décès annuel par le cancer augmente (augmentation de 106 000 à 149 000 soit 41% entre 1968 et 2005), mais il faut tenir compte également de l'augmentation de la taille de la population et de son vieillissement (GUSTAVE ROUSSY. *Épidémiologie du cancer en France* [En ligne]. (Mise à jour le 09/06/2013). [http://www.gustaveroussy.fr/fr/page/epidemiologie-du-cancer-en-france_81]. (Consulté le 16/02/2014).).

En Europe en 2012, le nombre de morts par le cancer est estimé à un peu plus de 1 280 000 cas (Malvezzi *et al.*, 2013). Dans le monde, entre 1980 et 2005, on est passé de 278 à 392 cas pour 100 000 hommes et de 177 à 254 cas pour 100 000 femmes (INVS et INCa. *Les chiffres clés du cancer*. [En ligne]. (Mise à jour le 16/04/2013). [http://www.ligue-cancer.net/article/6397_les-chiffres-clés-des-cancers#.UwD0evl5MrU]. (Consulté le 16/02/2014).).

En terme d'incidence, certains cancers sont très fréquents et se partagent la grande majorité des cas. Les trois cancers les plus fréquents par ordre décroissant sont les cancers de la prostate (environ 29 % des nouveaux cas), des poumons (14 %) puis du colon-rectum (9 %). Chez la femme, on retrouve surtout les cancers du sein (29 %), des poumons (14 %) puis du colon rectum (7 %). Ces chiffres sont des estimations de l'*American Cancer Society* (Siegel *et al.*, 2013). Il est essentiel de bien faire la différence entre l'incidence d'un cancer et sa mortalité. Ainsi, un cancer peut être très fréquent comme le cancer de la prostate mais avoir une mortalité faible. D'autres cancers, comme le cancer du pancréas, sont rares mais avec une forte mortalité dont les chiffres en valeur absolue sont du même ordre de grandeur que le cancer de la prostate.

Le cancer du sein est la première cause de mort par le cancer parmi les femmes nord-américaines, comptant pour presque 30 % de l'ensemble des cancers. De façon similaire les tumeurs mammaires sont les cancers les plus fréquents chez la chienne (Porrello *et al.*, 2006).

3.2. Les modèles tumoraux pertinents pour les études translationnelles

Les chercheurs se sont attachés à rechercher des tumeurs du chien qui présentent un intérêt d'étude translationnel avec l'homme. On peut citer l'ostéosarcome, le mastocytome, les tumeurs mammaires, le mélanome, le lymphome non-hodgkinien, le carcinome transitionnel de la vessie, les tumeurs de la prostate, les sarcomes de tissus mous dont l'hémangiosarcome, les tumeurs nasales, les carcinomes pulmonaires, les tumeurs cérébrales. On dénombre ainsi au moins une douzaine de types histologiques tumoraux d'intérêt (Dobson, 2013 ; Knapp et Waters, 1997 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Rowell *et al.*, 2011 ; Vail et MacEwen, 2000). Voyons les principaux.

3.2.1. L'ostéosarcome

L'ostéosarcome canin est une tumeur maligne de l'os très agressive. Elle atteint en particulier les os longs chez des individus âgés de races de taille géante. Chez l'homme, elle touche principalement des adolescents d'un âge moyen de 14 ans et de grand gabarit. Le chien est un modèle intéressant puisque ce cancer est environ dix fois plus fréquent que chez son homologue humain et qu'il partage de nombreuses similitudes avec celui-ci (Gorlick et Khanna, 2010 ; Mueller *et al.*, 2007 ; Withrow et Wilkins, 2010). Ces similitudes sont rappelées dans le *tableau 1*.

Le taux d'apparition des métastases dans les deux ans suivant une chirurgie est évalué à 90 % (Gorlick et Khanna, 2010) chez le chien, et à 80 % chez l'homme (Vail et MacEwen, 2000). Dans les deux espèces, les métastases se développent dans des sites préférentiels comme les poumons, les os et les tissus mous. La grande taille du chien a permis aux chirurgiens oncologistes de développer des techniques de préservation du membre atteint sans recourir à l'amputation (Ranieri *et al.*, 2013a; Withrow et Wilkins, 2010). De plus, son profil métastatique connu et prévisible et sa relative résistance à la chimiothérapie font de l'ostéosarcome canin une tumeur particulièrement attractive pour approfondir les approches anti-métastatiques (comme le L-MTP-PE) et de nouvelles méthodes d'administration comme la chimiothérapie intra-artérielle ou intra-cavitaire. L'ostéosarcome canin semble également intéressant à inclure dans le développement translationnel des traitements reposant sur l'inhibition de la voie mTOR qui contribue à la croissance, la progression et la chimiorésistance de certains cancers (Ranieri *et al.*, 2013a).

Tableau 1 : Comparaison de l'ostéosarcome du chien et de l'homme. Adapté d'après Withrow et Wilkins (2010).

Variables	Chien	Homme
Âge moyen	7 ans (individu mature)	14 ans (adolescence)
Sexe	Surtout des mâles	Surtout des hommes
Race	Race grande à géante	Pas applicable
Catégorie de poids	90 % > 20 kg	Individus lourds
Localisation	Os long à 77 % Métaphyse Radius distal > humérus proximal > fémur distal > tibia	Os long à 90 % Métaphyse Fémur distal > tibia proximal > humérus proximal
Etiologie	Généralement inconnue	Généralement inconnue
% de cas avec atteinte exclusive des membres à la présentation	80 – 90 %	80 – 90 %
% de cas avec un haut grade histologique	95 %	85 – 90 %
Indice de l'ADN	75 % d'aneuploïdie	75 % d'aneuploïdie
Indicateurs pronostiques défavorables	Jeune âge, phosphatase alcaline augmentée	Phosphatase alcaline augmentée, expression du gène <i>MDR1</i> augmentée
Taux d'apparition de métastases sans chimiothérapie	90 % avant 1 an	80 % avant 2 ans
Lieu de métastases	Poumons > os > tissus mous	Poumons > os > tissus mous
Amélioration de l'espérance de vie avec la chimiothérapie	Oui	Oui
Durée de la chimiothérapie adjuvante	Entre 4 et 6 cycles	1 an maximum
Mise en évidence de métastases dans le nœud lymphatique régional	De faible pronostic	De faible pronostic
Réparation chirurgicale	Souvent par arthrodèse	Souvent par des prothèses articulaires

3.2.2. Les tumeurs mammaires

Les tumeurs mammaires canines sont sans aucun doute un bon modèle d'étude pour comprendre et lutter contre le cancer du sein chez la femme (Antuofermo *et al.*, 2007 ; Mahé, 2010 ; Pinho *et al.*, 2012 ; Porrello *et al.*, 2006).

La glande mammaire saine présente de fortes similitudes chez la femme et chez la chienne dans sa structure histologique que ce soit les systèmes de vascularisation ou d'innervation. Les tumeurs sont principalement des carcinomes dans les deux espèces et les classifications tumorales qu'elles soient histologiques ou moléculaires sont transférables de la femme à la chienne (Mahé, 2010 ; Mollard *et al.*, 2011 ; Nielsen *et al.*, 2004 ; Sorlie *et al.*, 2001).

Les tumeurs mammaires sont fréquentes chez les individus d'âge moyen à élevé, comptant pour presque 50 % de l'ensemble des tumeurs chez les chiennes (Porrello *et al.*, 2006). Elles ont un comportement métastatique similaire au cancer du sein : une première étape au nœud lymphatique régional puis dissémination aux poumons. L'apparition de ces tumeurs est clairement sous dépendance hormonale comme le démontre le fort effet protecteur de la stérilisation avant le premier œstrus (Pinho *et al.*, 2012). Un facteur pronostique chez la femme est la présence de récepteurs aux hormones sexuelles (œstrogène et progestérone), synonyme de forte malignité. Chez la chienne cette correspondance fait encore débat (Pinho *et al.*, 2012) mais certains auteurs soulignent que les tumeurs mammaires restent un modèle de choix pour les cancers du sein non hormono-dépendants (Porrello *et al.*, 2006).

La chimiothérapie est peu efficace chez la chienne contrairement au cancer du sein chez la femme où certaines cibles moléculaires peuvent être affectées. L'intérêt des tumeurs mammaires de la chienne comme modèle se retrouve notamment pour tester l'utilité de certaines molécules agissant comme des modificateurs de la réponse biologique (desmopressine, interleukine 2, interféron, anticorps monoclonaux, facteurs de croissance).

3.2.3. Le mastocytome

Le mastocytome canin est une tumeur commune de la peau du chien (Dobson, 2013). Son incidence est beaucoup plus élevée que celle rencontrée chez l'homme (Ranieri *et al.*, 2003), toutefois il s'avère être un excellent modèle pour les tumeurs humaines présentant une mutation de l'oncogène *KIT*, par exemple les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). Il octroie l'opportunité d'étudier le rôle des mastocytes dans le mécanisme de l'angiogenèse et d'explorer de nouvelles thérapies anti-angiogéniques à base d'inhibiteurs de tyrosine kinases (Gotlib, 2006 ; Ranieri *et al.*, 2013b, 2003 ; Webster *et al.*, 2006).

3.2.4. Le mélanome de la cavité buccale

Le mélanome est un cancer de la peau dû à la multiplication incontrôlée de cellules d'origine ectodermique : les mélanocytes. Il représente environ 4% des tumeurs cutanées chez le chien (Dobson, 2013). Il présente plusieurs tropismes distincts comme la peau, les lèvres, les doigts et les yeux, toutefois on le retrouve fréquemment dans la muqueuse de la cavité buccale (Gillard *et al.*, 2014). Chez l'homme la localisation est principalement cutanée et l'atteinte de la muqueuse buccale est rare. Cependant elle témoigne de grandes similarités avec le mélanome oral chez le chien (MacEwen, 1990 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Simpson *et al.*, 2014). Le comportement biologique est similaire, comme sa forte malignité avec un taux de métastases locales et à distance élevé (MacEwen, 1990 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Simpson *et al.*, 2014).

La chimiothérapie et la radiothérapie se sont avérées plutôt décevantes du fait du développement de résistances (Porrello *et al.*, 2006). À ce titre, le mélanome malin à tropisme buccal constitue un bon modèle pour le mélanome humain en matière de recherche de nouveaux traitements innovants (Fukumoto *et al.*, 2013 ; Tabaries, 2009 ; Tamura *et al.*, 2008). Les investigations se portent par exemple sur des stratégies anti-métastatiques (MacEwen *et al.*, 1999) et sur l'immunothérapie (Bergman *et al.*, 2003 ; Caplier, 2008 ; Gyorffy *et al.*, 2005).

3.2.5. Le lymphome non-hodgkinien

Le lymphome non-hodgkinien est un cancer touchant les tissus lymphoïdes comme les nœuds lymphatiques, la rate ou la moelle osseuse mais il peut apparaître dans n'importe quel tissu. Il est commun chez le chien et il partage des caractères cliniques, cytogénétiques et morphologiques avec celui de l'homme (Ito *et al.*, 2014 ; Marconato *et al.*, 2013 ; Ponce *et al.*, 2010 ; Ranieri *et al.*, 2013a). Le lymphome non-hodgkinien canin est bien spontané car il ne semble pas associé à une infection virale comme le virus d'Epstein-Barr chez l'homme (Withrow *et al.*, 2012).

Les données récentes suggèrent qu'il est un modèle intéressant pour étudier le rôle de l'angiogenèse et certains de ses marqueurs biologiques comme le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) ou la densité micro-vasculaire (Zizzo *et al.*, 2010). Son traitement nous amène à évaluer de nouvelles modalités thérapeutiques comme la voie anti-angiogénique et la chimiothérapie à action ciblée (Ranieri *et al.*, 2013a; Vail *et al.*, 2009). Enfin, un autre auteur suggère son utilisation comme modèle d'étude de l'immunothérapie et des mécanismes de résistance (Crow, 2008 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Stein *et al.*, 2011).

3.2.6. Le carcinome à cellules transitionnelles de la vessie

Le carcinome transitionnel de la vessie (CTV) est une tumeur vésicale d'origine épithéliale. C'est la forme la plus commune des cancers de la vessie chez le chien et il représente environ 2% des cancers comme chez l'homme. Outre les similitudes épidémiologiques et cliniques, les anomalies moléculaires ou cellulaires communes et les réponses au traitement équivalentes, le CTV canin a un rôle capital dans les enquêtes épidémiologiques pour évaluer les facteurs de risque liés à l'environnement comme nous le verrons dans la partie 2 (Knapp et Waters, 1997). Il permet par ailleurs de tester la stratégie de l'inhibition de la voie de signalisation COX pour le piroxicam (Porrello *et al.*, 2006).

3.2.7. Les tumeurs prostatiques

Le cancer de la prostate du chien, bien que rare et difficile à réellement mettre en évidence du fait de la confusion possible avec des tumeurs d'origine strictement urétrale, est le seul modèle spontané du carcinome prostatique humain (Cornell *et al.*, 2000 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Rossignol, 2001). Il peut potentiellement aider à redéfinir de nouvelles approches face à cette maladie non seulement pour sa thérapie mais aussi pour sa prévention. Il s'agit d'un outil intéressant pour tester l'approche de la thérapie génique par vectorisation virale (Andrawiss *et al.*, 1999). Le cancer de la prostate du chien reste néanmoins un modèle controversé du fait de différences histologiques majeures avec la tumeur correspondante de l'homme. Par exemple, les cancers prostatiques chez l'homme proviennent majoritairement de la zone périphérique tandis que chez le chien la cellule d'origine n'est pas clairement identifiée, même si l'épithélium ductulaire proche de la zone péri-urétrale semble être impliqué (Tabaries, 2009).

3.2.8. Les sarcomes des tissus mous, exemple de l'hémangiosarcome

En règle générale les sarcomes des tissus mous chez le chien ont une présentation clinique, une apparence histologique et un comportement biologique qui sont similaires à ceux retrouvés chez l'homme (Lejeune, 2008 ; Rowell *et al.*, 2011). Ce sont des tumeurs relativement rares chez l'homme, mais elles sont agressives et le traitement de choix est une exérèse large, associée à une chimiothérapie et une radiothérapie adjuvante (Porrello *et al.*, 2006 ; Withrow *et al.*, 2012). À ce titre, ces sarcomes du chien sont d'excellents modèles pour évaluer l'efficacité de ces modalités thérapeutiques. Compte tenu de leur détection tardive entraînant la découverte de masses tumorales de taille conséquente chez le chien, les sarcomes des tissus mous canins sont de bons candidats pour les protocoles visant à un contrôle tumoral local, par exemple la radiothérapie couplée à l'hyperthermie (Thrall *et al.*, 1996).

L'hémangiosarcome canin est une tumeur spontanée très agressive. Des cellules endothéliales majoritairement de la rate, du foie ou de l'oreille cardiaque droite sont à l'origine de cette tumeur. Le berger allemand fait partie des races fortement prédisposées à développer ce cancer (Dobson, 2013). La recherche des anomalies génétiques à l'origine de ce cancer dans cette race pourrait permettre de découvrir des gènes de prédisposition à ces cancers chez l'homme (Wayne et Ostrander, 2007).

3.3. Formation d'un véritable panel de modèles tumoraux

Nous venons de voir que chaque type tumoral représente un modèle à part entière dans l'étude du cancer chez l'homme. On les utilise non seulement pour en apprendre davantage sur la tumeur en question mais aussi pour explorer des mécanismes particuliers de la cancérogenèse au sein desquels on pourrait bien les mettre en valeur : processus métastatique, angiogenèse, récurrence, résistance aux traitements. L'ensemble de ces tumeurs vient à former une sorte de panel de modèles tumoraux qui permettent d'étudier la question du cancer dans sa totalité, de son étiologie à son traitement.

3.4. Des prévalences parfois différentes

Chez le chien, les tumeurs les plus fréquentes sont les sarcomes et les lymphomes (Withrow *et al.*, 2012). En revanche, ce sont des carcinomes que l'on retrouve majoritairement chez l'homme. Ils atteignent souvent le poumon, la prostate, l'appareil gastro-intestinal et le sein (Paoloni et Khanna, 2008). De même, certains cancers existent dans une espèce mais pas chez l'autre. L'exemple le plus évocateur est celui du sarcome de Sticker, tumeur vénérienne contagieuse chez le chien dont la transmission se fait par contact génital. Cette tumeur n'existe pas chez l'homme.

Ainsi, il est bien évident que toutes les tumeurs du chien ne sont pas pertinentes pour explorer leur homologue chez l'homme, tout d'abord parce que certaines ont des caractéristiques qui sont propres à l'espèce canine, mais aussi tout simplement parce que certaines ne se retrouvent que dans une seule espèce.

À présent, un cancer est surtout étudié à travers les mécanismes qui le caractérisent plutôt que par son aspect histologique seul. On remarque fréquemment que deux cancers pourtant différents histologiquement sont semblables par leurs mécanismes. Pour exemple, le mastocytome canin et les tumeurs stromales gastro-intestinales de l'homme sont souvent semblables par leur origine génétique (Gregory-Bryson *et al.*, 2010), d'où une méthode d'approche pour le traitement presque identique (Paoloni et Khanna, 2007).

En clair, un modèle sera souvent plus pertinent s'il présente une signature génétique voisine que si la ressemblance n'est observée qu'au niveau histologique *sensu stricto*. Néanmoins l'histologie garde tout son intérêt pour le diagnostic, le pronostic et le suivi d'un cancer.

4. UN PROCESSUS TUMORAL SIMILAIRE

Le cancer est une maladie génétique se caractérisant par une prolifération cellulaire exagérée au sein d'un tissu de l'organisme. Une cellule normale devient une cellule cancéreuse grâce à un ensemble de transformations à l'origine de caractéristiques particulières lui octroyant la possibilité de se diviser indéfiniment, c'est ce que l'on appelle la **cancérogenèse**. Ces transformations sont déterminées par des modifications génétiques au sein de gènes particuliers, il s'agit de l'**oncogenèse**. Les cellules cancéreuses forment une tumeur qui a la capacité de créer de nouveaux vaisseaux sanguins et de se répandre dans l'ensemble de l'organisme grâce au processus métastatique. Ce phénomène de croissance tumorale est la **tumorigenèse**. Cette sous-partie constitue un rappel de ces principes communs (Withrow *et al.*, 2012).

4.1. Le cancer est une maladie monoclonale, multi-étape et multifactorielle

Au départ, une seule cellule est à l'origine du cancer : on parle donc de maladie monoclonale. Cette cellule et l'ensemble de ses descendants acquièrent au fur et à mesure de leurs divisions des mutations qui les transforment peu à peu vers le phénotype cancéreux. Il y a apparition d'anomalies successives sur différents gènes. C'est cette accumulation d'anomalies qui confère aux cellules issues de cette première cellule initiale des capacités d'échappement au contrôle de l'organisme et une agressivité croissante. Il est estimé qu'au moins six événements indépendants sont nécessaires pour le passage d'une cellule normale à une cellule cancéreuse (Hanahan et Weinberg, 2011). Ces événements sont des altérations du matériel génétique comme des mutations ou des changements épigénétiques de la chromatine (Withrow *et al.*, 2012). Enfin, il s'agit d'une maladie multifactorielle car il existe une relation subtile entre génétique et environnement dans l'apparition de ces altérations (Tabaries, 2009). L'ensemble de ces événements transformant une cellule normale en une cellule au phénotype cancéreux est la cancérogenèse.

4.2. Le cancer est une maladie du génome

4.2.1. Les preuves de l'implication des gènes

Le cancer est une maladie qui a une forte part génétique, c'est-à-dire qu'il est dû à une modification du génome des cellules cancéreuses. Cette origine génétique a été suggérée par l'existence de cancers héréditaires et de prédispositions aux cancers dans des familles humaines comme dans le syndrome de Li-Fraumeni, mais aussi par l'existence fréquente d'anomalies du caryotype dans les cellules tumorales (Boveri, 1914 ; Lingaas *et al.*, 2003 ; Nickerson *et al.*, 2002 ; Tabori et Malkin, 2008 ; Thomas *et al.*, 2009, 2005). L'implication de gènes dans la formation des tumeurs ne fait plus aucun doute, que ce soit chez l'homme ou chez le chien (Wayne et Ostrander, 2007). Ces altérations génomiques sont provoquées par différents agents cancérogènes extrinsèques (chimiques, physiques ou viraux) et aussi par des facteurs intrinsèques liés à l'individu comme l'âge, le sexe ou le génotype (Withrow *et al.*, 2012).

4.2.2. Le cycle cellulaire et la cancérogenèse

L'organisme est composé de cellules en prolifération ou quiescentes. Un équilibre se forme entre l'apparition de nouvelles cellules et la mort cellulaire. Les cellules en division subissent un ensemble d'étapes qui constituent le cycle cellulaire. Chaque étape de ce cycle est contrôlée par des « *checkpoints* » ou points de contrôle permettant d'assurer un processus sans anomalies (Withrow *et al.*, 2012).

4.2.2.1. Les étapes du cycle cellulaire

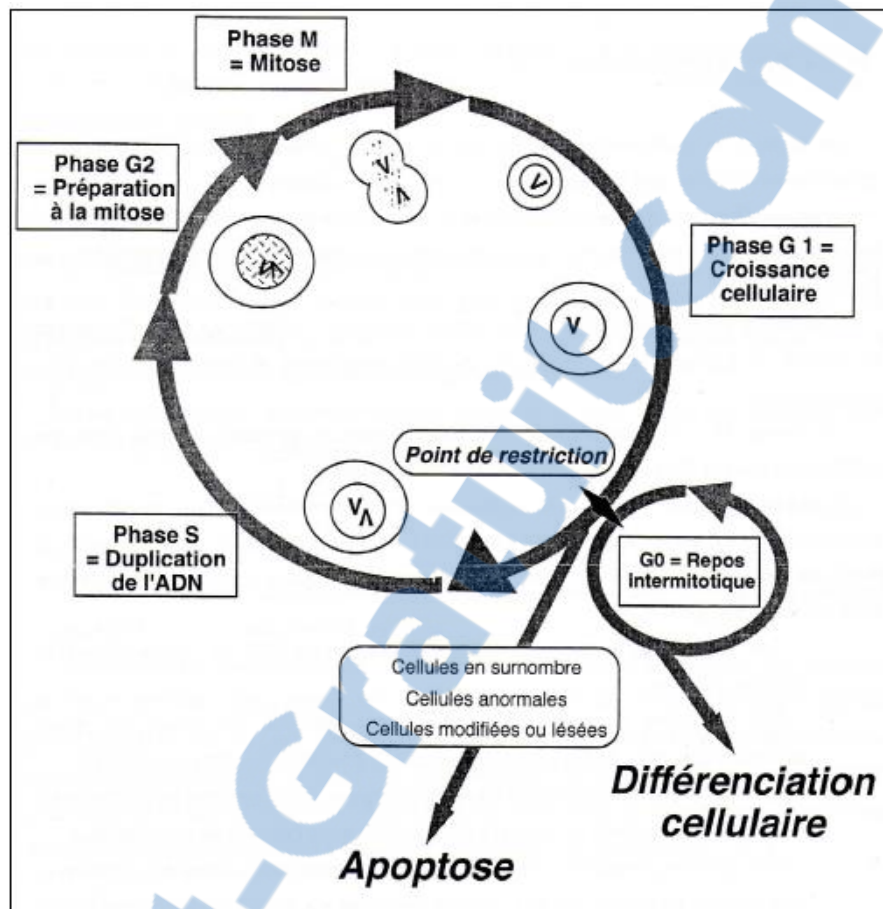
Le cycle cellulaire se divise en quatre phases. La plupart des cellules dans un organisme ne sont pas en division cellulaire et sont donc sorties de ce cycle, elles sont dans un état quiescent correspondant à une phase G0 supplémentaire (Withrow *et al.*, 2012). Ces quatre phases sont (*figure 1*):

- phase M : c'est la mitose au cours de laquelle la cellule mère à 4n chromosomes se sépare en deux cellules filles à 2n chromosomes;
- phase G1 : phase de croissance cellulaire et de synthèse nécessitant de nombreux facteurs de croissance et des nutriments. C'est à la fin de cette étape que la cellule atteint un stade essentiel dit « point de restriction » (R) où elle va soit s'engager vers la phase S (puis vers la division cellulaire) soit vers la phase réversible de quiescence G0, soit vers le processus d'apoptose ;
- phase S : phase de synthèse où le matériel génétique se duplique en deux exemplaires identiques ;
- phase G2 : phase de préparation à la mitose avec synthèse des précurseurs du fuseau.

4.2.2.2. Les mutations et les gènes impliqués dans la dérégulation du cycle cellulaire

Comme indiqué précédemment, ce cycle cellulaire est hautement contrôlé à toutes ses étapes. Il existe des facteurs inhibiteurs et activateurs du cycle dont la somme aboutit à un équilibre. Toute altération de cet équilibre (autrement appelé homéostasie cellulaire) peut conduire à des situations pathologiques comme la formation de cancers. Ces facteurs sont codés par un nombre limité de gènes que l'on retrouve très souvent altérés dans le génome des cellules cancéreuses. Parmi ces gènes, on retrouve des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs (Withrow *et al.*, 2012).

Figure 1 : Le cycle cellulaire. Adaptée d'après Tabaries (2009).



4.2.2.2.1. Les oncogènes

Les proto-oncogènes sont des gènes cellulaires hautement conservés dans l'évolution de telle sorte qu'ils sont partagés par de nombreuses espèces de mammifères. Cette haute conservation suggère qu'ils jouent un rôle clé dans la survie de l'organisme, notamment dans les mécanismes de multiplication et de division cellulaire (Fort, 2007 ; Withrow *et al.*, 2012).

L'activation des proto-oncogènes en oncogènes par des mutations ou des changements épigénétiques est à l'origine d'une synthèse de protéines constitutivement activées qui vont rompre l'équilibre du cycle cellulaire et aboutir au processus de cancérisation. Tous les oncogènes sont dominants c'est-à-dire qu'un seul allèle muté est suffisant pour induire le phénotype mutant.

Les protéines codées par ces oncogènes ont des fonctions que l'on peut regrouper en cinq familles principales, il s'agit :

- 1 - de facteurs de croissance,
- 2 - de récepteurs à activité tyrosine kinase pour des facteurs de croissance,
- 3 - de protéines G permettant la transduction des signaux,
- 4 - de protéines cytoplasmiques à activité kinase,
- 5 - de protéines nucléaires de régulation (essentiellement des facteurs de transcription).

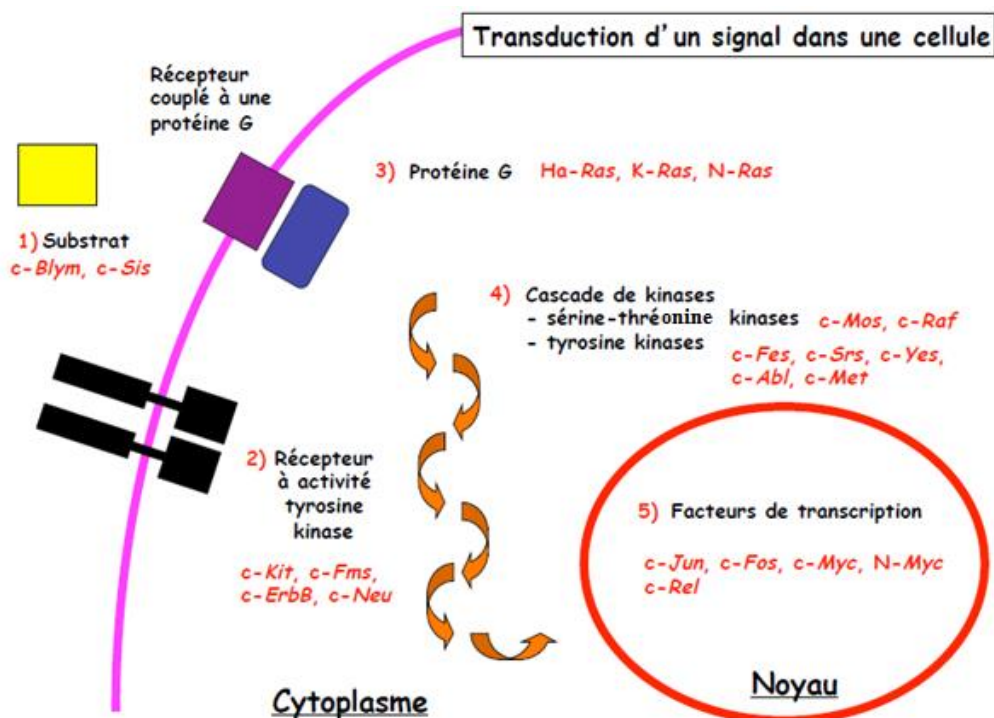
La figure 2 illustre l'intervention de ces molécules au niveau cellulaire et donne des exemples d'oncogènes que l'on rencontre fréquemment chez le chien et l'homme.

L'activation par mutation de ces oncogènes aboutit à un « gain de fonction ». Elle se fait par différents mécanismes que l'on retrouve de façon similaire à la fois chez l'homme et chez le chien : translocation chromosomique (transfert d'un proto-oncogène d'un chromosome sur un autre chromosome à proximité d'un gène ayant un promoteur fort), amplification génique, mutation ponctuelle, insertion d'un génome viral, capture d'un proto-oncogène par un rétrovirus (Breen et Modiano, 2008 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Withrow *et al.*, 2012).

4.2.2.2. Les gènes suppresseurs de tumeur

Ce sont des gènes inhibiteurs de la multiplication cellulaire. Leur nom provient du fait qu'une mutation perte de fonction dans ces gènes favorise l'apparition des cancers. On retrouve les gènes *P53*, *RB*, *p16*, la famille *CDKN2*, *PTEN*, *BRCA1*, *BRCA2* *etc.* Beaucoup de ces gènes participent à la réparation des dommages à l'ADN lors du cycle cellulaire. Ils agissent sur un mode récessif, c'est-à-dire qu'il faut muter les deux allèles du gène pour provoquer un cancer.

Figure 2 : Principaux oncogènes impliqués dans la pathogénie des cancers spontanés chez l'homme.



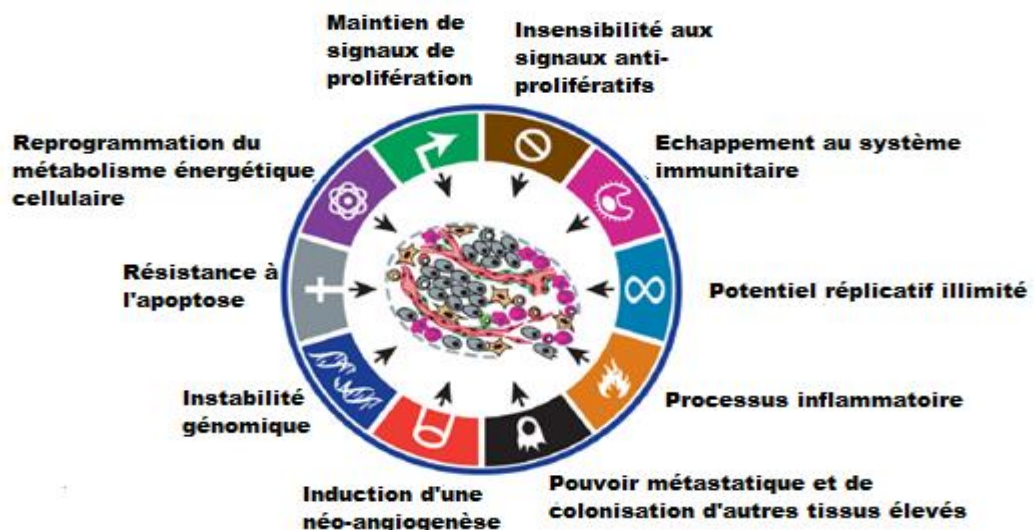
4.2.3. Les caractéristiques élémentaires d'une cellule cancéreuse

La cellule cancéreuse possède des propriétés élémentaires acquises au cours du processus de cancérogenèse. L'ordre d'acquisition de ces propriétés est supposé aléatoire. On en dénombre huit illustrées dans la *figure 3* (Hanahan et Weinberg, 2011) :

- autosuffisance en facteurs de croissance (la cellule reste dans un état de prolifération active sans phase de quiescence),
- insensibilité aux signaux anti-prolifératifs,
- échappement à l'apoptose,
- potentiel répliatif illimité,
- capacité à induire la création de nouveaux vaisseaux (néoangiogenèse),
- pouvoir métastatique donnant à la cellule tumorale la capacité de coloniser d'autres tissus, éloignés de son tissu d'origine,
- échappement au système immunitaire,
- capacité de reprogrammer le métabolisme énergétique.

L'acquisition de ces propriétés dans un temps assez court à l'échelle de la vie de l'organisme est permise grâce à l'instabilité génomique des cellules cancéreuses et par l'activité pro-tumorale du processus inflammatoire péri-tumoral (*figure 3*).

Figure 3 : Les propriétés élémentaires du tissu cancéreux. Adaptée d'après Hanahan et Weinberg (2011).



4.2.4. **Biologie de la croissance tumorale**

Une fois le stade de la cancérogenèse franchi, le tissu tumoral va s'étendre et coloniser peu à peu son environnement proche mais aussi des tissus éloignés. Pour cela, la tumeur augmente sa vascularisation avoisinante via le processus d'angiogenèse puis émet des embolus qui disséminent à distance grâce au processus métastatique. Ces processus de croissance tumorale sont communs à l'homme et au chien (Fosmire *et al.*, 2004 ; Ranieri *et al.*, 2003). Ce dernier s'avère être un bon modèle pour étudier ces mécanismes, identifier des marqueurs biologiques comme des facteurs diagnostiques et pronostiques, comme nous le verrons dans la deuxième partie.

4.3. **Des mutations et des profils d'expression génique en commun**

4.3.1. **Exemples de mutations communes**

Des études rapportent que de nombreux gènes participant au développement d'un cancer chez l'homme le sont aussi chez le chien.

4.3.1.1. Cas de l'ostéosarcome

Lors d'ostéosarcome, par exemple, la mutation du gène *P53* est observée chez le chien comme chez l'homme (Mendoza *et al.*, 1998) bien que chez ce dernier la mutation soit une délétion ou un réarrangement ce qui ne semble pas être le cas chez le chien (Mueller *et al.*, 2007). Le gène *P53* est un gène suppresseur de tumeur, c'est un « gardien du génome ». Il intervient dans la réparation de l'ADN lorsque des erreurs surviennent pendant la phase de réplication. Une perte de fonction de *P53* entraîne une accumulation des erreurs lors de la réplication. Ces erreurs ne sont pas corrigées et sont ensuite fixées après la mitose. Cela conduit à une instabilité génomique et une croissance incontrôlée d'où une transformation cancéreuse. La perte de fonction de *P53* intervient dans de multiples cancers du chien (Gamblin *et al.*, 1997 ; Lee *et al.*, 2004 ; Mayr et Reifinger, 2002 ; Mendoza *et al.*, 1998 ; Pinho *et al.*, 2012, 2012 ; Setoguchi *et al.*, 2001) et de l'homme, chez lequel *P53* est le gène le plus fréquemment inactivé dans les tumeurs sporadiques (Lane, 1992 ; Withrow *et al.*, 2012). D'autres gènes supposés impliqués dans la progression de l'ostéosarcome de l'enfant sont retrouvés dans le modèle canin, comme les gènes *PTEN*, *RB*, *EZRIN*, *C-MET* et *ERBB-2* (De Maria *et al.*, 2009 ; Ferracini *et al.*, 2000 ; Flint *et al.*, 2004 ; Levine *et al.*, 2002 ; Paoloni *et al.*, 2009a).

4.3.1.2. Cas des tumeurs mammaires

Un autre cancer particulièrement étudié de nos jours est le cancer du sein chez lequel des altérations des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, clairement impliquée dans son développement chez la femme (Bertucci *et al.*, 2006), sont aussi présentes chez la chienne (Mahé, 2010 ; Rivera *et al.*, 2009).

4.3.1.3. Des mutations et anomalies cytogénétiques semblables

Les mutations faisant intervenir les protéines tyrosine kinases sont parmi les plus étudiées (Morgant, 2011 ; Ranieri *et al.*, 2013a). La mutation par délétion dans l'exon 11 qui code le domaine

juxta-membranaire de la protéine KIT est à l'origine de GIST et de mastocytome chez le chien, mais aussi de GIST chez l'homme (Gregory-Bryson *et al.*, 2010).

Des aberrations chromosomiques sont partagées dans les tumeurs humaines et canines. Citons le cas de la leucémie myéloïde chronique (CML) humaine caractérisée par la présence d'un transcrit aberrant BCR-ABL, issu de la fusion du gène *BCR* et du gène *ABL* suite à une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22. On obtient suite à cette translocation le tristement célèbre chromosome « Philadelphie » associé à une surexpression du gène *BCR-ABL*, induisant une augmentation de l'activité tyrosine kinase de la protéine de fusion BCR-ABL ; l'activité kinase étant portée par un domaine de la protéine ABL. Chez le chien, cette translocation, retrouvée à l'identique dans des CML canines entre les chromosomes 9 et 26, affecte les gènes orthologues (Breen et Modiano, 2008 ; Gordon *et al.*, 2009).

4.3.2. Des profils d'expression génique semblables

Le profil d'expression génique d'un tissu est l'ensemble des produits d'expression de ses gènes (ARN ou protéines). Il ne s'agit plus d'étudier un unique gène mais de comprendre toutes les interactions entre l'ensemble des gènes à un moment donné dans un tissu donné. Il permet de décrire quels gènes sont réprimés tandis que d'autres sont activés (Bertucci *et al.*, 2006).

Dans les tumeurs de l'homme, ces profils d'expression sont bien étudiés (Bertucci *et al.*, 2006 ; Man *et al.*, 2005 ; Von Hoff *et al.*, 2010). On retrouve souvent le même genre de patron d'expression chez le chien ; c'est le cas pour les tumeurs mammaires ou l'ostéosarcome de l'enfant par exemple (Paoloni et Khanna, 2008, 2007).

Des études pangénomiques comparatives récentes, basées sur l'analyse de l'expression d'environ 10 000 gènes orthologues, démontrent que les mêmes gènes sont dérégulés dans les tumeurs mammaires et les cancers du sein, par comparaison avec une glande mammaire saine. Les mêmes gènes liés à des mécanismes de prolifération sont surexprimés. Les mêmes gènes liés à la différenciation cellulaire, à l'adhérence matricielle, à la communication intercellulaire sont réprimés (Pinho *et al.*, 2012). Les voies de signalisation impliquées sont communes comme PI3K/AKT, K-RAS, PTEN, Wnt/ β -caténine, MAPK comme le résume le *tableau 2* (Uva *et al.*, 2009). Le partitionnement des données (*clustering analysis*) groupe les échantillons en fonction de leur origine (tissu tumoral ou tissu sain) plutôt qu'en fonction de l'espèce (homme/chien) (Uva *et al.*, 2009).

Nombreuses sont les études comparant l'ostéosarcome du chien et de l'homme (Mueller *et al.*, 2007). La première comparaison des profils d'expression génique pour ce cancer fut réalisée en 2009 par Paoloni et ses collaborateurs. Elle a montré sur la base de 265 transcrits orthologues qu'il n'y a pas de différence entre les tumeurs des deux espèces : les échantillons de tissus tumoraux de l'homme et du chien présentent le même profil transcriptionnel, comme l'illustre la *figure 4* (Paoloni *et al.*, 2009a). D'autres chercheurs aboutissent aux mêmes observations et proposent des voies de signalisation communes, telles que Hedgehog, Wnt et des chemokines/cytokines (O'Donoghue *et al.*, 2010 ; Selvarajah *et al.*, 2009).

Tableau 2 : Analyse comparée de la dérégulation des gènes et des voies de signalisation impliquées dans la tumorigénèse mammaire. Adapté d'après Pinho *et al.* (2012).

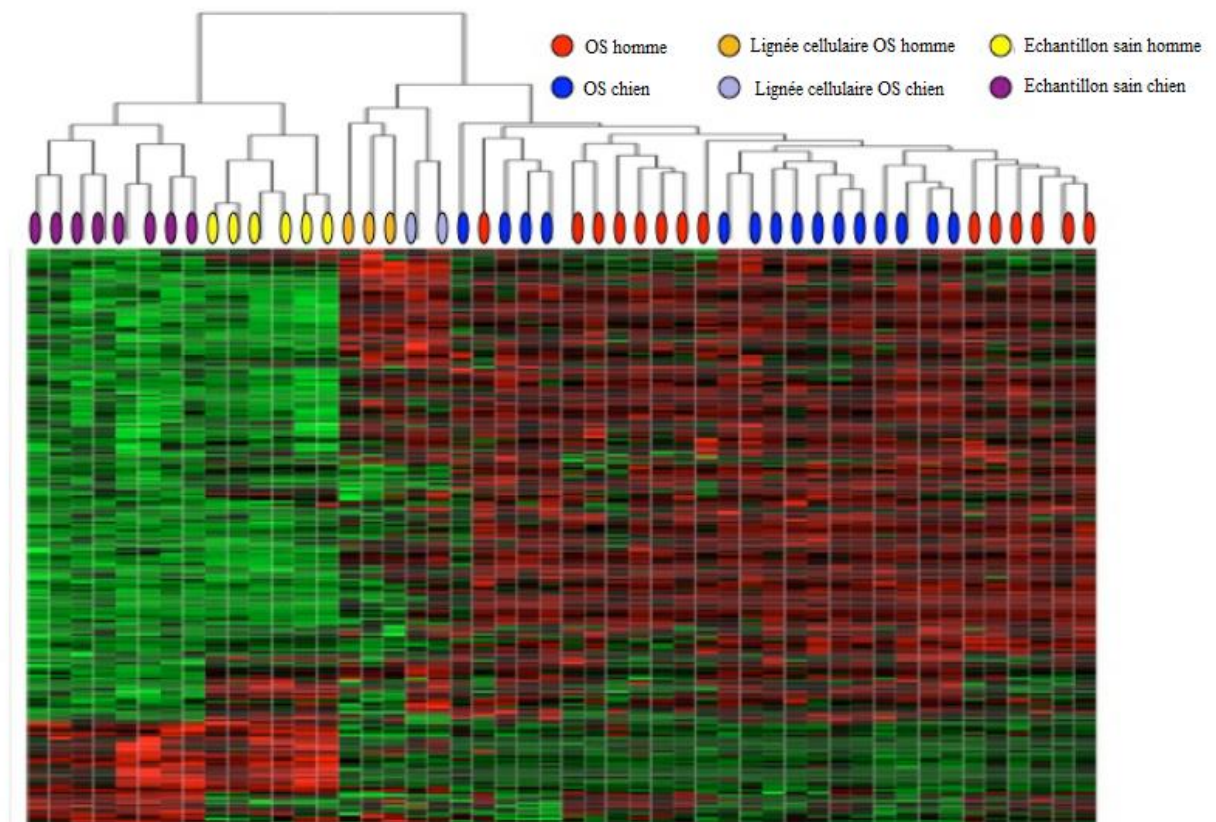
Voie de signalisation/gènes	Cancer du sein chez la femme	Tumeur mammaire chez la chienne
	Niveau d'activité	
PI3K/AKT	Augmenté	Augmenté
KRAS	Augmenté	Augmenté
PTEN	Diminué	Diminué
Wnt- β -caténine	Augmenté	Augmenté
Cascade MAPK	Augmenté	Augmenté
BRCA1	Diminué	Diminué
BRCA2	Augmenté	Augmenté
P53	Diminué	Diminué
Récepteurs aux hormones stéroïdes		
Récepteurs aux oestrogènes	Augmenté	Augmenté (donnée controversée)
Récepteurs à la progestérone	Diminué (donnée controversée)	Diminué (donnée controversée)
Autres molécules associées au cancer		
E-cadhérine	Diminué	Diminué
Sialyl Lewis x	Augmenté	Augmenté
P-cadhérine	Augmenté	Augmenté
EGFR	Variable	Donnée controversée

En conclusion, il est observé que la dérégulation des voies de signalisation associées au phénotype tumoral dans un cancer chez l'homme est souvent identique chez le chien. Cela suggère que les molécules anti-cancéreuses ciblant ces voies de signalisation auront les mêmes effets dans les deux espèces. Les analyses comparatives interspécifiques des transcrits d'un tissu tumoral se développent de plus en plus. Elles sont à la base de l'identification de marqueurs biologiques qui pourront être découverts chez le chien puis utilisés secondairement chez l'homme (Uva *et al.*, 2009).

La constitution en 2011 d'une banque de profils d'expression génétique pour un ensemble de 10 types tissulaires (foie, rein, cœur, poumon, nœud lymphatique, rate, jéjunum, pancréas, muscle squelettique), chez le chien et chez l'homme, grâce à des puces d'expression génique (*micro-array*), facilite les protocoles pour les études translationnelles sur le cancer (Briggs *et al.*, 2011).

Figure 4 : Comparaison de l'expression génique d'échantillons d'ostéosarcome humains et canins.

Le partitionnement des données (*clustering analysis*) en fonction du niveau d'expression (forte en rouge, faible en vert) de 265 gènes regroupe d'un côté les échantillons d'ostéosarcomes humains et canins (à droite), et de l'autre côté les échantillons sains des deux espèces (à gauche). Adaptée d'après Paoloni *et al.* (2009).



5. UNE ORGANISATION HISTOLOGIQUE TUMORALE SEMBLABLE

5.1. Les tumeurs canines d'intérêt histologique pour l'oncologie comparée

Certains cancers du chien partagent, sur le plan histologique, les mêmes caractéristiques que leur homologue chez l'homme si bien qu'il serait parfois difficile de les différencier sur une lame histologique. Nous pouvons citer l'ostéosarcome, le lymphome, le mélanome, les tumeurs mammaires ou les carcinomes pulmonaires par exemple (Antuofermo *et al.*, 2007 ; Gorlick et Khanna, 2010 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Simpson *et al.*, 2014).

Les photographies suivantes (*figures 5 à 8*), obtenues sur des échantillons de pièces d'autopsie du service d'anatomie-pathologique de l'ENVA (pour les illustrations de tissus canins), illustrent parfaitement ces ressemblances.

Figure 5 : Coupe histologique d'un lymphome intestinal de haut grade chez le chien. Grossissement x500, coloration hématoxyline-éosine. Don du Dr. Reyes-Gomes du service d'Anatomie pathologique de l'ENVA.

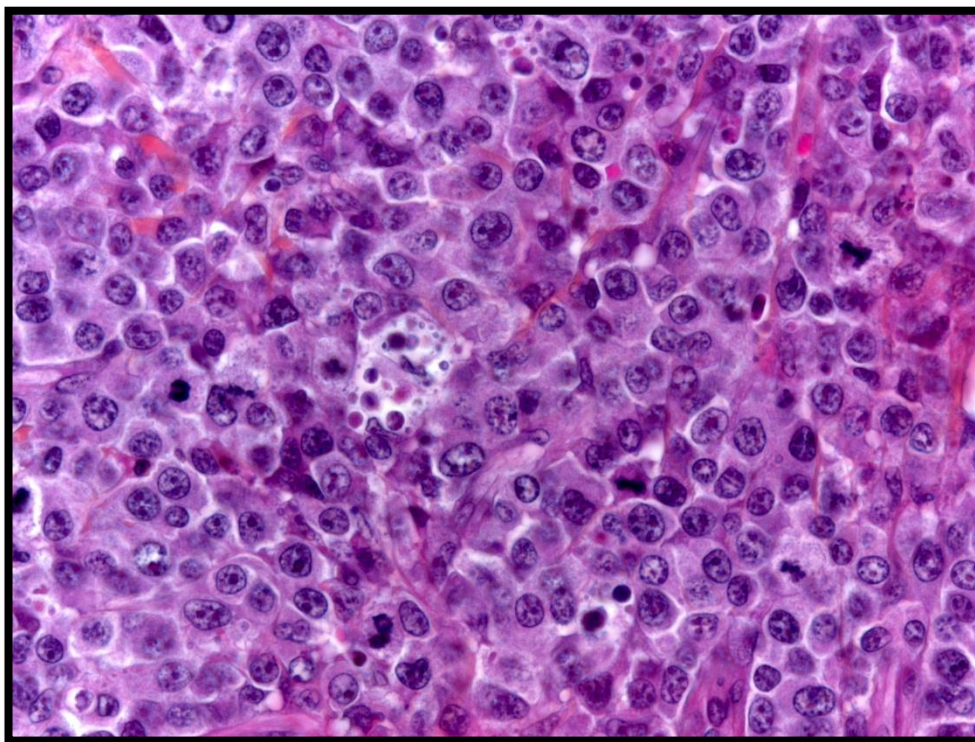


Figure 6 : Coupe histologique d'un lymphome intestinal de haut grade chez l'homme. Grossissement x500, coloration hématoxyline-éosine. Adaptée d'après (NATURE.COM. Lymphoid neoplasms associated with concurrent t(14;18) and 8q24/c-MYC translocation generally have a poor prognosis. [En ligne]. (Mise à jour en 2014). [http://www.nature.com/modpathol/journal/v19/n1/fig_tab/3800500f3.html]. (Consulté le 23/04/2014).)

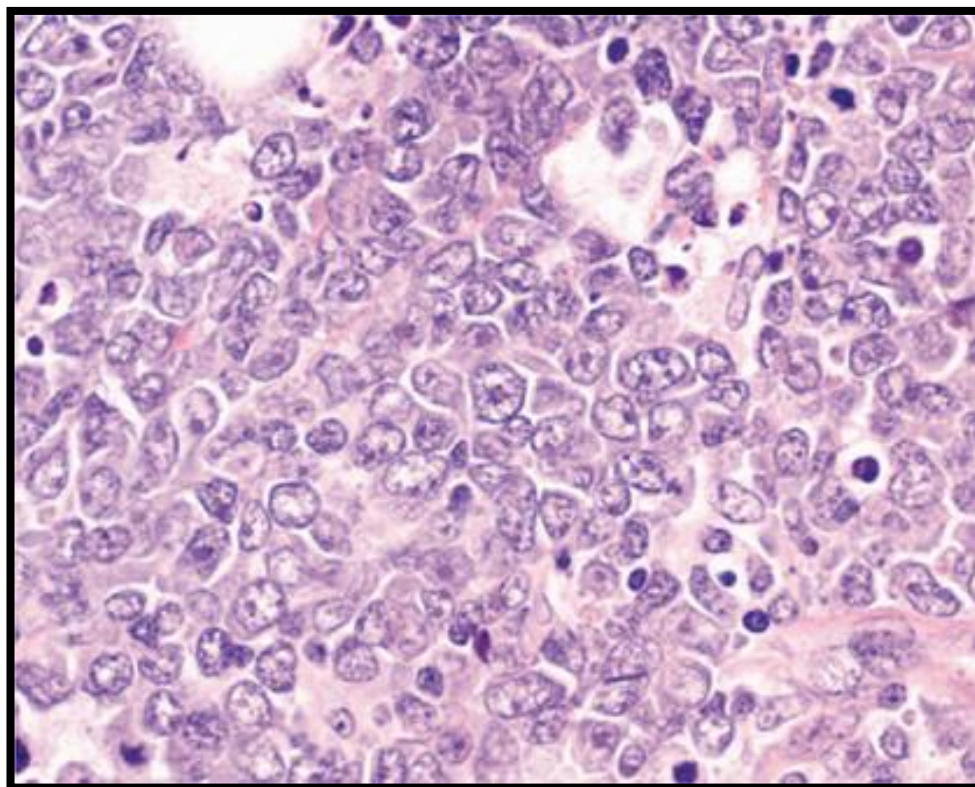


Figure 7 : Coupe histologique d'un adénocarcinome pulmonaire de type papillaire chez le chien.
Coloration hématoxyline-éosine. Don du Dr. Reyes-Gomez du service d'Anatomie pathologique de l'ENVA.

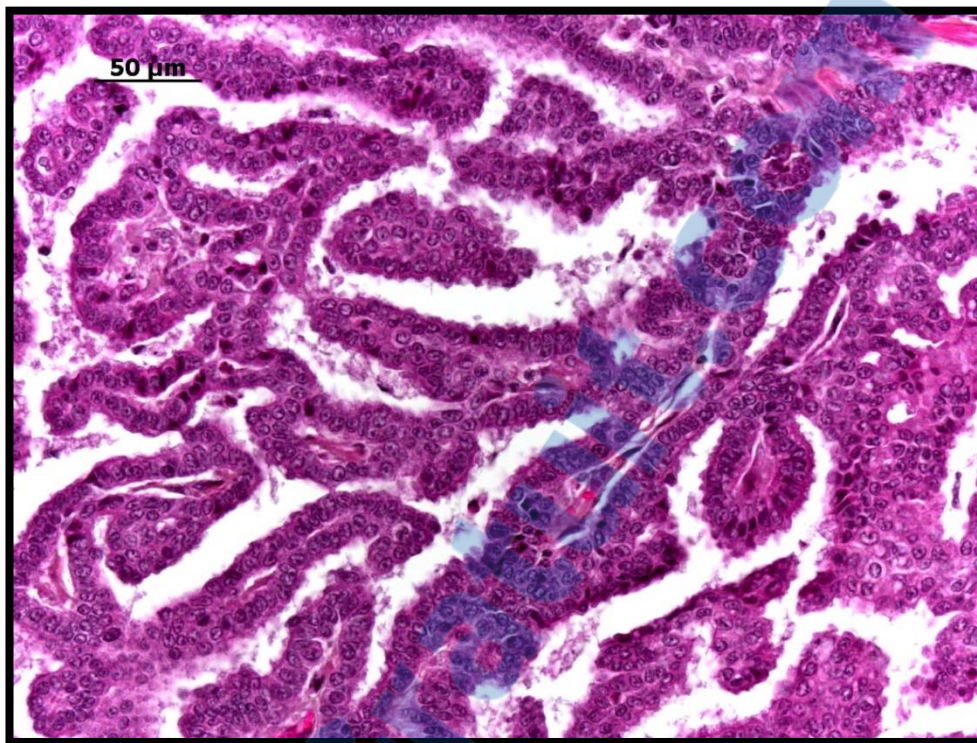
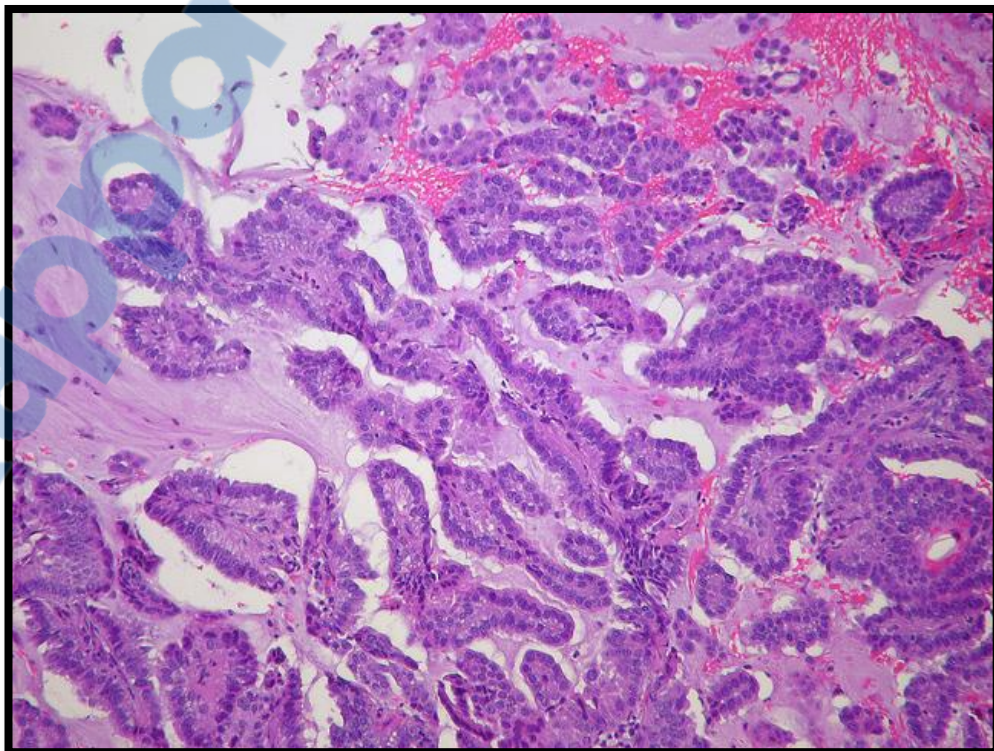


Figure 8 : Coupe histologique d'un adénocarcinome pulmonaire de type papillaire chez l'homme.
Grossissement x500, coloration hématoxyline-éosine. Adaptée d'après ROSEN Y. Coupe histologique de poumon. (Mise à jour en 2014). In : Pulmonary Pathology. [En ligne].
[https://www.flickr.com/photos/pulmonary_pathology/4563169466/sizes/l/in/photostream/]. (Consulté le 23/04/2014).



5.2. Hétérogénéité tumorale

On retrouve la même hétérogénéité intra-tumorale si particulière au processus cancéreux qui rend souvent inefficace la chimiothérapie conventionnelle. On observera par exemple des zones très vascularisées à proximité d'autres peu vascularisées (zone centrale de la tumeur par exemple) donc en hypoxie. C'est notamment le cas pour les tumeurs de type sarcome dans lesquelles, lors d'une observation sous microscope, on retrouve des tissus dont l'organisation diffère énormément sur une même lame. Cela dépend de son environnement, des signaux reçus par les cellules avoisinantes (facteurs de prolifération, de différenciation, d'apoptose, de survie) et de la densité de la vascularisation. C'est ce qui explique pourquoi le diagnostic histologique final doit toujours se faire sur une pièce histologique complète. L'organisation anarchique et la complexité de la biologie tumorale chez l'homme est parfaitement mimée sur le plan histologique dans le modèle des cancers d'apparition spontanée du chien domestique (Withrow *et al.*, 2012).

5.3. La technique du « tissu micro-array »

L'avènement de nouvelles techniques d'analyse histologique comme le TMA (*tissu micro-array*) permet à présent de comparer plusieurs dizaines d'échantillons simultanément (entre 60 à 120) par immuno-phénotypage, ce qui facilite la comparaison entre les deux espèces. La TMA est utilisée dans de nombreuses études comparatives pour confirmer que l'on retrouve les mêmes marqueurs histologiques dans les tumeurs humaines et les tumeurs canines (Abadie, 2014).

5.4. Classification histologique

5.4.1. Principe

Il est souvent utile d'établir une classification histologique des tumeurs. Cette classification souvent définie en « grades » est associée à un pronostic particulier. Certaines tumeurs du chien ont leur propre classification (comme le mastocytome) tandis que d'autres ont des classifications que l'on extrapole à partir des tumeurs humaines, comme les lymphomes ou les tumeurs mammaires. Cela peut s'avérer intéressant pour l'oncologie comparée car une fois que l'on a démontré que la classification histologique est similaire, la découverte de facteurs pronostiques chez le chien pourra facilement être transposée à l'homme (Withrow *et al.*, 2012).

5.4.2. Exemple des tumeurs mammaires et cancers du sein « triple-négatifs »

Pour les cancers du sein, outre la classification histologique standard de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de 1981, il existe une classification histologique moléculaire qui a été obtenue par des études de profil d'expression génique, puis par immuno-phénotypage. Cette classification moléculaire identifie cinq sous-types de cancers du sein qui se distinguent par leur phénotype et leur pronostic : tumeur de type luminal A ou luminal B, tumeur de type basal, tumeur HER2+, tumeur de type *normal-like* (Sorlie *et al.*, 2001).

Les tumeurs HER2+ et de type basal ont un moins bon pronostic que les tumeurs de type luminal. Les tumeurs de type luminal et HER2+ bénéficient de thérapies ciblées : la thérapie hormonale pour les tumeurs lumineuses et le trastuzumab (un anticorps monoclonal) pour les tumeurs

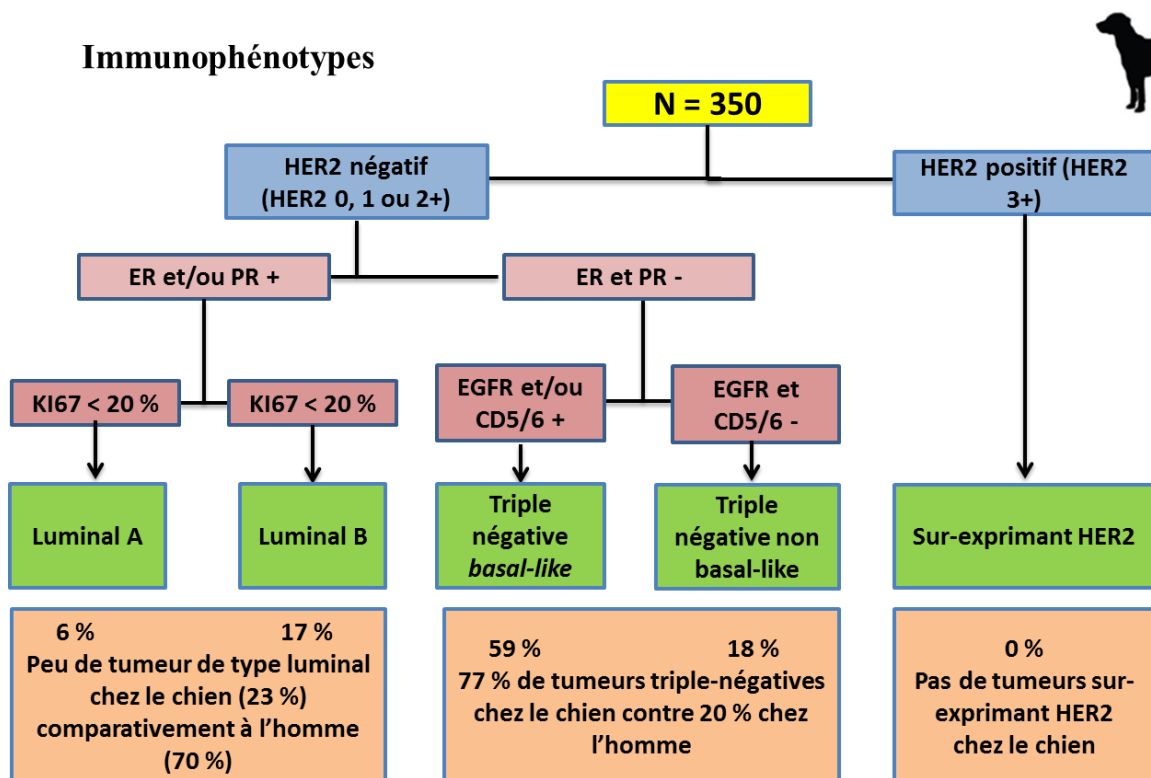
HER2+. Aucune cible thérapeutique n'a été isolée pour le moment pour les tumeurs de type basal (Abadie, 2014). L'unité AMaROC du Dr. Abadie de l'école vétérinaire de Nantes (ONIRIS) a réussi à valider cette classification moléculaire chez les chiennes atteintes de tumeurs mammaires en identifiant 4 sous-types avec différents pronostics. Le phénotype de ces sous-types moléculaires est établi en utilisant des marqueurs immuno-histochimiques définis au départ par Nielsen et ses collaborateurs (Nielsen *et al.*, 2004) : ER (*oestrogen receptor*), PR (*progesterone receptor*), HER2, Ki67, EGFR et cytokeratine. La *figure 9* illustre la démarche utilisée pour aboutir à ces quatre sous-types.

Chez le chien, les tumeurs mammaires sont en grande majorité « triple-négatives » (77 % des cas sur 350 échantillons), c'est-à-dire qu'elles n'expriment ni HER2, ni les récepteurs aux oestrogènes (ER) et à la progestérone (PR). Les tumeurs lumineales sont rares et celles qui surexpriment HER2 ne sont pas retrouvées (Abadie, 2014).

Chez la femme, les tumeurs triple-négatives sont moins fréquentes puisqu'on n'en retrouve que dans 20 % des cas. Ces tumeurs sont importantes à identifier car elles ont un mauvais pronostic par rapport à celles de type luminal, compte tenu de l'absence de cibles thérapeutiques, ce qui réduit les possibilités de traitement. La prévalence plus importante de ces tumeurs chez le chien (estimée à environ 77 %) est un avantage certain pour découvrir des thérapies innovantes dans des essais précliniques avant de les transférer à l'homme.

L'étude de l'unité AMaROC valide ainsi les tumeurs mammaires d'apparition spontanée de la chienne comme modèle d'étude pertinent des cancers du sein chez la femme, en particulier des cancers du sein triple-négatifs pour lesquels les cibles thérapeutiques restent à découvrir. À l'instar des tumeurs mammaires, d'autres cancers sont l'objet de tentatives de classification en sous-types moléculaires à des fins pronostiques, comme l'ostéosarcome ou le lymphome (Frantz *et al.*, 2013 ; Scott *et al.*, 2011).

Figure 9 : Schéma du protocole suivi par l'unité AMaROC pour déterminer le sous-type histologique d'une tumeur mammaire canine. La prévalence de chaque sous-type est fournie et comparée à celle retrouvée chez la femme. Adaptée d'après Abadie (2014).



6. LES AVANTAGES DE L'UTILISATION DU CHIEN DOMESTIQUE PAR RAPPORT À LA SOURIS

Il est dit que le chien est le « meilleur ami de l'homme ». Outre son intérêt majeur en tant qu'animal de compagnie fidèle et joueur, les oncologistes démontrent qu'il est aussi la clé d'avancées thérapeutiques majeures. Les arguments suivant soulignent en quoi le chien est un bon modèle d'étude des cancers humains.

6.1. La souris : un modèle indispensable mais insuffisant

6.1.1. La souris, premier modèle *in vivo* dans la recherche contre le cancer

Le modèle souris a été et reste d'une utilité indiscutable pour explorer le rôle des gènes et de leurs protéines impliqués dans le mécanisme de l'oncogenèse (Pinho *et al.*, 2012). La souris a permis de mettre en évidence les mécanismes d'initiation, de promotion et de progression des tumeurs. Elle a joué un rôle majeur dans le développement préclinique d'agents anti-cancéreux, et ce depuis plus d'une soixantaine d'année (Lartigue, 2013 ; Ranieri *et al.*, 2013a; Talmadge *et al.*, 2007). Certains auteurs rappellent que les rongeurs peuvent de façon fiable évaluer la première dose à utiliser pour une molécule qui entre en essai clinique de phase 1 (Freireich *et al.*, 1966 ; Talmadge *et al.*, 2007). Ce modèle autorise un développement tumoral dans les trois dimensions, montrant les interactions avec le stroma environnant et les apports veineux, ce qui n'est pas possible avec les modèles *in vitro* (Gordon et Khanna, 2010).

6.1.2. Un modèle peu prédictif

Toutefois ce modèle présente des insuffisances sur divers points montrant qu'il n'est pas assez prédictif de ce que l'on observe chez l'homme (Schuh, 2004).

Il ne présente pas les caractéristiques qui définissent le cancer chez l'homme comme les longues périodes de latence, la biologie complexe des récidives et des métastases qui sont pourtant le facteur déterminant de la survie à long terme d'un patient cancéreux (Gordon et Khanna, 2010). Il existe des différences biologiques majeures concernant notamment l'activité de la télomérase, les conséquences de l'altération de certains gènes, le métabolisme oxydatif, la tolérance plus importante de la souris face à des hautes concentrations de principes actifs, le nombre de cellules et de mitoses (Gordon et Khanna, 2010 ; Lartigue, 2013). Les modèles murins classiquement utilisés sont immuno-déficients (souris de type « *nude* ») afin de pouvoir pratiquer des xénogreffes de lignées cellulaires tumorales humaines. Cette immunodéficiency ne permet pas de reproduire les conditions réelles d'un organisme humain et les interactions entre système immunitaire et cancer. Enfin, les nouvelles thérapies ciblées qui commencent à voir le jour ont un mécanisme d'action qui est difficilement modélisable dans cette espèce.

6.2. Augmentation majeure du taux de médicalisation et de la durée de vie du chien

C'est un fait, nos chiens de compagnie sont de plus en plus considérés comme des membres de la famille à part entière. Aux États-Unis un sondage rapporte que 54 % des animaux sont considérés ainsi par leur propriétaire et plus de 40 milliards de dollars sont investis chaque année pour la santé de leur chien (Rowell *et al.*, 2011). Nos chiens profitent maintenant d'une meilleure nutrition, de la vaccination contre des maladies infectieuses souvent mortelles, de structures vétérinaires bien équipées réalisant des examens complémentaires et des traitements poussés. Les propriétaires sont de plus en plus conscients de ce qu'il est possible de réaliser et sont toujours plus exigeants à ce propos (Paoloni et Khanna, 2007).

L'augmentation non négligeable de l'espérance de vie moyenne de nos chiens domestiques fait qu'ils vivent assez longtemps pour développer des cancers de façon spontanée. Un chiffre en 2006 indique que plus de 45 % des chiens de compagnie sont âgés de plus de 6 ans, ce qui équivaut à 60-95 ans chez l'homme (Rowell *et al.*, 2011). Leur durée de vie, ni trop courte ni trop longue, fait que l'on peut mener des essais cliniques jusqu'à leur terme.

6.3. L'homme et le chien partagent le même environnement

Notre chien domestique partage notre maison, notre jardin, notre canapé, notre chambre voire notre lit ; il subit dès lors la même pression environnementale que nous sur son organisme. De nombreux auteurs se sont attachés à démontrer l'intérêt du chien comme modèle et sentinelle de l'effet de l'environnement sur notre santé. Le lieu de vie, les aéro-allergènes, la pollution des villes, la présence de fumeurs, la présence de parasites, l'exposition aux pesticides, les rayons UV, les champs magnétiques, l'amiante, les radiations, l'obésité, certains virus, sont autant de facteurs d'exposition qui sont éventuellement des facteurs de risque du cancer comme nous le verrons dans la partie 2 (Glickman *et al.*, 1989 ; Hayes *et al.*, 1991 ; Reif *et al.*, 1992 ; Withrow *et al.*, 2012)

Par ce partage des mêmes éventuels facteurs de risque environnementaux du cancer, le chien se place sur un pied d'égalité avec l'homme, ce qui le distingue du modèle murin isolé dans des environnements confinés et sécurisés d'un point de vue sanitaire.

6.4. Certains cancers partagés sont plus fréquents chez le chien

Comme indiqué précédemment, certains cancers présentent un intérêt d'étude chez le chien car leur incidence est beaucoup plus élevée que chez l'homme. On peut donc réunir plus facilement un échantillon suffisamment grand pour les essais cliniques. On peut citer par exemple l'ostéosarcome, le lymphome non-hodgkinien, les sarcomes des tissus mous et les tumeurs mammaires (Bedu, 2003 ; Gorlick et Khanna, 2010 ; Ito *et al.*, 2014 ; Marconato *et al.*, 2013 ; Mueller *et al.*, 2007 ; Withrow et Wilkins, 2010).

6.5. Le chien profite des mêmes thérapies que l'homme

La chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et maintenant l'immunothérapie sont disponibles désormais en médecine vétérinaire (Paoloni et Khanna, 2008). Il est courant d'utiliser des protocoles de chimiothérapie en médecine humaine associant plusieurs molécules cytotoxiques à dose réduite dont l'association induit un effet synergique. Le chien bénéficie lui aussi de ce genre de protocoles ainsi établis chez l'homme, d'autant plus que les principes actifs utilisés ont un spectre d'activité similaire (Withrow *et al.*, 2012). On compte beaucoup moins de différences en matière de pharmacocinétique et de métabolisme des molécules anticancéreuses entre l'homme et le chien qu'entre l'homme et la souris (Knapp et Waters, 1997). Par exemple, les drogues cytotoxiques efficaces chez le chien pour traiter le lymphome non-hodgkinien (comme la vincristine, le cyclophosphamide, la doxorubicine, le mitoxantrone, la cytarabine arabinoside, le méthotrexate) sont les mêmes que chez l'homme. De la même manière, les molécules inefficaces sont les mêmes (gemcitabine, cisplatine, carboplatine) (Paoloni et Khanna, 2008).

L'absence de traitement de référence ou « gold standard » chez le chien autorise parfois les vétérinaires à se lancer dans des traitements en cours d'investigation, parmi lesquels se trouvent les nouvelles thérapies ciblées, c'est-à-dire des molécules qui ciblent préférentiellement les tissus tumoraux et épargnent les tissus sains. Ainsi, le chien participe activement à la mise en place et à la recherche de nouveaux traitements innovants et fait donc partie des premiers à en profiter, comme nous le verrons dans la partie 3 (Ranieri *et al.*, 2013a). De plus, les chiens ne sont généralement pas lourdement traités comme les hommes avant de commencer la nouvelle thérapie ce qui permet de juger sans biais de sa véritable efficacité.

La relative grande taille de l'espèce canine rend faisable des thérapies multimodales c'est-à-dire associant chirurgie et chimiothérapie adjuvante par exemple (Withrow et Wilkins, 2010). De même, des examens d'imagerie tels que la radiographie, le scanner ou l'IRM sont disponibles. Ceci fournit un nombre non négligeable de cas qui à terme participent au perfectionnement de nos techniques de chirurgie d'une part et de diagnostic d'autre part.

Enfin, les tumeurs spontanées du chien offrent l'opportunité de tester des stratégies thérapeutiques testées jusqu'alors sur les animaux de laboratoires avec des cancers induits artificiellement.

6.6. Un génome canin entièrement séquencé présentant beaucoup d'homologies avec le génome humain

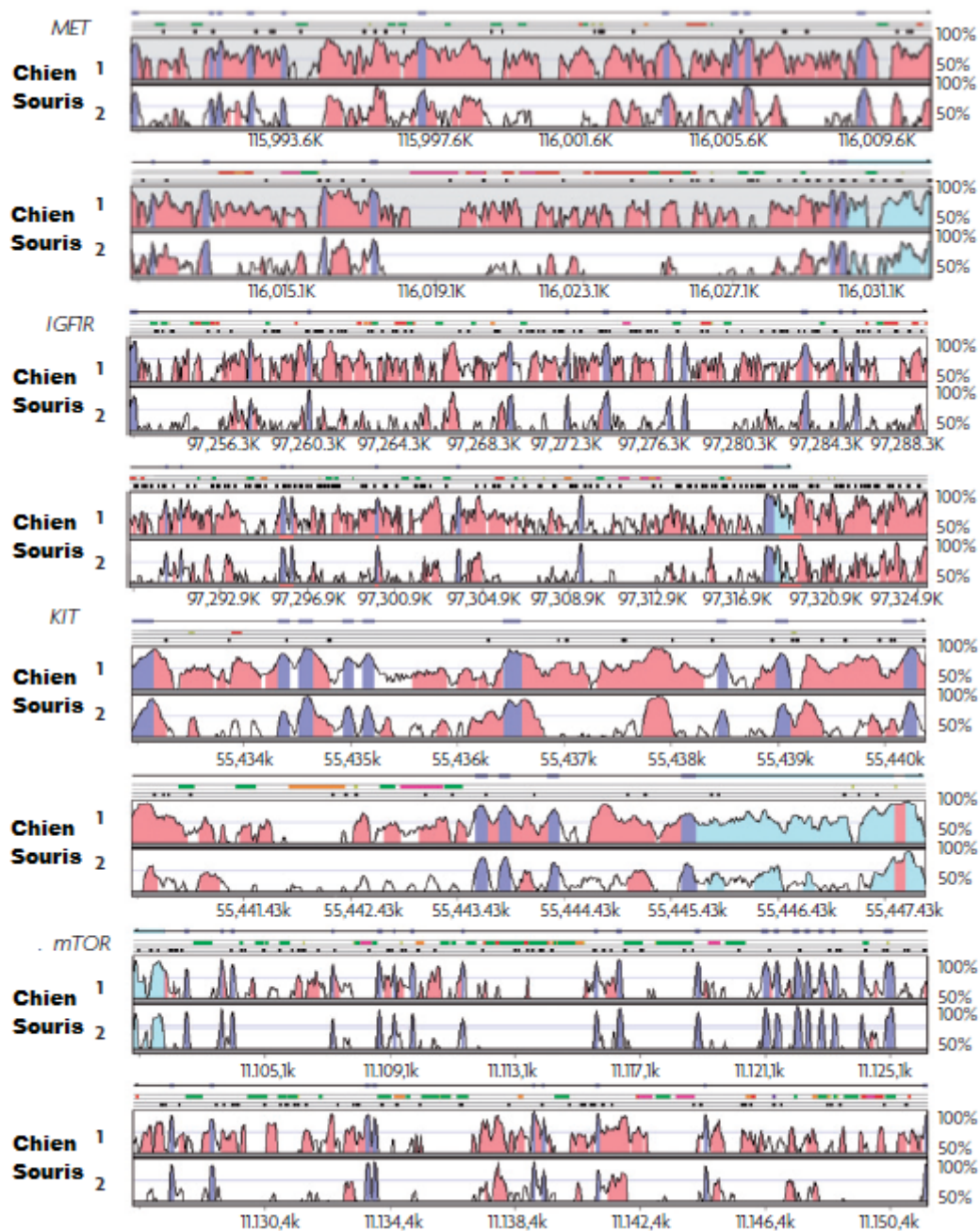
C'est en 2005 que le *Dog Genome Sequencing Project* arriva à son terme en produisant la séquence génomique d'une femelle boxer (Lindblad-Toh *et al.*, 2005a). Le Chien devint ainsi le cinquième mammifère à bénéficier d'un séquençage complet après l'Homme, la Souris, le Chimpanzé et le Rat. Ce fut une étape importante dans le succès du chien en tant que modèle en oncologie comparée. La connaissance de son génome et des régions fonctionnelles qui le composent offre un formidable potentiel et un puissant outil pour affiner notre connaissance du génome humain et des maladies humaines. En effet, l'apparition des maladies génétiques du chien est spontanée et la plupart sont homologues de maladies génétiques humaines (Wayne et Ostrander, 2007).

En résumé, le séquençage du génome canin nous apprend qu'il a de plus grandes homologies avec le génome humain que tous les autres modèles de mammifères (Lindblad-Toh *et al.*, 2005a),

notamment en ce qui concerne les familles de gènes associés aux cancers (Paoloni et Khanna, 2008). La *figure 10* illustre cette forte homologie en comparant quatre gènes associés au cancer (*MET*, *IGF1R*, *KIT*, *mTOR*) entre homme et chien d'une part, entre homme et souris d'autre part.

L'identification de la participation des gènes et de l'environnement dans la maladie multifactorielle qu'est le cancer s'avère incroyablement compliquée à disséquer compte tenu du haut niveau d'hétérogénéité génétique de la population humaine. Or le statut original de l'espèce canine, composée de plus de 400 races, avec une remarquable homogénéité intra- raciale couplée à une surprenante hétérogénéité inter- raciale autorise à mener des études visant à isoler des gènes d'intérêt, communs aux hommes et aux chiens, de manière beaucoup plus simple et rapide que chez l'homme (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008 ; Rowell *et al.*, 2011). L'ensemble de ces observations seront détaillées dans la partie 2.

Figure 10 : Homologie entre l'homme et le chien et entre homme et souris pour 4 gènes associés au cancer (*MET*, *IGF1-R*, *KIT* et *mTOR*). Comparaison du pourcentage de conservation d'une séquence nucléotidique entre deux espèces : en ordonnée, le % de conservation entre le gène donné dans l'espèce concernée (« 1 » pour le chien, « 2 » pour la souris) avec l'homme ; en abscisse un extrait de la séquence nucléotidique. Adaptée d'après Paoloni et Khanna (2008).



6.7. De nouveaux outils sont disponibles pour étudier la biologie du chien

L'un des plus grands obstacles à l'utilisation du chien comme modèle pour le cancer a été le manque d'outils de recherche (Porrello *et al.*, 2006). Heureusement, ce fossé avec la médecine humaine se comble rapidement. L'avènement du chien en tant que modèle du cancer chez l'homme ces dix dernières années a incité les chercheurs et les structures vétérinaires à développer les mêmes outils que ceux utilisés chez l'homme.

En particulier, d'un point de vue anatomo-pathologique, les techniques de diagnostic se sont affinées et les laboratoires sont à même de définir le caractère histologique précis d'une tumeur ainsi que son degré d'agressivité, ce qui permet d'adapter le choix des thérapies et surtout de donner un pronostic au propriétaire. D'ailleurs, des examens cytologiques et histologiques sont aisément praticables, les propriétaires de chien acceptent assez fréquemment d'autopsier leur animal après euthanasie, ce qui améliore les connaissances histologiques des cancers et permet de construire des banques de tissus. Des puces à ADN (ou *tissu micro-arrays*), plaquettes permettant de regrouper de multiples échantillons de tissu à l'échelle miniature et de les analyser de façon simultanée se sont développés dernièrement. Rappelons par ailleurs la diversité des anticorps monoclonaux et autres réactifs moléculaires disponibles pour réaliser des marquages par immunohistochimie (Withrow *et al.*, 2012).

En effet, l'étude des gènes et de leur profil d'expression est désormais possible chez le chien (Mueller *et al.*, 2007). On retrouve les techniques classiques de biologie moléculaire comme la PCR, RT-PCR, techniques de « blots », marqueurs et sondes à ADN/ARN et les techniques d'hybridation génomique (Breen, 2009). Une des avancées majeures est venue de l'essor des puces à ADN chez le chien, outil permettant d'étudier l'expression de plusieurs milliers de gènes simultanément, laissant au chercheur la possibilité d'établir une véritable carte d'identité du cancer (Holzwarth *et al.*, 2005 ; Shearin et Ostrander, 2010). Ces outils sont une aide capitale pour découvrir des gènes de prédisposition au cancer comme nous le verrons dans la partie 2.

La disponibilité de ces outils accorde un gain de temps considérable pour la recherche. La comparaison est désormais possible entre le cancer du chien et le cancer de l'homme puisqu'ils sont décrits dans le même langage.

En conclusion, les cancers spontanés du chien domestique se rapprochent plus de ce que l'on demande à un modèle idéal que ne le font les souris ou les cultures cellulaires (*tableau 3*).

Tableau 3 : Caractéristiques idéales d'un modèle de cancer humain et comparaison entre les modèles *in vitro*, la souris et les tumeurs spontanées du chien. Adapté d'après Gordon et Khanna (2010).

Caractéristiques du modèle idéal du cancer humain	Culture cellulaire	Souris	Tumeur spontanée du chien
Montre des similarités histologiques	Non	Variable	Oui
Développement par les mêmes étapes	Non	Rarement	Oui
Exerce les mêmes effets locaux et systémiques sur l'organisme	Non	Non	Oui
Implique des gènes et des voies de signalisation similaires dans la cancérogenèse et le processus métastatique	Non	Variable	Fréquemment
Répond de façon semblable aux différentes thérapies	Variable	Variable	Fréquemment
Permet d'établir l'influence des variations génétiques de la lignée germinale sur la réponse au traitement de la tumeur	Non	Non	Oui

7. CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE

Le chien domestique est un bon modèle pour la cancérologie humaine. Il présente des cancers de façon spontanée et partage avec l'homme de grandes similitudes dans l'épidémiologie et la biologie du cancer.

Par bien des aspects, il offre des avantages que n'offre pas la souris bien que celle-ci reste indispensable et nécessaire.

Compte tenu de l'extrême complexité de la biologie tumorale, il n'est pas surprenant que de nombreux modèles ne puissent pas être représentatifs de toutes les caractéristiques des cancers de l'homme. Trouver un modèle parfait est, de fait, impossible. La pléiotropie du cancer amène à ce qu'une tumeur chez un homme est souvent peu représentative de la même tumeur chez un autre individu de la même espèce.

En conclusion, l'utilisation des cancers d'apparition spontanée du chien domestique serait utile pour combler le fossé entre les études *in vitro* sur des modèles précliniques et les études *in vivo* chez l'homme. Nous allons maintenant faire état des multiples contributions que l'étude des cancers du chien domestique a pu apporter à ce jour.

**DEUXIÈME PARTIE : LES APPORTS
HISTORIQUES ET ACTUELS DU CHIEN
DOMESTIQUE POUR L'ÉTUDE DU CANCER CHEZ
L'HOMME**

1. INTRODUCTION DE LA DEUXIÈME PARTIE

L'étude du cancer chez l'homme est difficile compte tenu du nombre important des facteurs intervenant dans cette maladie. L'objectif final de la recherche contre le cancer est d'obtenir une thérapie efficace permettant de détruire la tumeur sans trop atteindre les tissus sains environnements ni causer d'effets secondaires trop délétères à l'organisme. Pour cela, une meilleure compréhension des mécanismes intervenant dans la progression tumorale est nécessaire. De plus, on voit apparaître une prise de conscience collective sur les risques que peut engendrer l'environnement sur l'apparition d'un cancer.

La majorité des connaissances sur le cancer sont attribuables à l'étude de l'homme et des modèles précliniques de laboratoire. Notre connaissance de l'oncologie vétérinaire a largement tiré profit et extrapolé les informations obtenues chez l'homme. Néanmoins, les cancers spontanés du chien domestique ont contribué, certes dans une moindre mesure, à approfondir notre connaissance sur le cancer. Cette deuxième partie fait état de l'ensemble des apports ponctuels que ce modèle a amené dans l'histoire de la recherche sur le cancer. On s'intéressera à l'apport de l'étude du génome canin dans la découverte des gènes du cancer ; à son apport en tant que sentinelle pour les facteurs de risque environnementaux du cancer ; à son apport dans la compréhension de la biologie tumorale (cellules souches cancéreuses, processus métastatique, marqueurs biologiques).

2. APPORT DE L'ÉTUDE DU GÉNOME DU CHIEN DANS LA DÉCOUVERTE DES GÈNES DU CANCER

La compréhension des mécanismes à l'origine du cancer passe indéniablement par l'étude de son génome. Le chien en tant qu'espèce contribue à la découverte des gènes à l'origine du cancer, en proposant des gènes candidats non découverts chez l'homme mais aussi en confirmant des mécanismes génétiques déjà observés.

2.1. Évolution phylogénétique des races canines

La population de nos chiens domestiques, composée de plus de 350 races, surprend par sa composition. En effet elle associe sous le même blason d'espèce des individus de phénotypes complètement différents par la taille, le poids, la morphologie et le comportement. Il n'y a qu'à observer un chihuahua et un dogue allemand côte à côte pour en prendre conscience. Pour expliquer ce phénomène, il faut s'intéresser à l'évolution phylogénétique ayant conduit à la création de l'espèce puis des races canines.

2.1.1. La domestication du chien

Le chien domestique ou *Canis lupus familiaris* appartient à la famille des *Canidae* regroupant 34 espèces issues d'un ancêtre commun carnivore existant il y a environ dix millions d'années (Ostrander et Wayne, 2005). Les études phylogénétiques ont tenté de dater la domestication du chien en utilisant l'ADN mitochondrial de plusieurs espèces du genre *Canis* et ont indiqué que le chien domestique serait issu de quelques loups gris de l'Est asiatique (Leonard *et al.*, 2002). Puis des recherches archéologiques et un complément d'analyses moléculaires de séquences génétiques ont abouti à un consensus sur une date de domestication remontant à environ 14 000 ans avant Jésus-Christ (Savolainen *et al.*, 2002 ; Wayne et Ostrander, 2007).

L'arbre phylogénétique (*annexe 1*) obtenu confirme le lien étroit entre le chien domestique et le loup gris (*Canis lupus lupus*). De fait leur génome présente seulement 0,04 % de différence dans les séquences codantes d'ADN nucléaire (Wayne et Ostrander, 2007).

Cette domestication se traduit par une certaine coopération entre l'homme et le chien. L'homme l'utilise pour la garde ou la défense en contrepartie d'une aide alimentaire. Elle s'accompagne par définition d'une contrainte environnementale moins importante, autrement dit d'un « relâchement » des forces sélectives aboutissant à une diversité phénotypique plus élevée que chez le loup (Derrien, 2007).

2.1.2. La création des races canines

L'objectif premier était de disposer de chiens ayant des compétences particulières (chasse, garde ou conduite des troupeaux). Il s'agit d'un processus relativement récent par rapport à l'histoire de l'espèce canine, remontant à plusieurs siècles, qui s'est concrétisé par la création de l'English Kennel Club pendant l'ère victorienne il y a 200 ans pour répondre à la demande de fixer des standards dans les races. L'apparition des races canines consistait en une sélection drastique d'individus présentant un phénotype particulier, puis des pratiques d'accouplement organisées autour d'un nombre très limité de

reproducteurs, entraînant un taux de consanguinité et donc d'homozygotie élevé (Shearin et Ostrander, 2010).

Ce sont des populations de chiens avec une faible diversité génétique qui sont donc apparues sur une courte période de temps. On peut considérer chacune de ces races comme autant d'isolats génétiques à l'instar des populations humaines isolées géographiquement, comme la population islandaise ou les populations îliennes en règle générale (Starkey *et al.*, 2005).

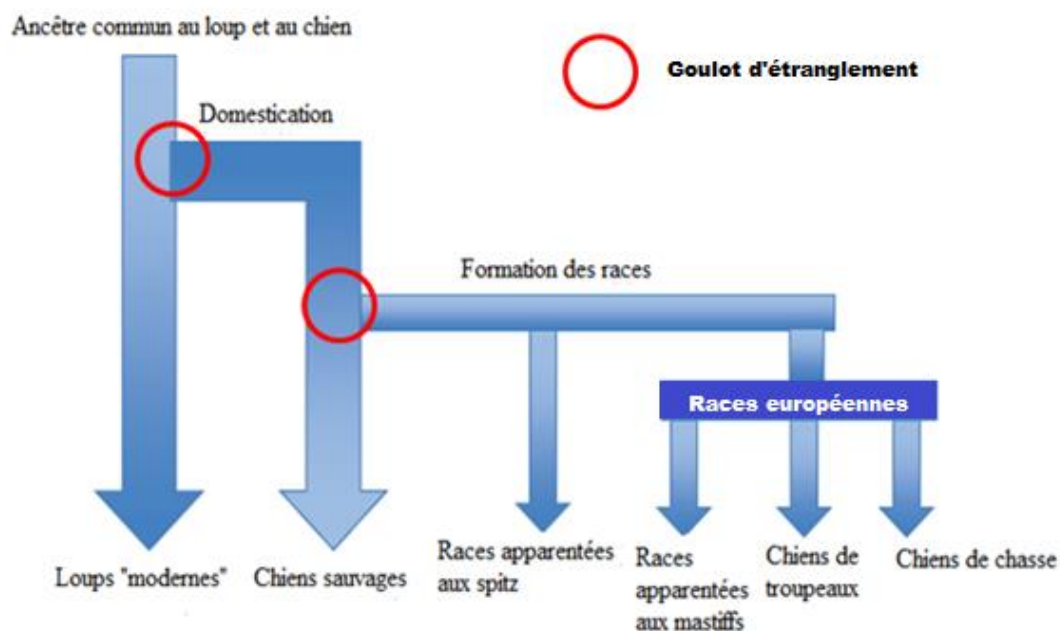
Du point de vue du génome, une race canine se définit comme un « pool » de gènes, plus précisément d'allèles, fixant une taille, une morphologie, un pelage, un comportement caractérisant cette dernière. Pour exemple, Parker et son équipe ont réussi à regrouper après génotypage de seulement 96 marqueurs microsatellites, 414 chiens dans leur race respective (au total 85) (Parker *et al.*, 2004).

2.1.3. Bilan : deux goulots d'étranglement

L'évolution phylogénique de l'espèce canine présente deux goulots d'étranglements. Un goulot d'étranglement se définit par une forte diminution d'une population initiale des individus d'une espèce suivie par la survie et l'expansion de l'échantillon restant, entraînant une diminution de la diversité génétique d'où phénomène de dérive génétique (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008).

Le premier goulot d'étranglement correspond à la domestication du chien ; le second correspond à la création des multiples races canines par isolement génétique volontaire, à partir de chiens domestiques présentant vraisemblablement une très grande hétérogénéité génétique à ce stade et qui ne devaient pas être très différents du loup gris hormis leur domestication (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008). Cette notion est illustrée par la *figure 11*.

Figure 11 : Schéma simplifié de l'évolution du chien représentant les deux goulots d'étranglement.
Adaptée d'après Dobson (2013).



2.2. Prédisposition au cancer

2.2.1. Le cancer est une affection majeure chez certaines races

Tout d'abord, force est de constater que certaines races de chiens ont une probabilité plus élevée de contracter un cancer quelle que soit sa nature (Dobson, 2013). De nombreuses études épidémiologiques rapportent les races avec le plus haut taux de mortalité par le cancer. On constate que ce sont souvent les mêmes races qui reviennent : épagneul d'eau irlandais, flat-coated retriever, bouvier bernois, rottweiler, griffon spinone italien, léonberg dans une étude du Kennel Club britannique (Adams *et al.*, 2010) ; bouvier bernois, irish wolfhound, flat-coated retriever, boxer, saint-bernard dans une étude suédoise (Bonnett *et al.*, 2005) ; bouvier bernois, flat-coated retriever, golden retriever, rottweilers dans une étude danoise (Proschowsky *et al.*, 2003).

Il convient toutefois de relativiser ces chiffres et de ne pas hâter les conclusions. En effet, il y a encore peu d'études épidémiologiques à grande échelle, les biais sont nombreux et leur intervention dans le résultat final est souvent difficile à évaluer. Parmi ces biais on retrouve la taille des effectifs dans chaque race, le fait que ce soit souvent des populations de chiens assurés, l'existence d'autres maladies associées à des races qui réduisent considérablement leur durée de vie (par exemple chez les bouledogues), l'appréciation du propriétaire qui doit estimer la cause de la mort de son animal (Dobson, 2013).

Cependant, le fait que toutes ces études, quel que soit le pays ou le mode d'échantillonnage, rapportent constamment les mêmes races présente un intérêt important dans la compréhension de l'étiologie du cancer dont sa composante génétique et héréditaire.

2.2.2. Des races prédisposées à certains cancers

Il est observé que certaines races ou familles de chiens présentent des fréquences plus élevées pour certains types de cancer. On parle alors de prédisposition à un cancer. On suggère donc l'existence de facteurs prédisposants tels que des allèles ou des groupes d'allèles partagés entre les individus de la même race ou famille (Bedu, 2003). Le *tableau 4* regroupe un certain nombre de cancers pour lesquels des races de chiens semblent être prédisposées (Dobson, 2013 ; Shearin et Ostrander, 2010). Les paragraphes suivants apportent quelques points de détail concernant certains de ces cancers.

Tableau 4 : Prédisposition raciale pour certaines tumeurs canines. Adapté d'après Dobson (2013) et Shearin et Ostrander (2010).

Cancer	Races prédisposées	Source
Lymphome	Boxer, golden retriever	(Tamburini <i>et al.</i> , 2009)
Hémangiosarcome	Golden retriever, berger allemand, boxer	(Goldschmidt <i>et al.</i> , 2002 ; Tamburini <i>et al.</i> , 2009)
Sarcome histiocytaire	Bouvier bernois, flat-coated retriever	(Abadie <i>et al.</i> , 2009 ; Goldschmidt <i>et al.</i> , 2002)
Carcinome gastrique	Chowchow, berger belge	(Head <i>et al.</i> , 2002)
Mastocytome	Boxer, boston terrier	(Goldschmidt <i>et al.</i> , 2002 ; Welle <i>et al.</i> , 2008)
Mélanome	Scottish terrier, schnauzer, chowchow, rottweiler, golden retriever	(André, 2014 ; Goldschmidt <i>et al.</i> , 2002 ; Paoloni et Khanna, 2007)
Ostéosarcome	Dogue allemand (races géantes), saint-bernard, berger allemand, rottweiler, lévrier écossais	(Phillips <i>et al.</i> , 2007 ; Rosenberger <i>et al.</i> , 2007)
Carcinome pancréatique	Airedale	(Priester, 1974)
Carcinome à cellules transitionnelles	Scottish terrier	(Knapp <i>et al.</i> , 2000a)
Carcinome nasal	Border collie, berger shetland	(Hayes <i>et al.</i> , 1986)

2.2.2.1. Sarcome histiocytaire

Le bouvier bernois et le flat-coated retriever présentent une prédisposition pour le sarcome histiocytaire. Ce cancer atteint environ 25 % des bouviers bernois et présente surtout une forme disséminée, tandis qu'il atteint environ 50 % des flat-coated retriever avec une forme localisée principalement (Abadie *et al.*, 2009 ; Padgett *et al.*, 1995). La forte incidence de ce cancer dans un nombre limité de races suggère une forte prédisposition héréditaire. Une étude a d'ailleurs conclu à une héritabilité sur un mode polygénique et l'a estimé à 0,298 (Padgett *et al.*, 1995).

2.2.2.2. Mastocytome

Le mastocytome atteint préférentiellement le boxer et les races de type bouledogue (bullmastif, boston terrier), ainsi que le labrador, le beagle et golden retriever (Dobson, 2013). Le mastocytome présente des formes très variées et il semble que le boxer et les bouledogues soient plutôt atteints par les formes les moins morbides. Une étude de 1969 montrait déjà que ces races tiendraient cette prédisposition d'un ancêtre commun (Peters, 1969).

2.2.2.3. Lymphome

Le lymphome est souvent associé au boxer, au golden retriever, au bullmastifs, aux races de type bouledogue, ainsi qu'au labradors et rottweiler (Dobson, 2013). L'hypothèse d'un caractère familial pour certains lymphomes a été posée il y a une trentaine d'années (Onions, 1984) tandis que la distinction entre lymphome de type B et lymphome de type T selon la race suggère aussi un caractère héréditaire (Modiano *et al.*, 2005).

2.2.2.4. Hémangiosarcome

Un autre exemple marquant est celui de l'hémangiosarcome. La forme viscérale est fréquente chez le berger allemand, le boxer et le golden retriever. Une étude récente a rappelé d'ailleurs que ce cancer est un problème majeur chez le golden retriever puisqu'il ne touche pas moins de 15 % des individus de la race aux États-Unis (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008 ; Tamburini *et al.*, 2009).

2.2.2.5. Mélanome

Le mélanome est aussi un cancer très étudié notamment dans le cadre du projet LUPA, consortium européen dont l'objectif est d'identifier des gènes à l'origine de maladies canines et humaines. La forme cutanée touche surtout les races de chien à peau pigmentée comme le scottish terrier ou le schnauzer, tandis que le caniche semble prédisposé au mélanome buccal (André, 2014).

2.2.3. Conséquences

Avec les constats précédents, on commence à entrevoir dans quelle mesure le chien va pouvoir participer à la recherche contre le cancer. Chaque race canine se définit par un génome particulier qui est le fruit d'un ensemble de mutations successives qui ont conduit à le façonner. Cette sélection artificielle de mutations a conduit inévitablement à fixer par la même occasion des allèles à l'origine de maladies (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008). Le fait que certaines races soient prédisposées à certains types de cancers suggère qu'elles possèdent dans leur génome des allèles dont l'expression participe totalement ou bien en partie aux mécanismes à l'origine du phénomène cancéreux.

2.3. Le séquençage du génome du chien

2.3.1. Progrès récents en génétique

Ces quinze dernières années ont été les témoins d'avancées majeures en ce qui concerne l'étude du génome canin : de multiples projets de cartographie et de séquençages ont été menés (Derrien, 2007 ; Starkey *et al.*, 2005). En 1998, une carte du génome canin effectuée à l'UPR41 CNRS de la Faculté de Médecine de Rennes à l'aide d'hybrides d'irradiation est publiée (Priat *et al.*, 1998). La cartographie par étude de liaison génétique sur un pedigree (*linkage map*) débute également à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort et dans d'autres laboratoires. Des cartes génétiques de plus en plus denses utilisant des marqueurs microsatellites sont publiées dans les années suivantes (Breen *et al.*, 2004 ; Guyon *et al.*, 2003 ; Hitte *et al.*, 2005 ; Mellersh *et al.*, 1997 ; Tired *et al.*, 1999 ; Tired *et al.*, 2000).

En 2005, le Broad Institute d'Harvard et du MIT, au travers du *Dog Genome Sequencing Project* ont terminé le séquençage complet et profond (c'est-à-dire avec une couverture de 7,5 fois le génome) du génome du chien (Lindblad-Toh *et al.*, 2005b).

Ce séquençage s'accompagne de la construction d'outils génomiques performants comme l'identification de marqueurs SNP (*single nucleotide polymorphism*) (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008). Les marqueurs génétiques sont des séquences d'ADN uniques (c'est-à-dire non répétées) dont la position dans le génome est connue et qui sont polymorphes (plusieurs allèles sont caractérisés).

Se développent aussi des techniques moléculaires multiples permettant par exemple d'identifier des séquences homologues entre deux espèces (technique BLAST), d'objectiver des anomalies chromosomique dans une cellule tumorale (technique de FISH pour *fluorescence in situ hybridization*), mais aussi d'observer de façon simultanée l'ensemble des gènes exprimés dans un tissu tumoral en le comparant au tissu sain (technique d'hybridation transcriptomique comparative ou CGH, utilisation de puces à ADN).

Les SNPs sont apparus comme l'avenir de la génétique. En effet leur identification s'est accompagnée du développement de puces à ADN contenant sur une surface très réduite des milliers de ces marqueurs, et qui permettent de miniaturiser et de systématiser le génotypage. Leur découverte a été considérée comme une avancée majeure pour la cartographie génétique.

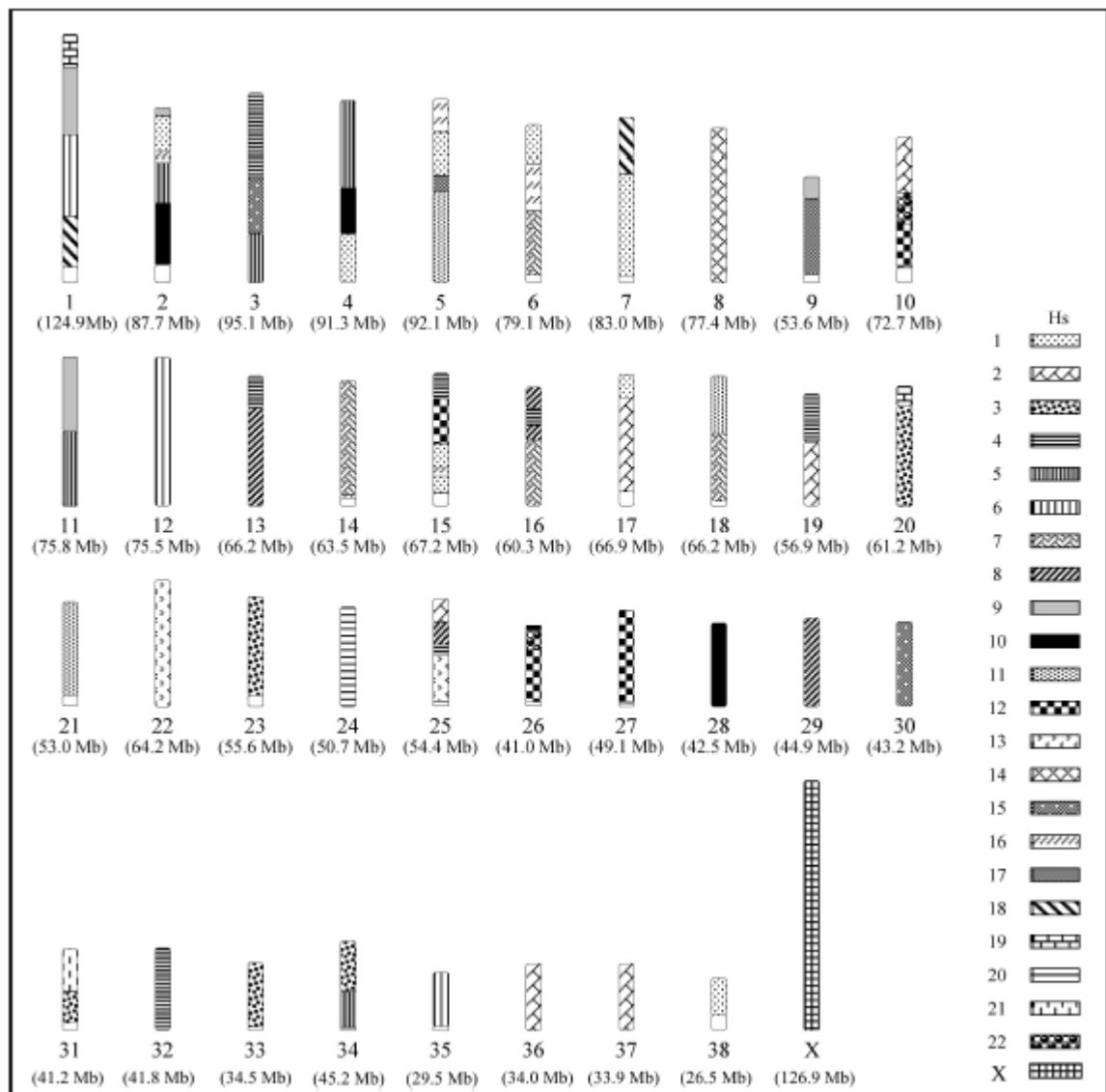
2.3.2. Le génome canin est proche du génome humain

Le génome canin est composé d'environ 20 000 gènes répartis sur 38 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels. La portion d'euchromatine constitue environ 2,4 Gigabases (Lindblad-Toh *et al.*, 2005b).

Il existe de grandes similitudes entre les génomes humain et canin (Lindblad-Toh *et al.*, 2005b). Le génome canin est plus proche du génome humain que ne l'est celui de la souris, avec une divergence nucléotidique moyenne d'environ 0,35 substitution par site au lieu de 0,51 entre la souris et l'homme (Shearin et Ostrander, 2010).

Le chien domestique partage avec l'homme de nombreuses orthologies¹. Des gènes orthologues se définissent comme des gènes issus d'un gène ancestral commun entre deux espèces et n'étant pas le résultat d'une duplication génétique (Derrien, 2007). Cette proximité entre le génome du chien et de l'homme, illustrée par ces relations d'orthologie (*figure 12*) autorise à rechercher des gènes de prédisposition au cancer chez l'homme en les identifiant d'abord chez le chien.

Figure 12 : Représentation schématique des relations d'orthologie entre les génomes canins et humains. Au centre le caryotype canin, à droite les motifs représentant chaque chromosome humain (Hs). Adaptée d'après Starkey *et al.* (2005).



¹ **Gènes orthologues** : gènes de deux espèces différentes qui descendent du même gène ancestral. Deux gènes orthologues ne sont pas nécessairement localisés au même endroit sur le génome des deux espèces. Ces relations d'orthologie peuvent aboutir à une conservation de l'organisation spatiale des gènes sur un même chromosome entre deux espèces relativement proches au niveau phylogénétique. Ces régions sont conservées en bloc et s'appellent blocs de synténie.

2.3.3. Patron bimodal des déséquilibres de liaison chez le chien

L'évolution phylogénique des races canines avec ses deux goulots d'étranglements, un ancien et un récent, a eu un impact considérable sur la structure du génome canin. Ces goulots ont entraîné chez l'ensemble des individus une association non aléatoire d'allèles, au niveau de locus liés, des déséquilibres de liaison¹ à l'origine d'haplotypes² partagés par les tous individus de l'espèce chien (premier goulot) et par tous les individus de chaque race (second goulot).

Au sein de chaque race canine, les individus partagent des déséquilibres de liaison de grande taille, mesurant 0,5 à 1 Mb (Mégabase), générés par le deuxième goulot d'étranglement. Ces blocs haplotypiques communs constituent un patron qui se conserve à chaque génération. On estime qu'il y a de trois à six haplotypes spécifiques de chaque race (Lindblad-Toh *et al.*, 2005b).

Au sein de l'espèce prise dans son ensemble, les individus partagent également de petits déséquilibres de liaison d'environ 10 kb (kilobase) générés par le premier goulot d'étranglement. Leur petite taille s'explique par le fait que la population canine prise dans son intégralité est importante, et la longue période qui nous sépare de la domestication du chien a vu de nombreuses générations de chiens se succéder ce qui a permis de fragmenter le génome en petits segment d'ADN de l'ordre de 10 kb (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008).

2.3.4. Avantages du génome canin pour identifier des gènes de prédisposition au cancer

La structure génomique du génome canin offre de nombreux avantages :

- il est compact, avec moins de duplications géniques, de séquences rétrovirales endogènes, et de transposons ADN que le génome des autres mammifères, en particulier le génome de l'homme (Goodstadt et Ponting, 2006) ;
- les études génétiques sont plus simples et plus directes chez le chien (Shearin et Ostrander, 2010) car les blocs haplotypiques sont 10 à 50 fois plus étendus que chez l'homme (Sutter *et al.*, 2004) ce qui implique que l'on a besoin de seulement 10 000 à 30 000 marqueurs SNPs pour couvrir efficacement le génome du chien, contre 500 000 chez l'homme. Les études nécessitent moins d'individus et sont donc moins coûteuses (Dobson, 2013) ;
- la collecte d'échantillons est beaucoup plus simple ce qui permet de constituer de vastes banques de tissus.

¹ **Déséquilibre de liaison** : association non aléatoire d'allèles sur 2 locus ou plus.

² **Haplotype** : combinaison d'allèles observée sur un ou plusieurs marqueurs consécutifs sur un chromosome. Un bloc haplotypique est une région d'un chromosome qui ne contient pas de recombinaison.

2.4. Le chien domestique : un modèle d'étude génétique

Comme indiqué dans la partie 1, le chien et l'homme partagent le même spectre de maladies, y compris les cancers (Shearin et Ostrander, 2010).

Les analyses génétiques qui doivent nous permettre d'identifier des régions d'intérêt, comme les analyses de déséquilibres de liaison, sont lourdes et difficilement interprétables chez l'homme compte tenu du brassage allélique très important dans les populations humaines (Cadieu et Ostrander, 2007).

À l'inverse, la structure particulière en patron bimodal des déséquilibres de liaison simplifie grandement les études en suggérant une stratégie de cartographie génétique en deux étapes dans lesquelles le locus du gène recherché est tout d'abord localisé avec une faible précision dans une race, puis localisé avec une forte précision en utilisant d'autres races prédisposées. En effet, la plupart des mutations à l'origine des maladies se sont produites avant la création de toutes les races canines, car les races sont jeunes et n'ont pas eu le temps d'accumuler ces mutations. Ainsi, quand plusieurs races souffrent de la même maladie avec une forte prévalence, on peut penser qu'elles partagent la même mutation causale, portée par chaque race sur un même haplotype commun ancestral (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008).

2.5. Recherche de gènes de prédisposition au cancer : plusieurs techniques

2.5.1. Les études pangénomiques d'association

Le modèle canin ouvre la voie à de vastes études d'association pangénomique ou GWAS (*genome-wide association studies*). Elles consistent à comparer le génome d'au moins deux populations : soit deux populations d'une même race, l'une atteinte et l'autre saine, soit deux populations de races différentes, avec une race atteinte et l'autre non (race témoin). L'ensemble des individus sont génotypés pour de très nombreux marqueurs génétiques. La localisation des gènes causaux du cancer s'effectue en comparant la fréquence allélique des marqueurs dans chacune des deux populations. Une combinaison d'allèles plus représentée dans la population des malades peut mettre en évidence une liaison entre le cancer et les locus concernés. On retrouve ainsi les déséquilibres de liaison précédemment décrits (Lindblad-Toh *et al.*, 2005b).

Ces études chez le chien invitent à procéder en deux étapes. La première étape est l'étude d'association au sein d'une même race pour localiser les long déséquilibres de liaison où ségrègent les locus d'intérêts. La deuxième étape est une cartographie fine de la zone précédemment trouvée en utilisant un lot de marqueurs plus dense dans plusieurs races partageant le même phénotype du cancer. Au final, on aboutit à une zone restreinte de 10 à 100 kb qui peut contenir un locus associé à la maladie (*figure 13*). Le principe reste le même lorsqu'il s'agit d'étudier des maladies polygéniques où interviennent des interactions complexes d'allèles comme c'est le cas le plus fréquemment lors de cancer.

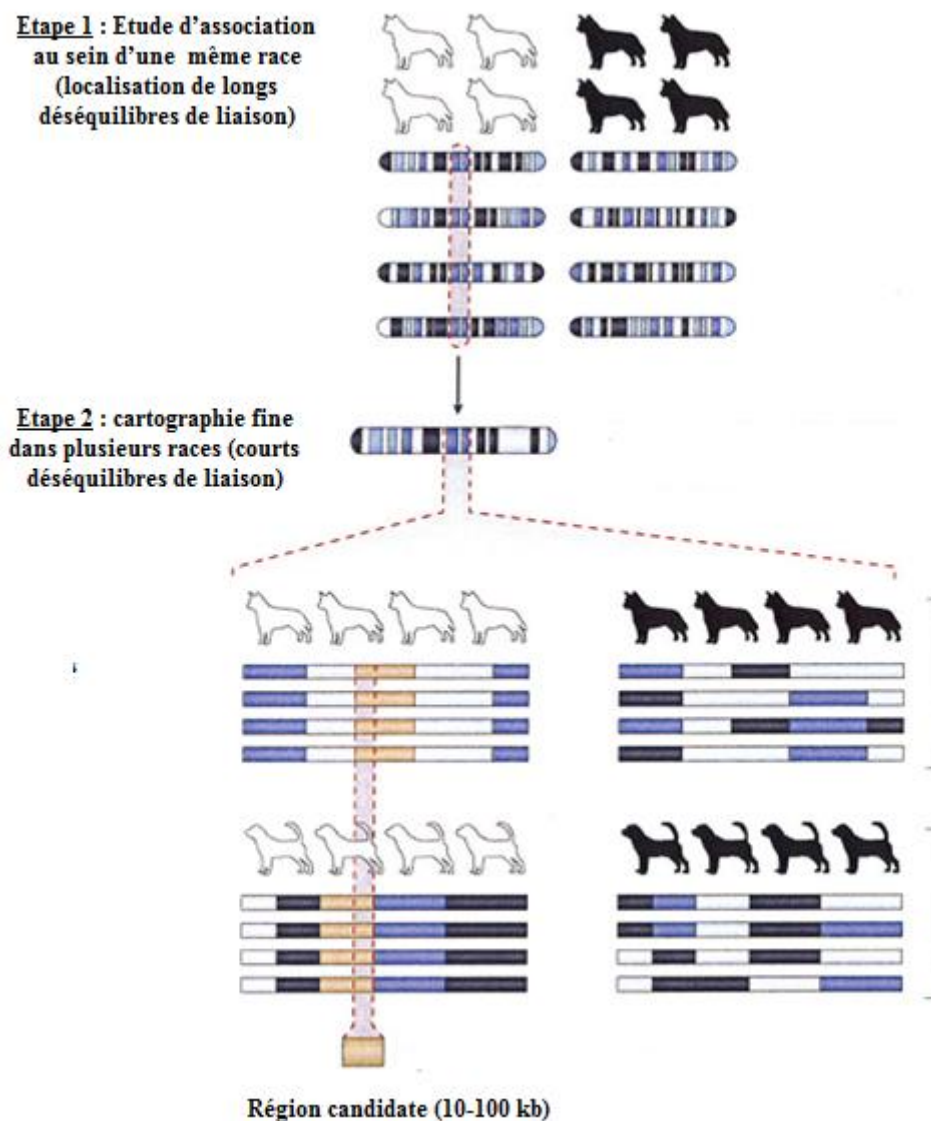
Les GWAS ont déjà prouvé leur efficacité pour des maladies à transmission mendélienne comme les sinus dermoïdes de la race rhodesian ridgeback (Salmon Hillbertz *et al.*, 2007). Plusieurs organismes comme l'American Kennel Club Canine Health Foundation (AKC Canine Health Foundation. *Homepage AKC Canine Health Foundation*. [En ligne]. [<http://www.akcchf.org/>]. (Consulté le 20/09/2014).), la Morris Animal Foundation (Morris Animal Foundation. *MAF*

homepage. [En ligne]. (Date de mise à jour en Octobre 2014). [<http://www.morrisanimalfoundation.org/>]. (Consulté le 20/09/2014).), et le projet LUPA en Europe (Lequarré *et al.*, 2011) parient sur le modèle canin et investissent dans ces études génétiques.

En ce qui concerne l'étude des gènes du cancer, les simulations indiquent qu'il faudra réunir des échantillons d'au moins 100 malades et 100 témoins, et utiliser un nombre de marqueur au moins égal à 15 000 SNPs pour localiser des locus d'intérêt dans des intervalles de 5 à 10 kb associés à une augmentation d'un facteur 5 du risque de contracter le cancer en question (Karlsson et Lindblad-Toh, 2008).

Certaines précautions sont à prendre afin d'avoir des résultats fiables sans biais. Il faut s'assurer de bien distinguer les individus atteints des individus sains et utiliser des populations similaires en terme de géographie et d'origine ethnique. Utiliser plusieurs races partageant le même phénotype augmente les chances d'identifier l'allèle recherché. Cependant il faut bien se rappeler qu'un même phénotype ne signifie pas obligatoirement un même génotype : on peut être piégé par des phénocopies.

Figure 13 : Schéma simplifié de la stratégie en deux étapes des études pangénomiques d'association.
Adaptée d'après Karlsson et Lindblad-Toh (2008).



2.5.2. L'analyse de liaison

La construction de grands pedigrees comportant un grand nombre d'individus répartis sur plusieurs générations est un autre atout majeur du modèle canin.

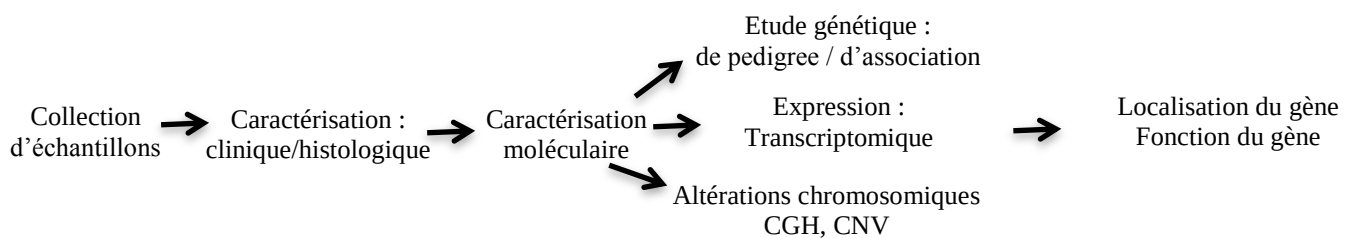
L'analyse de liaison repose sur l'étude de pedigrees où ségrége la maladie. Elle se base sur l'existence de recombinaisons lors des crossing-overs méiotiques. Elle utilise le principe que plus deux locus sont proches, moins il y aura de recombinaisons entre eux. On dénombre les recombinaisons entre chaque marqueur et le locus d'intérêt. On obtient un LOD score dont la valeur indique la vraisemblance de la liaison du locus donné avec la maladie (Shearin et Ostrander, 2010).

L'analyse de liaison génétique a été délaissée au profit des GWAS. Toutefois l'analyse de liaison génétique a permis la découverte d'un gène qui, lorsqu'il est muté, cause un cancer du rein héréditaire (cystadénocarcinome rénal) chez le berger allemand ; ce gène est à l'origine d'un cancer rénal chez l'homme (Lingaas *et al.*, 2003).

2.5.3. Démarche classique

L'identification de la localisation d'un allèle morbide puis de sa fonction passe par un certain nombre d'étapes successives. Il faut tout d'abord partir d'une collection d'échantillons, ce qui peut demander plusieurs années de collecte. Ces prélèvements doivent être caractérisés par des analyses histologiques en veillant à bien conserver les données cliniques de l'animal. Les études moléculaires à proprement parler s'organisent ensuite selon trois grands axes : une localisation des allèles par des études de liaison génétique ou d'association, une mise en évidence de l'expression des gènes en question par des analyses de transcriptome, une observation des altérations cytogénétiques par des techniques d'hybridation génomique (CGH, pour *comparative genomic hybridization*) ou des recherches de variation du nombre de copies des gènes (CNV, pour *copy number variation*) (Derrien, 2007). La *figure 14* illustre cette démarche.

Figure 14 : Déroulement des étapes pour l'identification d'un gène.



2.6. Exemples de cancers

2.6.1. **Le cystadénocarcinome rénal du berger allemand et la maladie de Birt-Hogg-Dubé chez l'homme**

L'un des exemples les plus illustratifs de l'utilisation de l'analyse de liaison pour localiser et identifier un gène impliqué dans un cancer est l'étude du cystadénocarcinome rénal et de la dermatofibrose nodulaire (RCND) (Shearin et Ostrander, 2010).

Cette maladie tumorale canine, rare et héréditaire chez le berger allemand, se caractérise par une atteinte multifocale et bilatérale des reins, des nodules cutanés et des léiomyomes utérins chez la femelle. La prédisposition de cette seule race pour cette maladie a invité les chercheurs à des analyses de liaison au sein des pedigrees atteints. L'observation de ces derniers a indiqué une transmission autosomique dominante de la mutation causale (Lium et Moe, 1985). L'identification de la mutation causale chez le chien pouvait permettre de découvrir son homologue chez l'homme, soit pour une maladie cancéreuse dont des mutations étaient déjà identifiées, soit pour un cancer dont les mécanismes étaient encore inconnus.

C'est en utilisant une famille de bergers allemands (*annexe 2*) créée expérimentalement à partir d'un mâle atteint que le locus morbide a été cartographié sur une petite région du chromosome 5 canin (Jónasdóttir *et al.*, 2000). Il s'agissait de la première étude consistant à localiser un gène du cancer chez un autre mammifère que l'homme et le rat. Jónasdóttir et son équipe ont utilisé un jeu de marqueurs pour localiser le gène *RCND* ; de fait certains semblaient ségréger avec une forte liaison avec ce gène comme les marqueurs *CPH18* et *C02608*. Certains gènes candidats comme les gènes *TSC* et *TP53*, à l'origine de maladies avec un phénotype similaire chez l'homme (respectivement complexe de la sclérose tubéreuse et syndrome de Li-Fraumeni) ont été tout d'abord exclus par des analyses de cartes d'hybridation et une analyse directe de leur séquence chez les chiens atteints et non atteints.

Une deuxième étude réalisée trois ans plus tard a identifié la mutation liée au RCND sur une petite région du chromosome 5 homologue au locus de Birt-Hogg-Dubé (BHD) chez l'homme sur le chromosome 17. Ce locus a été cartographié chez l'homme dans la même période où Lingaas et ses collaborateurs faisaient leur analyse chez le chien. Il provoque la maladie de Birt-Hogg-Dubé semblable cliniquement et histo-pathologiquement au RCND chez le chien (Lingaas *et al.*, 2003 ; Nickerson *et al.*, 2002). Des analyses complémentaires ont permis d'identifier la mutation dans l'exon 7 du gène *BHD* canin (anciennement *RCND*) entraînant la substitution d'une adénine en guanine, conduisant à un changement d'acide aminé dans la protéine. On avait identifié chez le chien le gène responsable de la maladie de BHD chez l'homme.

Cette protéine, la folliculine, est hautement conservée dans l'évolution. Elle est partagée par un grand nombre d'espèces ce qui suggère une fonction importante dans le fonctionnement de l'organisme. Son rôle a été récemment identifié chez l'homme (Possik *et al.*, 2014). La folliculine participe à la voie de signalisation de l'AMPK qu'elle inhibe. Le gène *FCLN* (autre appellation du gène *BHD*) est un gène suppresseur de tumeur dont la perte de fonction entraîne une activation constitutive de l'AMPK et une inhibition de l'apoptose.

Ces études constituent le premier exemple d'un cancer héréditaire du chien et de l'homme avec un phénotype semblable faisant intervenir le même gène. Les études chez le chien ont permis d'identifier le gène et la mutation à l'origine du RCND chez le chien et de la maladie de BHD chez l'homme. En outre, la maladie se déclare plus tôt et progresse plus rapidement chez le chien ce qui fournit un bon modèle pour la perte de fonction dans le gène *FCLN* de l'homme.

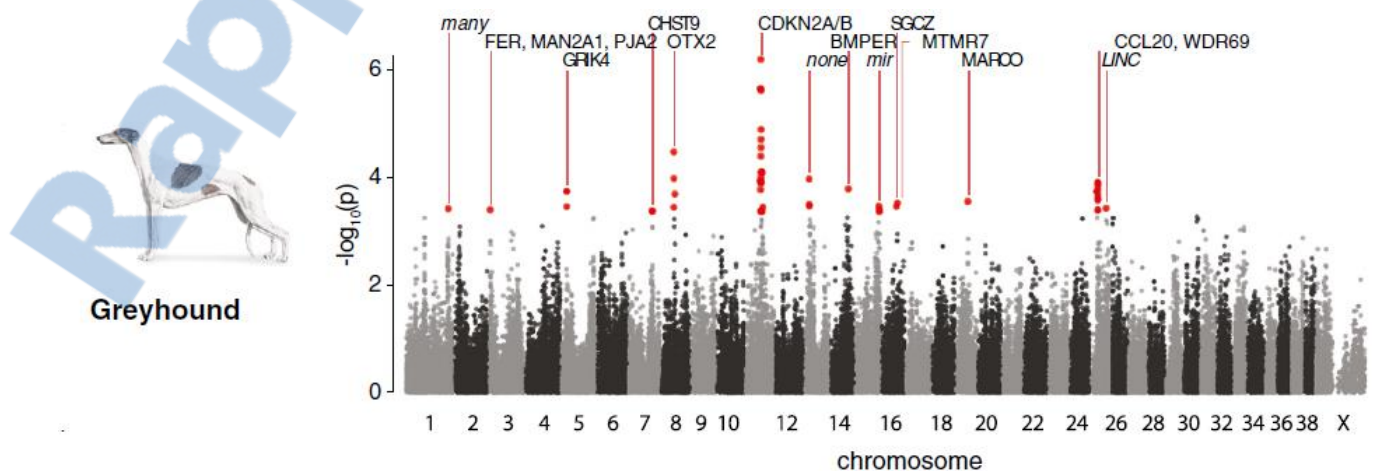
2.6.2. L'ostéosarcome canin : étude pangénomique d'association et mise en évidence d'anomalies chromosomiques

L'ostéosarcome canin est l'un des modèles de cancer les plus étudiés pour la recherche contre le cancer. Rappelons que l'ostéosarcome canin est très proche celui de l'enfant tant du point de vue clinique que du point de vue du profil d'expression génétique (Paoloni *et al.*, 2009a). L'avantage majeur de son étude provient de sa prévalence relativement élevée chez certaines races de chien comme le greyhound, le rottweiler ou l'irish wolfhound (Shearin et Ostrander, 2010).

Ce sont ces trois races qui ont été utilisées dans le cadre d'une étude pangénomique d'association utilisant une puce contenant 170 000 SNPs *Illumina canine HD* (Karlsson *et al.*, 2013). Jusqu'à présent, un seul GWAS a été effectué chez l'homme et n'a permis de mettre en évidence que deux associations majeures : une dans le gène *GRM4* (récepteur glutamate métabotrope 4) et l'autre dans une séquence non codante (Savage *et al.*, 2013).

L'étude de Karlsson et de ses collaborateurs a permis d'isoler pas moins de 33 locus expliquant de 55 à 85 % de la variance phénotypique des individus atteints d'ostéosarcome. Une analyse fonctionnelle rapporte que les gènes contenus dans ces locus sont en relation et ont un rôle dans la croissance et la différenciation osseuse. Ils ont observé par ailleurs que chaque race présente un lot de facteurs de risque qui lui sont propres. Seule une région non codante sur le chromosome 11 canin, proche des gènes *CDKN2A* et *CDKNB2* (inhibiteur 2A et 2B des cyclines kinases dépendantes), initialement retrouvée associée à l'ostéosarcome dans la race greyhound, est aussi retrouvée comme facteur de risque dans les deux autres races. Elle aurait des fonctions régulatrices sur les gènes *CDKN* codant des protéines kinases dépendantes des cyclines (*cyclin-dependent kinases*). Cet haplotype est en synténie conservée avec une région du chromosome 9 humain (9p21). Cette dernière région est complexe et majeure ; elle intervient dans d'autres cancers de l'homme, comme le gliome, la leucémie lymphoblastique aigue, le sarcome histiocyttaire (Shearin *et al.*, 2012) et le cancer du sein (Hindorff *et al.*, 2009). La *figure 15* est un extrait des résultats de l'étude d'association dans le groupe des greyhounds.

Figure 15 : Extrait des résultats statistiques obtenus lors de l'étude d'association sur le groupe de chiens greyhound. En abscisse les chromosomes canins, en ordonnée le niveau d'association. Chaque point représente un marqueur SNP. On retrouve le locus des gènes *CDKN2A/B* avec un niveau d'association élevé. Adaptée d'après Karlsson *et al.* (2013).



La comparaison avec le GWAS réalisé chez l'homme est à l'avantage du chien. Le GWAS chez l'homme faisait appel à plus de 4 000 individus et utilisait 699 000 marqueurs. Il n'a permis d'isoler que deux régions génomiques alors que l'étude de Karlsson utilisait 562 chiens et 170 000 marqueurs. Elle a mis en évidence 30 régions génomiques associées à ce cancer. La faible diversité génétique des individus dans chacune des trois races canines permettait d'aller assez rapidement du stade de la localisation de la région génomique associée au cancer à celui de la recherche de fonction des gènes/allèles et des mécanismes d'action car peu de séquençages et de génotypages additionnels étaient nécessaires. Ceci est appréciable lorsqu'il s'agit d'identifier des séquences non codantes (par exemple des séquences régulatrices ou des promoteurs), plus difficiles à isoler. Or ces séquences sont probablement plus fréquemment impliquées dans les maladies complexes telles que le cancer.

Cette étude génétique illustre bien l'apport de l'étude du génome canin pour la cancérologie humaine. Elle a réussi à identifier un grand nombre de gènes candidats et des voies de signalisation qui sont potentiellement à l'origine de ce cancer. Certains mécanismes sont déjà connus chez l'homme, comme ceux faisant intervenir les gènes *RB1*, *TP53* et les inhibiteurs de CDK4 (*CDKN2A/B*) (Tang *et al.*, 2008), mais certaines des régions identifiées (quatre sur les 33) contiennent des gènes inconnus qui pourraient jouer un rôle non négligeable dans la progression de l'ostéosarcome pédiatrique. Une nouvelle voie de signalisation incluant des motifs cis-régulateurs a aussi été découverte, appelant des études ultérieures.

L'étude du génome des chiens atteints d'ostéosarcome ne se résume pas aux études d'association. L'oncologie comparée a porté aussi de grands espoirs dans l'étude des relations entre la maladie et les anomalies cytogénétiques, se définissant par exemple par des altérations du nombre de copies des gènes (CNA) (Shearin et Ostrander, 2010). Une des techniques pour visualiser les CNA est l'hybridation génomique comparative (Rueda et Diaz-Uriarte, 2007) ou CGH. Elle consiste à repérer dans l'ensemble du génome les déséquilibres dans le nombre des gènes ou dans le caryotype, en comparant le génome d'une cellule tumorale avec le génome d'une cellule de référence, au moyen d'un marquage avec des fluorochromes. La CGH a déjà permis de mettre en évidence un caryotype anormal dans les cellules cancéreuses de patients humains atteints d'ostéosarcome (Sandberg et Bridge, 2003). Ces caryotypes étaient très hétérogènes, parfois hypodiploïdes, d'autres fois hyperdiploïdes, avec des anomalies du nombre et de la structure des chromosomes (Shearin et Ostrander, 2010).

L'application de cette technique à des chiens (Thomas *et al.*, 2009) a révélé que l'ostéosarcome canin présentait ces mêmes aberrations cytogénétiques, incluant des pertes de gènes suppresseurs de tumeurs (*PTEN*, *WT1*, *TP53*) et des gains d'oncogènes (*MYC* et *H-RAS* par exemple). En comparant deux races (rottweiler et golden retriever) atteintes d'ostéosarcome avec des incidences différentes, il a été remarqué que les CNA différaient selon la race et étaient donc liés au statut génétique de l'individu (Thomas *et al.*, 2009). Ces anomalies seraient donc transmises de façon héréditaire chez le chien ce qui souligne l'importance du fonds génétique comme facteur de risque dans le développement et la progression de l'ostéosarcome.

Là encore, le chien a aidé la recherche en confirmant certaines observations et en désignant les gènes à étudier en priorité, dont certains sont d'ailleurs candidats pour être des facteurs pronostiques (*WT1*) (Srivastava *et al.*, 2006).

2.6.3. Sarcome histiocytaire

Le sarcome histiocytaire est une maladie très rare chez l'homme mais très agressive ; elle répond par ailleurs très peu à la chimiothérapie. Il s'agit d'un cancer très difficile à étudier chez ce dernier compte tenu du faible nombre de cas. La maladie est mal comprise et les mécanismes génétiques sont peu connus (Carrasco *et al.*, 2006). Les rares races de chien atteintes le sont avec une très grande prévalence comme le bouvier bernois chez qui la maladie est héréditaire et oligo-génique (Abadie *et al.*, 2009). En outre, l'étude des familles de bouvier bernois atteints a révélé que d'autres cancers comme des lymphomes ou des mastocytomes ségréguaient aussi dans ces familles (Abadie *et al.*, 2009).

Des études récentes d'associations pangénomiques ont permis d'identifier deux locus majeurs de prédisposition (Shearin *et al.*, 2012). À cela se sont rajoutées des études de profil d'expression des gènes candidats et une hybridation génomique comparative (Hedan *et al.*, 2011). L'étude d'association a utilisé deux GWAS successifs, le premier regroupant des bouviers bernois, le second ajoutant une deuxième race (rottweiler) pour une cartographie fine des régions identifiées lors de la première étape. Parmi les locus associés au phénotype du sarcome histiocytaire, un haplotype commun aux deux races de 75 kb a été identifié sur le chromosome 11. Cette région est homologue à une séquence sur le chromosome 9 humain (9p21). Complexe et peu connue, elle semble impliquée dans plusieurs cancers de l'homme. Cet haplotype, retrouvé chez 96 % des bouviers bernois atteints, contient des locus proches des gènes *CDKN2A/CDKN2B* et *MTAP* (méthylthioadénosine phosphorylase) qui sont des suppresseurs de tumeur. Les études du profil d'expression de ces gènes ont suggéré l'existence de mutations dans leurs séquences régulatrices (Shearin *et al.*, 2012).

Grâce au GWAS, le chien devient un modèle génétique pour étudier la susceptibilité au cancer due à la dérégulation des gènes *CDKN* et *MTAP*. Le chien permettra d'étudier, à travers le sarcome histiocytaire, cette région complexe du génome contenant de nombreuses séquences non codantes (Shearin *et al.*, 2012). L'objectif suivant sera de séquencer l'haplotype isolé afin de rechercher la mutation causale.

L'ensemble de ces découvertes oriente le travail de recherche chez l'homme et cible les régions auxquelles on doit s'intéresser. Des lignées cellulaires ont d'ailleurs été créées pour des validations fonctionnelles et des tests thérapeutiques (Hedan, 2014).

2.6.4. Mélanome canin : études d'association et séquençage d'ARN en cours

Pour rappel, le mélanome est une maladie complexe et hétérogène. Il se présente sous de multiples formes : cutanée, muqueuse (dont buccale), unguéale et oculaire. Chez l'homme, on retrouve surtout des mélanomes cutanés en très grande majorité tandis que chez le chien on retrouve surtout des mélanomes buccaux puis cutanés (André, 2014). À l'heure actuelle, le mélanome cutané est le plus étudié chez l'homme. Les gènes *BRAF* et *NRAS* jouent un rôle important dans le mélanome cutané de l'homme, tandis qu'on ne connaît pas de gène de susceptibilité ni de facteur de risque pour la forme buccale (Omholt *et al.*, 2003).

L'oncologie comparée considère le mélanome buccal canin comme un modèle d'étude pertinent du mélanome non induit par les UV chez l'homme (André, 2014). Des études d'association sont réalisées par l'équipe de C. André à l'UMR 6290 CNRS de Rennes afin d'en connaître les bases génétiques, avant de transférer les informations obtenues chez l'homme, en recherchant des altérations génétiques dans les gènes orthologues. Ces études seront plus rapides puisque le chien bénéficie des découvertes déjà réalisées chez l'homme (B-RAS, N-RAS).

L'étude du génome canin est un argument majeur pour défendre l'intérêt de l'oncologie comparée. La structure particulièrement avantageuse de l'espèce canine facilite les études et donne de grands espoirs pour découvrir de nouveaux gènes à l'origine de cancers. À l'heure actuelle, il est clair que c'est surtout la médecine vétérinaire qui profite des avancées de la médecine humaine. Toutefois, les quelques exemples précédents comme l'étude du cystadénocarcinome rénal du berger allemand ou de l'ostéosarcome canin prouvent que le chien peut lui aussi apporter une pierre à l'édifice de la lutte contre le cancer.

3. APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE EN TANT QUE SENTINELLE POUR LES FACTEURS DE RISQUE ENVIRONNEMENTAUX DU CANCER

La prévention des dangers biologiques de l'environnement est un enjeu de taille en terme de santé publique. Parmi ces dangers biologiques sont retrouvés les virus, les bactéries, les champignons, les parasites et les polluants chimiques. De nos jours, une attention toute particulière est portée aux facteurs de risque de l'environnement à l'origine de cancers, ou facteurs carcinogènes. De nombreuses études, principalement de type observationnel, ont vu le jour pour qualifier et quantifier le rôle de ces facteurs sur la pathogénie du cancer (Fouqueray, 2008). Les animaux domestiques, notamment le chien, ont un rôle à jouer dans cette prévention (Knapp et Waters, 1997 ; Reif, 2011).

Cette sous-partie expliquera les perspectives qu'offrent le chien domestique en tant qu'animal sentinelle puis exposera son apport dans l'étude des facteurs de risques environnementaux du cancer.

3.1. Le concept d'animal sentinelle

Le concept d'animal sentinelle n'est pas nouveau. On ne peut que rappeler l'exemple iconographique de l'utilisation de canaris par les mineurs dès le début du 20^{ème} siècle pour les prévenir en cas d'une montée du taux de monoxyde de carbone. L'oiseau, beaucoup plus sensible que l'homme, présentait des symptômes beaucoup plus précocement et servait ainsi de signal d'alerte aux mineurs qui pouvaient sortir avant de subir les effets du gaz (Reif, 2011).

Nous pouvons définir une sentinelle comme un « *organisme pour lequel les modifications induites par une contamination environnementale peuvent être mesurées, ces conclusions pouvant être appliquées à la santé humaine et permettant d'alerter de manière précoce de ces changements* » (O'Brien et al., 1993).

Les animaux exposés à des éléments carcinogènes octroient la possibilité de mettre en évidence une contamination et de prévoir les risques pour la santé humaine, en étudiant, de manière précoce, leur exposition à ces éléments. Ils pourront servir d'indicateur d'exposition, permettant d'objectiver la présence de facteurs de risque dans l'environnement ; mais aussi d'indicateur d'effet, permettant d'étudier le mécanisme d'action du contaminant sur l'organisme de l'animal sentinelle puis d'extrapoler les résultats chez l'homme. Cela alerte du danger de manière qualitative et quantitative (Fouqueray, 2008).

3.2. Le chien se classe comme une bonne sentinelle des facteurs carcinogènes de l'environnement

Comme indiqué en partie 1, de nombreux cancers du chien ressemblent au cancer de l'homme de par leur expression clinique, leur forme anatomopathologique et leurs facteurs de risque connus (Fouqueray, 2008). Le chien reste dans le foyer familial en permanence et ne subit pas les contaminations « parasites » que subit son maître sur son lieu de travail, de ses activités extérieures ou lors des transports. Il permet donc de cibler quasi exclusivement les facteurs de risque présents dans l'habitat (Backer *et al.*, 2001 ; Reif *et al.*, 1992 ; Tabaries, 2009). De plus, il modélise de manière assez fiable l'impact que peuvent avoir ces agents carcinogènes sur les jeunes enfants avec qui il partage leur petite taille et la même hauteur par rapport au sol. Globalement, le niveau d'exposition est supérieur (temps passé dans le foyer plus important) et le délai d'apparition des cancers est plus rapide donc la mise en évidence éventuelle d'une exposition est précoce (Backer *et al.*, 2001).

Jusqu'à maintenant, de nombreuses études ont porté sur les cancers chez les chiens exposés à des polluants chimiques, la plupart étant des études cas/témoins (Withrow *et al.*, 2012). Ces cancers touchent principalement l'appareil respiratoire supérieur, le parenchyme pulmonaire, l'appareil génito-urinaire et les organes hématopoïétiques (Kelsey *et al.*, 1998 ; Reif, 2011).

Les principaux facteurs de l'environnement étudiés sont la pollution de l'air ambiant engendrée par un environnement urbain, la présence d'herbicides ou de pesticides, et l'exposition à la fumée de cigarette.

3.3. Etude cas/témoin et odds ratio

La plupart des études épidémiologiques se concentrant sur l'étiologie du cancer chez les chiens sont des études purement observationnelles de type cas/témoin ; c'est-à-dire que les deux échantillons à comparer sont d'une part l'échantillon contrôle ou « sain », exempt de maladie, d'autre part l'échantillon malade, atteint du cancer (Kelsey *et al.*, 1998). On compare dans ces deux échantillons s'ils ont été exposés ou non au facteur de l'environnement étudié, comme un pesticide ou la fumée de cigarette par exemple.

L'étude statistique aboutit au calcul d'un *odds ratio* (OR) qui permet de quantifier la puissance de l'association entre l'exposition et le cancer en question, soit le risque relatif, sans pour autant mettre en évidence un lien de cause à effet. Un OR de 1 signifie qu'il n'y a aucune association, tandis qu'un OR de 1,6 signifie qu'en cas d'exposition à l'élément étudié, l'individu a 60% de risque en plus d'être atteint de la maladie qu'un individu non exposé.

3.4. Les apports historiques

3.4.1. Le séminome des chiens comme signal d'alerte d'exposition aux pesticides lors de la guerre du Vietnam (1955-1975)

Pendant la guerre du Vietnam, il y avait une promiscuité importante entre les militaires américains et leurs chiens de travail avec qui ils affrontaient la panoplie de pesticides, herbicides et autres produits chimiques, et les traitements contre l'ehrlichiose à base de tétracyclines. Parmi les herbicides, l'armée américaine utilisait un herbicide constitué d'acide 2,4-para-dichlorophénoacétique (2,4-D ou « agent Orange ») comme défoliant dans la jungle vietnamienne (Calesnick, 1984). Cela aurait entraîné une augmentation du taux de cancer, une chloracné et une oligospermie (Fouqueray, 2008). À ce titre, une étude s'est intéressée au taux élevé d'atteintes testiculaires chez les chiens de guerre présents au Vietnam pendant cette période (Hayes *et al.*, 1990).

Cette étude rétrospective menée en 1990 démontrait que le risque de développer un séminome chez les chiens de guerre en contact de cet herbicide était plus élevé, avec un OR de 1,9 pour les chiens présents sur le territoire vietnamien. En comparant avec l'homme, on avait trois cas sur 995 vétérans, soit un taux plus élevé que la moyenne nationale à 0,6 pour 1 000. Malheureusement, l'enquête épidémiologique chez ces vétérans menée par une étude interne à l'armée américaine a pris beaucoup de temps et s'est conclu à la fin des années 1980 (Hayes *et al.*, 1990).

On entrevoit ici que les chiens auraient pu être de bons indicateurs des risques cancérigènes des produits chimiques utilisés pendant la guerre du Vietnam.

3.4.2. Les effets carcinogènes de l'amiante et le mésothéliome du chien

Le mésothéliome est un bon exemple de l'utilité de nos chiens domestiques dans leur rôle de sentinelle de l'exposition à l'amiante, matériau autrefois utilisé pour l'isolation thermique dont les effets cancérigènes sont connus depuis des décennies (Fouqueray, 2008). Cette tumeur affecte les cellules mésothéliales formant le revêtement des poumons (plèvre), de la cavité abdominale (péritoine) ou l'enveloppe du cœur (péricarde) (Bartrip, 2004).

Chez l'homme, l'amiante est liée de manière certaine au développement de mésothéliome (Magnani *et al.*, 2001) puisqu'il est estimé qu'au moins 60% des cas de mésothéliome sont consécutifs à une exposition à l'amiante (Orenstein et Schenker, 2000), mais aussi à une multiplication par sept du risque de développer un cancer des poumons (Tabaries, 2009).

Une association similaire existe chez les chiens domestiques dont les propriétaires ont une activité ou un loisir en contact avec l'amiante (Glickman *et al.*, 1983 ; Harbison et Godleski, 1983). L'étude de Glickman et ses collaborateurs, portant sur 16 chiens de plus de cinq ans atteints de mésothéliome, a montré un OR de 8,0 pour les chiens dont les propriétaires étaient exposés à l'amiante en dehors du lieu de vie du chien.

L'intérêt de l'étude chez le chien a donc permis de révéler avec plus de force l'association entre l'amiante et l'apparition d'un mésothéliome.

3.5. Le cancer du chien marqueur d'un environnement exposé à la fumée de cigarette

Il existe des preuves formelles d'un effet néfaste de la fumée de cigarette sur la carcinogénèse canine (Hernandez *et al.*, 1966). Par exemple, une association positive entre l'exposition à la fumée de cigarette et l'augmentation du risque de tumeur des cavités nasales et para-nasales chez les chiens dolichocéphales, c'est-à-dire à museau long comme le berger allemand, a été démontrée avec un OR de 2,5 (IC95% = [1,1-5,7]) pour les plus exposés, tandis que les chiens brachycéphales, à nez court, semblaient bénéficier d'un effet protecteur pour cette atteinte des voies respiratoires supérieures (Reif *et al.*, 1998). En revanche, ces derniers avaient un risque augmenté de développer un cancer des poumons lors d'exposition à la fumée de cigarette, avec un OR de 2,4 (Reif *et al.*, 1992).

Les tumeurs des cavités nasales sont peu communes chez l'homme. Il est tout de même important de les déceler chez le chien pour mettre en évidence un environnement trop pollué par ces fumées. Rappelons en effet que de nombreux cancers de l'homme sont attribuables à la fumée de cigarette : 84 % des cancers du poumon chez l'homme et 77 % chez la femme, 73 % des cancers du larynx et 66 % chez la femme, de l'oropharynx, de l'œsopharynx et de la vessie (Irigaray *et al.*, 2007).

Enfin il existe une association positive entre l'exposition à la fumée de cigarette et le lymphome canin (Marconato *et al.*, 2009), mais pas avec le carcinome transitionnel de la vessie (Knapp *et al.*, 2000).

Du point de vue de la santé publique, l'enfant peut lui aussi être touché, au même titre que son animal, à la même hauteur par rapport au sol. Cela peut s'avérer une motivation supplémentaire pour le propriétaire pour arrêter de fumer (Reif, 2011).

3.6. Chien sentinelle de l'exposition aux pesticides et herbicides

Les pesticides sont un groupe de produits chimiques assez hétérogène. Le chien peut être exposé à ce genre de produits dans la maison ou le jardin, voire avec des traitements antipuces ou anti-tiques. L'exposition des chiens à ces produits a été associée à un risque augmenté de développer des lymphomes, des cancers testiculaires ou de la vessie (Reif, 2011).

De nombreuses études ont exploré le lien entre le lymphome non-hodgkinien canin et l'exposition aux pesticides dans l'habitat mais les résultats sont inconstants (Garabrant et Philbert, 2002 ; Gavazza *et al.*, 2001 ; Hayes *et al.*, 1995, 1991 ; Kaneene et Miller, 1999). Ces études se sont surtout concentrées sur l'impact du 2,4-D.

Une étude cas-témoin plus récente portant sur un ensemble de produits chimiques ménagers, regroupant 263 chiens atteints de lymphome non-hodgkinien et 240 chiens contrôles avec une autre tumeur ou une autre maladie, avec un protocole plus poussé, a attesté d'une forte association entre l'utilisation de produits d'entretien pour le jardin et une augmentation du risque de lymphome non-hodgkinien chez le chien. L'OR était estimé à 1,7 pour un IC95% de [1,1-2,7] (Takashima-Uebelhoefer *et al.*, 2012).

Parallèlement, l'exposition de fermiers américains, suédois et néozélandais au 2,4-D a été corrélée dans plusieurs études à une augmentation du nombre de lymphomes (Blair *et al.*, 1992 ; Hardell, 2008 ; Zahm et Blair, 1992).

Le lien étroit entre le chien et son maître et le partage du même environnement fournit une chance unique d'évaluer comment l'exposition aux pesticides peut contribuer à des lymphomes chez l'homme (Marconato *et al.*, 2013).

L'exposition à ce genre de produits chimiques a été aussi associée à d'autres types de cancers chez le chien et l'homme comme les CTV (Glickman *et al.*, 2004 ; Hayes *et al.*, 1981 ; Reif, 2011). Le délai d'apparition de ce cancer est estimé à 20 ans chez l'homme contre moins de 10 ans chez son animal de compagnie (Hayes *et al.*, 1981).

3.7. Le chien, sentinelle des cancers causés par un habitat en milieu urbain

Des rapports ont fait état de différences dans l'incidence de cancers chez les chiens vivant en milieu urbain comparé aux chiens vivant en milieu rural. On peut citer le lymphome, le cancer des poumons, le carcinome nasal et le carcinome transitionnel de la vessie qui sont plus fréquents en ville (Bettini *et al.*, 2010 ; Gavazza *et al.*, 2001 ; Glickman *et al.*, 1989 ; Hayes *et al.*, 1981 ; Kelsey *et al.*, 1998 ; Reif *et al.*, 1998). La pollution de l'air en milieu urbain serait à l'origine de nombreux maux qui touchent la population et les études de son impact sur la santé du chien ont apporté un outil supplémentaire de taille par rapport aux animaux de laboratoire (Bukowski et Wartenberg, 1997). Le chien est considéré comme une sorte de marqueur d'effet biologique de l'air ambiant, lequel serait à l'origine de 20 à 40 % des affections respiratoires chez l'homme (Marchand, 2011).

Les effets carcinogènes du milieu urbain ne s'arrêtent pas à la pollution de l'air : les champs magnétiques (Reif *et al.*, 1995) mais aussi la gestion des déchets (Marconato *et al.*, 2009) sont dans le viseur des études épidémiologiques comparatives sur le cancer.

3.8. Limites de ces enquêtes épidémiologiques chez le chien

Certains auteurs rappellent que les conclusions de ces nombreuses études sont souvent à prendre avec précaution car il peut exister des biais de classement (Tabaries, 2009). Les méthodes statistiques modernes informatisées ne sont disponibles qu'à partir du milieu des années 1980 (Bukowski et Wartenberg, 1997). Les facteurs de risque environnementaux sont malheureusement nombreux et chaque type de cancer à ses propres facteurs de risques. Le chien ne peut donc être utilisé comme signal d'alerte que dans certains cas précis comme ceux énoncés précédemment.

3.9. Des marqueurs biologiques pour objectiver l'exposition à des facteurs de risque

Pour diminuer les erreurs liées à l'évaluation de l'exposition et mieux l'objectiver, des auteurs se sont attachés à rechercher des marqueurs biologiques liés au cancer. Il est démontré que le taux d'excrétion du 2,4-D dans les urines du chien est proportionnel au niveau d'exposition de l'animal à ce produit (Reynolds *et al.*, 1994). De la même manière, quantifier l'exposition à la fumée de cigarette a été possible en calculant le taux de cotinine, un des métabolites de la nicotine, dans les urines du chien (Bertone-Johnson *et al.*, 2008). Cela ajoute un outil majeur pour améliorer les protocoles des études épidémiologiques.

Nos chiens de compagnie vivent pendant de longues années à nos côtés, dans le même environnement, donc sujets aux mêmes stress environnementaux comme les aléas de la vie en milieu urbain, l'exposition à des produits chimiques tels que des pesticides, la fumée de cigarette, *etc.* L'exemple de l'exposition à l'amiante montre bien comment le chien peut jouer le rôle de signal d'alerte avant que le cancer ne se déclare chez l'homme. L'objectif des premières études était surtout d'objectiver l'intervention de ces facteurs de l'environnement dans la carcinogenèse de certains cancers chez le chien, puis à terme, de pouvoir expliquer comment l'environnement intervient dans la biologie tumorale chez l'homme. En conclusion, les études épidémiologiques chez le chien pourraient facilement intervenir dans la prévention des cancers chez l'homme. Cela implique toutefois la récolte et l'exploitation d'informations précises et variées sur les cancers du chien en lien avec leur environnement. C'est pourquoi il faudra mettre en place un système d'épidémio-surveillance performant si l'on souhaite des applications pratiques de ces études épidémiologiques.

4. L'APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE POUR LA COMPRÉHENSION DE LA BIOLOGIE TUMORALE

On est encore loin de tout connaître sur la biologie tumorale. Un des chantiers majeurs de la recherche est de définir les mécanismes de la progression tumorale, à savoir comment une tumeur se développe par les mécanismes de l'angiogenèse et de métastase. Chaque cancer possède une biologie particulière, toutefois des principes généraux peuvent être identifiés en étudiant les cancers spontanés du chien domestique.

4.1. En apprendre plus sur les cellules souches cancéreuses

4.1.1. Les cellules souches

Les cellules souches existent dans pratiquement tous les tissus des mammifères. Ce sont des cellules non différenciées capables de donner naissance à toutes les lignées cellulaires du tissu où elles résident. Elles sont généralement multipotentes (Withrow *et al.*, 2012). Elles sont douées de capacité d'auto-renouvellement et de prolifération contribuant à la réparation des tissus et au remplacement des cellules différenciées qui sont endommagées ou détruites (Argyle et Blacking, 2008). Les cellules souches hématopoïétiques sont le meilleur exemple.

4.1.2. L'origine du cancer : deux modèles principaux

Deux hypothèses s'affrontent pour expliquer l'origine de la cancérogenèse (Argyle et Blacking, 2008).

4.1.2.1. La théorie stochastique

La théorie la plus ancienne est la théorie classique ou stochastique. Elle postule qu'il n'existe pas ou peu de hiérarchie entre les différents clones tumoraux et que toutes les cellules peuvent contribuer de manière équivalente à la croissance de la tumeur (Argyle et Blacking, 2008). C'est ce mécanisme qui est rappelé dans la partie 1.

4.1.2.2. La théorie des cellules souches cancéreuses ou « modèle hiérarchique »

La théorie des cellules souches cancéreuses (CSC) postule qu'une fraction seulement des cellules d'un cancer est capable de proliférer et est nécessaire à la croissance tumorale. Elle met en avant l'idée d'une hiérarchisation dans les cellules tumorales, où un nombre très limité de cellules peuvent à elles seules générer une tumeur. Le reste des cellules cancéreuses forment la masse tumorale très hétérogène compte tenu des différents événements promoteurs de tumeurs qui surviennent de façon aléatoire dans les lignées cellulaires (*cf.* partie 1). Les cellules tumorales différenciées ont perdu leur capacité d'auto-renouvellement et ne participent donc plus directement à la croissance tumorale (Pang et Argyle, 2009).

Ces deux théories sont différentes mais pas mutuellement exclusives pour autant. Il semble que certains cancers suivent préférentiellement l'un ou l'autre mécanisme (Shackleton *et al.*, 2009).

L'acquisition de la propriété d'immortalisation de la CSC, grâce à des mutations ou des phénomènes épigénétiques, lui permet d'échapper au mécanisme de sénescence et d'acquérir une durée de vie presque infinie. Cela s'explique, entre autre, par le maintien de la longueur des télomères grâce à une forte activité de l'enzyme télomérase (Nasir, 2008).

4.1.3. Découverte des cellules souches cancéreuses chez l'homme

4.1.3.1. Première découverte dans la leucémie myéloïde

La théorie de l'existence des CSC a pris naissance dans les années 1990 par la preuve de l'existence de ces cellules chez des patients atteints de leucémie myéloïde (Bonnet et Dick, 1997 ; Lapidot *et al.*, 1994). En 1997, Bonnet et Dick ont découvert des cellules ayant des capacités de cellules souches lors de leucémie myéloïde chronique (Bonnet et Dick, 1997). Ils ont observé que certaines cellules reformaient ce cancer une fois greffées chez des souris immunodéficientes. Il a alors été montré que cette petite sous-population (0,2 % de la population) de cellules sont de phénotype CD34+/CD38- (marqueurs de surface CD34 et CD38) qui sont caractéristiques de cellules souches hématopoïétiques.

4.1.3.2. Découverte dans les tumeurs solides

Plus récemment, ces CSC ont été démontrées chez l'homme dans de multiples tumeurs solides comme le cancer du sein (Al-Hajj *et al.*, 2003), le cancer colorectal (O'Brien *et al.*, 2007), le cancer du cerveau (Bao *et al.*, 2006), le mélanome (Fang *et al.*, 2005) et le cancer des poumons (Gutova *et al.*, 2007).

4.1.3.3. Une théorie encore controversée

L'existence des cellules souches cancéreuses est confortée par leur mise en évidence dans les tumeurs solides, même si cela fait encore débat (Argyle et Blacking, 2008 ; de Sousa Melo *et al.*, 2011). La critique principale concerne le fait que l'unique connaissance que nous avons de ces cellules et leur isolement repose sur des greffes sur des souris immunodéprimées, d'autant plus que certains marqueurs utilisés pour les identifier sont peu connus (Pang et Argyle, 2009). Heureusement, l'approfondissement des études et des connaissances devrait être important grâce au modèle animal. La découverte de ces cellules dans l'ostéosarcome du chien met en avant l'idée qu'on peut les retrouver dans n'importe quel type de tumeur.

4.1.4. Le modèle canin : des preuves supplémentaires de leur existence

4.1.4.1. Découverte de cellules souches dans l'ostéosarcome puis dans d'autres tumeurs canines

Récemment, des CSC ont été isolées avec succès dans les ostéosarcomes canins. Ces cellules expriment les gènes *OCT3/4* et *NANOG* impliqués dans le maintien de la pluripotentialité (Wilson *et al.*, 2008). Puis elles ont été découvertes dans les tumeurs mammaires (Ferletta *et al.*, 2011), les mélanomes et les hémangiosarcomes (Pang et Argyle, 2009 ; Schappa *et al.*, 2013).

4.1.4.2. Conséquences pour la recherche chez l'homme

Cette découverte dans des cancers spontanés chez un autre mammifère que l'homme, le chien, qui a de plus prouvé son excellent rôle de modèle de cancer, nous conforte et nous rassure sur la théorie des cellules souches cancéreuses. Il apporte en quelque sorte une preuve supplémentaire (Pang et Argyle, 2009). Par ailleurs, de grands espoirs sont maintenant placés dans le développement de thérapies ciblant ces cellules souches, l'enzyme télomérase et ses mécanismes, ce qui demande de comprendre quelles sont les voies de signalisation mises en jeu. Le modèle canin permet d'étudier ces voies de signalisation car notre connaissance sur les cellules souches est encore très limitée (Jacolot, 2013 ; Withrow *et al.*, 2012). Enfin, le chien domestique est utilisé dans la tâche laborieuse consistant à caractériser ces CSC dans de multiples tumeurs en utilisant les techniques transcriptomiques pangénomiques. Récemment, l'équipe d'Argyle a identifié le rôle important de la protéine COX-2 dans l'initiation tumorale des CSC de l'ostéosarcome (Pang *et al.*, 2014).

La découverte des CSC à la fois chez l'homme et chez le chien, dans de nombreuses tumeurs qu'elles soient circulantes ou solides, marque un grand pas en cancérologie. Une nouvelle vision est offerte par cette découverte et on entrevoit déjà les applications thérapeutiques qui suivront dont les objectifs seront de cibler cette discrète population de cellules cancéreuses qui serait pourtant la cause des résistances et des récives aux multiples traitements conventionnels.

4.2. Connaissance approfondie du processus métastatique grâce au modèle canin

4.2.1. Le processus métastatique

4.2.1.1. Description

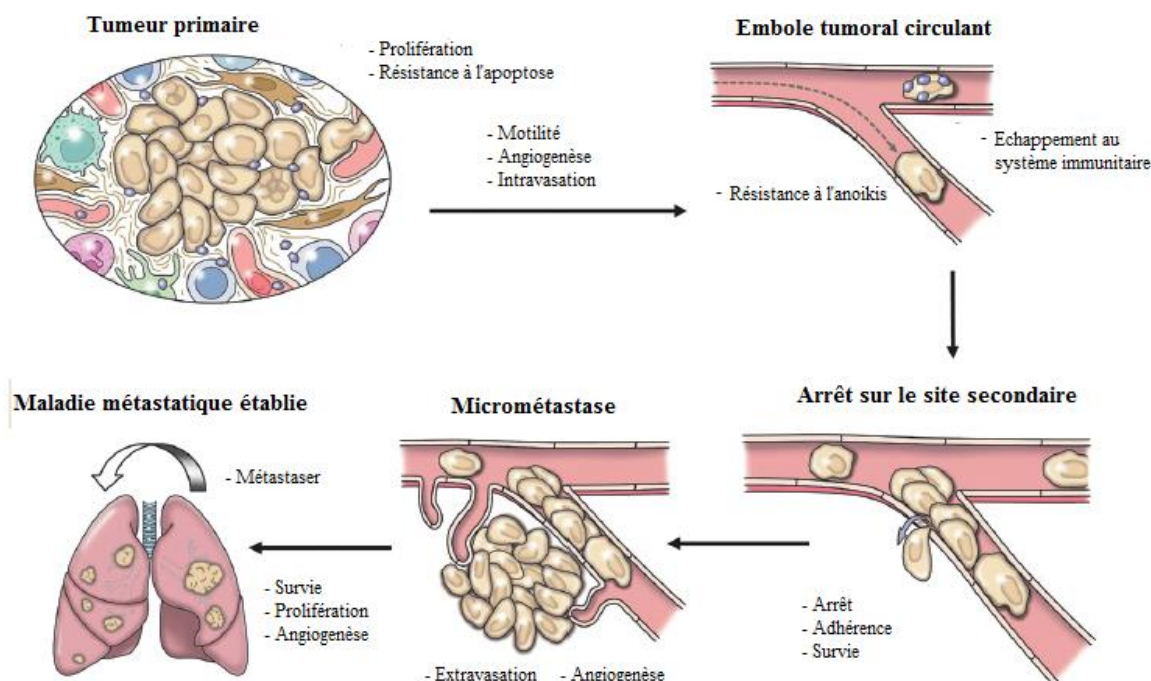
Le processus métastatique correspond à une invasion à distance de cellules tumorales ayant acquis la capacité de s'extraire du foyer primitif pour coloniser un autre organe (Khanna et Hunter, 2005). Il s'organise en plusieurs étapes : une augmentation de la mobilité cellulaire par détachement avec le stroma, une dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire environnante, une intravasation dans un vaisseau sanguin ou lymphatique puis une dissémination vasculaire et un attachement sur certains récepteurs spécifiques d'organes. La cellule doit ensuite survivre à ce nouveau micro-environnement hostile avant de former une véritable métastase (Mendoza et Khanna, 2009 ; Withrow *et al.*, 2012). Il est supposé que ce processus multi-étapes s'enchaîne à partir des premières métastases pour en donner de nouvelles, c'est un cycle sans fin (Mendoza et Khanna, 2009).

Afin de pouvoir survivre à l'ensemble des étapes du processus métastatique, une cellule tumorale doit avoir l'ensemble du bagage génétique nécessaire. Une défaillance dans juste l'une de ces étapes suffirait pour provoquer la mort de la cellule cancéreuse. La *figure 16* illustre la formation d'une métastase à partir d'une tumeur primaire jusqu'aux poumons où elle va métastaser, avec les obstacles successifs qu'elle doit surmonter comme l'échappement au système immunitaire ou l'anoïkis¹.

Il est estimé qu'environ une centaine de gènes sont impliqués dans la progression tumorale. Ils participent à des fonctions physiologiques de l'organisme comme la migration cellulaire, l'invasion cellulaire ou l'angiogenèse (Withrow *et al.*, 2012). À chaque étape correspond un lot de protéines particulières et de nombreux chercheurs tentent de les découvrir (Osborne et Khanna, 2012).

¹ **Anoïkis** : apoptose induite par un défaut d'interactions entre la cellule et son milieu environnant (matrice extracellulaire).

Figure 16 : Les étapes successives du processus métastatique, d'une tumeur primaire jusqu'au développement d'une maladie métastatique touchant les poumons. Adaptée d'après Withrow (2012).



4.2.1.2. Les métastases n'épargnent pas les chiens

À l'image de l'homme, les cancers spontanés canins développent des métastases selon un mécanisme similaire, avec les mêmes complexes de gènes et de protéines (Khanna *et al.*, 2014 ; Khanna et Hunter, 2005 ; Paoloni et Khanna, 2007 ; Withrow *et al.*, 2012).

Nombre de tumeurs du chien sont considérées comme de bons modèles du processus métastatique, comme le lymphome non-hodgkinien, le carcinome prostatique, le carcinome pulmonaire, le carcinome de la tête et du cou, les tumeurs mammaires, le mélanome ou l'ostéosarcome (Khanna et Hunter, 2005). C'est principalement grâce à la recherche en génétique qu'on a pu dévoiler un grand nombre de gènes associés aux métastases dont certains ont aussi été validés chez les chiens et les chats (Paoloni *et al.*, 2009a). Enfin, l'engouement pour l'étude des chiens afin de modéliser les voies de métastases chez l'homme provient du fait que, outre les multiples ressemblances déjà évoquées, les sites préférentiels de métastases sont souvent les mêmes (Khanna et Hunter, 2005 ; MacEwen, 1990 ; Paoloni et Khanna, 2007).

4.2.2. Le processus métastatique est synonyme de mortalité due au cancer

4.2.2.1. Atteinte d'organes majeurs

Résoudre le mystère du processus métastatique est la priorité de recherche majeure. C'est avant tout la maladie métastatique qui est la cause de la mortalité des cancers, tout simplement car elle est synonyme de généralisation du cancer et d'atteinte d'organes majeurs comme les poumons ou le cerveau, d'où le grand intérêt d'approfondir nos connaissances sur ce mécanisme (Khanna et Hunter,

2005 ; Mendoza et Khanna, 2009 ; Withrow *et al.*, 2012). Il est calculé qu'environ 30 % des patients présentant une tumeur maligne quelle que soit sa nature vont développer des métastases pulmonaires (Downey, 1999 ; Gonzalez *et al.*, 2012). Chez l'homme, les tumeurs primaires engendrant le plus de métastases pulmonaires sont : le cancer colorectal, les sarcomes dont l'ostéosarcome, le carcinome rénal, le mélanome, les tumeurs germinales non séminomateuses testiculaires et le cancer mammaire (Gonzalez *et al.*, 2012).

Certains cancers se caractérisent particulièrement par leur activité métastatique élevée synonyme de forte malignité. On retrouve l'ostéosarcome (Gorlick et Khanna, 2010), le mélanome (Fukumoto *et al.*, 2013), et les carcinomes mammaires (Rivera *et al.*, 2009 ; Uva *et al.*, 2009).

Certes, nous modélisons maintenant les étapes clés que suivent successivement les embolus métastatiques de leur point de départ qu'est le foyer primaire jusqu'à leur lieu de colonisation secondaire qu'est la métastase ; cependant la plupart des mécanismes biologiques qui régulent ces étapes sont peu compris ou peu détaillés (Withrow *et al.*, 2012).

4.2.2.2. Des questions en suspens

Récemment, des auteurs ont souligné l'importance du micro-environnement entourant la cellule métastatique qui semble jouer un rôle clé dans l'engagement de cette cellule dans le nouveau tissu colonisé et dans sa survie (Mendoza et Khanna, 2009). Il s'agit de la théorie « de la graine et du sol » (ou « *seed and soil theory* ») comme l'a suggéré Paget il y a plus d'un siècle en 1889 en constatant que certains cancers métastasaient dans des tissus préférentiels (Paget, 1989). Cette théorie indique que le lieu de métastase ne dépend pas uniquement de la cellule métastatique (graine) mais aussi du site de métastase (sol). À titre d'exemple, les tumeurs mammaires et le cancer prostatique gagnent préférentiellement le squelette de la même façon chez l'homme et chez le chien. Des études sont en cours pour savoir pourquoi l'os est un site préférentiel de colonisation pour ces tumeurs. Par ailleurs, de multiples questions restent encore sans réponses claires (Khanna *et al.*, 2014 ; Pantel *et al.*, 2009 ; Withrow *et al.*, 2012) :

- la cellule métastatique possède-t-elle les mêmes propriétés qu'une cellule souche ?
- une métastase donne-t-elle de nouvelles métastases ?
- les protocoles de chimiothérapie accélèrent-ils la mise en place de métastases ?
- le micro-environnement de la métastase a-t-il un rôle dans la préférence métastatique ?
- quelles sont les interactions entre cellules souches cancéreuses, cellules souches mésenchymateuses, fibroblastes associés aux tumeurs, cellules inflammatoires et cellules de l'angiogenèse ?
- les cellules métastatiques entrent-elles en dormance avant d'arriver au site métastatique ? et dans quel tissu ?

Certaines de ces questions bénéficient déjà d'un aperçu de réponses mais des études plus complexes sur des modèles animaux plus pertinents comme le chien domestique sont nécessaires. L'identification des molécules clés qui régulent l'apparition des métastases s'avère cruciale pour la compréhension de la dissémination tumorale et pour le développement de nouveaux protocoles (Hunter, 2004).

4.2.3. Apport du chien dans la connaissance des métastases de l'ostéosarcome de l'enfant

4.2.3.1. Forte mortalité et difficulté de la lutte

Les métastases pulmonaires continuent d'être la cause de mortalité la plus importante en cas d'ostéosarcome chez l'homme, celles-ci disséminant par voie sanguine (Osborne et Khanna, 2012). Les progrès sont modestes notamment pour le taux de survie à cinq ans qui a peu évolué depuis 20 ans (Osborne et Khanna, 2012 ; Paoloni *et al.*, 2009a). Le taux de survie à cinq ans est de 65 à 75 % pour l'atteinte localisée et de 20 % en cas de diagnostic d'une maladie métastatique (Bielack *et al.*, 2002 ; Bruland et Pihl, 1997 ; Harris *et al.*, 1998). Contrairement à d'autres tumeurs, l'exérèse des métastases (ou métastectomie) est courante en cas d'ostéosarcome (O'Brien *et al.*, 1993). Lorsqu'elle est pratiquée, elle est associée à un taux de survie à cinq ans de 40 % (Gorlick et Khanna, 2010). En revanche, 85 % des patients continuent à développer des métastases ce qui suggère qu'au moment du diagnostic, il y a déjà un envahissement microscopique (Gorlick et Khanna, 2010).

Le consensus actuel de la recherche contre l'ostéosarcome pédiatrique est qu'il est maintenant essentiel d'orienter la thérapeutique vers la lutte contre la progression métastatique. Ce fut le sujet d'un congrès en 2013 réunissant des chercheurs et experts de la communauté scientifique américaine à Bethesda au Maryland, qui a établi les règles à suivre et les questions que l'on doit se poser pour la recherche (Khanna *et al.*, 2014).

Une chose à bien comprendre est qu'il a été difficile d'évaluer les résultats des thérapeutiques ciblant la progression métastatique (Khanna *et al.*, 2014). Ces molécules ne peuvent pas rentrer dans les essais cliniques traditionnels dont le critère d'efficacité est la régression de la tumeur en taille et non la « non expansion ».

Un des points importants est de découvrir des marqueurs biologiques que l'on peut utiliser au moment du diagnostic initial afin de prédire la réponse à la chimiothérapie post-opératoire. Le taux de nécrose tumorale après le protocole de chimiothérapie préopératoire est un des moyens trouvés pour établir un pronostic post-chirurgical mais il s'avère trop tardif et ne permet pas d'adapter les protocoles thérapeutiques en tenant compte du statut « mauvais répondeur » du patient. Il y avait donc un vrai besoin d'avoir des outils de pronostic précoces. Pour cela, des auteurs ont cherché des profils d'expression génique en comparant des enfants répondant bien à la chimiothérapie avec d'autres qui ne répondaient pas ou peu, afin d'isoler des allèles liés à la réponse au traitement de chimiothérapie. Les résultats sont mitigés compte tenu du faible nombre d'échantillons récoltés (Man *et al.*, 2005).

4.2.3.2. Le chien fait le pont des connaissances entre la souris et l'enfant

Les approches *in vitro* sont insuffisantes pour étudier la complexité du mécanisme de progression tumorale, on a donc besoin de modèles *in vivo*.

Chez l'enfant, les essais cliniques rencontrent des obstacles majeurs que ce soit pour des raisons éthiques mais aussi compte tenu du faible nombre de cas ne permettant pas d'obtenir des cohortes d'assez grande taille. De plus, il est difficile de récolter des échantillons de tissus de métastases et de la tumeur primaire pour le même patient, ce qui compromet les études d'expression génique et de la dynamique des métastases (Khanna *et al.*, 2014). Par ailleurs, le nombre restreint de nouveaux patients ne permet de faire passer à la phase 3 des essais cliniques un nouvel agent contre l'ostéosarcome que tous les trois à huit ans (Khanna, 2008). C'est pour cette raison qu'il a été créé à la fin des années 1990

le *Children Oncology Group* dont l'un des objectifs est de créer une banque de tissus tumoraux à différents stades.

L'intérêt ici est que l'ostéosarcome du chien est plus fréquent qu'il ne l'est chez l'enfant (Gorlick et Khanna, 2010). Chez ce dernier, l'ostéosarcome touche environ 1 000 patients par an (Kansara et Thomas, 2007 ; Mirabello *et al.*, 2009) et correspond à 1 % des cancers diagnostiqués aux États-Unis mais il reste la tumeur de l'os la plus fréquente et l'un des cancers pédiatriques le plus fréquent. Chez le chien, l'incidence est estimée à 10 000 nouveaux cas par an aux États-Unis, soit 10 à 100 fois plus fréquent que chez l'enfant. La maladie chez le chien présente des délais de latence plus courts : la période de rémission après l'exérèse chirurgicale seule est de quatre mois ; celle après l'exérèse et chimiothérapie adjuvante de 11 mois seulement (Gorlick et Khanna, 2010). Tout ceci permet de réaliser des études plus pertinentes dont les conclusions pourront facilement être transposées du chien vers l'homme sans trop de différences (Paoloni *et al.*, 2009a).

Par ailleurs, on constate que l'ostéosarcome canin est plus agressif avec un taux de métastases plus important, avec plus de 90 % de chiens atteints qui développent des métastases dans l'année suivant le diagnostic. L'objectif a donc été de rechercher des gènes plus exprimés chez le chien que chez l'enfant. Ces gènes, appelés « dog-like », seraient probablement à l'origine du mécanisme de métastases et de la progression du cancer et seraient impliqués dans des mécanismes liés à une réduction du taux de survie (O'Donoghue *et al.*, 2010 ; Paoloni *et al.*, 2009a; Selvarajah *et al.*, 2009). Parmi ces gènes et protéines, la molécule Ezrine semble jouer un rôle majeur.

Rappelons que comme indiqué précédemment, la plupart des gènes candidats impliqués dans la pathogenèse et la progression de l'ostéosarcome chez l'enfant ont été aussi identifiés chez le chien (Paoloni *et al.*, 2009a).

4.2.3.3. Mise en évidence du rôle de la protéine Ezrine

4.2.3.3.1. Description

La protéine Ezrine a été décrite au début des années 1990. Son rôle physiologique est de permettre la liaison entre la membrane cytoplasmique et le cytosquelette cellulaire composé d'actine, grâce à ses deux domaines terminaux (Algrain *et al.*, 1993). On la retrouve surtout dans les tissus épithéliaux.

L'Ezrine est membre de la superfamille Band 4.1. C'est la protéine la plus connue des protéines ERM (Ezrine-Radixine-Moesine). Elle forme un échafaudage avec le cytosquelette de la cellule et stimule l'interaction avec le micro-environnement. Elle se localise dans le cytoplasme sous une forme inactive. Son activation se produit par des mécanismes de phosphorylation notamment de l'acide aminé thréonine en position 567, lui donnant une conformation ouverte à l'interface entre la membrane cellulaire et l'actine du cytosquelette (Martin *et al.*, 2003).

Jusqu'aux années 2000, le rôle précis de l'Ezrine dans les métastases n'était pas défini, ni compris. Cette protéine était déjà retrouvée surexprimée dans une multitude de cancers de l'homme avec un pronostic sombre comme les mélanomes ou les tumeurs utérines (Mäkitie *et al.*, 2001 ; Martin *et al.*, 2003 ; Ohtani *et al.*, 2002).

4.2.3.3.2. Ezrine et souris

L'expression de l'Ezrine fut montrée dans les ostéosarcomes de la souris en 2001 avec des analyses conduisant à comparer l'expression génique dans des tumeurs primaires de forte malignité et dans des tumeurs moins agressives. Cette protéine était associée à l'angiogenèse, la mobilité et l'invasion cellulaire ; trois caractéristiques considérées comme majeures pour le caractère agressif de la tumeur. L'Ezrine était trois fois plus exprimée dans les tumeurs primaires agressives (Khanna *et al.*, 2001). L'implication de l'Ezrine fut confirmée dans plusieurs lignées cellulaires humaines d'ostéosarcomes (Khanna *et al.*, 2001).

Elle a été alors choisie pour des études approfondies sur le cancer du fait de son rôle physique et fonctionnel dans la liaison du cytosquelette d'actine avec la membrane cellulaire (Algrain *et al.*, 1993), d'abord sur la souris, puis sur le chien et l'enfant.

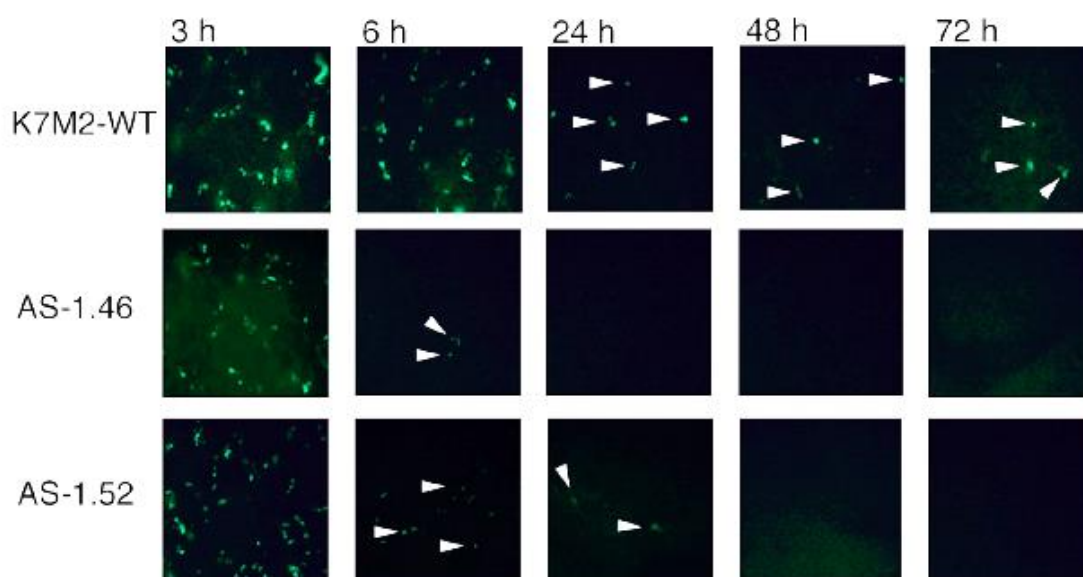
En utilisant des techniques d'imagerie, des auteurs ont réussi à localiser des cellules métastatiques d'ostéosarcome pendant leur dissémination et leur installation dans le tissu pulmonaire de souris, en fonction du temps (Chambers *et al.*, 2000 ; Khanna *et al.*, 2004). L'étude utilisait des techniques moléculaires sur des lignées cellulaires d'ostéosarcome afin d'obtenir des cellules dans lesquelles la protéine Ezrine n'est pas ou peu exprimée (cellules « Ezrin-AS ») et des cellules dans lesquelles la protéine Ezrine ne peut plus être phosphorylée (cellules « Ezrin-T567A »). L'étude du rôle de l'Ezrine se fait ici par la suppression de son expression ou de sa phosphorylation. Un lot de cellules de génotype sauvage (contrôle) était lui aussi utilisé.

Tout d'abord, il a été observé que les souris recevant les cellules Ezrin-T567A ne développaient pas de métastases pulmonaires contrairement aux souris contrôles. De plus, suite à l'injection des cellules « Ezrin-AS » cancéreuses à des souris, les chercheurs déterminaient leur temps de survie lorsqu'elles métastasaient dans le tissu pulmonaire, en analysant leur fluorescence. Au départ, au temps T0, la fluorescence était identique entre les lots contrôles et les lots « Ezrin-AS ». Au fur et à mesure du temps, le nombre de cellules métastatiques survivantes diminuait dans tous les lots mais beaucoup plus rapidement pour les cellules n'exprimant pas la protéine Ezrine avec une décroissance quatre fois plus rapide au bout de six heures ; la fluorescence ayant totalement disparue après 24 heures comme le montre la *figure 17* (Khanna *et al.*, 2004). Les cellules Ezrin-AS présentaient un aspect pycnotique et fragmenté synonyme d'apoptose. Par ailleurs, les cellules métastatiques se localisaient toutes au niveau des artérioles pulmonaires.

En conclusion de cette étude, il semble que la perte de l'Ezrine limite la survie des cellules métastatiques qui ont migré dans les poumons. Son rôle serait entre autre d'inhiber l'apoptose cellulaire compte tenu de l'anoïkis, par manque de contact intercellulaire. Elle permettrait l'engagement de la cellule au sein du nouveau micro-environnement, et ce de manière très précoce au cours du processus métastatique dans les poumons (Khanna *et al.*, 2004).

Il a par ailleurs été montré que l'activité de cette protéine dépend de sa phosphorylation, elle-même sous contrôle des voies de phosphorylation MAPK (Khanna *et al.*, 2004).

Figure 17 : Résultat de l'imagerie de fluorescence sur le tissu pulmonaire de souris chez lesquelles des cellules d'ostéosarcome ont été injectées. On observe la fluorescence verte correspondant à un foyer de cellule métastatique, en fonction du temps. Les cellules injectées sont soit de type sauvage K7M2-WT (exprimant la protéine Ezrine correctement), soit de type mutant AS-1.46 et AS-1.52 (exprimant peu ou très peu respectivement la protéine Ezrine). Adaptée d'après Khanna *et al.* (2004).



4.2.3.3.3. La protéine Ezrine est associée à un mauvais pronostic chez le chien

Pour vraiment mettre en évidence l'importance de la protéine Ezrine dans la progression métastatique lors d'ostéosarcome, Khanna et ses collaborateurs ont utilisés des ostéosarcomes canins d'apparition spontanée. Ils ont démontré que les ostéosarcomes canins expriment la protéine Ezrine dans 83 % des cas (taille d'échantillon : 73 individus) (Khanna *et al.*, 2002).

Puis une étude comparant les périodes de rémission a démontré que les chiens exprimant fortement la protéine Ezrine ont un moins bon pronostic que ceux qui l'expriment peu (respectivement une période de rémission de 116 jours et de 188 jours, $p=0,02$) (Khanna *et al.*, 2004).

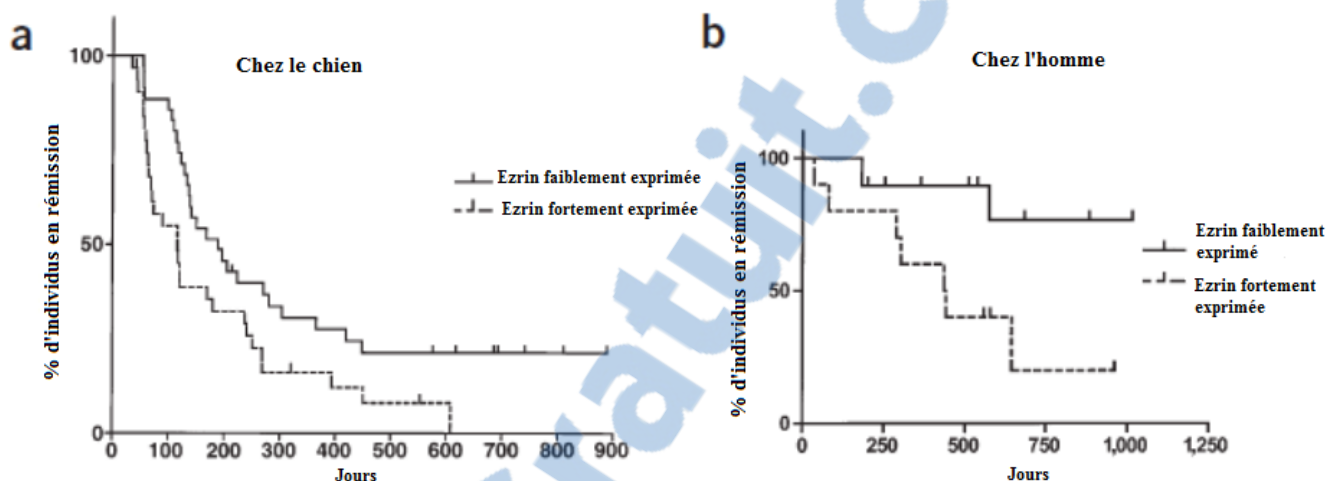
En outre, une autre étude portant sur quatre lignées cellulaires canines issues de tumeurs primaires d'ostéosarcome chez quatre chiens a montré que l'activation de la protéine Ezrine est régulée de façon dynamique par la protéine kinase C (PKC) pendant la progression métastatique (Hong *et al.*, 2011). Ces résultats pourraient permettre d'inclure le chien dans le développement de traitements qui ciblent la biologie de la protéine Ezrine, notamment des inhibiteurs de la PKC, et ainsi d'optimiser les essais cliniques.

4.2.3.3.4. Transfert des connaissances pour l'ostéosarcome pédiatrique

Ces observations dans le modèle canin, avec ses ostéosarcomes d'apparition spontanée, ont conduit à faire ces mêmes études chez l'enfant atteint d'ostéosarcome pédiatrique. Dans un échantillon réduit de tissus collectés chez des enfants atteints d'ostéosarcome à localisation appendiculaire, il était montré que la protéine Ezrine est exprimée dans 92 % (47/49) des échantillons. Un intervalle de rémission beaucoup plus court était observé chez les patients exprimant fortement l'Ezrine dans la

tumeur primaire, contrairement aux patients qui l'expriment peu (respectivement 438 jours et une durée nettement supérieure à 438 jours non déterminée, $p=0,01$) comme l'illustre la *figure 18* (Khanna *et al.*, 2004).

Figure 18 : Intervalle de rémission chez le chien (a) et chez l'enfant (b) en fonction de l'expression de la protéine Ezrine dans la tumeur. Adaptée d'après Khanna *et al.* (2004).



4.2.3.3.5. Conclusion

La protéine Ezrine semble jouer un rôle clé dans l'établissement du phénotype métastatique de l'ostéosarcome, avec une fonction nécessaire et suffisante dès les premières étapes de la colonisation du tissu pulmonaire (Mendoza et Khanna, 2009). Elle est impliquée dans la détermination de la forme de la cellule, l'adhérence cellulaire, la motilité et la transduction de signaux. Elle permet l'adaptation de la cellule métastatique à son micro-environnement tumoral en favorisant l'« engagement » physique de la cellule grâce à ses fonctions de liaison, réduisant ainsi le stress environnemental pesant sur elle en l'aidant à répondre aux signaux qui lui sont imposés. Elle octroie un avantage de survie précoce à ces cellules, en les protégeant des mécanismes d'apoptose par anoïkis (Hunter, 2004 ; Khanna *et al.*, 2004). Son activation nécessite sa phosphorylation, dépendante de la voie MAPK.

Une étude a observé que ces mécanismes de phosphorylation sont régulés par la protéine kinase C, ce qui est démontré dans le modèle canin (Hong *et al.*, 2011). D'autres études ont rappelé aussi qu'elle est nécessaire dans de nombreuses voies de signalisation impliquant les MAPK, AKT et CD44 (Martin *et al.*, 2003 ; Yu *et al.*, 2004).

La protéine Ezrine intervient dans d'autres tumeurs de l'homme comme les tumeurs génitales, le mélanome, l'adénome pancréatique, les cancers du sein dans lesquelles sa présence est de mauvais pronostic (Bruce *et al.*, 2007 ; Elliott *et al.*, 2005 ; Hong *et al.*, 2011 ; Hunter, 2004 ; Ohtani *et al.*, 2002 ; Ren *et al.*, 2009). Chez l'enfant, l'Ezrine joue un rôle de premier rang dans le processus métastatique de l'ostéosarcome et du rhabdomyosarcome (Hunter, 2004 ; Yu *et al.*, 2004).

L'importance de la surexpression de l'Ezrine pour la survie des cellules métastatiques est une découverte importante pour la compréhension des métastases dans les cancers pédiatriques. Il pourrait s'agir là d'un facteur de mauvais pronostic, au même titre que la molécule CD44 avec laquelle elle interagit (Martin *et al.*, 2003).

Nous voyons ici, à travers la découverte de la protéine Ezrine, un exemple concret de ce que peut nous apporter l'étude du chien domestique pour améliorer notre connaissance de la biologie tumorale. Les études chez le chien confirment certaines observations faites chez la souris, puis illustrent à l'échelle humaine les mécanismes mis en jeu, en fournissant des échantillons de taille satisfaisante chez lesquels les périodes d'étude représentent plus fidèlement ce qui se passe chez l'homme. Les études inter-espèces nous offrent le luxe d'agrandir notre éventail de questions pour agrandir nos connaissances.

4.2.3.4. La comparaison des profils d'expression génique fait ressortir des gènes d'intérêt

Le criblage des déterminants génétiques du pronostic de l'ostéosarcome chez le chien peut être utile pour des applications chez l'homme (O'Donoghue *et al.*, 2010 ; Sutter et Ostrander, 2004).

La malignité plus prononcée de l'ostéosarcome canin, avec son taux de métastase plus élevé que chez l'enfant, invite certains auteurs à comparer les profils d'expression génique au sein d'études inter-espèces ce qui leur permet de mettre en évidence des gènes ou des mécanismes intervenant spécifiquement dans le processus de métastase, en se concentrant sur des gènes plus exprimés chez notre animal domestique que chez l'enfant. Ces gènes sont qualifiés de « dog-like genes ».

Dans une étude de Paoloni et ses collaborateurs en 2009, les auteurs ont montré un intérêt pronostique de l'expression des gènes codant IL-8 (interleukine 8) et SLC1A3. Pour cela, ils ont comparé les profils d'expression génique d'échantillons d'ostéosarcome canin et humains et identifié 265 transcrits orthologues d'intérêt. Ces derniers gènes étaient plus exprimés chez le chien atteint d'ostéosarcome, et ce de façon significative, par rapport à l'ostéosarcome pédiatrique (Paoloni *et al.*, 2009a).

Pour valider la pertinence d'IL8 et de SLC1A3 dans l'OS humain, les auteurs ont évalué l'expression de ces protéines dans un échantillon distinct de tissus d'ostéosarcome humain avec la technique de tissu micro-array et d'immunohistochimie. Les résultats montraient une expression faible à modérée dans 98 % et 84 % des échantillons : IL8 était présente dans les ostéoclastes et les ostéoblastes tandis que SLC1A3 était surtout présente dans le cytoplasme et dans les cellules stromales (Paoloni *et al.*, 2009a). De plus, lorsque ces gènes s'exprimaient dans les tumeurs de l'enfant, ils étaient associés à un mauvais pronostic ($p=0,020$ et $p=0,026$ respectivement).

L'IL8 est une cytokine médiatrice de la réponse inflammatoire et de l'angiogenèse. Elle est retrouvée également dans d'autres tumeurs comme les mélanomes, le cancer du poumon, de la prostate, du pancréas, de la vessie, de la tête et cou, les carcinomes colorectaux et ovarien (Araki *et al.*, 2007 ; Gutman *et al.*, 2002 ; Inoue *et al.*, 2000 ; Rubie *et al.*, 2007 ; Yao *et al.*, 2007). Son atout est qu'elle peut devenir une cible moléculaire de choix car il existe déjà des anticorps anti-IL8.

SLC13A est un transporteur du glutamate qui régule la concentration en neurotransmetteur mais il a été trouvé en dehors du système nerveux central, dans des ostéoblastes en cas d'ostéosarcome (Kalariti *et al.*, 2007).

Cette étude invitait les chercheurs à effectuer des analyses fonctionnelles de ces gènes dans une plus grande cohorte humaine. Sans une approche inter-espèce, il est fort probable que ces gènes n'auraient pas pu être isolés.

Enfin, d'autres études similaires portant sur des chiens proposent des voies de signalisation associées à l'agressivité tumorale comme les voies Hedgehog, Wnt et des chémokines. Ces voies postulent pour être des marqueurs biologiques. Malheureusement, ces études souffrent d'être effectuées sur des échantillons de petites tailles. Elles n'ont d'autres fonctions que de proposer des idées directrices de recherche (O'Donoghue *et al.*, 2010 ; Selvarajah *et al.*, 2009).

4.2.4. Conclusion

Malgré l'apport de la thérapie multimodale et multi-agent, la mortalité est toujours principalement due à la progression métastatique aux poumons (Marina *et al.*, 2004). Le consensus actuel rappelle la pertinence de vouloir cibler spécifiquement le processus métastatique. Il n'est jamais trop tard pour cibler les mécanismes de la progression métastatique afin d'améliorer le pronostic du patient, du fait même qu'une métastase peut donner naissance à de nouvelles métastases. La complexité biologique du cancer chez les animaux domestiques, de par son hétérogénéité intra-tumorale, mime cette même complexité chez l'homme. C'est elle qui est la cause des résistances, récidives et métastases. En un sens, le cancer des animaux domestiques reflète l'essence même du problème du cancer chez l'homme (Paoloni et Khanna, 2007).

L'étude de la protéine Ezrine est un excellent exemple de l'aide que peut apporter le chien domestique pour l'étude de la biologie tumorale. Cette protéine fait partie du groupe des « facteurs de virulence métastatique » du cancer comme l'appellent Gorlick et Khanna (Mendoza et Khanna, 2009). En effet, son implication dans l'ostéosarcome fut d'abord découverte chez la souris, puis chez le chien chez lequel son expression réduit le pronostic. Ceci encouragea des études sur l'ostéosarcome pédiatrique qui arriva aux mêmes conclusions. Le chien fournit un nombre de nouveaux cas facilitant les études sur un grand nombre d'échantillons, notamment pour les essais précliniques de nouveaux agents pharmaceutiques. Celles-ci sont difficilement réalisables chez l'enfant où l'incidence de l'ostéosarcome est faible.

Des molécules inhibitrices de la protéine kinase C (molécule activant la protéine Ezrine par un mécanisme de phosphorylation) sont maintenant passées avec succès dans les essais cliniques de phase 2 chez des patients humains pour de multiples indications thérapeutiques pour les cancers métastatiques (Ajani *et al.*, 2006 ; Hong *et al.*, 2011 ; Millward *et al.*, 2006).

Une autre utilité du chien est qu'il peut confirmer les observations faites chez l'homme. Ainsi, de nombreux gènes soupçonnés d'être impliqués dans la progression tumorale de l'ostéosarcome chez l'enfant ont aussi été caractérisés chez le chien comme *PTEN*, *RB*, *Villin-2*, *c-MET*, *ErbB-2* et *P53*. Nos connaissances grandissant, il sera possible de cibler la tumeur, ou graine, le micro-environnement tumoral, ou sol, et l'ensemble de leurs interactions (Mendoza et Khanna, 2009).

4.3. Apport du chien domestique dans la découverte de nouveaux marqueurs biologiques

Un des objectifs principaux de l'oncologie comparée, et en particulier de l'étude du chien domestique, est d'identifier et de valider des marqueurs biologiques, ou biomarqueurs, des tumeurs (Ranieri *et al.*, 2013a). La question est de savoir s'il existe des biomarqueurs que l'on a d'abord identifiés chez le chien puis extrapolés chez l'homme. Autrement dit, le chien domestique comme modèle du cancer a-t-il eu un apport, même minime, dans la compréhension de la biologie tumorale, par la découverte de marqueurs biologiques spécifiques du cancer ? Quand bien même ils n'ont pas été découverts en premier chez le chien, ce dernier a-t-il permis de les étudier plus en détail ?

4.3.1. Les marqueurs biologiques du cancer

4.3.1.1. Définition

Un marqueur biologique est une molécule ou une protéine surexprimée ou anormalement absente en cas de tumeur et associée à une fonction cellulaire qui caractérise le potentiel évolutif du processus tumoral (Eckersall *et al.*, 2009 ; Mobasher et Cassidy, 2010). Il se caractérise en étudiant la différence de comportement biologique entre les cellules saines et les cellules cancéreuses. Il peut être associé au risque d'apparition d'un cancer (on l'appellera marqueur de prédisposition), à sa présence (marqueur diagnostique), à son évolution clinique (marqueur pronostique) ou à la rechute (marqueur de surveillance) (Caplier, 2008 ; Henry, 2010). Il s'agit d'une substance synthétisée par le tissu tumoral ou le tissu environnant, puis sécrétée dans le sang. Il est donc dosable par des méthodes de biochimie analytique.

4.3.1.2. Marqueur biologique idéal

Un biomarqueur idéal doit être spécifique, sensible, d'utilisation facile (détection simple à faible concentration, reproductible et de coût modéré), avec une concentration corrélée au stade biologique de la tumeur (Caplier, 2008). Ce marqueur idéal n'existe évidemment pas mais les études visent à s'en rapprocher.

4.3.1.3. Utilité des biomarqueurs en cancérologie

Ils servent à établir un diagnostic précis, à choisir un traitement ciblé et adapté au stade de la maladie, à suivre l'efficacité de ce dernier ou au contraire à mettre à évidence une chimiorésistance, à établir un pronostic et à évaluer le risque d'apparition de métastases. On en a déjà de nombreux exemples comme les récepteurs hormonaux ou le récepteur HER2 pour le cancer du sein, permettant de prédire respectivement la réponse à un traitement hormonal et à la thérapie ciblée.

4.3.2. Un apport modeste du chien domestique pour découvrir des biomarqueurs du cancer

Les études se consacrant à l'identification de nouveaux marqueurs biologiques chez le chien sont peu nombreuses, assez récentes et se consacrent surtout au lymphome non-hodgkinien (Henry, 2010). Cependant à l'heure actuelle le modèle canin porte de grands espoirs dans la découverte de ces biomarqueurs grâce à l'utilisation croissante de nouvelles techniques comme le criblage moléculaire ou la cytométrie de flux (Matharoo-Ball *et al.*, 2008). En parallèle, d'autres travaux s'attachent à confirmer le rôle d'un marqueur biologique du cancer chez le chien après l'avoir déjà découvert chez l'homme. Cela permet par la suite d'étudier la molécule plus facilement sur le cancer spontané du chien.

4.3.2.1. Des outils prometteurs pour la découverte de nouveaux biomarqueurs

Les études sont encore peu nombreuses chez le chien domestique mais il en existe. De nouvelles techniques comme la transcriptomique (l'étude des ARN messagers après la transcription du génome), la métabolomique (l'étude des métabolites c'est-à-dire les sucres, les acides aminés, les acides gras et tous les autres produits biochimiques d'une cellule) mais surtout de la protéomique (l'étude de l'ensemble des protéines d'une cellule, à un moment donné et sous des conditions données) commencent à être utilisées (Henry, 2010). Un congrès sur les marqueurs biologiques en médecine vétérinaire qui s'est tenu à Nottingham en Juillet 2009 a rappelé l'intérêt de la recherche sur le chien (Mobasher et Cassidy, 2010).

4.3.2.2. L'étude du protéome permet de découvrir de nouveaux biomarqueurs grâce au chien

4.3.2.2.1. Intérêt de la protéomique

La protéomique fut particulièrement étudiée ces dernières années pour des applications en médecine vétérinaire et a permis de transférer des connaissances des chiens à l'homme (Doherty *et al.*, 2008 ; Gaines *et al.*, 2007 ; Matharoo-Ball *et al.*, 2008 ; McCaw *et al.*, 2007). L'analyse du protéome permet de détecter directement des modifications dans l'expression d'une protéine ou des modifications post-traductionnelles (phosphorylation, glycosylation, lipidation, clivage protéique). Le chien domestique s'est révélé un excellent candidat pour des recherches basées sur le protéome (McCaw *et al.*, 2007).

4.3.2.2.2. Études sur le lymphome B canin

Parmi ces techniques, la spectrométrie de masse semble prometteuse pour découvrir des marqueurs biologiques du lymphome à cellule B dans le sérum de chiens atteints. Pour exemple, une équipe utilisa une technique de spectrométrie de masse appelée « SELDI-TOF-MS » pour construire un arbre de classification moléculaire permettant de mettre en évidence un lymphome B avec une sensibilité et une spécificité de 97 % et 91 % respectivement, sur la base de trois pics protéiques (Gaines *et al.*, 2007).

Une autre étude s'est consacrée à l'évaluation du protéome des nœuds lymphatiques de chiens atteints d'un lymphome B et de chiens sains. La technique MALDI-TOF-MS a été utilisée cette fois-ci. Quatre protéines candidates ont été isolées : la prolidase, la triosephosphate isomérase, la glutathion S-

transférase et la *macrophage capping protein* pour être des marqueurs biologiques potentiels du lymphome à cellules B (McCaw *et al.*, 2007).

Ces protéines sont peu étudiées chez l'homme. Seules la prolidase et la triosephosphate isomérase ont été associées au cancer du sein (Palka et Phang, 1998). Cette découverte appelle donc à étudier plus précisément ces protéines en tant que biomarqueurs de cancers de l'homme. Plus récemment, l'expression augmentée de la glutathion S-transférase a été associée à un mauvais pronostic dans le sarcome de Ewing chez l'enfant (Zhuo *et al.*, 2014).

Néanmoins la validation de ces marqueurs protéiques par d'autres techniques (comme la méthode ELISA par exemple) dans des échantillons de grande taille est nécessaire.

4.3.2.2.3. *Étude pilote de protéomique pour le diagnostic du carcinome transitionnel de la vessie chez le chien*

Le carcinome transitionnel de la vessie est habituellement diagnostiqué chez l'homme et le chien à des stades avancés pendant lesquels la réponse à la chimiothérapie est limitée. Les tests diagnostiques actuels ont des résultats peu satisfaisants car ils sont peu spécifiques compte tenu des infections du tractus urinaire et sont fortement invasifs car ils demandent une biopsie sous anesthésie générale pouvant causer une dissémination tumorale. Il n'existe actuellement aucun test permettant un criblage de multiples marqueurs biologiques pour ce cancer chez l'homme.

Chez le chien, il est désormais possible d'utiliser l'urine comme prélèvement pour des études de protéomique afin d'identifier des marqueurs biologiques du CTV. C'est l'objectif d'une étude preuve-de-concept réalisée sur des chiens domestiques atteints du CTV en 2014 (Bracha *et al.*, 2014). Il a été montré que la purification des protéines solubles dans l'urine par ultrafiltration, puis leur identification par chromatographie liquide associée à la spectrométrie de masse (« LC-MS/MS »), est un protocole efficace pour étudier le protéome des tissus de tumeurs vésicales. En effet, ce protocole appliqué à 12 échantillons d'urine de chiens répartis dans 3 cohortes (saine, avec infection du tractus urinaire, avec CTV) a permis de sélectionner quatre protéines, la *macrophage binding protein*, la PRX5, l'APO-A1 et la ribonucléoprotéine nucléaire A2/B1 comme marqueurs biologiques potentiels du CTV. Ces quatre protéines sont intéressantes du fait de la disponibilité d'anticorps pour leur détection.

Ce test de criblage a ensuite obtenu un score de confiance de 90 % en le soumettant à un modèle statistique. Il faudra toutefois une étude à plus grande échelle pour confirmer ce résultat. Il sera de plus opportun d'utiliser un test utilisant la technique ELISA qui est plus directe et plus utilisable en clinique.

Ici, le chien domestique nous permet de découvrir une nouvelle méthode efficace pour identifier de nouveaux marqueurs biologiques en cas de CTV. Il serait maintenant important d'expérimenter ce protocole chez l'homme afin de déterminer si des biomarqueurs identifiés chez le chien peuvent être utilisés chez l'homme.

4.3.2.3. Le chien permet de perfectionner de nouvelles techniques de criblage

Une nouvelle technique de criblage et de monitoring du cancer, utilisant l'absorbance des ultraviolets et la spectroscopie par fluorescence sur les protéines sériques, fut récemment mise sur le marché en se basant sur les résultats d'une étude pilote chez le chien (Dickerson *et al.*, 2007).

4.3.2.4. Le chien modèle d'étude de marqueurs biologique du cancer de l'homme

Il est évident que la plupart des marqueurs biologiques de cancer connus sont identifiés chez l'homme, sujet des tests de criblage. Toutefois, certains marqueurs biologiques de cancers ont un intérêt particulier pour l'oncologie comparée. Des auteurs cherchent à mettre en évidence les mêmes marqueurs biologiques chez le chien afin de pouvoir utiliser ce dernier comme modèle d'étude de la biologie de ce biomarqueur. Parmi ces marqueurs biologiques, on retrouve :

- La protéine PTEN (*phosphatase and tension homolog*) utilisée comme marqueur pronostique du cancer du sein, et montrée comme telle dans les tumeurs mammaires canines et félines (Ressel *et al.*, 2009) ;
- des marqueurs biologiques de l'ostéosarcome comme la phosphatase alcaline (ALP) comme marqueur diagnostic et pronostic, la molécule P53 (Mueller *et al.*, 2007). On retrouve également les molécules VEGF, MET, COX-2 et MMP (Selvarajah et Kirpensteijn, 2010) qui pourraient être utilisées comme des marqueurs moléculaires potentiels du pronostic et de prédiction de la réponse au traitement ;
- des marqueurs de l'angiogenèse en général comme VEGF et MMP (Aresu *et al.*, 2014) ;
- les molécules EGFR, HER2 et K-RAS dans les tumeurs épithéliales gastro-intestinales qui sont aussi exprimées chez le chien. Il s'agirait de marqueurs pronostiques et de cibles thérapeutiques éventuelles (Terragni *et al.*, 2014) ;
- la thymidine kinase 1 (TK1) qui est utilisée chez l'homme comme marqueur pronostic du lymphome non-hodgkinien, avec un intérêt grandissant pour les différentes formes de leucémies et les tumeurs solides comme le cancer du sein, le cancer des poumons, le cancer colorectal. Dans le lymphome non-hodgkinien canin, TK1 a une valeur pronostique satisfaisante. Les études comparatives sur TK1 sont importantes car il est vraisemblable que d'ici cinq à dix ans cette protéine fera partie intégrante des procédures recommandées pour le suivi des tumeurs qu'elles soient solides ou sanguines (Alegre *et al.*, 2014 ; von Euler et Eriksson, 2011).

Dans ce contexte, le chien domestique n'est pas à l'origine de la découverte du marqueur biologique. Mais par ses multiples avantages déjà évoqués en partie 1 comme modèle d'étude du cancer, il participe au développement des marqueurs biologiques qu'il partage avec l'homme, au perfectionnement des techniques de détection, à la compréhension de leurs mécanismes d'action. On parle de biomarqueurs « translationnels » ou « *bridging biomarkers* » (Selvarajah et Kirpensteijn, 2010).

4.3.2.5. Le chien modèle de la néo-angiogenèse tumorale et de ses biomarqueurs chez l'homme

La progression tumorale est fortement corrélée à l'angiogenèse tumorale. Celle-ci est étroitement liée au processus métastatique.

4.3.2.5.1. Définition de la néo-angiogenèse tumorale

La néo-angiogenèse se définit par le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux pré-existants, elle est finement régulée par des signaux activateurs et inhibiteurs (Withrow *et al.*, 2012). Il est maintenant bien accepté que la création de nouveaux vaisseaux est nécessaire à une tumeur pour son développement, que ce soit pour se fournir en oxygène ou en nutriments mais aussi pour disséminer des cellules en dehors du foyer primitif (Folkman, 2007). Ce

processus est mesurable par un ensemble de marqueurs biologiques dont le chien s'avère être un bon modèle d'étude.

4.3.2.5.2. *Le chien est un modèle de la néo-angiogenèse tumorale*

De la même manière que chez l'homme, les cancers spontanés du chien réalisent la néo-angiogenèse lors de leur dissémination dans l'organisme. Il est démontré que des cancers canins par quelques aspects particuliers peuvent être de bons modèles de la néo-angiogenèse, notamment pour étudier ses facteurs et marqueurs biologiques.

Hormis les grandes similarités déjà évoquées entre le lymphome humain et canin (Marconato *et al.*, 2013), le lymphome non-hodgkinien canin porte de grands espoirs comme modèle de l'angiogenèse. En effet, une angiogenèse développée est associée à un cancer de haut grade (= malignité élevée) dans les lymphomes non-hodgkiniens canins. Cette angiogenèse développée se traduit par une densité micro-vasculaire importante (Ranieri *et al.*, 2005). Une étude plus poussée a mis en corrélation une concentration augmentée en VEGF et une néo-angiogenèse tumorale importante (Zizzo *et al.*, 2010).

De plus, le lymphome non-hodgkinien canin peut être utilisé pour étudier les marqueurs de l'hypoxie (Cline *et al.*, 1994 ; Vail et MacEwen, 2000), déjà mis en évidence dans les sarcomes (Cline *et al.*, 1990 ; Zeman *et al.*, 1993). L'hypoxie des cellules tumorales est à l'origine même du processus de néo-angiogenèse. Elle fait intervenir la molécule HIF (*hypoxia inducible factor*, ou facteur induit par l'hypoxie) qui va notamment induire l'expression du gène codant le VEGF. Les marqueurs de l'hypoxie sont fortement étudiés actuellement, en particulier dans les tumeurs canines (Bavcar et Argyle, 2012 ; Hansen *et al.*, 2011).

De même, le mastocytome canin de haut grade histologique présente une concentration en VEGF élevée et une densité micro-vasculaire accrue (Patruno *et al.*, 2009 ; Ranieri *et al.*, 2013a). On envisage d'utiliser le mastocytome pour étudier le rôle des mastocytes et leur dégranulation et évaluer leur lien avec une éventuelle sécrétion du marqueur VEGF (partie 3). En effet, il a été observé que les mastocytes étaient impliqués dans la néo-angiogenèse par la libération de l'enzyme tryptase dans certains cancers comme le cancer du sein (Ranieri *et al.*, 2009).

4.3.2.5.3. *VEGF, marqueur biologique majeur de la néo-angiogenèse*

Actuellement, les molécules d'intérêt pour suivre la néo-angiogenèse sont les protéines VEGF, VEGFR et les autres protéines à activité tyrosine kinase nécessaires à la transduction du signal intracellulaire.

La molécule VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) est un puissant inducteur de l'angiogenèse (Ranieri *et al.*, 2006). Il s'agit du ligand du récepteur VEGFR, un récepteur à activité tyrosine kinase à la surface membranaire (Morgant, 2011). En cancérologie, la sécrétion de VEGF par une tumeur induit la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales ce qui déclenche le processus angiogénique. La surexpression de VEGF est corrélée à la croissance tumorale, au développement de métastases à distance et à une diminution globale de la survie des patients. Cette molécule, parmi tant d'autres, est exprimée à la fois chez l'homme et chez le chien lors de la néo-angiogenèse tumorale (Patruno *et al.*, 2009 ; Scheidegger *et al.*, 1999).

Chez l'homme, le VEGF est impliqué dans de nombreuses tumeurs où il est corrélé à un mauvais pronostic (DuBois et Demetri, 2007). Chez le chien, il est associé à l'angiogenèse tumorale des tumeurs mammaires, du mastocytome, du lymphome non-hodgkinien et de l'ostéosarcome (Aresu *et al.*, 2014 ; Mahé, 2010 ; Ranieri *et al.*, 2013a; Thamm *et al.*, 2008). La forte prévalence de ces cancers d'apparition spontanée chez le chien domestique va permettre à la recherche d'étudier plus en détail la biologie de ce marqueur tumoral.

L'importance de l'étude de la néo-angiogenèse chez le chien peut être illustrée par des études pilotes utilisant de nouvelles techniques comme la cytométrie de flux polychromatique qui permet d'isoler des cellules souches hématopoïétiques comme marqueurs biologiques pour découvrir des biomarqueurs de la néo-angiogenèse (Bentley *et al.*, 2013).

En conclusion, les cancers spontanés du chien domestique permettent de mettre en évidence de nouvelles molécules comme potentiels marqueurs biologiques de cancers. Les études de protéomique, permettant d'étudier l'ensemble des protéines d'une cellule dans un tissu donné à un moment donné, sont rares chez le chien et sont d'apparition récente. Toutefois leur développement dans ce modèle est très prometteur. Jusqu'à maintenant, les recherches se sont beaucoup intéressées à retrouver des marqueurs biologiques de cancers humains dans le modèle canin. Celui-ci, même s'il n'est pas l'origine de la découverte, a un rôle majeur comme modèle d'étude de ces biomarqueurs. Rappelons d'ailleurs l'importance des marqueurs de la néo-angiogenèse pour la recherche contre le cancer ; le lymphome canin non-hodgkinien et le mastocytome canin s'avèrent être des modèles de choix pour en apprendre plus sur ces marqueurs.

4.4. Utilisation de l'odorat du chien pour détecter un cancer

4.4.1. Introduction

À l'heure actuelle des chiens sont utilisés pour leur odorat exceptionnel afin de détecter des personnes perdues ou blessées, de la drogue ou des objets de toute sorte. Cet odorat extraordinaire s'explique par les quelques 200 000 millions de cellules sensibles olfactives que contient la muqueuse nasale du chien, contre seulement 10 000 millions chez l'homme (Cornu *et al.*, 2010). Chose d'autant plus surprenante, le chien domestique pourrait aussi se servir de son odorat pour « flairer » un cancer chez des patients atteints (Bijland *et al.*, 2013).

Cette détection se ferait par l'émission par les cellules cancéreuses de composés organiques volatiles dont la nature biochimique exacte n'est pour le moment pas identifiée. Ces composés organiques volatils sont des molécules odorantes spécifiques d'un cancer et pourraient donc servir de marqueurs diagnostiques ou pronostiques.

4.4.2. Première découverte pour le mélanome

La première découverte de l'utilisation du chien pour diagnostiquer un cancer a été faite en 1989, lorsqu'une patiente de 44 ans observa son chien aboyer et renifler à longueur de journée après un grain de beauté sur sa jambe, ce qui motiva un examen chez un dermatologue qui diagnostiqua un mélanome (Bijland *et al.*, 2013 ; Williams et Pembroke, 1989).

4.4.3. Nombreuses études sur de multiples cancers

Suite à cette découverte, de nombreuses études se sont portées sur de multiples cancers et ont cherché à prouver l'efficacité de l'odorat du chien pour détecter la maladie à partir d'échantillons divers comme le sang, la peau, les urines, les selles et les échantillons de tumeurs. De manière générale, on observait des sensibilités et spécificités très satisfaisantes (supérieures à 90 %) lorsque les tests olfactifs pour les chiens se résumaient à différencier un individu sain d'un individu cancéreux (Amundsen *et al.*, 2013 ; Bijland *et al.*, 2013).

4.4.3.1. Cancer du poumon et air expiré

Parmi ces cancers, le cancer du poumon fut l'objet de nombreuses études. En 2006, le Dr. McCulloch débuta un programme de dressage de cinq chiens pour la détection du cancer du poumon et du cancer du sein par l'air expiré du patient. L'expérience réalisée en double-aveugle donna des taux de réussite excellents dans l'identification des échantillons d'air expiré de patients atteints de cancer puisque les sensibilités étaient de 0,99 pour le cancer du poumon (IC95% = [0,99 ; 1]) et de 0,88 pour le cancer du sein (IC95% = [0,75 ; 1]) ; en comparant avec les résultats de la biopsie considérée comme examen de référence (McCulloch *et al.*, 2006). Cette étude pilote apportait déjà l'idée qu'il est possible de dresser rapidement des chiens « naïfs », en deux à trois semaines, afin de discriminer de manière efficace des individus sains des individus cancéreux.

Les résultats étaient plus mitigés quand on introduisait des comorbidités ou que l'on voulait différencier une atteinte bénigne d'une atteinte maligne. En 2011, une étude réalisée en aveugle a

introduit cette fois-ci une comorbidité en ajoutant dans le protocole des individus atteints d'une maladie pulmonaire chronique obstructive (MPCO). De la même manière, les chiens devaient reconnaître par l'odorat des personnes saines, des personnes atteintes d'un cancer du poumon et des personnes souffrant d'une MPCO, en flairant l'air qu'elles expirent. Même si la sensibilité du test a diminué à 70 % par rapport à l'étude de McCulloch, la spécificité est tout de même restée à 93 %, on a donc peu de résultats faux positifs, ce qui était une donnée encourageante puisque le chien n'était pas trompé par le statut fumeur ou la présence d'une MPCO chez l'individu testé (Ehmann *et al.*, 2011).

C'est en 2013 que fut réalisée la première étude prospective sur une population hétérogène de patients non sélectionnés, admis à l'hôpital et suspectés d'avoir un cancer du poumon. Les tests olfactifs en double-aveugle sur l'air expiré et des échantillons d'urine ont donné des résultats moyens, avec une sensibilité de 56-76 % et une spécificité de 8-33 % (Amundsen *et al.*, 2013). Toutefois l'utilisation du chien pour le cancer des poumons porte de nombreux espoirs car les méthodes de diagnostic par imagerie, notamment la radiographie, souffre de la présence de faux négatifs.

La question qui se pose est de savoir si le chien a la capacité de différencier des lésions pulmonaires bénignes de celles à caractère malin.

4.4.3.2. Le chien peut flairer de multiples cancers

L'utilisation de l'odorat du chien ne se résume pas au cancer des poumons et à l'air expiré du patient. Il a été étudié dans d'autres cancers avec d'autres échantillons comme pour le carcinome ovarien avec des échantillons de tissus et des prélèvements de sang (Horvath *et al.*, 2008), le cancer du sein sur l'air expiré (McCulloch *et al.*, 2006 ; Phillips *et al.*, 2003), le cancer de la vessie sur des prélèvements d'urine (Cornu *et al.*, 2010 ; Willis *et al.*, 2004), le cancer colorectal sur des prélèvements de fèces et l'air expiré (Sonoda *et al.*, 2011), le mélanome sur la peau du patient directement (Pickel *et al.*, 2004).

Ces études concluaient que les chiens étaient capables de discriminer des patients atteints de cancers de personnes saines. Toutefois il s'avère difficile de comparer l'ensemble de ces résultats car les chiens utilisés, les techniques de dressage, les protocoles et les cancers étaient différents. Il semble évident que de multiples biais persistent (comme la présence de différents stades d'évolution pour un même cancer, des facteurs confondants comme des maladies concomitantes, les méthodes de recueil des prélèvements) et qu'il faut prendre ces résultats avec précaution (Cornu *et al.*, 2010).

4.4.4. **Avantage de la détection du cancer par l'odorat du chien**

Cette méthode de détection précoce présente de nombreux avantages : elle est rapide, non invasive et avec une totale innocuité (Bijland *et al.*, 2013). Son application pratique dans une étape de criblage pourra s'avérer très importante car rappelons-le encore une fois que le pronostic dépend fortement du moment du diagnostic. Détecter précocement le cancer est un objectif important car il permet souvent des traitements avec une moindre toxicité (McCulloch *et al.*, 2006).

4.4.5. **Composé organique volatil spécifique du cancer**

L'observation de la détection d'un cancer par l'odorat du chien suggère l'existence de molécules odorantes produites spécifiquement par les cellules cancéreuses. Ces molécules sont appelées des composés organiques volatils. À ce jour, des études moléculaires par criblage protéique complet sont en cours pour les identifier, en étudiant notamment le métabolome de la cellule cancéreuse. Ces études sur le métabolome en sont encore à leurs débuts mais sont promises à un bel avenir (Jentzmik *et al.*, 2010).

Les composés organiques volatils seraient des marqueurs biologiques supplémentaires, éventuellement pronostiques. L'idée de leur détection par les chiens domestiques poussa ingénieurs et chercheurs à concevoir un système artificiel pouvant remplacer le chien. Ces nez électroniques ou « Enose » seraient capables de les détecter à des seuils de concentration presque aussi bas que le chien (Ehmann *et al.*, 2011). Durant les trente dernières années, la méthode chromatographique ou enose a été beaucoup étudiée mais son utilisation en clinique est récente (Amundsen *et al.*, 2013 ; Bijland *et al.*, 2013). L'idée de ces nez électroniques est intéressante si tant est que l'on ait identifié avec précision la structure biochimique de la molécule recherchée (Cornu *et al.*, 2010).

4.4.6. **Conclusion**

En conclusion, la détection du cancer par l'odorat des chiens ou bien par les nez électroniques porte de nombreuses promesses pour le futur et devrait recevoir une plus grande priorité dans la recherche. En effet, le sens de l'odorat du chien apparaît comme un outil de criblage et de diagnostic précoce intéressant.

Il faut donc maintenant déterminer si cette méthode diagnostique est plus avantageuse que celles déjà utilisées. Évidemment tout ceci dépend du cancer.

On constate ici un autre apport du chien dans la compréhension de la biologie tumorale : par sa capacité à distinguer un individu atteint d'un cancer d'un individu sain, on envisage l'existence de molécules biochimiques de petites tailles, volatiles, libérées par les cellules cancéreuses au cours de leur croissance. Il s'agit là encore d'une signature moléculaire du cancer (Cornu *et al.*, 2010). Ces composés organiques volatils pourraient être utilisés comme marqueurs biologiques ou marqueurs pronostiques.

5. CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE

Les cancers d'apparition spontanée du chien domestique ont sans conteste contribué à leur échelle dans la recherche en cancérologie. À travers la structure si particulière du génome canin, fruit de l'évolution phylogénétique de cette espèce en de multiples races, le chien domestique a fourni un apport non négligeable dans la découverte de nouveaux gènes du cancer. La place privilégiée de cet animal de compagnie à proximité de son propriétaire autorise le chien domestique à être un animal sentinelle efficace pour les facteurs de risques environnementaux du cancer. De plus, les multiples études des cancers canins, de plus en plus sophistiquées, ont apporté leur pierre à l'édifice pour la compréhension de la biologie tumorale ; par exemple dans l'approfondissement de notre étroite connaissance sur la théorie des cellules souches cancéreuses ou le processus métastatique.

La meilleure connaissance des mécanismes du cancer vise inévitablement à produire de nouvelles stratégies thérapeutiques qui sont testées au cours des essais cliniques chez l'homme. Le chien domestique participe activement à l'évaluation de ces nouvelles thérapies par de nombreux aspects, c'est ce qui sera développé dans la partie 3.

**TROISIÈME PARTIE : L'APPORT DU CHIEN
DOMESTIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT DE
NOUVEAUX TRAITEMENTS CONTRE LE CANCER**

1. INTRODUCTION DE LA TROISIÈME PARTIE

Nous avons démontré jusqu'à maintenant l'intérêt d'utiliser le chien domestique comme modèle pour la cancérologie humaine (partie 1), ainsi que les nombreux apports des études sur les tumeurs canines pour la compréhension de la biologie tumorale (partie 2).

Le point clé de la recherche en cancérologie est de découvrir des traitements permettant de guérir le cancer. Ceux-ci montrent leurs prémices en 1948 lors de la découverte de la chimiothérapie par Sidney Farber. Alors pédiatre à l'hôpital de Boston, Farber faisait face aux leucémies incurables de l'enfant et a découvert l'aminoptérine puis l'actinomycine D (Miller, 2006). En 1971, le président américain Nixon déclarait la guerre au cancer et prévoyait son éradication sous une trentaine d'années. Ainsi de lourds financements étaient attribués pour la recherche contre le cancer. Le succès était mitigé, cependant une véritable évolution conceptuelle a vu le jour avec la découverte de l'imatinib, un inhibiteur de récepteurs à activité tyrosine kinase par Druker, Lydon et Sawyers (Druker et Lydon, 2000).

De son côté, le chien domestique a aidé à mettre au point la première chimiothérapie à base de moutarde azotée (Hansen et Khanna, 2004 ; Khanna et Vail, 2003). C'est bien là l'objectif principal de l'oncologie comparée, celui qui est l'essence même de la discipline : la création de nouveaux traitements contre le cancer par l'intermédiaire de modèles animaux comme le chien. Ce sont les multiples atouts du modèle canin qui autorisent la recherche à l'utiliser dans les essais cliniques pharmaceutiques.

Trois périodes divisent l'histoire de l'utilisation du chien dans les avancées thérapeutiques contre le cancer. Ces périodes illustrent l'avancée des techniques et des connaissances depuis le début des années 1960 avec l'optimisation des protocoles de greffe de moelle osseuse grâce au chien, puis plus récemment les nouvelles thérapies ciblées comme le L-MTP-PE et les nombreux inhibiteurs de tyrosine kinases (Benjamini *et al.*, 1976 ; MacEwen *et al.*, 1986 ; Storb *et al.*, 1967 ; Theilen *et al.*, 1977 ; Tsoi *et al.*, 1974 ; Weiden *et al.*, 1975). Ces avancées ont été faites pour traiter les cancers canins et ont été ensuite transférées chez l'homme pour les essais cliniques (Ranieri *et al.*, 2013a). On espère maintenant que le chien permettra de découvrir de nouvelles molécules à action ciblée, de nouvelles thérapies et de nouvelles techniques mais aussi d'augmenter notre connaissance à propos de thérapies déjà existantes, afin de les perfectionner.

L'objectif de cette troisième partie sera de montrer les multiples apports du modèle des cancers spontanés de notre chien domestique pour la découverte et le perfectionnement de thérapies pour lutter contre le cancer. Dans un second temps, on expliquera les difficultés actuelles de la recherche pharmaceutique dans le secteur de l'oncologie et enfin le nouvel espoir que constitue l'oncologie comparée grâce à l'intégration standardisée du chien domestique dans les essais précliniques. Cette intégration est testée et proposée par le Comparative Oncology Program (COP) aux États-Unis sous la tutelle du National Cancer Institute (NCI).

2. LES THÉRAPIES DU CANCER

2.1. Le tragique du cancer

Une masse tumorale constitue une population cellulaire aberrante et faisant pourtant partie du soi : ce sont des cellules eucaryotes, de l'individu, souvent mal détectées par le système immunitaire, en prolifération, à l'origine d'un processus de néo-angiogenèse, résistantes à l'hypoxie et parfois en état de quiescence. C'est là le tragique du cancer : lutter contre son propre organisme.

2.2. Rappel des stratégies thérapeutiques traditionnelles en cancérologie

Plusieurs approches sont envisageables dans le cadre d'un traitement contre le cancer. Celles-ci sont des approches « traditionnelles » qui, même si elles restent à la base du traitement contre le cancer, perdent peu à peu de leur éclat face à l'émergence de nouvelles approches thérapeutiques, comme la thérapie ciblée, l'immunothérapie, l'hormonothérapie ou l'anti-angiogenèse. Ces stratégies thérapeutiques traditionnelles forment un solide triptyque : ce sont la chirurgie oncologique, la chimiothérapie et la radiothérapie.

Le choix d'une stratégie par rapport à une autre dépend de nombreux critères de décision. Parmi ceux-ci, on retrouve la nature histologique du processus tumoral, le potentiel évolutif, le bilan d'extension et l'état général de l'individu.

2.2.1. La chirurgie oncologique

La chirurgie reste la pierre angulaire de la plupart des stratégies thérapeutiques anticancéreuses. Elle consiste soit en un traitement local par exérèse de la tumeur ou en un traitement régional par exérèse des nœuds lymphatiques régionaux voire en l'exérèse de métastases par exemple lors de tumeurs métastasées au parenchyme pulmonaire.

L'approche chirurgicale doit répondre à des règles radicales afin de pouvoir être carcinologique, comme la réalisation d'un bilan d'extension préalable pour avoir l'assurance d'avoir pris des marges saines. L'objectif est de retirer entièrement la tumeur et d'évaluer sa nature histologique afin d'établir un pronostic.

Les techniques chirurgicales sont de plus en plus perfectionnées et de moins en moins invasives ; elles permettent de préserver de plus en plus les parties saines de la région atteinte. La chirurgie oncologique est souvent accompagnée d'autres thérapies qui viennent compléter l'acte chirurgical comme la chimiothérapie et la radiothérapie, permettant de traiter respectivement les métastases à distance ou les récidives locales (Soyer *et al.*, 2011).

2.2.2. La chimiothérapie

2.2.2.1. Principe de la chimiothérapie anticancéreuse

La chimiothérapie consiste à administrer des médicaments qui détruisent les cellules cancéreuses à cause de leur fort pouvoir de multiplication. Il s'agit d'une stratégie cytotoxique puisque toutes les cellules, *a fortiori* celles en prolifération, sont susceptibles d'être touchées. Elle se divise en différentes séances dont le rythme et la durée varient en fonction du cancer et du protocole utilisé. Elle fait souvent intervenir plusieurs molécules à mécanismes d'action différents permettant d'améliorer l'efficacité tout en diminuant la toxicité du traitement et en limitant l'apparition de résistances (poly-chimiothérapie). Elle est souvent effectuée en complément de la chirurgie, soit avant pour réduire la taille de la tumeur (chimiothérapie néo-adjuvante), soit après pour réduire le risque de métastase (chimiothérapie adjuvante).

L'objectif final des protocoles de chimiothérapie est d'avoir une efficacité maximale pour une toxicité limitée et qui produisent le moins de résistances possibles. On doit donc agir précocement, à la dose maximale tolérable, aussi souvent que possible, avec des associations de plusieurs molécules.

2.2.2.2. La chimiothérapie est de plus en plus utilisée

Selon un rapport publié par l'INCa (Institut National du Cancer) en Octobre 2010, 270 000 patients ont bénéficié d'une chimiothérapie en 2009 soit 24 % de plus par rapport à 2005. Les chiffres indiquent une progression de 12 % du nombre de patients traités pour un cancer, soit 358 000 patients. Chez l'homme en 2009, environ 80 % des chimiothérapies ont été réalisées pour traiter les cancers digestifs, gynécologiques, hématologiques, du poumon et du sein (INCa. *Publication de la situation de la chimiothérapie des cancers en 2011*. [En ligne]. (Mise à jour le 03/07/2012). [<http://www.e-cancer.fr/toutes-les-actualites/7063-publication-de-la-situation-de-la-chimiotherapie-des-cancers-en-2011>]. (Consulté le 24/09/2014).).

2.2.2.3. Rappel des différents agents anticancéreux

Les différents agents anticancéreux sont classés suivant leur mode d'action (Soyer *et al.*, 2011 ; Withrow *et al.*, 2012). Ce sont des molécules cytotoxiques non spécifiques des cellules cancéreuses. Des exemples sont donnés entre parenthèse :

- agents alkylants : ils forment des liaisons covalentes avec l'ADN, induisant des ponts inter-brins puis des erreurs de réplifications, des mésappariements et des pertes de bases (cyclophosphamide, chlorambucil, lomustine) ;
- complexes à base de platine : création de ponts inter-brins et intra-brins (cisplatine, carboplatine) ;
- antimétabolites : ils interfèrent avec le métabolisme normal des acides nucléiques et sont spécifiques du cycle cellulaire notamment de la phase S (méthotrexate, cytarabine) ;
- poisons du fuseau : ils déstabilisent le fuseau mitotique et sont spécifiques de la phase M du cycle cellulaire. Ils bloquent la polymérisation de la tubuline d'où un arrêt de la mitose de la cellule en métaphase puis apoptose (vinblastine, vincristine) ;
- antibiotiques : ils sont utilisés comme inhibiteurs des topoisomérases, enzymes qui en temps normal clivent l'ADN, le déroulent puis reforment la liaison. Ils empêchent cette ligation ce qui entraîne des cassures de l'ADN (doxorubicine, mitoxantrone) ;
- autres : L-asparaginase, corticoïdes.

2.2.3. La radiothérapie

La radiothérapie repose sur l'utilisation de radiations ionisantes pour détruire les cellules tumorales tout en épargnant les tissus sains environnants. Les radiations modifient le patrimoine génétique des cellules, créent des lésions de l'ADN trop importantes pour être réparées ce qui stoppent leur division. Les lésions de l'ADN se produisent via la production de radicaux libres (interaction des particules ionisantes avec les molécules d'eau). Les cellules saines se réparent plus efficacement et plus rapidement que les cellules tumorales d'où l'intérêt de fractionner les doses administrées.

Sans rentrer dans le détail des techniques, il existe la radiothérapie externe produisant des rayons X par orthovoltage à basse énergie ou par accélérateurs de particules à énergie très élevée, la curiethérapie interstitielle avec comme source l'iridium 192, la cobaltothérapie qui produit des rayons γ et la radiothérapie métabolique à l'iode 131.

Les cellules les plus sensibles aux radiations ionisantes sont celles qui se multiplient rapidement. Les tumeurs de gros volume ou en état de nécrose sont peu radiosensibles. La radiosensibilité est plutôt importante pour les tumeurs à cellules rondes comme les lymphomes ou les mastocytomes ; moyenne pour les carcinomes et faible pour les sarcomes.

Elle peut être utilisée en première intention à visée curative pour des lésions de très petites tailles, très radiosensibles ou inaccessibles à la chirurgie. La plupart du temps, elle est utilisée en thérapie adjuvante soit pour réduire le volume tumoral avant exérèse chirurgicale, soit pour irradier le site opératoire en cas de risque de récurrence locale. Enfin, elle peut être aussi utilisée en tant que traitement palliatif pour limiter la croissance tumorale ou pour son effet antalgique et anti-inflammatoire (Withrow *et al.*, 2012).

2.3. De nouvelles thérapies du cancer

En plus des techniques de thérapies classiques comme la chimiothérapie, la chirurgie ou la radiothérapie, de nouvelles approches comme l'anti-angiogenèse, l'hormonothérapie, les thérapies ciblées ou l'immunothérapie commencent à être bien utilisées pour combattre le cancer. Ces nouveaux traitements sont souvent testés au départ chez les animaux.

2.3.1. L'hormonothérapie

L'hormonothérapie est utilisée dans le cas de certains cancers hormonodépendants, comme celui du sein et de la prostate. En effet, leur croissance est dépendante d'hormones sexuelles pour lesquelles ces cancers ont des récepteurs spécifiques. Dans le cancer du sein, l'hormonothérapie permet de bloquer l'action des œstrogènes. Dans le cancer de la prostate, elle bloque l'action des androgènes.

2.3.2. L'immunothérapie

L'immunothérapie anticancéreuse vise à mobiliser le système immunitaire pour qu'il détruise les cellules tumorales. Pour cela, on stimule le système immunitaire par différents moyens.

Il existe une immunothérapie active non spécifique qui consiste à stimuler de manière globale le système immunitaire. On retrouve ainsi des immunomodulateurs non spécifiques comme le BCG¹, le MTP² ou l'Acemannan³, mais aussi des cytokines. Les cytokines sont des molécules physiologiquement sécrétées par les cellules immunitaires pour communiquer entre elles dans la lutte anticancéreuse. On peut citer l'interleukine 2 (IL-2) agissant dans la stimulation des cellules immunocompétente et l'interféron gamma (IFN γ) activant la présentation antigénique par les cellules présentatrices d'antigène (Caplier, 2008).

Il existe une immunothérapie active spécifique qui consiste à utiliser un antigène tumoral spécifique qui est porté à la surface de la cellule cancéreuse. La découverte des antigènes tumoraux ouvre la voie à de nouveaux axes de recherche comme la vaccination thérapeutique anti-tumorale, notamment pour le mélanome et le cancer du sein (Caplier, 2008). L'objectif est d'obtenir une réponse T-cellulaire spécifique de longue durée et à mémoire par l'introduction chez un patient de l'antigène tumoral immunisant. La stratégie vaccinale utilise de nombreuses techniques et procédés pour former un « vaccin » et présenter l'antigène tumoral à l'organisme : elle peut s'aider des cellules tumorales entières ou des lysats de cellules tumorales, de l'ADN d'un antigène tumoral contenu dans un plasmide ou un vecteur viral ou d'une cellule dendritique (Withrow *et al.*, 2012).

¹ **BCG** : bacille Calmette Guérin.

² **MTP** : muramyl tripeptide.

³ **Acemannan** : mucopolysaccharide produit par les feuilles d'*aloe vera* ayant des propriétés immunostimulantes, anti-virales et anti-cancéreuses.

Une autre stratégie est d'utiliser des anticorps monoclonaux capables d'empêcher la prolifération cellulaire des cellules tumorales en bloquant l'activité de certains récepteurs (immunothérapie passive spécifique). Nous pouvons citer pour exemple le rituximab pour le traitement des lymphomes et le trastuzumab ciblant le récepteur HER-2 chez les femmes atteintes de cancer du sein exprimant ce récepteur.

Il devient maintenant très clair que c'est le système immunitaire qui est la pierre angulaire de la réussite des traitements contre le cancer ; c'est lui qui détermine si la chimiothérapie ou la radiothérapie vont avoir une bonne efficacité ou non. Autrement dit, les efforts doivent se concentrer pour trouver des moyens d'incorporer l'immunothérapie en combinaison des protocoles traditionnels.

2.3.3. La thérapie génique

Le principe est d'introduire dans le génome des cellules du patient un ou des gènes étrangers qui permettront de lutter contre le cancer. Ces gènes serviront soit à stimuler les cellules immunitaires du patient (gène de cytokine), soit à sensibiliser les cellules cancéreuses à certains antiviraux, soit à bloquer certains oncogènes (Soyer *et al.*, 2011).

2.3.4. L'essor de la thérapie ciblée

2.3.4.1. Principe

Contrairement aux chimiothérapies classiques, la thérapie ciblée repose sur une connaissance approfondie de la biologie moléculaire du cancer. Le développement de cette classe de molécules dites carcinotoxiques n'aurait pas pu être possible sans la compréhension de la machinerie protéique de la cellule.

Le développement des thérapies ciblées repose sur le blocage du fonctionnement d'une ou plusieurs protéines dans la cellule cancéreuse. On retient les notions de récepteurs, de ligands et d'activation de protéines (principalement par phosphorylation par des kinases).

L'objectif est de faire disparaître la tumeur en se basant sur le principe que le développement tumoral dépend de l'oncogène à l'origine de son apparition, c'est l'*oncogène addiction*. Un second objectif est de contrôler la tumeur tout en améliorant la durée et le confort de vie du patient. Cette thérapie est sélective. Elle est plus efficace sur la cellule cancéreuse et la dose utilisée peut être augmentée sans risque de toxicité sur les cellules saines. Une utilisation à long terme est aussi possible même si là encore des résistances peuvent apparaître c'est pourquoi l'éradication complète de la tumeur est rare (Withrow *et al.*, 2012).

Enfin, il est nécessaire d'identifier si les cibles sont présentes chez les patients par des études de pharmacogénétique. Globalement, ces molécules carcinotoxiques sont moins efficaces quand elles sont utilisées en première intention. Mais quand la cible est présente, elles ont une très bonne efficacité presque totale.

2.3.4.2. Cibles et stratégies possibles

Elles ont quatre cibles possibles : le récepteur membranaire, la signalisation intracellulaire, les altérations géniques et la néovascularisation (Storck, 2014).

Plusieurs stratégies sont utilisées pour neutraliser la cellule tumorale :

- bloquer les ligands des récepteurs membranaires comme par exemple avec les anticorps anti-VEGF comme le bevacizumab (Avastin®),
- bloquer les récepteurs membranaires comme par exemple avec les anticorps anti-HER2 comme le trastuzumab (Herceptin®),
- empêcher l'activation des récepteurs à activité tyrosine kinase (inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK).

2.3.4.3. Les molécules à action ciblée

L'important est de définir des cibles comme des oncogènes indispensables aux cellules cancéreuses ou des gènes suppresseurs de tumeurs.

Pour rappel, une cellule tumorale possède une activité de prolifération anormale. Dans une cellule normale, la prolifération est déclenchée au départ par la fixation d'un ligand extracellulaire (typiquement un facteur de croissance) sur un récepteur membranaire. Cette fixation active le récepteur entraînant une cascade de réactions intracellulaires aboutissant *in fine* à la production par le noyau de la cellule des protéines qui stimulent la prolifération cellulaire, inhibent l'apoptose ou favorisent l'angiogenèse. Nombre de ces récepteurs sont de type tyrosine kinase (Withrow *et al.*, 2012). Dans une cellule cancéreuse, ces voies de prolifération sont très souvent constitutivement activées, c'est-à-dire que le facteur de croissance n'est plus nécessaire.

On retrouve deux catégories de molécules agissant selon deux grands principes (*figure 19*) :

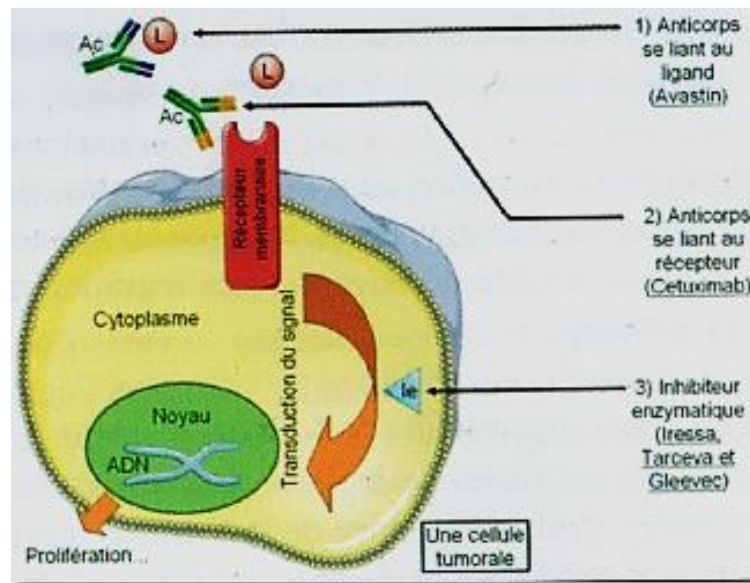
- des anticorps monoclonaux agissant à l'extérieur de la cellule, sur le ligand ou le récepteur lui-même. Actuellement il y en a de nombreux sur le marché ou en cours d'essais cliniques en médecine humaine.

Exemple : on peut citer comme vu précédemment, le bevacizumab (Avastin®) qui est une IgG qui inhibe le VEGF ;

- des petites molécules chimiques ATP-mimétiques agissant en intracellulaire et inhibant la partie tyrosine-kinase du récepteur membranaire. Ce sont les ITK.

Exemple : on peut citer l'imatinib (Gleevec®) qui a été le premier médicament de cette famille mis sur le marché en 2001 par le laboratoire Novartis pour traiter les leucémies myéloïdes chroniques (CML).

Figure 19 : Les stratégies possibles pour bloquer un récepteur membranaire à l'origine du phénotype cancéreux. Adaptée d'après Soyer *et al.* (2011).



La thérapie ciblée est une véritable révolution dans le traitement des cancers et la recherche dans ce domaine est actuellement très active comme nous le verrons plus loin.

3. DESCRIPTION DES ESSAIS CLINIQUES EN RECHERCHE PHARMACEUTIQUE

Avant d'exposer les différents apports du chien domestique dans l'élaboration de nouvelles thérapies anticancéreuses dans l'histoire de la recherche en cancérologie, il convient de décrire comment se déroulent les essais cliniques et leurs différentes étapes (Mack, 2006 ; Vail, 2007 ; Withrow *et al.*, 2012). Nous verrons que le chien a participé évidemment aux essais « précliniques » dans le développement pharmaceutique de nouveaux agents anticancéreux mais qu'il est aussi intervenu à chaque phase du développement chez l'homme (Campone et Frenel, 2012 ; Khanna *et al.*, 2009). Ces essais cliniques en recherche et développement sont orchestrés et contrôlés par la *Food and Drug Administration* (FDA) aux États-Unis (Vail, 2007).

3.1. Définition

Un essai clinique, ou étude clinique, est une recherche biomédicale réalisée en thérapeutique humaine en vue d'évaluer l'efficacité et la tolérance d'un nouveau traitement ou d'une méthode diagnostique. L'essai peut se faire sur des volontaires sains ou malades. Il a plusieurs objectifs : la mise sur le marché d'un nouveau médicament, la détermination des individus pour lesquels la molécule est la plus efficace, la détermination de ses conditions optimales d'utilisation et de sa toxicité (Gutierrez *et al.*, 2009). Il se divise quatre phases dont le passage successif est indispensable (*figure 20*) (Vail, 2007).

3.2. Les différentes phases d'un essai clinique

3.2.1. Essai clinique de phase 1

Il s'agit de la première étape de développement du nouvel agent anticancéreux. Elle succède aux études précliniques qui ont fourni les premières données de pharmacocinétique, de pharmacodynamie, d'efficacité et de toxicité sur les modèles animaux. Elle teste la molécule sur un petit échantillon (20 à 40 individus) de sujets sains. Au cours de cet essai, on définit les toxicités et la dose maximale tolérée (DMT). Celle-ci est la dose qu'il est recommandé d'utiliser pour la phase 2, tout simplement car l'efficacité est liée à la toxicité pour les molécules cytotoxiques de par leur mécanisme d'action (Gordon et Khanna, 2010). Cela n'est pas le cas pour les molécules à action ciblée comme nous en discuterons ultérieurement. Cette étude sert aussi à étudier la pharmacocinétique (absorption, distribution, métabolisme, élimination) et les actions pharmacologiques du médicament dans l'organisme humain. L'activité et efficacité de la molécule sont aussi testées avant de passer en phase 2.

3.2.2. Essai clinique de phase 2

La molécule est testée sur des individus malades exempts d'autres maladies (souvent moins de 500 patients), afin d'évaluer son efficacité. Sont recherchées les données préliminaires sur l'efficacité et les relations entre les doses administrées et les effets thérapeutiques observés. À l'issue de cette étude pilote, on doit avoir obtenu la dose optimale du médicament. C'est souvent à ce stade que l'on décide de continuer ou non les essais.

On étudie également une nouvelle fois l'innocuité, les effets secondaires et les réactions indésirables. On optimise la forme pharmaceutique et on met au point le procédé de fabrication à grande échelle.

Historiquement, le critère d'efficacité utilisé est le taux de réponse, c'est-à-dire la diminution de taille de la tumeur. Mais les nouvelles molécules ont plutôt une action cytostatique donc le critère standard d'évaluation de la réponse qui dit qu'il faut 30 % de diminution de taille pour qu'on considère qu'il y ait une réponse est à moduler ; il faut plutôt utiliser le temps de progression tumorale (TTP) (Brown *et al.*, 2011 ; Campone et Frenel, 2012 ; Vail, 2007).

3.2.3. Essai clinique de phase 3

Cette phase aussi appelée « étude pivot » est l'étude comparative d'efficacité proprement dite. On compare le médicament avec un placebo ou avec le traitement de référence. On se pose tout simplement la question de savoir si cette molécule est mieux que celles déjà existantes. Les échantillons sont de taille plus importante, avec des individus malades qui sont exempts d'autres maladies. Ce sont souvent des études multicentriques contrôlées, randomisées et réalisées en double-aveugle, grâce à la coopération de plusieurs partenaires permettant de réunir un grand nombre de cas. Sont déterminés la posologie et le mode d'administration, les rapports bénéfice-risque et coût-bénéfice. C'est à l'issue de cette phase qu'est déposé le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Il s'agit souvent d'études très onéreuses. Leur financement peut être public ou privé. Dans ce dernier cas, ce sont les compagnies pharmaceutiques elles-mêmes qui financent leurs essais.

3.2.4. Essai clinique de phase 4

La phase 4 correspond au suivi à long terme de la molécule déjà mise sur le marché. Elle permet de dépister les effets secondaires rares ou des complications tardives. Ce sont des essais qui s'effectuent tout au long de la commercialisation du médicament.

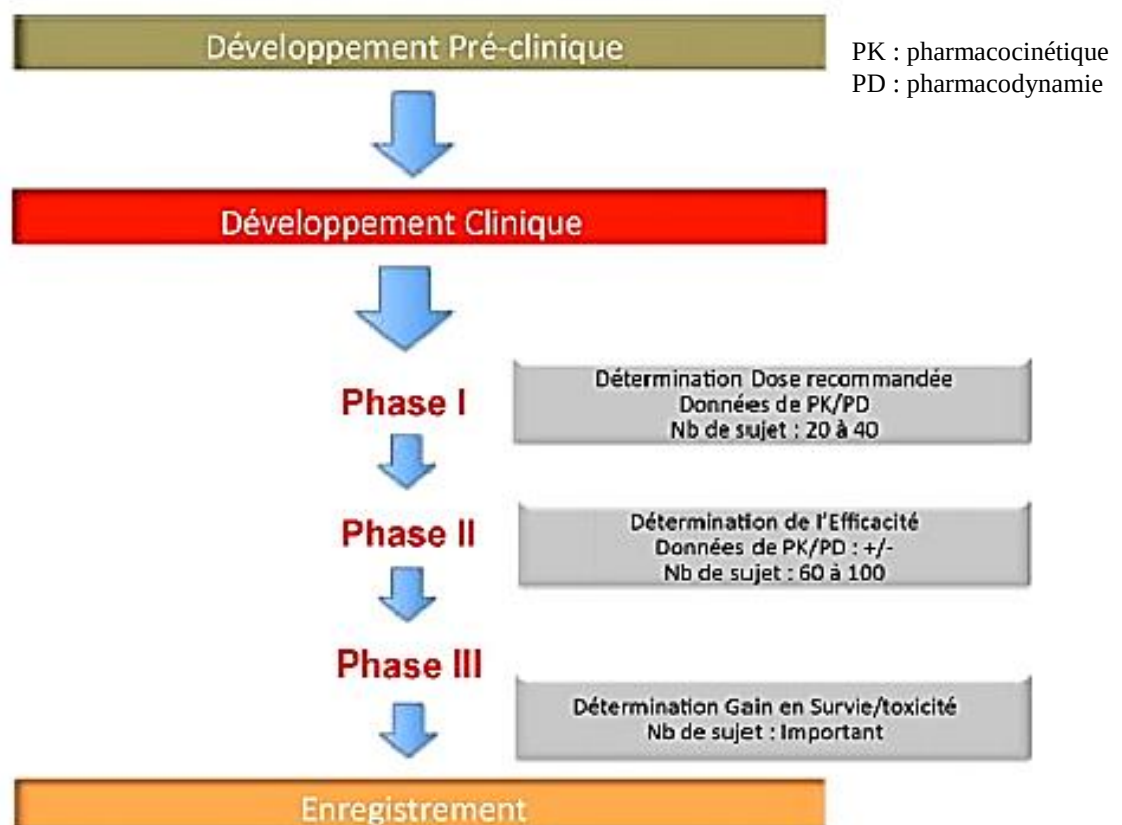
3.2.5. Le concept des études précliniques ou de phase 0

Elles précèdent le cheminement traditionnel des essais cliniques décrits précédemment. Il s'agit d'un concept relativement récent, des études « preuve-de-concept » menées sur des modèles animaux mammifères tels que la souris, le singe et le chien, avant les premiers essais chez l'homme. Elles permettent d'acquérir les premières connaissances sur la molécule. Ces essais de phase 0 sont assez courts (d'une durée inférieure à une semaine) et utilisent de faibles doses de la molécule, néanmoins suffisantes pour observer si elle a un effet réel sur sa cible thérapeutique présumée (Vail, 2007).

On s'attache à développer des marqueurs biologiques capables d'évaluer l'effet de la molécule sur sa cible. Sont menées des études de pharmacocinétique, de pharmacodynamie et de toxicologie sur un nombre important de prélèvements que ce soit des pièces de tumeurs, du sang ou de l'urine (Kinders *et al.*, 2007 ; Kummar *et al.*, 2008). À la suite de cette première expérience on peut déjà décider si la molécule mérite de plus amples investigations chez l'homme ou non (Kummar *et al.*, 2008 ; Vail, 2007). C'est la prise de décision « *go, no go* ».

L'avantage de ces études de phase 0 est qu'elles nécessitent moins d'informations que les essais de phase 1. Une faible quantité de molécule est utilisée, avec peu d'effets secondaires, sur un faible nombre de sujets et sur une courte période (Kinders *et al.*, 2007).

Figure 20 : Les différentes phases d'un essai clinique. Adaptée d'après Campone et Frenel (2012).



3.3. Problématique des molécules à action ciblée dans les essais cliniques conventionnels

Ce système traditionnel des essais cliniques montre une certaine force et a beaucoup servi. Cependant il est petit à petit remis en question avec les nouveaux agents anticancéreux que sont les molécules à action ciblée qui ont un fonctionnement différent (Gordon et Khanna, 2010 ; Kummar *et al.*, 2006). Ceci est d'autant plus gênant que ces agents représentent aujourd'hui environ 40 % des molécules anti-cancéreuses actuellement en développement et ce chiffre ne va qu'augmenter compte tenu de l'engouement actuel pour ces dernières.

Comme indiqué précédemment, elles peuvent avoir une action cytostatique ou cytotoxique. Elles ont une fenêtre thérapeutique étendue car le mécanisme d'action de leur effet thérapeutique est bien souvent différent du mécanisme d'action de leur effet toxique. Il arrive souvent que les trois premières phases ne fournissent même pas l'information sur l'utilisation optimale de la nouvelle molécule (Kummar *et al.*, 2008).

Des changements dans l'approche des essais cliniques ont été entrepris par rapport aux essais cliniques conventionnels. C'est surtout le cas pour les phases 1 et 2 des essais cliniques. En effet, on envisage bien que la détermination de la dose à utiliser pour la phase 2, ainsi que la mise en évidence de l'activité et de l'efficacité, vont être différentes (Kummar *et al.*, 2006). Ainsi, la dose définie en phase 1 n'est plus la MTD mais la dose biologique optimale ou BOD (Kummar *et al.*, 2006).

En ce qui concerne les essais en phase 2, la tâche réside dans l'objectivation de l'efficacité de la molécule sur la tumeur. En effet, leur caractère souvent cytostatique fait que l'on ne peut plus prendre la réduction de la taille de la tumeur comme critère d'efficacité. On se concentre sur d'autres critères biologiques comme la « stabilisation de la maladie ». Il y a là aussi un intérêt important à déterminer des marqueurs biologiques d'activité et la pharmaco-génomique du mécanisme d'action de la molécule ; cela demande souvent de les établir dans des essais précliniques et des analyses supplémentaires au plan moléculaire (Withrow *et al.*, 2012).

Par ailleurs, ces molécules peuvent être peu efficaces en monothérapie mais prendre tout leur intérêt en thérapie combinée. Ceci n'est pas pris en compte dans les phases 3. De même, la plupart de ces agents s'illustrent pour leurs effets pendant la maladie résiduelle, c'est-à-dire ce qu'il reste du cancer après le traitement initial quand la tumeur n'est plus visible ; ceci n'est pas non plus pris en compte dans les essais conventionnels.

Il apparaît alors qu'il est nécessaire de faire une sélection des patients pour tester ces agents à action ciblée, puisqu'il est très probable qu'ils ne vont servir qu'à une sous-population de malades correspondant à son spectre d'activité (par exemple la présence d'une mutation spécifique sur tel exon). Des débats sont en cours pour définir la meilleure stratégie pour développer ces nouveaux agents où l'association entre efficacité et toxicité est moins importante qu'avec la chimiothérapie cytotoxique classique. Une approche possible serait de réaliser une phase 1 dédiée à la cible moléculaire ou bien d'enrichir la cohorte d'une population présentant l'anomalie moléculaire (Campone et Frenel, 2012). Quoiqu'il en soit, ces molécules illustrent bien la nécessité d'avoir de meilleurs modèles plus prédictifs (Kummar *et al.*, 2006).

3.4. Le lexique pour décrire l'efficacité d'un agent anticancéreux

De nombreux termes sont utilisés pour décrire l'efficacité d'un agent anticancéreux sur une tumeur. Avant de décrire les études et essais cliniques chez le chien en terme d'oncologie comparée, il est nécessaire de définir certains termes. Des critères ont été définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). On les appelle critères RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) (Eisenhauer *et al.*, 2009).

La réponse objective est une réponse complète ou partielle au traitement. Une réponse complète est synonyme de disparition des signes de la maladie évalués à au moins trois semaines d'intervalle. Une réponse partielle est synonyme de réduction supérieure à 30 % de la somme des diamètres les plus longs des lésions cibles mesurées à au moins trois semaines d'intervalle. Une maladie est qualifiée de stable lorsqu'elle ne progresse pas. La progression de la maladie se définit par une augmentation d'au moins 20 % de la somme des diamètres des lésions cibles, de la progression de lésions non cibles ou de l'apparition de nouvelles lésions. Une maladie contrôlée englobe une réponse complète, partielle ou une maladie stable. La maladie est qualifiée de progressive lorsqu'elle n'est pas contrôlée. L'activité biologique est définie par le pourcentage de patients ayant eu une réponse (complète ou partielle) au traitement et ceux chez lesquels la maladie est stable.

Les critères RECIST sont peu pertinents pour les molécules cytostatiques. Il est utilisé dans ce cas le temps de progression correspondant à la durée entre le 1^{er} jour de traitement et le jour où la maladie progresse.

4. LES APPORTS DU CHIEN DOMESTIQUE DANS LE DÉVELOPPEMENT DES THÉRAPIES ANTICANCÉREUSES

Cette sous-partie rappellera les différents apports qu'a pu avoir le chien domestique dans l'élaboration de nouveaux traitements pour le cancer, que ce soit pour leur création, l'évaluation de leur performance (efficacité ou innocuité par exemple) mais aussi pour le perfectionnement d'approches thérapeutiques déjà existantes.

4.1. Trois grandes phases historiques de l'apport du chien pour la thérapie anticancéreuse

De nombreuses revues font état de grandes découvertes sur le cancer à partir de la recherche sur le chien (Gordon et Khanna, 2010 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Porrello *et al.*, 2006 ; Vail et MacEwen, 2000). Historiquement, l'utilisation du chien domestique comme modèle pour le cancer peut être découpée en trois grandes périodes (Paoloni et Khanna, 2008). Au départ, les études étaient purement observationnelles. La liste des exemples donnés pour illustrer ces périodes est non exhaustive.

4.1.1. Période 1 : phase descriptive

Il s'agissait d'une première phase descriptive au cours de laquelle le chien servait de modèle pour les interventions thérapeutiques et chirurgicales compte tenu de la similitude de taille, d'anatomie et d'histologie avec l'homme :

- développement de protocoles de greffe de moelle osseuse (Storb *et al.*, 1967 ; Tsoi *et al.*, 1974),
- évaluation précoce de l'immunothérapie comme l'utilisation de *Corynebacterium parvum* ou de vaccins anti-cancéreux (Balch *et al.*, 1982 ; Benjamini *et al.*, 1976 ; Gal, 2000 ; MacEwen *et al.*, 1986 ; Theilen *et al.*, 1977),
- développement de techniques chirurgicales pour éviter l'amputation pour les enfants atteints d'ostéosarcome (S M LaRue *et al.*, 1989 ; Withrow *et al.*, 1993),
- évaluation de l'efficacité et de l'innocuité du traitement par hyperthermie pour les tumeurs hétérogènes (Dewhirst, 1989 ; Gillette *et al.*, 1992 ; Vail et MacEwen, 2000).

4.1.2. Période 2 : définition de l'activité de certains agents

Il s'agissait de la deuxième période au cours de laquelle le chien était utilisé pour définir l'activité des agents thérapeutiques, au départ lorsque la maladie était présente, puis lors de la maladie résiduelle :

- développement d'approches par inhalation (aérosolthérapie) de cytokines ou de molécules de chimiothérapie pour traiter les métastases pulmonaires (Hershey *et al.*, 1999 ; Khanna *et al.*, 1997a, 1997b, 1996),

- évaluation du L-MTP-PE comme thérapie adjuvante lors d'ostéosarcome pédiatrique (Kurzman *et al.*, 1995 ; MacEwen *et al.*, 1994).

4.1.3. Période 3 : période actuelle

La période actuelle consacre l'utilisation du chien pour des études de biologie poussées dans le but de déterminer des critères de pharmacocinétique et de pharmacodynamie de molécules anticancéreuses en voie de développement :

- recherche de la toxicité, de l'activité, de la pharmacocinétique et pharmacodynamie lors de tests d'inhibition de récepteurs tyrosine kinases dans les tumeurs canines présentant un allèle *KIT* muté (London *et al.*, 2003 ; Pryer *et al.*, 2003),
- évaluation d'une approche vaccinale (vaccin à ADN) pour le mélanome canin afin d'effectuer un éventuel transfert de connaissance chez les patients humains (Bergman *et al.*, 2006, 2003 ; Liao *et al.*, 2006),
- évaluation de l'activité du pamoate d'octréotide en combinaison du carboplatine sur l'ostéosarcome canin (Khanna *et al.*, 2002),
- évaluation de l'efficacité d'approches anti-angiogéniques avec la molécule thrombospondin-1 (Rusk *et al.*, 2006a, 2006b),
- essai clinique de phase 1 pour l'administration systémique d'un agent pathogène (*Salmonella typhimurium*) atténué ciblant la tumeur sur des chiens avec des cancers spontanés (Thamm *et al.*, 2005).

4.2. Le premier apport historique du chien avec le perfectionnement des protocoles de greffe de moelle osseuse

Une des premières démonstrations des cancers canins en tant que modèle remonte déjà à plus de 40 ans avec les travaux cherchant à établir un protocole fiable et sûr pour les greffes de moelle osseuses, chez des patients atteints de leucémies aiguës ou de lymphomes (Ladiges *et al.*, 1990 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Ranieri *et al.*, 2013a).

4.2.1. Les premiers essais chez le chien

Les premiers essais chez le chien ont été menés au début des années 1960 lorsque Thomas et ses collaborateurs ont réussi la première transplantation allogénique chez le chien (Thomas *et al.*, 1962). On percevait déjà l'idée qu'un traitement immunosuppresseur pouvait aider à la prise de la greffe.

À la suite de cela, Storb a utilisé le modèle canin pour optimiser les protocoles de greffe de moelle osseuse et pour limiter la maladie du greffon contre l'hôte (Storb *et al.*, 1967). Il s'agit d'une des premières causes d'échec lors de greffe de moelle osseuse : ce sont les cellules greffées du donneur, celles qui vont produire le nouveau système immunitaire du malade receveur, qui attaquent les tissus de ce dernier car perçus comme du « non-soi ». On l'écrit aussi GVHD (*Graft Versus Host Disease*). Elle peut survenir même quand tous les critères de compatibilités dépendants des complexes majeurs et mineurs d'histocompatibilité (HLA) sont remplis.

Dans cette étude, on testait l'efficacité d'une transplantation de moelle osseuse pour reconstituer l'activité hématopoïétique sur des chiens subissant une irradiation du corps entier. Pour cela, les chercheurs ont prélevé des cellules souches hématopoïétiques chez des chiens donneurs par la technique de leucaphérèse permettant de prélever dans le sang circulant les leucocytes du donneur par une circulation extracorporelle (il s'agit de l'aphérèse¹ des leucocytes). Cette technique permettait de déterminer le nombre et le type de cellules transférées au receveur tout en évitant le contact entre le donneur et les antigènes du receveur comme c'était le cas avec l'ancienne technique de circulation sanguine croisée. Des administrations quotidiennes de leucocytes étaient faites suite à l'irradiation de telle sorte que chaque individu recevait environ 100.10^9 globules blancs du donneur. Deux groupes de receveurs étaient créés, un recevant également un traitement immunosuppresseur après l'irradiation (méthotrexate), l'autre non. La restauration de la moelle osseuse était visible au bout de sept jours post-irradiation sur des prélèvements histologiques ; au bout de 10 jours le sang périphérique contenait déjà des leucocytes et plaquettes nouvellement formés. On apprenait grâce à cette expérience qu'un nombre minimum de 100.10^9 leucocytes transplantés était nécessaire pour avoir une restauration de l'hématopoïèse. De plus, le traitement immunosuppresseur associé à la greffe allogénique semblait atténuer les effets secondaires comme la maladie de greffon contre l'hôte puisque le groupe recevant le méthotrexate avait un temps de survie moyen plus élevé que ceux ne le recevant pas (16,8 jours contre 7,8 jours respectivement) (Storb *et al.*, 1967). Néanmoins, ces temps de survie restaient tout de même très faibles.

Les résultats étaient encourageants puisqu'ils indiquaient que la fonction d'hématopoïèse avait la possibilité d'être restaurée chez des chiens ayant été préalablement entièrement irradiés, grâce à la transplantation allogénique de cellules hématopoïétiques progénitrices provenant du sang périphérique du donneur. Il s'agissait déjà d'une étape importante dans le perfectionnement des greffes de moelle osseuse (Ranieri *et al.*, 2013a).

Quelques années plus tard, des essais étaient menés sur des chiens atteints de lymphosarcomes spontanés (lymphomes non-hodgkiniens et leucémies). Les auteurs ont évalué les effets sur la survie d'une transplantation allogénique de moelle osseuse suite à une irradiation du corps entier avec une chimiothérapie immunosuppressive (Epstein *et al.*, 1971). Malgré la forte mortalité précoce due aux effets de l'irradiation, les chiens cancéreux qui passaient le premier cap décisif des sept jours voyaient leur numération en globules blancs augmenter grâce à la réussite de la greffe. Le traitement immunosuppresseur (cyclophosphamide ou L-asparaginase selon les cas) améliorait le temps de survie. On émettait déjà l'idée que les résultats thérapeutiques seraient beaucoup plus significatifs si la transplantation était tentée plus tôt dans l'avancement de la maladie.

Puis, d'autres études sur le lymphome non-hodgkinien canin se sont intéressées à la technique de la greffe autologue (Appelbaum *et al.*, 1985 ; Weiden *et al.*, 1975).

On voyait bien à l'époque l'apport translationnel que procuraient les lymphomes non-hodgkiniens et leucémies spontanés chez le chien domestique pour optimiser les transplantations de moelle osseuse dans le cadre du traitement des tumeurs hématopoïétiques chez l'homme.

¹ **Aphérèse** : technique de prélèvement de certains composants sanguins par circulation extracorporelle. Les composants que l'on souhaite prélever sont séparés par centrifugation et extraits, tandis que les composants non prélevés sont réinjectés au donneur (de sang) ou au patient (aphérèse thérapeutique).

4.2.2. Les progrès chez l'homme grâce au chien

C'est dès le début des années 1970 que le professeur Thomas aux États-Unis a réalisé les premières greffes d'abord chez des patients leucémiques en phase terminale, puis en 1974 chez des patients leucémiques en rémission complète (Hardy et Ikpeazu, 1989). C'est en se basant sur ses recherches chez le chien que Thomas a réussi en 1969 sa première transplantation de moelle d'un donneur apparenté pour traiter une leucémie (Thomas *et al.*, 1969).

Sur la base de toutes ces connaissances acquises chez le chien a été créée en 1969 l'équipe de greffe de moelle osseuse de Seattle (États-Unis) pour le traitement des anémies aplasiques et des leucémies de dernier stade chez les patients humains (Thomas, 1977).

En 1977 a lieu la première autogreffe de moelle osseuse dans le traitement des leucémies aiguës, c'était alors une première mondiale. Elle a été menée le 10 février 1977 à l'hôpital Saint-Antoine (France) par le Dr Norbert Gorin et l'équipe du Pr Gérard Duhamel chez un patient atteint de leucémie aiguë récidivante (Gorin *et al.*, 1977). En détail, il s'agissait d'une greffe de la propre moelle osseuse du patient, prélevée et congelée des mois auparavant, à laquelle on a fait subir différents traitements. Cette première mondiale publiée dans *The Lancet* a changé le devenir de dizaines de milliers de malades atteints de leucémies aiguës myéloblastiques, mais aussi de certains types de lymphomes et myélomes.

La difficulté de l'autogreffe résidait dans l'obtention d'une moelle osseuse « propre » et sa préparation était difficile. La congélation était risquée mais Gorin a réussi au NCI à mettre au point une technique de congélation basée sur un processus de refroidissement progressif de la moelle couplé à l'utilisation d'un solvant, d'abord chez le chien puis chez l'homme. Le greffon prélevé était traité avec une molécule cytotoxique (cyclophosphamide) pour le purger des cellules tumorales en laissant substituer les cellules saines.

En résumé, le chien a été un modèle majeur pour les techniques d'irradiation du corps entier, de leucaphérèse, de transplantations de moelle osseuse et de lutte contre la maladie du greffon contre l'hôte. Plus particulièrement, les chiens avec des lymphomes non-hodgkiniens spontanés ont été utilisés pour étudier les paramètres cliniques nécessaires pour l'application des techniques de greffe autologue en combinaison de radiations à haute dose ou d'une chimiothérapie chez l'homme (Ladiges *et al.*, 1990).

4.3. Le chien modèle pour l'optimisation des techniques de chirurgie

4.3.1. Principe

Les similitudes anatomiques ont conduit les chercheurs et chirurgiens à s'intéresser à l'ostéosarcome spontané de nos chiens domestiques pour perfectionner des techniques chirurgicales, voire en essayer, afin d'éviter la finalité catastrophique de l'amputation du membre en cas d'ostéosarcome appendiculaire, notamment chez l'enfant (Paoloni et Khanna, 2008). Ce sont les méthodes de conservation du membre. Ces méthodes chirurgicales ont pour but de préserver au maximum la mobilité et la fonctionnalité du membre après le retrait de la tumeur. Bien qu'elles ne prolongent pas l'espérance de vie par rapport à l'amputation, l'appui est conservé car la perte de substance produite lors du retrait de la tumeur est comblée par une substance autologue ou exogène. C'est grâce à l'apparition de la chimiothérapie néo-adjuvante, qui permettait de réduire la taille de la masse tumorale, que l'idée de conserver le membre est devenue possible et pertinente (Withrow et Wilkins, 2010). Différentes études chez le chien domestique ont permis de grandes avancées et ont testé ces méthodes ces 25 dernières années.

4.3.2. Deux grandes approches : matériel exogène ou endogène

Il existe des techniques basées sur un apport de matériel exogène comme des allogreffes ou des endoprothèses métalliques qui remplacent le déficit osseux créé par l'exérèse tumorale. Elles sont relativement simples mais nécessitent de disposer d'une gamme de prothèses dont le coût est très élevé ou bien d'une banque d'os dont l'entretien est difficile. Enfin les complications, infections en particulier, ne sont pas rares. Il existe par ailleurs des techniques reposant sur l'emploi de matériel endogène, ou autologue, comme les autogreffes vascularisées ou les segments d'os tumoraux pasteurisés (Juillard, 2010).

4.3.3. Les études sur l'ostéosarcome canin et transfert de connaissances

Une étude pilote a été menée sur 20 chiens avec un ostéosarcome appendiculaires traités avec différents protocoles multimodaux dans le but de conserver le membre touché (LaRue *et al.*, 1989). L'objectif de cette étude était surtout d'évaluer la faisabilité de la conservation du membre. Le critère d'inclusion était des chiens sans signes de métastases et une masse tumorale inférieure à 50 % de la longueur totale de l'os touché. Ces protocoles comprenaient une chimiothérapie à base de cisplatine par voie intra-artérielle ou par voie intraveineuse, une radiothérapie à différentes doses puis une chirurgie de conservation du membre. Les techniques chirurgicales proposées étaient l'utilisation d'une allogreffe ou d'une plaque métallique, associée à une arthrodèse. Les critères biologiques paramétrés étaient : la fonction de locomotion, la cicatrisation de l'allogreffe, le contrôle local de la tumeur et la dissémination métastatique. Quel que fût le protocole utilisé, la fonction locomotrice était jugée bonne à excellente pour 69 % (11 sur 16) des chiens, le contrôle local de la tumeur était de 79 % (11 sur 14), et la survie moyenne était estimée à 12 mois.

Puis Withrow et ses collaborateurs ont recherché avec un protocole similaire des données plus précises sur la dose à fournir pendant la radiothérapie précédant la chirurgie pour obtenir un pourcentage de nécrose tumorale satisfaisant (Withrow *et al.*, 1993).

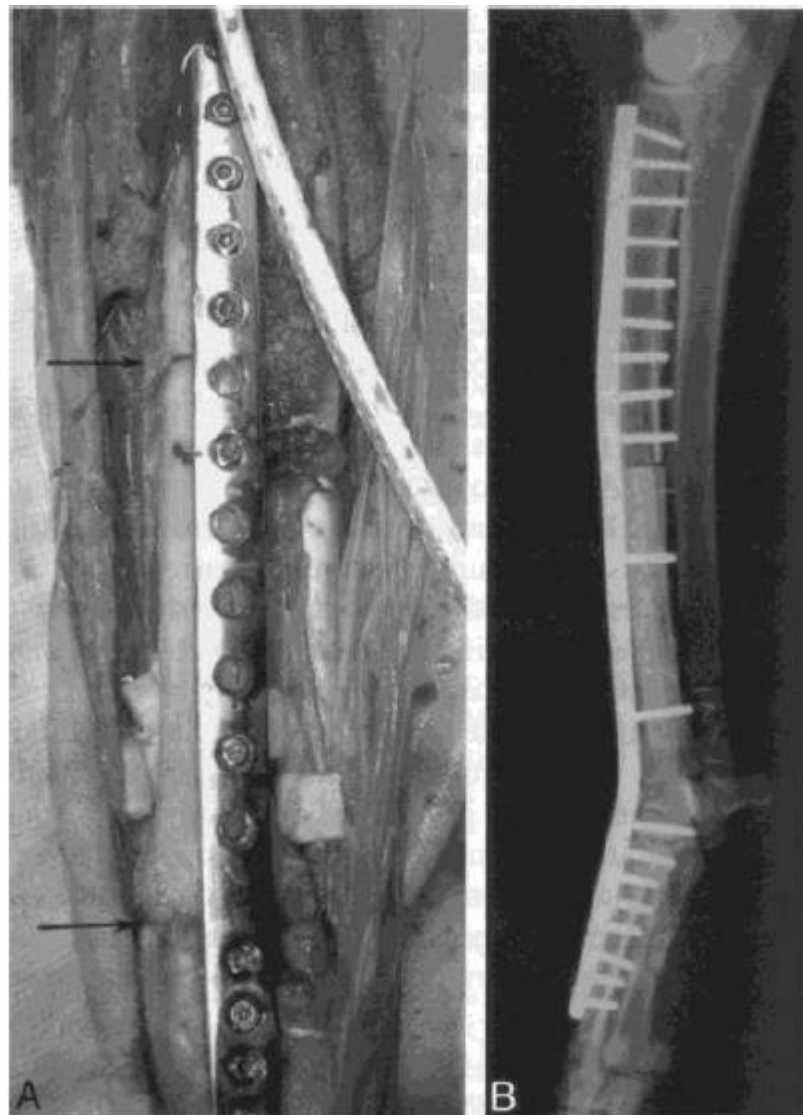
Sur la base de ces résultats chez le chien, ces protocoles ont été entrepris chez l'homme (Choong et Sim, 1997 ; Weis, 1999), bien que la meilleure méthode de traitement de la tumeur avant la

chirurgie n'ait pas pu être trouvée. Une étude en 2000 a d'ailleurs montré que dans le cas d'un ostéosarcome appendiculaire non métastaté, il est possible de guérir plus de 60 % des patients dont plus de 80% en se passant de l'amputation (Bacci *et al.*, 2000).

Enfin, une autre étude chez le chien a montré les bons résultats auxquels on pouvait s'attendre avec des autogreffes pasteurisées (Morello *et al.*, 2003).

En conclusion, la prévalence plus importante de l'ostéosarcome chez le chien domestique fait de ce dernier un bon modèle dans le développement des techniques de conservation du membre chez l'homme. Outre l'aspect chirurgical, l'ostéosarcome du chien est utilisé à de nombreuses reprises pour développer de nouvelles thérapies chez son homologue humain (Withrow et Khanna, 2009 ; Withrow et Wilkins, 2010).

Figure 21 : Partie distale du radius d'un chien atteint d'ostéosarcome appendiculaire après mise en place d'une allogreffe. À gauche la vue per-opératoire. À droite la radiographie post-opératoire. Les flèches noires indiquent les extrémités de l'allogreffe. Adaptée d'après Juillard (2010).



4.4. L'apport du chien domestique dans le développement de nouveaux inhibiteurs de tyrosine kinases chez l'homme

C'est ici que l'intérêt translationnel des mutations du gène *KIT* dans les cancers chez les chiens et l'homme va prendre tout son sens. Ces désordres génétiques communs autorisent l'emploi des mêmes molécules, ciblant *KIT* dans ce cas précis, entre les deux espèces. Comme indiqué précédemment, les ITK (inhibiteurs de tyrosine kinases) sont des molécules à action ciblée. Leur voie de développement passe d'abord par l'homme puis chez le chien dans la grande majorité des cas. Cependant, dans un petit nombre de cas, certaines molécules ont été testées dans les cancers canins puis ont été transférées pour la recherche en médecine humaine.

4.4.1. Les récepteurs à activité tyrosine kinase

4.4.1.1. Qu'est-ce qu'une protéine tyrosine kinase ?

Les récepteurs tyrosine kinase (RTK) sont un groupe important de récepteurs à la surface cellulaire qui entraînent la prolifération, la différenciation ou la survie cellulaire après leur stimulation par un ligand se fixant sur leur domaine extracellulaire. Cette fixation induit une activité enzymatique qui consiste à transférer un groupement phosphate d'une molécule d'ATP sur un résidu tyrosine, entraînant un changement de conformation de la protéine puis une autophosphorylation, ce qui modifie son activité. En somme, une cascade de phosphorylation est générée allant de la surface cellulaire jusqu'au noyau où l'expression de nombreux gènes est modifiée ; c'est une activité de transduction de signaux. La phosphorylation dépend de l'ATP qui se trouve être une cible thérapeutique des inhibiteurs de tyrosine kinases (Morgant, 2011).

Leur structure relativement simple se définit par une partie extracellulaire où se fixe un ligand spécifique, une partie transmembranaire qui permet l'ancrage de la protéine à la cellule, une partie cytoplasmique contenant un domaine juxtamembranaire impliqué dans la régulation négative de la protéine et un domaine kinase où se fixe la molécule d'ATP (Morgant, 2011).

Ces récepteurs sont classés en plusieurs types en fonction de leur structure dont le détail ne sera pas relaté ici. Il existe par exemple les protéines FGFR, VEGFR, PDGFR, *KIT*, *FLT3*, *etc.*

4.4.1.2. Implication de ces récepteurs lors de cancers

Une fonction altérée de ces RTK est impliquée dans de nombreux cancers chez l'homme et chez le chien (Blackwood *et al.*, 2012 ; Morgant, 2011 ; Ranieri *et al.*, 2013a, 2013b). Cette dysfonction peut se faire par plusieurs mécanismes comme : une surexpression, une mutation, une translocation chromosomique, une activation autocrine. Dans ces cas-là, le ligand n'est plus nécessaire et le récepteur est constitutivement activé, c'est-à-dire activé en permanence. C'est ce qui est à l'origine de cancers. Par ailleurs, ils interviennent dans l'angiogenèse et la progression métastatique (Khanna et Gordon, 2009).

4.4.1.3. Le blocage des récepteurs tyrosine kinase

Le blocage des RKT peut se faire grâce à la thérapie ciblée décrite précédemment, grâce à des inhibiteurs compétitifs de l'ATP ou par inhibition du ligand. Ce sont les inhibiteurs de tyrosine kinases.

4.4.1.4. Les inhibiteurs de tyrosine kinase développés jusqu'à maintenant chez l'homme et le chien

Les inhibiteurs de tyrosine kinases ont connu un développement majeur dans les années 2000. L'un des premiers ITK à recevoir l'approbation par la FDA a été l'imatinib (Gleevec®) pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique chez l'homme. Il a été distribué par le laboratoire Novartis. Il fut ensuite approuvé en 2008 pour le traitement des tumeurs stromales gastro-intestinales malignes métastatiques ou non opérables (Cohen *et al.*, 2002 ; Druker et Lydon, 2000 ; Marech *et al.*, 2014). Il cible notamment les protéines KIT, PDGFR et BCR-Abl ce qui lui confère son efficacité sur les CML. Puis les années suivantes d'autres ITK ont vu le jour comme le dasatinib (Sprycel®, Bristol-Myers Squibb), le nilotinib (Tasigna®, Novartis), le sorafenib (Nexavar®, Bayer Santé) ou le sunitinib (Sutent®, Pfizer).

En cancérologie canine, deux ITK ont actuellement une AMM. On retrouve le masitinib (Masivet®, AB Science) développé en 2008 et le toceranib (Palladia®, Pfizer) développé en 2009 (Morgant, 2011). Leur utilisation sera détaillée plus loin.

Le *tableau 5* est un tableau simplifié des différents ITK actuellement sur le marché en cancérologie humaine et canine. Des tableaux de comparaison plus détaillés sont fournis en *annexes 3 et 4*.

4.4.1.5. Implication de la protéine KIT dans les cancers

Le gène *KIT* code pour le RTK KIT. Il est découvert en tant qu'oncogène porté par le virus du sarcome félin de Hardy-Zuckerman 4 qui induit chez les chats infectés des fibrosarcomes multicentriques. Le ligand de KIT est le Stem Cell Factor (SCF) qui est un facteur de croissance essentiel pour le déroulement normal de l'hématopoïèse, la croissance des mastocytes et des mélanocytes (Ranieri *et al.*, 2013b).

La dérégulation du gène *KIT* par diverses mutations activatrices est impliquée dans un nombre non négligeable de cancers chez l'homme incluant : la mastocytose systémique (Gotlib, 2006), la leucémie myéloïde aiguë (Advani, 2005) ou les GIST (Lasota et Miettinen, 2006). De même, chez le chien, KIT est impliquée dans les mastocytomes dans lesquels elle est bien étudiée (London *et al.*, 1999 ; Webster *et al.*, 2006) mais aussi dans les GIST (Gregory-Bryson *et al.*, 2010), les tumeurs mammaires (Ranieri *et al.*, 2013b) et d'autres tumeurs solides (Fort, 2007 ; Marech *et al.*, 2014).

Pour exemple, des études ont montré chez l'homme que 100 % des patients présentant une mastocytose avec des complications hématologiques avaient une même mutation dans le gène *KIT*, en l'occurrence une substitution d'un acide aminé aspartate en acide aminé valine. Une autre étude montrait que 52 % des chiens présentant une GIST exprimaient la protéine KIT en trop grande quantité (Morgant, 2011).

Nous verrons prochainement le rôle central qu'a tenu la protéine KIT dans le développement des ITK au sein des études translationnelles entre le chien et l'homme.

Tableau 5 : Tableau simplifié et non exhaustif des différents inhibiteurs de tyrosine kinases ayant une autorisation de mise sur le marché chez l'homme et chez le chien. GIST : tumeur stromale gastro-intestinale. Adapté d'après Morgant (2011).

Molécules	Société	Domaine développé	Domaine enregistré	Année d'enregistrement	Indications enregistrées
Imatinib	Novartis	Humain	Humain	2001	Leucémie myéloïde chronique, GIST
Gefitinib	Astra zeneca	Humain	Humain	2003	Cancer bronchique non à petites cellules métastase
Erlotinib	Genentech / roche	Humain	Humain	2004	Cancer bronchique non à petites cellules, Cancer du pancréas métastase
Sorafenib	Bayer	Humain	Humain	2005	Cancer du rein, Carcinome hépatocellulaire
Dasatinib	BMS	Humain	Humain	2006	Leucémie myéloïde chronique, Leucémie lymphoblastique aigüe
Sunitinib	Pfizer	Humain	Humain	2006	Cancer du rein, GIST
Lapatinib	GSK	Humain	Humain	2007	Cancer du sein
Nilotinib	Novartis	Humain	Humain	2007	Leucémie myéloïde chronique
Masitinib	AB science	Humain et Vétérinaire	Vétérinaire	2008	Mastocytome
Toceranib	Pfizer	Vétérinaire	Vétérinaire	2009	Mastocytome

4.4.2. Le mastocytome canin

L'incidence forte des mastocytomes chez le chien a fourni une bonne opportunité d'étudier les stratégies thérapeutiques ciblant les cancers dépendant de l'activité de KIT, comme les ITK pour les mastocytomes, qui ont ensuite été transférées pour traiter les GIST humaines (London *et al.*, 1996 ; Paoloni et Khanna, 2008 ; Pryer *et al.*, 2003) et toutes les autres tumeurs sous la dépendance de cet oncogène *KIT*.

Les mastocytomes canins fournissent un terrain d'étude de choix pour analyser les conséquences fonctionnelles d'un gène *KIT* défectueux, ainsi que la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des ITK indépendamment de la nature histologique de la tumeur. Ces relations seraient extrêmement difficiles à mettre en évidence dans les essais cliniques chez l'homme. Par ailleurs, l'ensemble de ces études ont fourni et fourniront des informations sur la toxicité de ces agents, en observant leur effet sur le mastocytome canin.

Enfin les mastocytomes canins résistants à la monothérapie par ITK sont utiles pour déterminer une nouvelle stratégie d'attaque des cancers humains avec des résistances acquises similaires (Paoloni et Khanna, 2008).

4.4.3. Les inhibiteurs de tyrosine kinases en cancérologie vétérinaire et leur apport pour la cancérologie humaine

4.4.3.1. Le Masivet® et son apport pour la cancérologie humaine

4.4.3.1.1. Des résultats et une activité très concluants chez le chien

Le Masivet® ou mésylate de masitinib (aussi nommé AB1010) est le premier agent anticancéreux vétérinaire commercialisé. Il a obtenu l'AMM en 2008 pour le traitement des mastocytomes cutanés de grades 2 ou 3, non opérables ou récidivants après la chirurgie, non métastasés et avec une mutation du gène *KIT*, à la dose quotidienne de 12,5 mg/kg par voie orale (Hahn *et al.*, 2008). C'est le laboratoire AB Science qui commença sa commercialisation en 2009.

Il s'agit d'une molécule de type phenylaminothiazole qui cible principalement la protéine KIT mais aussi PDGFR, VEGFR, Lck, Lyn, FGFR3 et FAK (Dubreuil *et al.*, 2009 ; Marech *et al.*, 2014).

Une étude réalisée en 2008 sur 202 chiens a établi l'efficacité du masitinib sur le mastocytome canin (Hahn *et al.*, 2008). Il s'agissait d'un essai clinique de phase 3 en double-aveugle, randomisé et contrôlé par placebo. Le TTP du masitinib était nettement supérieur au placebo (respectivement 118 jours contre 75 jours) avec une différence significative ($p=0,038$) et cet effet était d'autant plus prononcé quand le masitinib était utilisé en première intention. De même, les taux de survie à 12 mois et 24 mois étaient nettement augmentés avec le masitinib : le taux de survie à 12 mois de 62,1 % (59 chiens sur 95 au total) pour le masitinib contre 36 % (9 chiens sur 25 au total) pour le placebo. Par ailleurs, il était intéressant de remarquer que le masitinib retardait la progression de la tumeur quel que soit son statut pour *KIT* (muté ou non), ce qui s'expliquait par une affinité de la molécule pour la forme sauvage de *KIT* également. Une donnée intéressante de cette étude est que le simple contrôle de la tumeur (maladie stable) permet d'augmenter le temps de survie du patient.

En outre, le Masivet® dispose d'une action antiproliférative principalement en inhibant l'activité pro-angiogénique du PDGFR et d'un effet chimio-sensibilisateur. C'est sur la base de ces bons résultats sur le mastocytome canin que le masitinib a suscité un grand intérêt pour des essais cliniques

dans de nombreux cancers chez l'homme comme les GIST, la mastocytose, le cancer pancréatique, la leucémie myéloïde aiguë, le myélome multiple, le cancer du poumon, le mélanome, le cancer prostatique et ovarien (Hahn *et al.*, 2008 ; Le Cesne *et al.*, 2010 ; Mitry *et al.*, 2010 ; Ranieri *et al.*, 2013b).

L'AB1010 était alors souvent comparé à l'imatinib. Par bien des points il s'avérait plus intéressant. De plus, ces deux agents présentent une toxicité globalement similaire avec principalement une toxicité gastro-intestinale se manifestant par des nausées et des vomissements.

On observait et on observe encore un véritable désir de transfert du mésylate de masitinib du chien à l'homme (Marech *et al.*, 2014).

4.4.3.1.2. Les essais du mésylate de masitinib dans les cancers de l'homme

L'AB1010 fait l'objet de plusieurs essais de phase 3 pour de nombreux cancers de l'homme (Marech *et al.*, 2014).

Tout d'abord, le masitinib a été testé *in vitro* et *in vivo* chez l'homme (Dubreuil *et al.*, 2009). L'étude de Dubreuil montrait une meilleure activité et affinité du masitinib envers la protéine KIT que l'imatinib. L'auteur concluait que cette meilleure sélectivité prouvait que le masitinib avait un meilleur profil d'innocuité et qu'il était donc moins toxique, notamment en ce qui concerne la cardiotoxicité et la génotoxicité. Cette étude montrait alors la supériorité du masitinib sur l'imatinib pour les tumeurs dépendantes de la dérégulation du gène *KIT*.

Puis, le premier essai clinique de phase 1 s'est terminé en 2009. Il s'agissait d'un essai multicentrique, non randomisé et ouvert, recherchant la dose recommandée du masitinib sur 40 patients avec différentes tumeurs solides à des stades avancés, principalement des GIST (47,5 % des patients). L'ensemble des patients exprimaient le récepteur KIT et recevaient un traitement oral de masitinib à différentes doses pendant 12 semaines. La dose de 12 mg/kg par jour était considérée comme la dose la plus appropriée pour un traitement à long terme, avec un profil d'innocuité satisfaisant. Avec ce traitement, 29 % des patients atteints d'une GIST résistante à l'imatinib et 38 % de l'ensemble de l'échantillon ont présenté une maladie stable. Le masitinib montrait alors des résultats très prometteurs sur les tumeurs solides, notamment les GIST exprimant une mutation du gène *KIT*, pour le contrôle tumoral des patients résistants à l'imatinib (Soria *et al.*, 2009).

Ensuite, un essai de phase 2 analysait l'efficacité du masitinib (à la dose de 7,5 mg/kg par jour en deux prises quotidiennes) chez 30 patients naïfs (n'ayant pas subi d'autres traitements jusqu'à présent) avec des GIST localement étendus ou métastatiques exprimant le récepteur KIT. Après deux mois de traitement, la maladie était contrôlée chez 96,7 % des patients (1/30 patient avec une réponse complète, 15/30 patients avec une réponse partielle, 13/30 patients avec une maladie stable). Le taux de survie à trois ans était estimé à 89,9 % [71,8 ; 96,6] (Le Cesne *et al.*, 2010).

Un autre essai de phase 2 montrait aussi l'efficacité du masitinib en tant que traitement de première ligne pour les GIST avec des stades avancés, bien que les résultats fussent comparables avec l'imatinib en terme d'innocuité et de réponse au traitement (Blay *et al.*, 2011). Quoiqu'il en soit, le masitinib était un bon candidat pour des essais cliniques de phase 3 (LE FIGARO. *AB Science: poursuite de l'étude de phase 3 du masitinib*. [En ligne]. (Mise à jour le 30/09/2014). [<http://bourse.lefigaro.fr/indices-actions/actu-conseils/ab-science-poursuite-de-l-etude-de-phase-3-du-masitinib-2221489>]. (Consulté le 3/10/2014)).

Par ailleurs, même si le Gleevec® (imatinib) a prouvé son efficacité sur les GIST malignes, métastatiques ou non opérables pour lesquelles il est le traitement de référence, des résistances peuvent apparaître. Les chercheurs se sont donc intéressés à mettre au point un traitement de seconde intention en cas de GIST résistantes à l'imatinib. C'est ainsi que le masitinib est rentré dans des essais pour traiter les GIST avancés en cas d'échec de l'imatinib. Une étude de phase 2 randomisée s'est donc attachée à comparer le masitinib et le sunitinib (Sutent®) chez 44 patients. Le Sutent® est un ITK développé depuis 2006 par Pfizer pour traiter les GIST métastatiques résistantes à l'imatinib chez l'homme. Les résultats donnaient un léger avantage au masitinib après 14 mois de suivi clinique des patients (Adenis *et al.*, 2014). Cela confirmait encore que le masitinib est un ITK extrêmement sélectif des mutations conduisant à un GIST.

La mastocytose systémique a fait aussi l'objet de recherches avec le masitinib. Ce dernier semblait être un traitement prometteur pour les formes indolentes et handicapantes et révélait une tolérance très acceptable pour des traitements de longue durée (Paul *et al.*, 2010). De plus, une étude montrait en 2011 que le masitinib pouvait être utilisé pour réduire l'anxiété engendrée par cette tumeur qui est un symptôme fréquent (Moura *et al.*, 2011). Le laboratoire AB Science poursuit actuellement une étude pivot de phase 3 pour comparer la tolérance et l'efficacité du masitinib à un placebo chez des patients adultes atteints de mastocytose systémique indolente avec handicap sévère à l'inclusion. Les résultats finaux de l'étude de phase 3 sont attendus pour 2015 (LE FIGARO. *AB Science: poursuite de l'étude de phase 3 du masitinib*. [En ligne]. (Mise à jour le 30/09/2014). [<http://bourse.lefigaro.fr/indices-actions/actu-conseils/ab-science-poursuite-de-l-etude-de-phase-3-du-masitinib-2221489>]. (Consulté le 3/10/2014).).

Enfin l'AB1010 a été testé dans un traitement combiné pour le cancer du pancréas. C'est un cancer de mauvais pronostic qui a comme traitement de référence l'exérèse chirurgicale lorsqu'elle est réalisable, sinon une radiothérapie et une chimiothérapie à base de gemcitabine mais leur efficacité est médiocre. Il semblerait que certaines tyrosines kinases soient surexprimées comme EGFR, VEGFR, FAK, Src et Lyn. L'AB1010 pouvait donc avoir un rôle thérapeutique pour cette tumeur. C'est ce qu'a montré un essai clinique de phase 3 (Mitry *et al.*, 2010).

Bien que l'ensemble des données publiées soient prometteuses, on constate qu'elles font appel à des échantillons de petite taille (n = 25 à 40) ce qui peut mettre en doute leur pertinence statistique. Il serait donc opportun de mener des essais de plus grande ampleur.

4.4.3.2. Le développement du Palladia® et son apport en cancérologie humaine

4.4.3.2.1. *Le tocéranib (Palladia®) est le premier inhibiteur de tyrosine kinases montrant une association entre la modulation de son activité et les premiers effets bénéfiques*

Le phosphate de tocéranib ou Palladia® (avec comme autre nom SU11654 car développé par la compagnie SUGEN) est un inhibiteur de tyrosine kinase de type indolinone présentant une double activité anti-tumorale et anti-angiogénique, grâce à l'inhibition des récepteurs KIT, VEGFR-2, PDGFR et d'autres molécule de la famille des split kinases. Il est moins spécifique que le mésylate de masitinib (London *et al.*, 2003 ; Pryer *et al.*, 2003).

En 2009, cet agent obtient une AMM chez le chien pour le mastocytome cutané de grade 2 ou 3, non opérable ou récidivant après chirurgie, avec ou sans atteinte des nœuds lymphatiques régionaux (London *et al.*, 2009). Il est commercialisé par le laboratoire Pfizer Santé Animale.

Cette molécule était très prometteuse au début des années 2000 comme l'ont démontré London et ses collaborateurs en 2003 lors d'un essai clinique de phase 1 testant cette molécule sur plusieurs cancers spontanés du chien. Cinquante-sept chiens ont constitué l'échantillon, lesquels ont reçu une dose croissante de toceranib par voie orale. La dose tolérable et sans risque est allée jusqu'à 3,25 mg/kg par jour. Seize chiens présentaient une réponse objective (dont 11 avaient un mastocytome), 15 autres ont présenté une stabilisation de la maladie. Cette étude majeure est la première à fournir la preuve de l'activité anti-tumorale d'un inhibiteur de tyrosine kinase en administration orale, suggérant une utilisation en continu, quotidienne, sans besoin de planifier des phases lourdes de traitement (London *et al.*, 2003). D'après cette étude, les mastocytomes possédant une mutation du gène *KIT* étaient plus sensibles à l'action inhibitrice du toceranib que ceux n'ayant pas de mutations.

Le chien était la première espèce à montrer l'association entre une cible spécifique du cancer, la modulation de son activité avec une molécule thérapeutique (ITK) et les premiers effets bénéfiques grâce au toceranib (London *et al.*, 2003 ; Paoloni et Khanna, 2008). La molécule thérapeutique pouvait être utilisée par voie orale, en administration quotidienne continue sans période d'arrêt, sur le long terme.

L'action du toceranib sur *KIT* et sur VEGFR-2 semblait intéressante pour traiter les mastocytomes canins qui ont une mutation de *KIT* et qui produisent du VEGF en excès. Une étude sur 11 chiens a montré que le toceranib à la dose de 3.25 mg/kg inhibait l'auto-phosphorylation de la protéine *KIT* dans les mastocytomes et affectait ainsi la voie de signalisation en aval de *KIT*. En effet, 73 % des chiens ont eu une inhibition de la phosphorylation de la protéine *KIT* après administration d'une simple dose orale de toceranib. Les 27 % restants avaient un faible taux de phosphorylation de *KIT* avant l'administration de toceranib. Et de ce fait, la sensibilité des anticorps dirigés contre cette protéine phosphorylée n'était pas suffisante pour détecter une modulation de la phosphorylation induite par le toceranib. Cette étude permettait aussi d'établir des données de pharmacocinétique et de pharmacodynamie (Pryer *et al.*, 2003).

4.4.3.2.2. *Passage du toceranib chez le chien au sunitinib (Sutent®) chez l'homme*

Le toceranib était initialement utilisé comme un agent test pour découvrir l'activité biologique de ces inhibiteurs de kinase dans les cancers spontanés du chien avant les premiers tests d'autres agents similaires chez l'homme. On évaluait alors sa pharmacocinétique, sa relation de pharmacodynamie avec l'inhibition de *KIT* *in vivo*. De même, ces études étaient les premières à fournir un indice thérapeutique dans une unique espèce pendant une exposition chronique à un nouveau médicament. En effet, chez l'homme les ITK étaient au départ donnés de façon discontinue pour limiter l'apparition de résistances (Khanna et Gordon, 2009).

À partir de ces résultats très concluants sur le toceranib, un composé similaire qui cible également VEGFR, PDGFR et *KIT*, le malate de sunitinib (Sutent® ou SU11248), a reçu une AMM en 2006 pour le traitement des GIST résistantes à l'imatinib et des carcinomes rénaux métastatiques chez l'homme, avant même l'approbation pour le toceranib en médecine vétérinaire (Goodman *et al.*, 2007 ; Norden-Zfoni *et al.*, 2007 ; Ranieri *et al.*, 2013).

La dérégulation des tyrosines kinases arrive fréquemment dans les cancers humains, et d'une manière similaire, dans les cancers canins. Il est intéressant de noter que l'avancée thérapeutique la plus importante a été faite dans le domaine de la thérapie ciblée à la fois en oncologie humaine et vétérinaire (Ranieri *et al.*, 2013b). Le développement des inhibiteurs de tyrosine kinases en médecine

vétérinaire, avec le masitinib mésylate et le tocéranib malate, a fourni à la cancérologie humaine de nombreux axes de recherche pour optimiser le traitement de certains cancers. Les occasions d'utiliser les cancers spontanés du chien comme modèle moléculaire, indépendamment de la nature histologique de la tumeur, vont être de plus en plus nombreuses compte tenu des profils moléculaires des cancers de plus en plus complets.

4.5. Le chien domestique peut être utilisé pour le développement des thérapies personnalisées

4.5.1. Définition

La médecine personnalisée est une voie prometteuse en cancérologie. Elle consiste à traiter le patient en fonction des propriétés génétiques et biologiques propres à son cancer, en prenant aussi en compte son mode de vie et son environnement (INSERM et INCa. *La médecine personnalisée du cancer à portée de mains*. [En ligne]. (Créé en Novembre 2012). [<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/la-medecine-personnalisee-du-cancer-a-portee-de-mains>]. (Consulté le 28/05/2014).).

La personnalisation du traitement est l'aboutissement de l'intégration des données de génomique, d'épigénétique et des profils d'expression (Stricker *et al.*, 2011). Ces thérapies demandent un séquençage à haut débit de la tumeur qui doit être obtenu assez rapidement pour permettre au médecin de l'intégrer dans un délai court dans les protocoles de soin du patient.

4.5.2. Enjeux

L'un des objectifs de ces thérapies est d'éviter de commencer des traitements qui seraient inutiles voire délétères pour le patient. Il s'agit d'identifier les voies de signalisation qui sont mises en jeu dans un cancer chez un patient, à un moment donné de sa maladie, puis d'évaluer les potentielles toxicités ou résistances que pourrait induire un traitement. Il faut par ailleurs identifier des marqueurs de la maladie pour le suivi de l'évolution du cancer et la réponse au traitement (INSERM et INCa. *La médecine personnalisée du cancer à portée de mains*. [En ligne]. (Créé en Novembre 2012). [<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/la-medecine-personnalisee-du-cancer-a-portee-de-mains>]. (Consulté le 28/05/2014).).

4.5.3. L'avenir chez l'homme

L'homme bénéficie déjà de cette thérapie bien qu'elle soit encore peu développée, mais elle est promise à un bel avenir (Tian *et al.*, 2012 ; Xian et McKeon, 2011). Quelques études ont déjà abouti à des résultats concluants (Tsimberidou *et al.*, 2012 ; Von Hoff *et al.*, 2010). Pour donner des exemples, lors de cancer du sein, la notion de médecine personnalisée comprend des thérapies anti-œstrogéniques (anti-aromatase) pour des patientes ayant des tumeurs exprimant le récepteur aux œstrogènes, ou bien la thérapie à base de trastuzumab (molécule à effet anti-HER2) pour les patientes exprimant la protéine HER2 de manière exagérée (Campone et Frenel, 2012 ; Paoloni *et al.*, 2014).

4.5.4. Un besoin de modèles précliniques

L'individualisation des traitements passe par des essais cliniques chez l'homme mais aussi chez l'animal. Or, rappelons que pour ces molécules à action ciblée il est difficile de suivre les phases classiques de développement d'une molécule anticancéreuse comme c'est le cas des agents cytotoxiques car il n'y a plus forcément de corrélation entre efficacité et toxicité. Il est donc nécessaire de définir des modèles précliniques pertinents. Par ailleurs, les coûts financiers des essais cliniques déjà très importants ne pourront malheureusement qu'augmenter à l'heure de la médecine personnalisée (Campone et Frenel, 2012).

C'est dans ce contexte que fut réalisée une étude preuve-de-concept par le COTC (*Comparative Oncology Trials Consortium*) afin de déterminer si la récolte et l'analyse de tumeurs chez des chiens domestiques pouvaient être réalisées dans un délai suffisamment court pour pouvoir traiter un patient. L'étude de Paoloni et ses collaborateurs a utilisé pour cela une cohorte de 24 chiens, des scottish terriers atteints de carcinome transitionnel de la vessie, des golden retrievers atteints de lymphome et des cockers américains atteints de mélanome, et concluait que les essais cliniques dans le cadre d'une approche de médecine personnalisée étaient faisables dans le modèle canin, puisque les résultats finaux, c'est-à-dire l'obtention des voies de signalisation cibles, étaient obtenus en moins de cinq jours ouvrés, délai raisonnable pour réaliser des essais précliniques (Paoloni *et al.*, 2014).

Par ailleurs, comme déjà démontré précédemment, les profils d'expression géniques des échantillons de tumeur se classaient par type tumoral. Encore plus intéressant, les cibles moléculaires et les molécules prédites pour être actives étaient indépendantes du type tumoral et étaient propres à l'individu (Paoloni *et al.*, 2014).

On envisage ainsi que le modèle canin permettra de vérifier si cette stratégie améliore bien les résultats et le taux de survie par rapport aux approches conventionnelles, en testant les agents proposés via des essais randomisés à n'importe quel stade de développement du cancer, selon la question posée.

4.6. Le chien a permis de tester l'efficacité de nouvelles molécules innovantes avec un nouveau mécanisme d'action

À de nombreuses reprises, le chien domestique sert de passerelle entre les études précliniques *in vitro* et la souris, pour de multiples molécules dont l'efficacité du mécanisme d'action est en cours d'exploration. On étudie dans cette sous-partie un grand nombre de ces agents qui se distinguent par leur approche thérapeutique du cancer.

4.6.1. Utilité du *Corynebacterium parvum*, un immunostimulant bactérien

L'implication très probable du système immunitaire dans le développement tumoral peut expliquer pourquoi on observe parfois des phénomènes de régression tumorale spontanée lors de mélanome (Gal, 2000). Cette tumeur maligne fut l'objet d'études concernant l'approche d'immunothérapie non spécifique faisant agir des immunostimulants bactériens comme le BCG (Bacille de Calmette Guérin) et le *Corynebacterium parvum*, sur le chien domestique au cours des années 1980 (MacEwen, 1990). Ces études font parties de la période 1 (phase descriptive) de la frise chronologique décrite en 4.1.1. Ces traitements ont surtout été utilisés en tant que thérapie adjuvante en complément de la chirurgie.

Dans une étude de 1986 portant sur le mélanome de la cavité buccale, 42 chiens traités par exérèse chirurgicale combinée à un traitement systémique par *Corynebacterium parvum* étaient comparés à un groupe contrôle de 47 chiens traités avec l'exérèse chirurgicale comme seule thérapie (MacEwen *et al.*, 1986). Un stade clinique était assigné à chaque individu en fonction de l'état de la maladie. La médiane de survie obtenue pour les chiens traités avec la thérapie combinée était de 12 mois contre 7,5 mois pour la monothérapie ; cependant cette différence n'était pas significative. En revanche, quand l'auteur s'est intéressé uniquement aux individus qui étaient à des stades avancés de la maladie, c'est-à-dire avec des tumeurs mesurant plus de deux centimètres, il observait une différence significative à l'avantage de la thérapie combinée avec le *Corynebacterium parvum* (8 mois contre 4 mois, *p* étant inférieur à 0,05). On concluait alors que cette immunostimulation non spécifique à base de composants bactériens était d'autant plus efficace que la maladie était avancée. On obtenait aussi des données de pharmacocinétique et de toxicité.

Chez l'homme, bien que des études rétrospectives furent prometteuses, des essais randomisés et prospectifs ont montré l'inefficacité du *Corynebacterium parvum* pour le traitement du mélanome (Lipton *et al.*, 1991 ; Sondak et Wolfe, 1997).

De plus, *C. parvum* a aussi été étudié en cas de tumeurs mammaires chez la chienne au sein d'un travail coopératif entre un groupe de recherche de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort et un groupe d'Amsterdam. Ils ont testé l'efficacité et la toxicité du *C. parvum* et du BCG dans différents protocoles : injections intra-tumorales avant la chirurgie, injection intra-lésionnelle sur le lieu de la chirurgie en cas d'exérèse incomplète, injections intraveineuses après la chirurgie. Dans tous les cas, les résultats ne montraient pas d'avantage à utiliser ces composés comparativement aux groupes contrôles (Parodi *et al.*, 1983 ; Rutten *et al.*, 1990).

Quoiqu'il en soit, l'utilisation de ces agents bactériens fut peu à peu délaissée au profit d'autres molécules comme les cytokines.

4.6.2. Potentialisation de la cytokine TNF α par différentes techniques

4.6.2.1. Définition du TNF α

Le TNF α ou facteur de nécrose tumorale est une cytokine pléiotrope avec de nombreuses activités biologiques. Elle possède des propriétés immunorégulatrices, anti-angiogéniques et cytotoxiques à l'égard de certaines tumeurs. C'est un agent pro-apoptotique qui a eu peu d'utilité jusqu'à maintenant en clinique compte tenu de sa toxicité systémique (Caplier, 2008).

4.6.2.2. Thérapie à base de TNF α liée au polyéthylène glycol

Le TNF α dispose d'une faible demi-vie et d'une toxicité importante ce qui limite son utilisation. Il existe cependant un polymère, le polyéthylène glycol (PEG) qui, conjugué au TNF α augmente considérablement sa demi-vie et diminue sa toxicité, ce qui donne une activité anti-tumorale améliorée. Cela a été démontré par un essai clinique de phase 1 réalisé sur des tumeurs spontanées canines afin de tester la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de cette molécule (PEG-TNF). Une activité satisfaisante était obtenue avec des doses non toxiques (Ahrar *et al.*, 2003 ; Gadaleta *et al.*, 2004 ; Thamm *et al.*, 2010). Ces premières données autorisaient l'évaluation clinique de ce nouveau procédé chez l'homme.

4.6.2.3. Thérapie génique utilisant un adénovirus couplé à un phage pour la vectorisation du gène TNF α dans les cellules endothéliales tumorales

4.6.2.3.1. Principe

Récemment, on s'est intéressé à des thérapies ciblant le réseau vasculaire comme nouvelle modalité pour traiter le cancer (Folkman, 2007). Cependant, l'obstacle majeur de cette approche est d'arriver à cibler un gène d'intérêt sur le réseau vasculaire tumoral avec le minimum de toxicité possible sur les autres vaisseaux. Le TNF α était un des agents anti-vasculaires utilisés.

Les chercheurs ont tenté de développer des systèmes pour délivrer le TNF α spécifiquement sur les cellules endothéliales tumorales (Tandle *et al.*, 2009). Un des systèmes trouvés est l'utilisation d'un vecteur viral hybride, un phage (virus procaryote) associé à un adénovirus (*adeno-associated virus phage vector* ou AAVP) pour délivrer le gène du TNF α uniquement dans les cellules endothéliales tumorales (Hajitou *et al.*, 2007). On l'appelle alors AAVP-TNF α .

Un adénovirus est un virus à ADN double brin, non enveloppé mais dont le génome est entouré d'une capside. Ce sont les virus les plus étudiés dans le cadre de la lutte contre le cancer (Morand, 2010). On modifie génétiquement ces virus pour permettre l'insertion de transgènes de tailles assez conséquentes. Ils sont alors utilisés comme vecteurs de gènes thérapeutiques directement au sein de la cellule tumorale.

Dans ce cas, l'adénovirus est couplé à un phage qui présente un motif particulier, le RGD (arginine-glycine-aspartate), ligand capable de se fixer sur des intégrines particulières exprimées par les cellules endothéliales tumorales en cours d'angiogenèse (Ruoslahti et Pierschbacher, 1987 ; Thumshirn *et al.*, 2003).

Le principe du traitement est une thérapie génique, c'est-à-dire l'introduction d'un gène d'une molécule d'intérêt, ici une molécule de l'immunité, pour potentialiser la défense immunitaire anti-tumorale. C'est l'adénovirus auquel est associé le phage qui va effectuer ce transfert génique.

4.6.2.3.2. Efficacité et innocuité

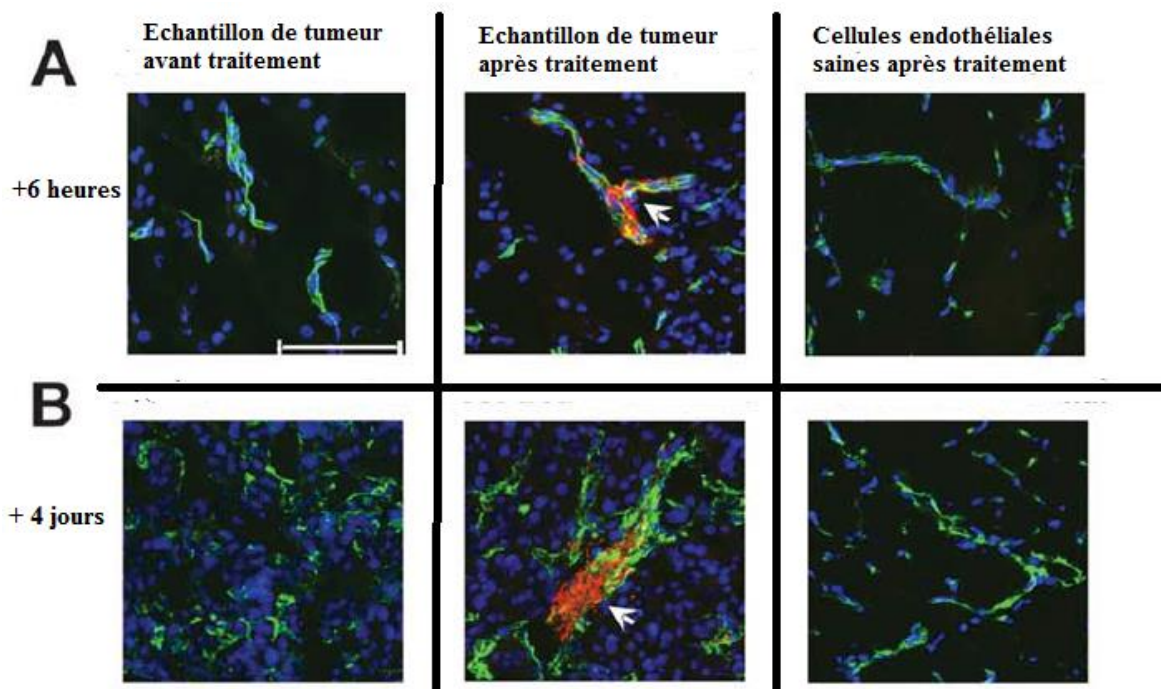
Les études *in vitro* chez l'homme sur des cellules de mélanome infectées par l'AAVP-TNF α indiquent qu'elles sur-expriment le gène *TNF α* . On a retrouvé les mêmes résultats lors d'une administration systémique de l'AAVP-TNF α sur des xénogreffes chez la souris. Cette expression de TNF α était alors associée à une apoptose des vaisseaux tumoraux et une inhibition de la croissance tumorale. Aucune toxicité systémique n'était rapportée sur les tissus sains (Tandle *et al.*, 2009).

On est passé ensuite à des études chez le chien domestique qui ont donné des résultats préliminaires encourageants avec un profil d'innocuité satisfaisant. Une de ces études a été menée par Paoloni et ses collaborateurs en 2009 (Paoloni *et al.*, 2009b). Elle était réalisée dans le cadre du Comparative Oncology Trials Consortium. Il s'agit d'une date-clé car c'est la première étude menée par le COTC, on la note COTC001. Il s'agissait d'un essai préclinique évaluant l'efficacité de cette technique de vectorisation du gène codant le TNF α sur plusieurs tumeurs solides (sarcomes) chez le chien puis la spécificité de la cible et la dose recommandée par une méthode d'escalade de dose. Les résultats obtenus donnaient une dose optimale de 5.10^{12} unités de transduction. À cette dose, on avait 14 % (2 sur 14) de réponses complètes et 43 % (6 sur 14) de tumeurs à l'état de maladie stable. La spécificité du vecteur pour les cellules tumorales fut prouvée grâce à des échantillons pris six heures et quatre jours après un traitement unidose sur lesquels a été effectué un marquage par immunofluorescence. À ces différents temps, la fluorescence n'était retrouvée que sur les cellules endothéliales tumorales comme le montre la *figure 22*.

L'étude de Paoloni et collaborateurs montrait que, grâce au traitement, l'expression du gène codant le TNF α était augmentée de façon spécifique dans les cellules endothéliales tumorales, entraînant un ralentissement de la progression tumorale. L'efficacité et l'innocuité de cette administration systémique étaient démontrées. Cette étude sur la vectorisation par un adénovirus couplé à un phage fournissait une excellente évaluation préclinique pour les premières études chez l'homme en établissant une ébauche d'indice thérapeutique. Elle fournissait également une liste des effets secondaires auxquels on peut s'attendre (Paoloni *et al.*, 2009b). Ces résultats concluants démontrent l'utilité et l'efficacité de cette infrastructure nouvellement établie en 2009 pour informer la recherche et développement grâce à des modèles de cancers spontanés chez les grands animaux domestiques.

Comme nous le verrons plus loin, c'est pour profiter de cette opportunité et des avantages de ces essais précliniques sur le chien domestique que le NCI a créé le COTC pour diriger les essais cliniques multicentriques de façon centralisée, afin d'établir des critères qui définissent l'innocuité, l'activité biologique et clinique des nouveaux agents thérapeutiques (Paoloni *et al.*, 2009b).

Figure 22 : Résultat de l'immunophénotypage par fluorescence du RGD-A-TNF sur des cellules endothéliales tumorales et des cellules endothéliales saines, avant traitement et après traitement (à T0 + 6 heures et T0 + 4 jours). La flèche blanche montre le marquage d'une cellule endothéliale d'un vaisseau sanguin. L'échelle (barre blanche) est égale à 100 μ m. Adaptée d'après Paoloni *et al.* (2009).



4.6.3. Utilisation de la desmopressine en péri-opératoire lors de tumeurs mammaires chez la chienne

Des études ont montré que l'exérèse chirurgicale et le traumatisme tissulaire lors de l'exérèse tumorale accroissaient le développement et la diffusion de cellules cancéreuses. C'est notamment le cas pour les tumeurs mammaires et le cancer du sein chez la femme (Tabaries, 2009).

De fait, des essais chez la souris ont déjà montré que la manipulation chirurgicale lors d'exérèse de carcinome mammaire entraîne une dissémination de cellules cancéreuses vers le nœud lymphatique axillaire et vers les poumons (Giron *et al.*, 2002). De plus, chez la femme les dissections de nœuds lymphatiques axillaires après biopsie de seins cancéreux ont montré des cellules épithéliales qui avaient été transportées lors de l'aspiration (Brown *et al.*, 1995 ; Galán *et al.*, 2002).

Lors de tumeur mammaire chez la chienne, l'utilisation de la desmopressine notée DDAVP, un composé hémostatique, dérivé synthétique de l'hormone antidiurétique vasopressine, au moment de l'exérèse permettrait de minimiser le relargage et la survie des cellules malignes résiduelles. Une étude pilote réalisée sur 21 chiennes atteintes de tumeurs mammaires a donné des résultats prometteurs sur l'utilisation de la desmopressine pour limiter ce phénomène : les chiennes recevant le DDAVP dans leur protocole thérapeutique étaient moins sujettes aux métastases locales et pulmonaires et avaient un temps de survie globale plus important par rapport au lot recevant le placebo (Hermo *et al.*, 2008). Les futures études chez le chien devront maintenant chercher à déterminer le mécanisme précis de l'action

anti-métastatique du DDAVP qui pourrait par la suite servir chez la femme. Cependant à l'heure actuelle, aucun essai n'a été mené en cancérologie humaine.

4.6.4. Le liposomal muramyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine

Depuis quelques années, les études sur les modèles animaux et les premiers essais cliniques ont révélé l'intérêt de molécules modificatrices de la réponse biologique, pour l'activation ou la modulation de l'immunité du patient afin de contrôler l'état de maladie résiduelle. Ces modificateurs de la réponse biologique agiraient en complémentarité ou synergie après les drogues cytotoxiques et pourraient en conséquence réduire l'apparition des résistances. Parmi ces molécules, le *liposomal muramyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine* (L-MTP-PE) est un stimulateur de l'immunité innée. Son étude et son développement jusqu'à son utilisation clinique a fait appel au modèle du cancer spontané canin.

4.6.4.1. Description

Il est formé par l'encapsulation du MTP-PE avec un liposome (Kleinerman *et al.*, 1993). Le MTP-PE est lui-même un analogue synthétique lipophile du Muramyl Dipeptide (MDP) qui est un composant de la paroi cellulaire du bacille de Calmette-Guérin (Ando *et al.*, 2011 ; Nardin *et al.*, 2006).

4.6.4.2. Activité *in vitro* et chez la souris

Le L-MTP-PE est un agent immuno-modulateur non spécifique. Sa ressemblance avec un composant de paroi bactérienne lui donne la capacité d'activer des cellules de l'immunité innée comme les macrophages et les monocytes (Ando *et al.*, 2011). L'encapsulation dans un liposome permet de délivrer le MTP-PE sélectivement à ces cellules.

L'activité du L-MTP-PE a tout d'abord été montrée dans des études *in vitro* (Fidler, 1978). Le L-MTP-PE activait les macrophages pour détruire de façon sélective les cellules tumorales, y compris les cellules métastatiques, en épargnant les cellules saines. Cette activation se traduisait par une augmentation de la cytotoxicité des macrophages, qui pouvaient même détruire les cellules chimiorésistantes (Fidler, 1985).

Les premiers essais chez la souris furent encourageants lors de maladie métastatique. En effet, une étude réalisée par Fidler et ses collaborateurs montrait que le L-MTP-PE éliminait les métastases déjà établies dans le parenchyme pulmonaire ou dans les nœuds lymphatiques, lors de mélanome, de fibrosarcome et de tumeur hépatique (Fidler *et al.*, 1981). C'était l'une des premières expériences montrant le rôle adjuvant que pouvait apporter cette thérapie contre des métastases.

4.6.4.3. Confirmation de l'efficacité chez le chien domestique

Par la suite, les cancers spontanés du chien et notamment l'ostéosarcome canin ont été utilisés avec brio pour tester l'activité clinique du L-MTP-PE (Kurzman *et al.*, 1995 ; MacEwen *et al.*, 1999, 1994, 1989 ; Teske *et al.*, 1998 ; Vail *et al.*, 1995).

C'est surtout dans les études sur l'ostéosarcome spontané canin que cette molécule a montré le plus d'efficacité (Nardin *et al.*, 2006), comme l'a montré une étude en 1989 primordiale dans l'histoire du développement de cet agent thérapeutique (MacEwen *et al.*, 1989). Il s'agissait d'une étude randomisée en double-aveugle impliquant 27 chiens. Elle cherchait à évaluer le L-MTP-PE comme traitement adjuvant anti-métastatique sur des chiens atteints d'ostéosarcome à la suite de l'exérèse chirurgicale de la tumeur par amputation. Parmi ces 27 chiens, 14 chiens étaient traités avec le L-MTP-PE deux fois par semaine pendant huit semaines par voie intraveineuse sur cinq à huit minutes à la dose de 2 mg/kg. Les 13 autres chiens recevaient un liposome vide. La médiane du temps de survie était de 222 jours pour le lot traité contre 77 jours pour le lot contrôle ($p < 0,002$). Quatre chiens sur 14 étaient d'ailleurs encore en vie un an après la chirurgie. De plus, le traitement était bien toléré, sans effets secondaires majeurs hormis une hyperthermie modérée passagère (MacEwen *et al.*, 1989).

La combinaison du L-MTP-PE avec un agent cytotoxique comme le cisplatine avait aussi montré des résultats séduisants sur l'ostéosarcome canin (Kurzman *et al.*, 1995).

Par d'ailleurs, le L-MTP-PE a été testé sur d'autres tumeurs comme l'hémangiosarcome où il a prouvé son efficacité (Vail *et al.*, 1995), ce qui n'était pas le cas pour le traitement des tumeurs mammaires (Teske *et al.*, 1998).

4.6.4.4. Transfert chez l'homme pour l'ostéosarcome pédiatrique

À partir de ces résultats encourageants chez le chien, des études de phase 1 et 2 se sont construites chez l'homme indiquant elles aussi que le L-MTP-PE était bien toléré à des doses induisant l'effet biologique recherché. Par ailleurs, ces dernières démontraient l'activité tumoricide du L-MTP-PE sur les métastases pulmonaires en cas d'ostéosarcome au stade de la maladie métastatique (Asano et Kleinerman, 1993 ; Kleinerman *et al.*, 1995, 1993, 1992 ; Murray *et al.*, 1989).

Ces études conduisirent à des essais multicentriques de phase 3 développés par le Groupe d'Oncologie Pédiatrique (*Children's Oncology Group* ou COG) et financées par le *National Cancer Institute* aux États-Unis comme celle de Meyers et ses collaborateurs dont les résultats finaux ont été publiés en 2008 (Meyers *et al.*, 2008). Il s'agissait d'un essai clinique prospectif de phase 3, randomisé, conduit par le COG de 1993 à 1997. L'essai portait sur 662 patients de moins de 30 ans avec des ostéosarcomes non métastatiques nouvellement diagnostiqués, avec des tumeurs considérées comme résécables chirurgicalement. L'étude cherchait à savoir si l'ajout du L-MTP-PE et/ou de l'ifosfamide, un agent anticancéreux alkylant, à un traitement de chimiothérapie standard composé de trois molécules (doxorubicine, cisplatine, méthotrexate) en plus de la chirurgie pouvait augmenter le taux de survie global des patients. Après analyse des données, l'ajout du L-MTP-PE à la chimiothérapie standard améliorait le taux de survie global à six ans de 70 à 78 % ($p=0,03$), soit une réduction de 25 % du risque de récurrence et de 30 % du risque de décès (Meyers *et al.*, 2008). En revanche peu d'améliorations étaient notées avec l'ifosfamide.

Au final, l'ensemble de ces essais ont permis de monter un dossier d'AMM obtenue en 2009 en Europe par le laboratoire IDM Pharma (nouvellement racheté par le laboratoire Takeda). Le L-MTP-PE, ou mifamurtide, de nom déposé Mepact® est maintenant utilisé pour traiter l'ostéosarcome non métastatique pédiatrique, en complément de la polychimiothérapie (Anderson *et al.*, 2010 ; Ando *et al.*, 2011 ; Mori *et al.*, 2008).

Il est clair que le chien domestique, notamment grâce à la forte incidence de ses ostéosarcomes spontanés, a été d'une aide précieuse pour le développement du Mepact® mais aussi d'autres options immunothérapeutiques pour lesquelles il est important de pouvoir visualiser l'évolution de la maladie

résiduelle après la chirurgie. Une des problématiques encore en suspens est de déterminer la combinaison idéale entre L-MTP-PE et les agents de chimiothérapie.

4.6.5. Rapamycine et inhibition de la cascade de signalisation mTOR

4.6.5.1. La protéine mTOR et la rapamycine : définition

La protéine mTOR (pour *mammalian target of rapamycin*) est une enzyme qui est associée depuis une vingtaine d'années à la tumorigenèse chez l'homme (Klümpen *et al.*, 2010). Plus précisément, c'est une sérine/thréonine kinase cytoplasmique qui joue un rôle de régulation de la croissance et de la prolifération cellulaire, de l'angiogenèse et du métabolisme cellulaire. Cette protéine est au carrefour de deux grandes voies de signalisation entre angiogenèse et apoptose. Les recherches récentes ont révélé que le réseau de mTOR intègre les informations de multiples voies de signalisation comme celle de l'insuline, des facteurs de croissance IGF-1 et IGF-2 ou encore celle des mitogènes (Cornu *et al.*, 2013 ; Laplante et Sabatini, 2012). Cette protéine est reliée à la croissance, la progression et la chimiorésistance de nombreux cancers chez l'homme (Guertin et Sabatini, 2007 ; Klümpen *et al.*, 2010 ; Paoloni *et al.*, 2010b; Sabatini, 2006).

La rapamycine, antibiotique macrolide naturel issu d'un champignon (*Streptomyces hygroscopicus*), est aussi connue sous le nom de sirolimus. Il s'agit d'une molécule inhibitrice de mTOR. Elle est à l'origine de la création d'une famille de molécules à action ciblée, celle des analogues de la rapamycine (ou rapalogues) ou encore inhibiteurs de mTOR (Guertin et Sabatini, 2007).

4.6.5.2. Utilisation actuelle en thérapeutique et perspective

La rapamycine est tout d'abord utilisée, avec d'autres inhibiteurs de mTOR, dans la prévention du rejet de greffe après transplantation (Klümpen *et al.*, 2010).

Ces inhibiteurs de mTOR font encore l'objet de nombreuses recherches en cancérologie pour de nombreux types de tumeurs. Des essais cliniques ont déjà eu lieu et d'autres sont en cours, associant ou non les inhibiteurs de mTOR à d'autres molécules de thérapie ciblée ou à des traitements plus traditionnels (chimiothérapie, radiothérapie et chirurgie). Les premiers grands essais de phase 3 ayant obtenu des résultats cliniques très prometteurs s'étaient déroulés chez des patients atteints de carcinome rénal.

Quelques médicaments sont déjà commercialisés comme le Torisel® (temsirolimus) depuis novembre 2007 ou l'Afinitor® (everolimus) depuis août 2009 pour le carcinome rénal (Motzer *et al.*, 2008).

4.6.5.3. Développement pharmacologique et modèle de l'ostéosarcome canin

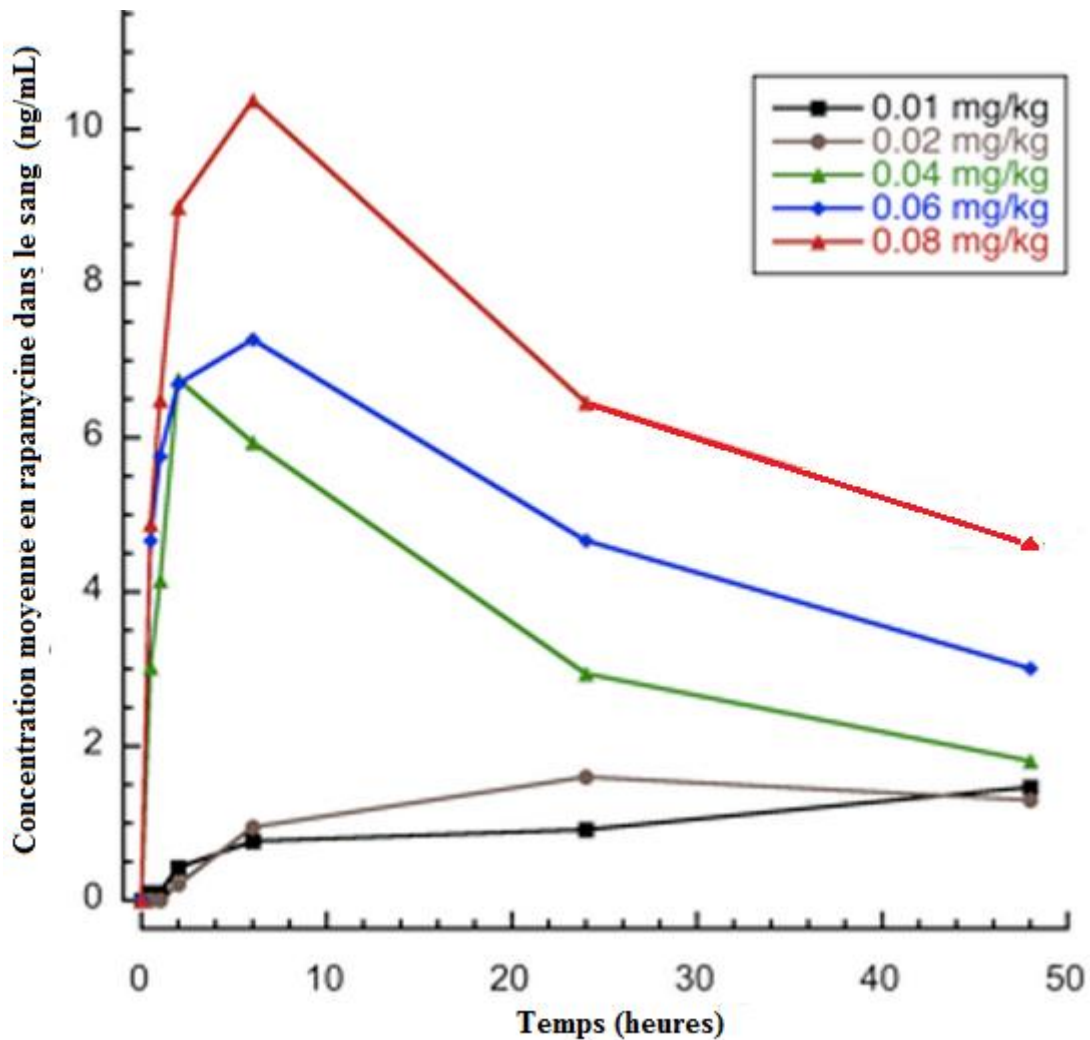
Le développement optimal de ces molécules repose sur des données solides concernant la posologie, les marqueurs biologiques associés et les possibilités de combinaison avec d'autres agents thérapeutiques. Ceci devrait nous permettre de comprendre les conséquences de l'immunosuppression chez les patients et l'utilité hypothétique de la rapamycine lors de la maladie résiduelle. Une approche intégrée et comparative semblait nécessaire pour obtenir ces informations (Paoloni *et al.*, 2010b).

La réponse à ces problématiques a été recherchée en utilisant les infrastructures du COTC et une population de chiens atteints d'ostéosarcome, notamment pour accélérer le développement de ces inhibiteurs de mTOR pour leur utilisation prochaine dans les ostéosarcomes pédiatriques.

L'étude menée par Paoloni était une étude prospective d'escalade de dose afin d'établir la dose la plus sûre, la plus pertinente sur le plan pharmacocinétique et la plus active sur le plan pharmacodynamique, d'une formulation parentérale de rapamycine chez des chiens atteints d'ostéosarcome appendiculaire. Dans cette expérience, 22 chiens étaient inclus et répartis dans des cohortes de trois individus caractérisées par une dose particulière de rapamycine. Il était pratiqué tout d'abord une biopsie tumorale et une numération leucocytaire, suivies d'une injection unique intramusculaire de la dose de rapamycine étudiée. Des prélèvements sanguins pour analyse pharmacocinétique étaient récoltés pendant 48 heures après l'injection. De plus, une dose quotidienne de rapamycine était administrée pendant sept jours et un dosage de la rapamycine était réalisé aux jours J8, J9 et J15. Au jour J8, une biopsie tumorale et une numération leucocytaire étaient récoltées.

Plusieurs informations importantes ont été obtenues. Tout d'abord, les analyses pharmacocinétiques indiquaient une concentration dose-dépendante de la rapamycine (*figure 23*). Les données cliniques assuraient que l'administration parentérale de la rapamycine était bien tolérée chez le chien, si bien que la MTD n'était pas encore atteinte alors que des effets biologiques étaient présents, à des doses qui autorisaient déjà des études comparatives avec l'homme (doses équivalentes).

Figure 23 : Graphique représentant la concentration moyenne en rapamycine en fonction du temps (sur 48 heures), après une injection unique à T0, pour différentes doses. L'exposition à la rapamycine du chien atteint d'ostéosarcome est dépendante de la dose. Adaptée d'après Paoloni *et al.* (2010).



Par ailleurs, les analyses pharmacodynamiques indiquaient que dans toutes les cohortes, la modulation de la voie mTOR dans les tumeurs était prouvée. De plus, l'inhibition de la phosphorylation de la S6RP était un marqueur très sensible de l'exposition à la rapamycine sans qu'elle soit dépendante de la dose, comme c'était déjà montré chez l'homme (Jimeno *et al.*, 2008). Des marqueurs biologiques prédictifs de la modulation de la voie mTOR étaient donc toujours recherchés. En outre, aucun impact négatif n'était retrouvé sur les effecteurs du système immunitaire, dont les lymphocytes T régulateurs, avec les doses utilisées.

En conclusion, les données de cette étude fournissaient une base solide pour inclure l'ostéosarcome canin au sein de la recherche et développement des inhibiteurs de mTOR pour la thérapie de l'ostéosarcome pédiatrique (Houghton *et al.*, 2008, 2007), en se rappelant évidemment les multiples avantages déjà énumérés d'utiliser l'ostéosarcome chez le chien comme modèle d'étude. Maintenant, les futures études devront s'attarder à trouver les meilleures combinaisons entre les rapalogues et les molécules traditionnelles de chimiothérapie (Houghton *et al.*, 2010).

4.6.6. Le pamoate d'octréotide à longue action

La voie des facteurs de croissance « *insulin-like* » ou IGF (« *insulin-like growth factor* ») est impliquée dans le développement et la progression de cancers chez l'homme et chez l'enfant. Dans cette famille, la voie de signalisation de IGF1 et IGF1-R, son récepteur, est activée dans de nombreux cancers pédiatriques comme l'ostéosarcome (Kim *et al.*, 2009). C'est à partir de ce constat que s'est formée l'idée d'une thérapie ciblant spécifiquement IGF1.

L'ostéosarcome spontané du chien domestique a servi à évaluer l'efficacité de l'approche thérapeutique se basant sur la diminution de la concentration sérique en IGF1. C'est ce que montrait une étude préclinique randomisée, réalisée en aveugle et contrôlée par placebo, en 2002 (Khanna *et al.*, 2002). L'objectif de cette étude était de déterminer si la suppression de l'IGF1 à l'aide d'une molécule analogue à la somatostatine ayant un effet à longue action (OncoLar® ; Novartis, pour *octreotide pamoate long-acting release*) permettait de limiter le processus de chimiorésistance en cas d'ostéosarcome. La nécrose tumorale, l'apoptose des cellules cancéreuses et la survie des chiens domestiques étaient comparées entre ceux recevant la molécule OncoLar® en plus de la chimiothérapie à base de carboplatine et ceux recevant un placebo seulement avec le carboplatine. L'étude montrait une diminution de la concentration sérique en IGF1 lorsque l'OncoLar® était ajouté sans qu'il n'y ait de toxicité apparente. Cependant aucun effet bénéfique n'était apporté. Des résultats similaires ont été retrouvés chez l'enfant (Mansky *et al.*, 2002). Plus précisément, une suppression de moins de 50 % des IGF en combinaison de la chimiothérapie classique n'était pas suffisante pour améliorer l'efficacité de cette dernière, ni le taux de survie des patients.

Cette étude avait fourni de précieuses informations précliniques en ce qui concerne les inhibiteurs des IGF, notamment IGF-1. Ces résultats décevants avaient conduits à mettre un point d'arrêt à la molécule OncoLar® pour une éventuelle utilisation en thérapie combinée pour l'ostéosarcome pédiatrique. Des études ultérieures devront peut-être s'intéresser à des moyens d'obtenir une suppression plus importante du taux d'IGF et d'évaluer ses effets.

4.6.7. GS-9819 et thérapie ciblée pour traiter le lymphome non-hodgkinien

Comme indiqué dans la première et la deuxième partie, le lymphome non-hodgkinien canin est un excellent modèle d'étude pour le lymphome chez l'homme, que ce soit dans la compréhension de la biologie tumorale ou pour le développement de nouveaux traitements dans les essais précliniques (Ito *et al.*, 2014 ; Paoloni et Khanna, 2008).

Le GS-9819 (nouvellement appelé VDC-1101) est une pro-drogue de l'analogue 9-(2-phosphonulmethoxethyl)-guanine (PMEG) qui délivre le phosphate de PMEG et ses métabolites aux cellules lymphoïdes. Ce dernier exerce une activité cytotoxique sur les cellules à fort indice mitotique. Le mécanisme d'action est l'inhibition d'une ADN polymérase nucléaire d'où un arrêt de la réplication. L'intérêt du PMEG sous la forme du GS-9819 est qu'il est spécifique des cellules lymphoïdes et que sa perméabilité cellulaire est augmentée (Ito *et al.*, 2014 ; Marconato *et al.*, 2013 ; Ranieri *et al.*, 2013a; Vail *et al.*, 2009).

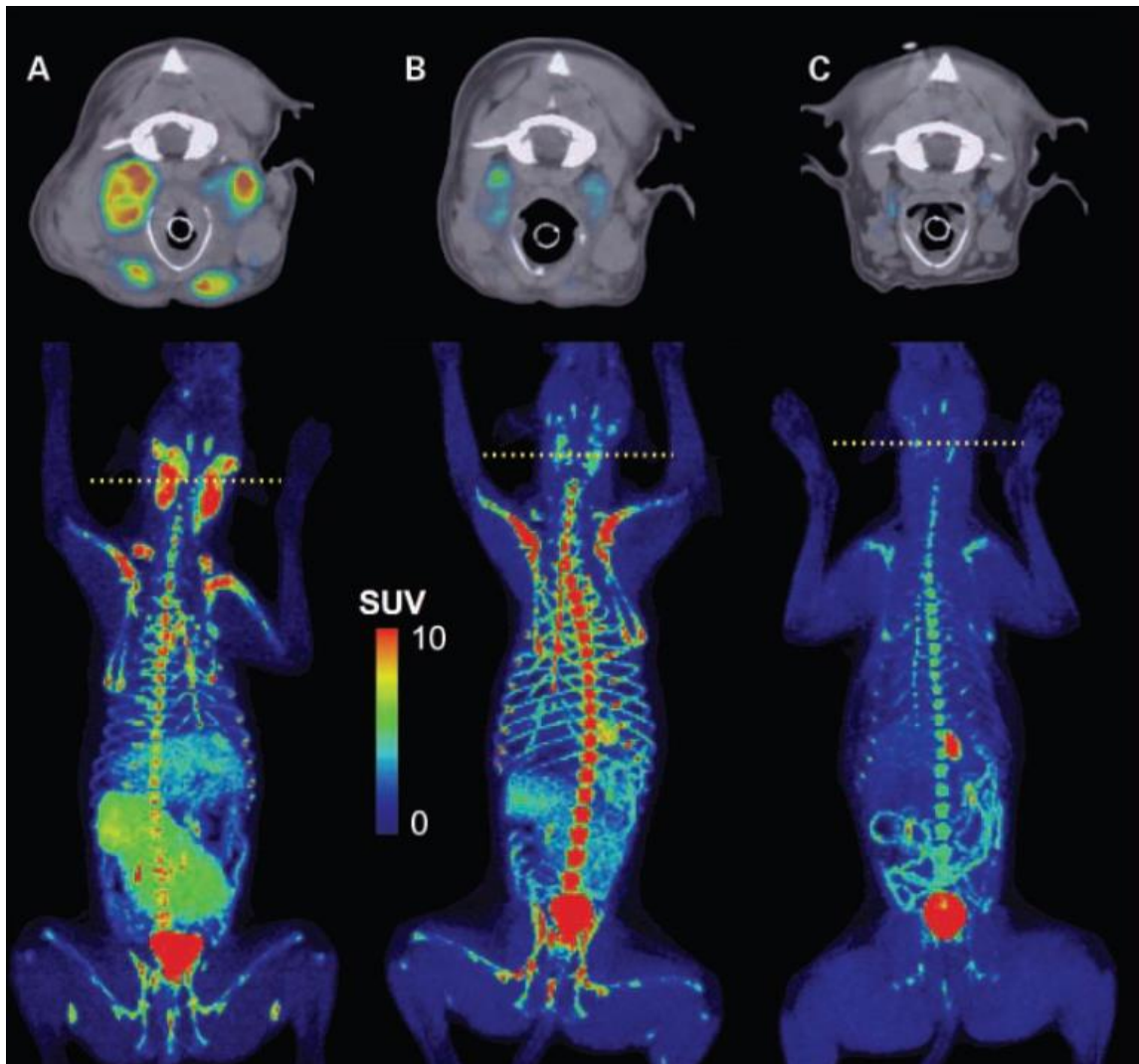
Une étude preuve-de-concept a été réalisée dans le modèle canin dans le but d'évaluer la pharmacocinétique, la sécurité d'emploi et l'activité du GS-9219 en monothérapie sur le lymphome multicentrique (Vail *et al.*, 2009). Il s'agissait d'un essai clinique combinant des phases 1 et 2, mené sur 38 chiens atteints de lymphomes non-hodgkiniens spontanés chez lesquels différents protocoles de GS-9219 étaient testés. L'activité du traitement était évaluée par une mesure de la taille des nœuds lymphatiques, par radiographie thoracique, par examen cytologique des nœuds lymphatiques et par tomographie par émission de positons (PET-CT). Le suivi clinique était fait sur 12 mois. L'imagerie par PET-CT était réalisée avant et après le traitement, à J5 et J21. De plus, des collectes de biopsie tumorale étaient réalisées avant et après l'exposition au traitement.

Les résultats défendaient la sûreté d'emploi et l'efficacité de cet agent. En effet, les doses limitantes toxiques, d'ordre dermatologique, gastro-intestinal et neutropénique étaient modérées et facilement prises en charge. GS-9219 a montré une courte demi-vie plasmatique mais une concentration intracellulaire élevée et de longue durée du PMEG dans les cellules monocytaires du sang périphérique. La réponse anti-tumorale était présente autant sur les chiens n'ayant jamais été traités que ceux déjà en état de chimiorésistance. Elle était retrouvée chez 79 % des individus. Par ailleurs, le PET-CT révélait un métabolisme cellulaire ralenti des cellules lymphoïdes après exposition à GS-9219 (*figure 24*).

Ces résultats ont servi de support pour l'évaluation clinique chez l'homme et pour les investigations de phase 1 (Ranieri *et al.*, 2013a). En effet l'étude de Vail et ses collaborateurs avait montré que le GS-9219 présentait une bonne activité anti-tumorale. On avait déjà une idée des effets secondaires à surveiller en priorité (toxicités muco-cutané et hématologique) et du rythme d'administration à utiliser pour les essais cliniques chez l'homme (à la posologie d'une administration tous les 21 jours). Par ailleurs, cette étude confirmait la validité de l'utilisation de l'imagerie par PET-CT pour évaluer la réponse clinique (Paoloni et Khanna, 2008 ; Reiser *et al.*, 2008 ; Vail *et al.*, 2009).

Aucun essai clinique n'est effectué actuellement chez l'homme, cependant d'autres auteurs ont établi l'efficacité de cette molécule chez les chiens atteint de lymphome cutané T (Morges *et al.*, 2014) et de myélome multiple (Thamm *et al.*, 2014).

Figure 24 : Image en PET-SCAN réalisée sur un chien atteint de lymphome non-hodgkinien de type B, avant (A), 5 jours (B) et 21 jours (C) après un traitement unidose par du GS-9219 à la dose de 0,66 mg/kg. Avant le traitement on remarque le fort signal des tissus lymphoïdes affectés (nœuds lymphatiques poplités, mésentériques, médiastinaux, préscapulaires, sous-mandibulaires, et la rate). Le signal émis correspond à la consommation de la molécule FLT (traceur) par les cellules malignes affectées. FLT = F-fluorothymidine. Adaptée d'après Vail *et al.* (2009).



4.6.8. Molécule *caspase auto-activating compound 1* et induction de l'apoptose

En 2006 a été découverte une petite molécule, appelée *caspase auto-activating compound 1* (PAC1), capable de promouvoir l'activité de l'enzyme procaspase-3 *in vitro* et sur des modèles de xénogreffe chez la souris, induisant l'apoptose de cellules cancéreuses (Putt *et al.*, 2006). Les études d'administration par voie IV *in vivo* sur des souris montraient cependant une forte neurotoxicité qui ne permettait pas son utilisation clinique (Peterson *et al.*, 2010). Un dérivé de PAC-1 nommé S-PAC-1 a donc été développé pour pallier cette trop grande toxicité (Peterson *et al.*, 2010 ; Ranieri *et al.*, 2013a). Il agit avec le même mécanisme d'action mais sa particularité vient du fait qu'il traverse moins facilement la barrière hémato-méningée.

La première évaluation clinique de ce composé fut réalisée chez le chien domestique (Peterson *et al.*, 2010). Après avoir fait état de l'activité *in vitro* du S-PAC-1 et s'être assuré que le produit pouvait être administré de manière sûre par voie intraveineuse continue compte tenu de sa faible demi-vie, l'étude consistait en une perfusion de S-PAC-1 permettant d'atteindre une concentration d'équilibre de 10 µmol/L pendant 24 à 72 heures, sur six chiens domestiques atteints de lymphome non-hodgkinien. L'efficacité de ce protocole d'administration du S-PAC-1 a alors été évaluée. Bien que non interprétable compte-tenu du faible nombre de cas (n=6 chiens), l'étude a prouvé que le traitement était bien toléré et que quatre des six animaux avaient une maladie contrôlée pendant quatre semaines, ce qui était fortement encourageant pour la suite (Peterson *et al.*, 2010).

Cette étude fait office d'étude pilote pour évaluer les molécules activatrices de procaspase-3 comme le S-PAC-1, qui est un candidat potentiel pour les futurs essais cliniques chez l'homme. Très récemment, un autre composé dérivé du PAC-1, semble-t-il plus puissant, le WF-210, a été testé sur des modèles *in vitro* de lignées cellulaires cancéreuses humaines et *in vivo* sur des modèles de xénogreffe chez la souris (Wang *et al.*, 2014).

4.6.9. Tester l'efficacité de molécules à activité anti-angiogénique

L'angiogenèse est un processus primordial pour la progression tumorale. L'inhibition de cette néo-angiogenèse tumorale est l'une des approches importantes dans la thérapie anticancéreuse (Folkman, 2007 ; Ranieri *et al.*, 2006 ; Ranieri et Gasparini, 2001 ; Tabruyn et Griffioen, 2007). Des progrès certains ont été faits dans la compréhension des mécanismes cellulaires au sein des cellules endothéliales et des voies moléculaires où interviennent les agents « angiostatiques ».

À l'heure actuelle, plusieurs inhibiteurs de l'angiogenèse ont reçu l'approbation en thérapie anticancéreuse et beaucoup sont dans les dernières étapes des essais cliniques (Tabruyn et Griffioen, 2007). On retrouve des molécules comme la métallospodine, l'angiostatine ou l'endostatine par exemple.

4.6.9.1. Molécule Thrombospondine 1 et les peptides mimétiques ABT

4.6.9.1.1. *La protéine Thrombospondine 1, un inhibiteur direct de l'angiogenèse*

La thrombospondine 1 (TSP-1) est une protéine extracellulaire multifonctionnelle. C'est le premier agent angiostatique à avoir été découvert (Good *et al.*, 1990). Elle est effective sous sa forme originelle et n'a pas besoin d'être clivée. C'est un inhibiteur pléiotrope, capable de bloquer de nombreux aspects de l'activation des cellules endothéliales (Rusk *et al.*, 2006b). On le classe parmi les inhibiteurs directs de l'angiogenèse. Il fonctionne comme les molécules décrites dans le précédent paragraphe, en activant l'apoptose des cellules endothéliales. Les études préliminaires chez le chien montrent que TSP-1 a une activité anti-angiogénique en monothérapie sur plusieurs cancers canins (Paoloni and Khanna, 2008).

4.6.9.1.2. *Les essais cliniques sur les peptides mimétiques ABT*

ABT-510 et ABT-526 sont deux peptides mimétiques (nonapeptides) de la thrombospondine 1 qui bloquent l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo* chez les souris (Ranieri *et al.*, 2013a). En continuité de ces découvertes, différents essais étaient menés sur des cancers spontanés du chien domestique en parallèle avec les essais cliniques chez l'homme, car ils possèdent l'avantage contrairement à la souris de représenter l'organisation histologique particulière des tumeurs humaines incarnée par une forte hétérogénéité intra-tumorale (Paoloni et Khanna, 2008).

Parmi ceux-ci, un essai prospectif ouvert¹ a été réalisé sur l'ABT-510 et l'ABT-526 (Rusk *et al.*, 2006b). Celui-ci faisait intervenir 242 chiens avec différentes tumeurs malignes mesurables dont des carcinomes, des lymphomes, des sarcomes et des mélanomes, avec ou sans thérapie précédent l'essai. Le traitement avec ces deux molécules était sûr du point de vue de la toxicité. L'activité anti-tumorale était bonne surtout après 60 jours d'exposition au traitement, sur l'ensemble des tumeurs de l'étude. De plus, les analyses sanguines révélaient l'action de ces peptides dans la diminution du nombre de cellules endothéliales circulantes.

Cette étude a fourni des données capitales de pharmacocinétique (comme la posologie adéquates). Elle a servi de point de repère pour la durée d'exposition et la concentration de la molécule, ce qui est primordial à connaître pour obtenir une bonne activité anti-tumorale pour ce type d'agent thérapeutique. Ces données observées chez le chien ont été évidemment prises en compte pour les essais de phases 1 et 2 chez l'homme, à savoir par exemple qu'il fallait au moins 30 jours de traitement voire 60 pour observer un effet thérapeutique (Westphal, 2004). Le fait justement que les réponses n'étaient pas constantes, souvent transitoires, et demandaient une longue exposition, a prédit un taux de réponse médiocre en monothérapie dans les premières évaluations conventionnelles chez l'homme, ce qui suggéra de les tester plutôt en combinaison d'autres agents anti-cancéreux.

Un protocole de thérapie combinée a donc été testé sur les lymphomes non-hodgkiniens canins, en supposant une activité synergique de la molécule ABT-526 avec une molécule cytotoxique, la lomustine (Rusk *et al.*, 2006a). Celui-ci obtint des résultats concluants, montrant que le TTP était beaucoup plus élevé dans le lot des chiens recevant l'ABT-526 en combinaison avec la lomustine par

¹ **Essai « ouvert »** : Essai au cours duquel le patient et le prescripteur connaissent la nature et la dose du médicament prescrit.

rapport au groupe témoin avec la lomustine en monothérapie (respectivement 41 jours et 21 jours, p inférieur à 0,05).

Plus tard et sur la base de ces premières informations précliniques, des essais de phases 1 et 2 ont été entrepris chez l'homme sur des sarcomes des tissus mous (Baker *et al.*, 2008) et sur le glioblastome (Nabors LB *et al.*, 2010), confirmant les espoirs portés sur ces peptides à activité anti-angiogénique.

4.6.9.2. Utilisation des inhibiteurs des *matrix metalloproteases*

Les *matrix metalloproteases* (MMP) sont d'autres agents anti-angiogéniques. Ces molécules sont impliquées dans la dégradation et le remodelage de la matrice extracellulaire et sont associées au processus de tumorigenèse. En effet elles participent à l'invasion tumorale et au processus métastatique. C'est pourquoi des inhibiteurs de ces MMP ont été développés (Mannello *et al.*, 2005).

Les premières études précliniques étaient très prometteuses (Coussens *et al.*, 2002 ; Lana *et al.*, 2000) mais les premiers essais cliniques chez le chien et chez l'homme ont été décevants (Withrow *et al.*, 2012). En atteste une étude sur des chiens atteints d'ostéosarcome, traités avec de la doxorubicine et un inhibiteur de MMP, le BAY 12-9566, pour laquelle la thérapie adjuvante avec cet agent n'apportait aucun effet thérapeutique (Moore *et al.*, 2007).

4.6.10. Utilisation des anti-inflammatoires non-stéroïdiens pour le cancer de la vessie

4.6.10.1. La voie des cyclo-oxygénases et cancer

Les cyclo-oxygénases sont des enzymes présentes dans la cascade de l'acide arachidonique, qui existent sous deux isoformes, COX-1 et COX-2. COX-1 est ubiquitaire et produite de façon constitutive ; elle a essentiellement un rôle de protection et de régulation en participant au maintien du taux de prostaglandine nécessaire à l'homéostasie tissulaire. COX-2 est quant à elle plutôt inducible. Elle produit notamment des prostaglandines impliquées dans des mécanismes inflammatoires et douloureux. Elle est impliquée *in vitro* dans le développement et la progression néoplasique (Guerlin, 2013).

Par ailleurs, la surexpression de COX-2 est associée à plusieurs cancers à la fois chez l'homme (tumeur vésicale, tumeur prostatique, tumeur du côlon, tumeur du sein) et chez le chien (carcinomes mammaires, carcinomes rénaux et vésicaux, carcinomes épidermoïdes, mélanomes de la cavité buccale). L'activité de COX-2 provient surtout de son action d'inhibition de l'apoptose, d'augmentation des capacités d'adhérence et de migration cellulaire et d'augmentation de la croissance cellulaire et de la néovascularisation (Soyer *et al.*, 2011).

4.6.10.2. Étude chez le chien

On a donc étudié les inhibiteurs de la voie de signalisation COX comme les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) notamment chez le chien domestique. Les études concernaient essentiellement le piroxicam qui était la molécule la plus employée historiquement même si elle n'est pas spécifique de l'isoforme COX-2.

L'évaluation portait sur plusieurs tumeurs, principalement des carcinomes transitionnels de la vessie pour lesquels le chien domestique est un excellent modèle pour les études translationnelles avec

les tumeurs vésicales humaines (Knapp *et al.*, 2000b, 1994, 1992 ; Knapp et Waters, 1997). Rappelons que chez l'homme, plus de 12 000 personnes mouraient d'un carcinome transitionnel de la vessie chaque année aux États-Unis en 2000 et le besoin d'une thérapie plus efficace se faisait fortement sentir (Knapp *et al.*, 2000b).

Un travail de thèse vétérinaire réalisé en 2013 s'est attaché à analyser l'ensemble de la bibliographie vétérinaire concernant les essais sur le piroxicam (Guerlin, 2013), en se posant une question simple : « *lorsqu'ils sont utilisés seuls et/ou en combinaison avec d'autres thérapeutiques anticancéreuses, les AINS améliorent-ils la survie des carnivores domestiques atteints d'une tumeur?* ». L'auteur rappelle que la recherche s'est surtout concentrée sur les tumeurs vésicales, puis les lymphomes et les tumeurs mammaires. Il conclut qu'il n'existe pas de preuves suffisantes quant à l'amélioration de la survie chez les chiens atteints de tumeurs et traités avec un AINS. La cause de ce constat est un nombre insuffisant d'études comportant un groupe contrôle ou un effectif suffisant ; elles comportent des plans thérapeutiques hétérogènes et trop de types tumoraux ne permettant pas une méta-analyse globale.

Concernant les carcinomes transitionnels de la vessie chez le chien, les études se contredisent que ce soit pour juger de l'efficacité du piroxicam en monothérapie ou en thérapie combinée avec les dérivés platinés (Boria *et al.*, 2005 ; Greene *et al.*, 2007 ; Knapp *et al.*, 2000b, 1994, 1992 ; Mohammed *et al.*, 2002).

De même, d'autres investigations ont été faites sur d'autres tumeurs sans que des conclusions pertinentes puissent en être tirées concernant l'ajout du piroxicam dans ces thérapies (Boria *et al.*, 2004 ; Chon *et al.*, 2012 ; Mutsaers *et al.*, 2002 ; Schmidt *et al.*, 2001).

Quoiqu'il en soit, le piroxicam a déjà montré des réponses anti-tumorales pouvant amener à une réponse complète même en monothérapie, ce qui invite à l'étudier chez l'homme. Néanmoins, malgré l'excellent modèle que constitue le carcinome transitionnel de la vessie chez le chien *in vivo* pour son équivalent humain, l'étude du piroxicam chez ce dernier n'a jamais été tentée car cela ne correspond pas à la thérapie classique de cette tumeur (Knapp et Waters, 1997).

4.6.11. Utilisation du chien en tant que modèle pour tester les inhibiteurs de LAT1 dans le traitement du mélanome malin chez l'homme

La protéine LAT1 (*L-type amino acid transporter 1*) est une protéine de transport des acides aminés de type L. Il se trouve que cette protéine est surexprimée dans un grand nombre de tumeurs chez l'homme par rapport aux tissus normaux (Kaira *et al.*, 2008). Plus particulièrement, LAT1 est fortement exprimée en cas de mélanome chez l'homme. Une approche thérapeutique ciblant cette protéine a donc été envisagée.

Récemment, une étude pilote utilisa le mélanome canin comme modèle d'étude pour explorer cette approche thérapeutique (Fukumoto *et al.*, 2013). Outre son comportement biologique semblable, c'est surtout la forte incidence du mélanome dans cette espèce qui était l'argument majeur pour utiliser le chien comme modèle pour cette approche. Vingt-cinq échantillons de tissus de chiens atteints de mélanome ont été récoltés pour les analyses. De façon semblable à l'homme, la protéine LAT1 était plus exprimée dans les tissus cancéreux que dans les tissus sains, et ce d'autant plus que la tumeur était métastatique. L'étude montrait par ailleurs que les agents inhibiteurs testés supprimaient bien l'activité de transporteur de LAT1 et la croissance cellulaire. De plus, l'ajout de ces agents améliorait de façon notable l'activité anti-tumorale des agents anticancéreux traditionnels (carboplatine,

cyclophosphamide, dacarbazine, doxorubicine, mitoxantrone, vincristine). Enfin, parmi ces agents inhibiteurs, il semblait que le melphalan soit le plus intéressant à étudier.

En conclusion, cette étude a été la première à montrer le potentiel des inhibiteurs de LAT1 pour la thérapie du mélanome, notamment en tant qu'agent adjuvant. Ces études sont d'autant plus importantes qu'à l'heure actuelle, malgré les différents protocoles de chimiothérapie disponibles pour le mélanome, aucun ne donne des résultats réellement satisfaisants.

4.6.12. L'apport du chien domestique dans le développement de l'approche immunothérapeutique

Dans la recherche comparative en immunothérapie anticancéreuse, on se base sur l'idée que le système immunitaire de nos animaux domestiques intervient de façon certaine comme chez l'homme dans le développement des tumeurs. On utilise ainsi cette similarité biologique pour tester des approches d'immunothérapie chez le chien domestique (Paoloni et Khanna, 2008). Il y a plus de trente ans maintenant, pendant les années 1980, l'immunothérapie devait encore faire ses preuves chez les animaux de compagnie malgré son efficacité théorique et son utilisation clinique historique. Néanmoins, on savait déjà que le succès de l'immunothérapie anticancéreuse reposait sur la possibilité d'induire, d'augmenter ou bien de débloquer la réponse immunitaire anti-tumorale de l'individu (Rutten *et al.*, 1990).

Certains agents faisant partie de différentes stratégies d'immunothérapie ont déjà été traités précédemment. Dans cette partie, on discutera des apports ponctuels du chien domestique pour l'immunothérapie active spécifique utilisant la vaccination anti-tumorale d'une part et passive avec des anticorps monoclonaux d'autre part.

4.6.12.1. Le vaccin à ADN contre la tyrosinase humaine pour le mélanome canin

L'immunothérapie spécifique repose sur le fait qu'il existe des antigènes spécifiques de différents types pour une tumeur donnée. Ils seront la cible de lymphocytes T cytotoxiques. Ces vaccins ont une visée curative en immunothérapie cancéreuse : l'induction d'une réaction immunitaire forte vis-à-vis de l'un de ces antigènes doit entraîner un rejet de la tumeur (Caplier, 2008).

L'idée d'une vaccination à l'aide d'un vaccin à ADN transmis par un plasmide repose sur le fait qu'ils sont faciles et peu coûteux à produire (Bergman *et al.*, 2003 ; Liu, 2011). Des études préliminaires ont déjà montré que l'utilisation d'un antigène tumoral, ou de l'ADN provenant de l'espèce cible ne permettait pas d'obtenir une réponse immunitaire efficace ; il fallait utiliser un gène orthologue provenant d'une autre espèce (Weber *et al.*, 1998).

Rappelons que les mélanomes humains et canins sont très proches biologiquement. Ce sont des tumeurs qui doivent être traitées de façon agressive très rapidement et qui sont souvent chimio-résistantes. L'immunothérapie active spécifique représentait alors une stratégie potentielle. Diverses stratégies de vaccination avaient déjà été tentées pour traiter le mélanome canin (Dow *et al.*, 1998 ; Hogge *et al.*, 1999, 1998). Même si certaines produisaient une réponse anti-tumorale, les procédés d'obtention de ces vaccins étaient lourds et difficiles (Bergman *et al.*, 2003), c'est pourquoi la recherche s'est tournée vers l'utilisation d'ADN xénogénique plus facile à produire.

À partir de là, des recherches ont été menées pour créer un vaccin contre le mélanome canin en utilisant l'ADN de la tyrosinase humaine, une glycoprotéine mélanosomale, qui constitue un des antigènes tumoraux du mélanome. Par ce procédé, l'ADN est transmis grâce à un plasmide à ADN

hautement purifié. Le gène de la tyrosinase humaine ainsi transféré au chien est qualifié d'immunogène xénogénique.

Des études ont été menées en collaboration entre des équipes vétérinaires du *Animal Medical Center* et des équipes de médecine humaine du *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*, depuis le début des années 2000 pour développer ce type de vaccin chez le chien et chez l'homme (Bergman, 2010). Plusieurs essais successifs ont été menés chez le chien domestique atteint de mélanomes à des stades avancés (stades 2, 3 et 4), majoritairement localisés dans la cavité buccale. Les premiers essais de phase 1 montraient tout d'abord que la vaccination, réalisée deux fois par semaine pendant un mois par voie intramusculaire, n'entraînait qu'une légère toxicité locale mais aucune toxicité systémique (Bergman *et al.*, 2003). Les essais suivants étaient concluants puisqu'on obtenait une réponse immunitaire conduisant à un rejet de la tumeur et une augmentation du temps de survie (Bergman *et al.*, 2006). Cette réponse immunitaire anti-tumorale se traduisait par la production d'anticorps anti-tyrosinase humaine qui ciblaient bien évidemment les cellules canines ayant intégré le gène correspondant et produisant la tyrosinase humaine mais aussi les cellules tumorales produisant la tyrosinase syngénique, par réaction croisée. La concentration en anticorps anti-tyrosinase était augmentée d'un facteur deux à cinq sur les chiens présentant une réponse immunitaire à la vaccination, ce qui suggérait que la tyrosinase humaine utilisée comme immunogène arrivait à rompre la tolérance envers la tyrosinase canine autologue jusqu'alors présente (Liao *et al.*, 2006). Enfin, l'observation de cette réponse immunitaire humorale concomitante à la réponse anti-tumorale confirmait l'apport thérapeutique que pouvait apporter ce traitement. Ceci est d'autant plus important que l'on veut parier sur l'effet adjuvant de ce protocole pendant la maladie résiduelle.

C'est en Juin 2007 que ce vaccin à ADN a reçu l'approbation sous le nom déposé ONCEPT® et a été commercialisé par le laboratoire Merial, dans le cadre du traitement du mélanome canin avancé (Bergman *et al.*, 2006).

Le développement réussi de ce type de vaccin qui s'est révélé efficace pour le mélanome canin laissait suggérer le développement ultérieur d'un vaccin semblable pour le traitement du mélanome humain. De fait des essais cliniques chez l'homme ont débuté en 2005 sur les vaccins à ADN en utilisant différents antigènes xénogéniques de protéines mélanosomales de souris principalement avec des premiers résultats prometteurs (Ginsberg *et al.*, 2010 ; Perales *et al.*, 2008 ; Wolchok *et al.*, 2007 ; Yuan *et al.*, 2009).

Cet exemple illustre bien que les centres de recherche de médecine vétérinaire et humaine peuvent travailler de façon productive et bénéfique pour l'amélioration de la thérapie à la fois chez les patients humains et animaux (Paoloni *et al.*, 2009b).

4.6.12.2. Le lymphome canin, un modèle pour la chimio-immunothérapie faisant intervenir des vaccins anti-tumoraux et des anticorps monoclonaux

4.6.12.2.1. Les extraits de cellules tumorales adjuvées

C'est dans le cadre du lymphome canin qu'a été explorée dans les années 1970 la chimio-immunothérapie. Des chercheurs montraient déjà que l'injection d'extraits de cellules tumorales associées à un adjuvant avait des effets bénéfiques si on la combinait avec les thérapies conventionnelles, notamment sur le temps de survie (Benjamini *et al.*, 1976 ; Theilen *et al.*, 1977, 1977).

4.6.12.2.2. Le lymphome et les anticorps monoclonaux testés chez le chien

Initialement, les anticorps monoclonaux étaient essentiellement utilisés en oncologie dans le traitement des leucémies et des lymphomes. À l'heure actuelle, de nombreux anticorps monoclonaux existent pour différents cancers de l'homme, en monothérapie ou en association avec une chimiothérapie. Ils ont pris place dans le traitement standard de nombreuses formes de cancer. Ainsi, pour exemple, le rituximab (anti-CD20, Mabthera®) est très efficace dans le traitement des lymphomes, le trastuzumab (Herceptin®) représente une percée majeure dans le traitement du cancer du sein exprimant HER2, ou encore le cétuximab (anti-EFGR) et le bévécizumab (anti-VEGF) pour différents type de carcinomes (Soyer *et al.*, 2011).

Même si maintenant l'utilisation des anticorps monoclonaux de dernière génération est réservée à la médecine humaine, les premières investigations de ces anticorps ont été conduites chez des chiens atteints de lymphome spontané. Ceux-ci ont servi de modèles pour évaluer l'efficacité d'anticorps monoclonaux ciblant les lymphocytes tumoraux (Crow, 2008). En 1996 par exemple, le rôle des anticorps monoclonaux a été exploré lors d'une étude prospective multi-institutionnelle sur des chiens atteints de lymphome non-hodgkinien que l'on traitait avec un anticorps monoclonal CL/Mab 231, pour *canine lymphoma monoclonal antibody 231* (Jeglum, 1996). Il s'agissait d'un anticorps monoclonal dérivé d'un anticorps de souris, dont la structure était celle d'une immunoglobuline G (Steplewski *et al.*, 1987). Le *canine lymphoma Mab 231* avait obtenu l'approbation en 1992 aux États-Unis en tant que thérapie adjuvante à la chimiothérapie pour les chiens atteints de lymphomes non-hodgkiniens. Il n'est plus utilisé aujourd'hui (Jeglum, 2009).

Sur la base de ces recherches se sont développées des thérapies utilisant des anticorps monoclonaux non conjugués, et des anticorps monoclonaux conjugués à des radionucléides (radio-immunothérapie) dans les lymphomes humains. Ceci a conduit à la création en 1997 du rituximab, premier anticorps monoclonal à avoir obtenu l'autorisation de mise sur le marché par la FDA dans le traitement du lymphome à cellule B chez l'homme (Crow, 2008).

Quand on réfléchit aux anticorps monoclonaux utilisés chez le chien, il faut bien prendre en compte le fait que la partie Fc de ces anticorps, celle qui n'est pas impliquée dans la reconnaissance de l'antigène, est dérivée d'une séquence protéique d'une autre espèce, l'homme ou la souris. Elle est donc considérée comme étrangère par le système immunitaire. D'où le fait que des traitements répétés avec des anticorps qui ne dérivent pas d'une séquence canine vont entraîner très rapidement une inactivation de ces anticorps. Puis, une toxicité risque d'apparaître, ce qui annihilera leur efficacité avec le temps. On envisage de plus en plus l'opportunité de fabriquer des anticorps « caninisés ».

L'apport de notre chien domestique dans l'immense développement de ces anticorps monoclonaux reste néanmoins cloisonné aux premiers stades du développement lorsque la recherche balbutiait encore sur leur utilisation et cherchait à déterminer leur innocuité et leur utilité.

L'immunothérapie anticancéreuse s'est grandement développée en médecine humaine ces dernières années, avec un large éventail d'approches possibles. La plus grande réussite est sans conteste celle des anticorps monoclonaux, même si la piste de la vaccination anti-tumorale apporte de gros espoirs pour une utilisation dans un avenir proche. En médecine vétérinaire, la très grande majorité des protocoles et des connaissances en matière d'immunothérapie sont tirés de la médecine humaine. D'ailleurs, on commence à peine à voir apparaître les premières études préliminaires utilisant des anticorps monoclonaux chimériques, issus d'anticorps humains et murins, pour le traitement du lymphome canin. En conclusion, les apports concrets des cancers spontanés canins sont donc épars, même si c'est bien en médecine vétérinaire que le premier vaccin anti-tumoral contre le mélanome a reçu une approbation.

4.7. Le chien a permis de tester d'autres stratégies thérapeutiques

Il s'agit là de présenter des approches permettant d'améliorer des traitements déjà existant, par exemple en utilisant une voie d'administration plus adéquate par rapport à la tumeur visée.

4.7.1. L'aérosolthérapie pour traiter les atteintes pulmonaires

4.7.1.1. Avantages

En ce qui concerne les atteintes pulmonaires, comme les carcinomes pulmonaires ou les métastases pulmonaires provenant d'autres tumeurs primaires, la recherche s'est intéressée à l'administration par aérosol pour cibler de manière locale, les lésions proches des alvéoles pulmonaires. Cette approche présente de nombreux avantages par rapport aux voies orale ou parentérale :

- elle permet une absorption de la molécule sur une grande surface d'échange ;
- elle évite une première dégradation de la molécule par le foie ou les intestins ;
- il s'agit d'une voie d'administration non invasive ;
- elle s'utilise avec des faibles doses et limite donc les effets systémiques.

4.7.1.2. Le chien domestique utilisé comme modèle d'étude

Là encore, la similarité de taille et d'anatomie, dans notre cas précis de l'arbre respiratoire entre l'homme et le chien, ont encouragé les chercheurs à faire un premier point sur des méthodes d'administration d'agents thérapeutiques par aérosol chez le chien.

Les premiers agents thérapeutiques testés étaient des molécules cytotoxiques et des cytokines. Une première étude preuve-de-concept utilisa des chiens avec des cancers spontanés primaires des poumons ou métastasés (sarcomes, carcinomes, mélanomes) comme modèle d'étude (Hershey *et al.*, 1999). Le protocole consistait en des inhalations bimensuelles d'agent cytotoxique (paclitaxel ou doxorubicine) pendant au moins six mois. Le critère d'efficacité du traitement était l'évolution des lésions radiographiques. Parmi les 24 chiens de l'étude, six (25 %) ont présenté une réponse objective

au traitement (une réponse complète et cinq réponses partielles). Aucune toxicité locale n'était notée avec le paclitaxel. Certains chiens présentaient néanmoins des lésions de fibrose avec la doxorubicine. Malgré cela, on avait là la preuve d'absence de toxicité systémique lorsque des molécules de chimiothérapie efficaces étaient administrées par inhalation. L'efficacité obtenue était très encourageante quand on prend en compte le fait que la plupart de ces chiens avaient déjà subi des traitements standards de chimiothérapie qui n'avait pas fonctionné (Hershey *et al.*, 1999).

Puis d'autres auteurs se sont intéressés à l'immunothérapie par des cytokines en aérosol comme l'IL-2 contenue dans des liposomes (Khanna *et al.*, 1997a, 1997b, 1996 ; Khanna et Vail, 2003). Un des procédés utilisés pour la nébulisation est illustré sur la *figure 25*.

Ces précédentes études chez le chien domestique ont fortement contribué à préparer les essais cliniques de phase 1 et 2 chez l'homme dans la thérapie du cancer du poumon (Darwiche *et al.*, 2013 ; Otterson *et al.*, 2010, 2007 ; Rao *et al.*, 2003a). Ce secteur n'aurait pas été aussi actif si l'on n'avait pas montré l'efficacité de cette voie sur le modèle canin (Rao *et al.*, 2003b).

Figure 25 : Technique utilisée pour la nébulisation des chiens. Les chiens subissaient un entraînement peu contraignant d'une semaine pour s'habituer au procédé. Adaptée d'après Khanna *et al.* (1996).



4.7.2. L'hyperthermie combinée à la radiothérapie et la radiofréquence percutanée

En plus de la chimiothérapie ou de la radiothérapie, il a été exploré il y a plus d'une trentaine d'années la technique d'hyperthermie qui permettait d'augmenter l'efficacité des traitements, en rendant les cellules cancéreuses plus sensibles aux effets des rayons et de certains agents anticancéreux, réduisant le nombre de séances nécessaires (Dewhirst, 1989). Le principe est simple et repose sur un réchauffement superficiel de la zone affectée à l'aide d'un applicateur. Des micro-ondes sont utilisées et soumettent les tissus à des températures élevées allant jusqu'à 43 degrés. La chaleur produite dilate les vaisseaux sanguins autour de la tumeur d'où une augmentation de globules rouges saturés en oxygène dans la tumeur. C'est cet oxygène qui va réagir avec les rayons lors de la radiothérapie.

Les premières données de faisabilité et d'efficacité concernant l'hyperthermie combinée à la radiothérapie remontent à 1984. Elles ont été obtenues chez un chien atteint d'hémangiopéricytome (Richardson *et al.*, 1984). Quelques années plus tard, une étude de phase 3 testait cette combinaison sur des chiens atteints de différentes tumeurs localisées. Différents lots étaient constitués en fonction du type histologique de la tumeur et du protocole employé. Dans tous les cas, l'ajout de l'hyperthermie augmentait considérablement le taux de réponse complète quelle que soit la nature histologique de la tumeur et sa localisation. Par ailleurs, cette étude semblait fournir un couple température/durée d'exposition efficace (Denman *et al.*, 1991). Ces études ont servi de modèle pour lancer les essais chez l'homme chez lequel ont été obtenus des résultats intéressants sur les tumeurs localisées au bassin (vessie, rectum, utérus) (van der Zee, 2000).

L'ablation thermique par radiofréquence percutanée est une autre technique d'hyperthermie. Il s'agit d'une technique relativement récente utilisée pour pratiquer l'exérèse de nodules tumoraux et de métastases, au départ dans le tissu hépatique. C'est un traitement qui détruit la tumeur par la chaleur et qui est réalisé à travers la peau au moyen d'une aiguille en métal. Elle est utilisée quand la chirurgie est contre-indiquée (INCa. *La destruction tumorale percutanée : la radiofréquence*. [En ligne]. [<http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-foie/radiofrequence>]. (Consulté le 10/10/2014).).

En 1992, l'utilisation de cette technique pour le cancer du foie a été reconnue (McGahan *et al.*, 1992) mais son utilisation pour les tumeurs pulmonaires est encore peu étudiée. Des études chez le chien ont montré qu'il est possible d'utiliser cette technique sur des nodules pulmonaires, avec une efficacité immédiate et une bonne faisabilité. La nécrose par coagulation thermique était complète sur l'ensemble des nodules (Ahrar *et al.*, 2003).

5. INTERVENTION DU CHIEN DOMESTIQUE DANS LES ESSAIS CLINIQUES : ESSOR DE L'ONCOLOGIE COMPARÉE

Le développement d'un agent anticancéreux débute avec des études *in vitro* sur des lignées cellulaires avant de s'engager à différents degrés sur des recherches sur les animaux de laboratoire (souris, rat, chien, chimpanzé), pour arriver *in fine* aux essais cliniques chez l'homme.

Face au constat alarmant du ralentissement du développement pharmaceutique notamment en cancérologie, l'oncologie comparée étudiant les cancers spontanés de nos chiens de compagnie apparaît comme une des solutions possibles. Elle représente une passerelle entre les premières études précliniques chez la souris et les essais cliniques en thérapeutique humaine.

5.1. L'industrie pharmaceutique subit un ralentissement dans le développement de molécules anti-tumorales

5.1.1. L'immense avancée avec la découverte de la chimiothérapie

Depuis une soixantaine d'années, des essais cliniques sont menés et des progrès majeurs ont été faits dans le domaine de la cancérologie, notamment par le développement de l'ensemble des protocoles de chimiothérapie de plus en plus perfectionnés (Frei *et al.*, 1958). Maintenant, ces premières molécules à action cytotoxique laissent une place grandissante aux thérapies ciblées même s'il existe un consensus pour penser qu'il sera plus intéressant de combiner l'ensemble de ces approches.

5.1.2. Industrie pharmaceutique en crise dans le domaine de la cancérologie

À cause de décisions politiques mais aussi fiscales, les revenus de l'industrie pharmaceutique augmentent peu (DiMasi et Grabowski, 2007). Au cours des années 2000, le nombre de certifications et d'acceptations de dossier d'AMM a diminué, sans doute parce que l'on s'attaque maintenant à des maladies complexes et difficiles à soigner. De nombreuses revues de médecine humaine ont pointé du doigt les difficultés rencontrées pour découvrir de nouvelles thérapies et de nouvelles molécules dans le domaine du cancer. Les traitements anticancéreux sont les plus chers et les plus longs à développer et le taux de réussite est médiocre. Actuellement, il semble inutile de rechercher de nouvelles molécules cytotoxiques. Il faut se concentrer sur des molécules à action ciblée et trouver des cibles thérapeutiques (Brown *et al.*, 2011 ; Gordon *et al.*, 2009 ; Gupta *et al.*, 2011 ; Kamb *et al.*, 2007 ; Kummar *et al.*, 2008, 2006 ; Millar et Lynch, 2003 ; Vail, 2007).

5.1.2.1. Des essais cliniques longs et coûteux

Tout d'abord, rappelons que les recherches dans les essais cliniques sont longues puisqu'elles durent en moyenne un peu plus de 13 ans. L'industrie pharmaceutique a investi beaucoup d'argent en recherche et développement pour la découverte de nouvelles molécules, avec un budget presque doublé au début des années 2000 (Kola et Landis, 2004 ; Paoloni et Khanna, 2008). L'investissement

moyen est estimé à 1,8 milliards de dollars pour conduire une molécule supposée intéressante à son utilisation clinique au chevet du patient (Vail, 2007).

Ce sont surtout les études de phase 3 qui sont les plus coûteuses et les plus longues, c'est pourquoi certaines revues cherchent à définir des critères de décision pertinents autorisant le passage d'une molécule de la phase 2 à la phase 3 (Roberts *et al.*, 2003).

5.1.2.2. Des essais cliniques difficiles avec de nombreux échecs

Les essais cliniques sont menés par des compagnies pharmaceutiques privées mais aussi par des organisations non gouvernementales à visée non lucrative comme le *National Cancer Institute* (NCI) aux États-Unis, l'Organisation Européenne pour la Recherche et le Traitement du Cancer (EORTC) et le *Cancer Research UK* (CRUK). Elles œuvrent pour promouvoir la lutte contre le cancer en pilotant des essais cliniques de qualité (Narang et Desai, 2009).

Le taux de réussite moyen d'aboutissement à l'AMM pour une molécule pour l'industrie pharmaceutique aux États-Unis n'a été que de 11 % entre 1991 et 2000. Il varie énormément selon les secteurs : il est de 20 % dans le domaine de la cardiologie et seulement de 5 % en oncologie (Kola et Landis, 2004). En un peu plus de dix ans, 800 nouveaux agents anticancéreux ont été découverts mais seulement 1 sur 20 a pu franchir toutes les étapes du développement (Campone et Frenel, 2012 ; Gupta *et al.*, 2013).

Cela s'explique par les nombreux échecs et abandons survenant au cours des essais cliniques. Bien trop souvent le développement d'une molécule pourtant prometteuse au départ est finalement abandonné. Malgré les preuves de l'efficacité des molécules dans des modèles précliniques comme la souris, de nombreux agents échouent dans les essais chez l'homme à cause d'un manque d'efficacité ou d'une toxicité jugée inacceptable. Ces deux points représentent chacun 30 % des échecs (Kamb *et al.*, 2007 ; Kola et Landis, 2004 ; Paoloni et Khanna, 2008).

Malheureusement, ces échecs sont tardifs car ils surviennent à la fin du processus de développement, principalement lors des phases 2 et 3. Pour donner un chiffre, le taux d'échec en phase 3 est estimé à 59 %, c'est-à-dire que 6 molécules sur 10 entrant en phase 3 ne prouvent pas leur supériorité par rapport au traitement standard avec lequel on les compare (Kola et Landis, 2004). Il y a donc un lourd investissement en temps et en argent qui n'est pas récompensé, du moins en partie. Cette problématique d'échec tardif notamment en phase 2 est fortement ancrée dans l'actualité avec le développement des molécules à action ciblée qui, comme indiqué précédemment, ont une efficacité difficile à objectiver concrètement.

La progression d'une molécule dans les essais cliniques, basée au départ sur des modèles précliniques, demande donc que ces modèles fournissent des informations de bonne qualité pour les tests ultérieurs chez les patients humains, ce qui est loin d'être toujours le cas (Gordon et Khanna, 2010).

5.1.2.3. Une voie de développement linéaire non adaptée pour la cancérologie

On se demande parfois si le schéma des essais cliniques actuel est vraiment pertinent pour le secteur si particulier de la cancérologie. Le problème est surtout que les questions posées en phase 2 sont complètement différentes de celles de la phase 3 (Gordon et Khanna, 2010). À l'heure de la médecine personnalisée, le développement de tout nouvel agent non cytotoxique ne peut pas se concevoir comme celui d'un agent cytotoxique. Il est important de définir la cible et sa pertinence, et

de posséder un test prédictif d'efficacité de cet agent. Le modèle des cancers d'apparition spontanée chez le chien domestique paraît comme le plus pertinent pour répondre à ces problématiques.

5.2. L'intérêt d'utiliser le chien domestique pour des études précliniques

Le modèle du chien domestique présente de nombreux avantages dans le cadre du développement thérapeutique de nouvelles molécules anticancéreuses.

D'une part, les essais chez le chien ne sont pas contraints de passer par les étapes successives et indispensables des phases 1, 2 et 3. Les agents peuvent être directement testés en monothérapie ou bien au sein d'une thérapie multimodale, à n'importe quel moment du stade de la maladie, sur des animaux naïfs de tout traitement antérieur. Par cela, on peut évaluer l'efficacité des molécules qui agissent dans le cadre de la maladie résiduelle, comme par exemple après la résection d'une tumeur localisée lors d'ostéosarcome (Kurzman *et al.*, 1995).

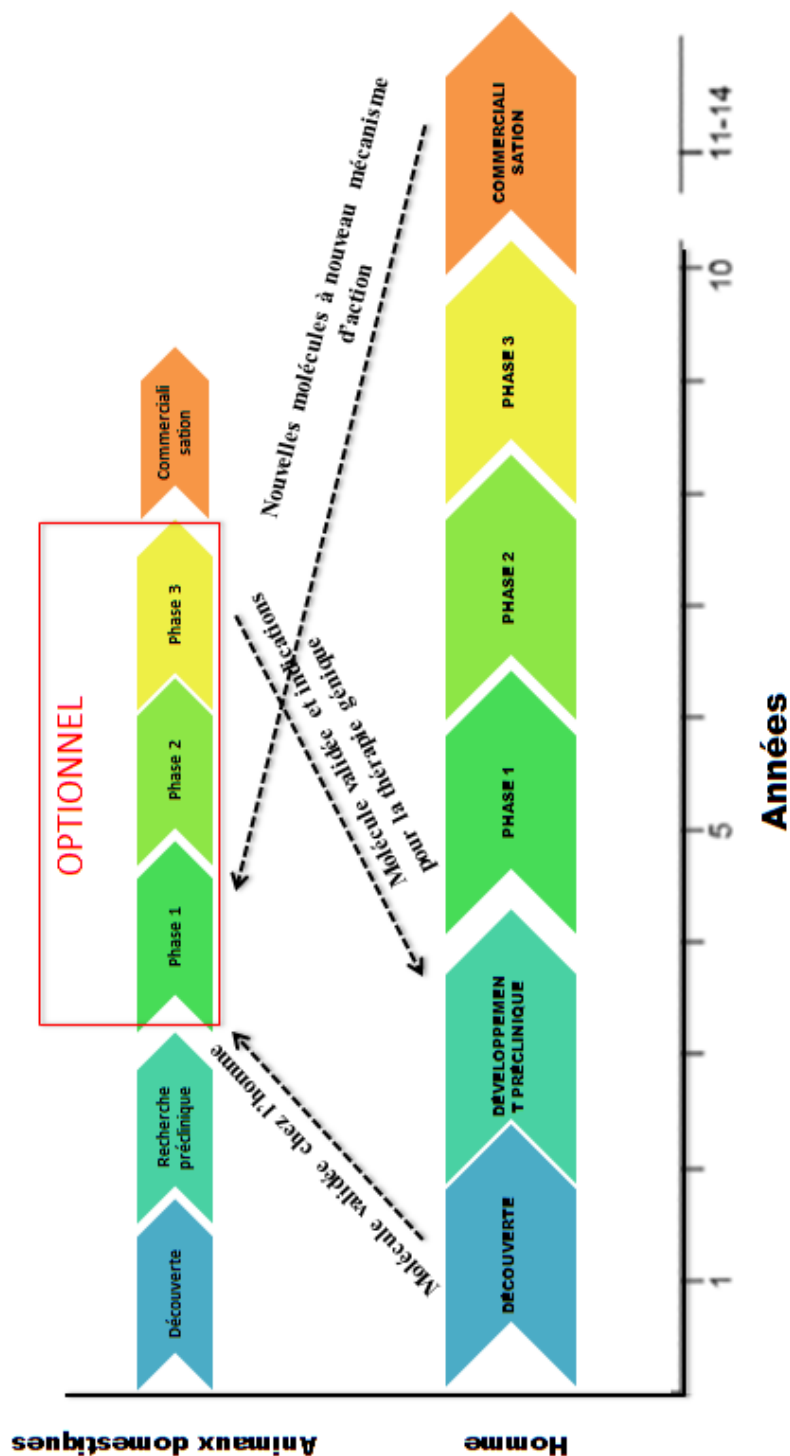
D'autre part, rappelons que les essais cliniques randomisés sur un nouvel agent durent environ un à trois ans pour les animaux domestiques alors que chez l'homme ils demandent cinq à quinze années de développement (Hansen et Khanna, 2004).

Enfin, le modèle canin facilite la réalisation d'études preuve-de-concept performantes dans les premières étapes de développement. Celles-ci montrent que la cible moléculaire est bien atteinte et que son action a un impact biologique sur la tumeur. Ceci doit contribuer à réduire les échecs tardifs dans les dernières phases des essais cliniques (Kola et Landis, 2004).

Notons que l'essai préclinique devra se contenter de répondre à une question précise que l'on se pose concernant une problématique chez l'homme qui ne pouvait trouver réponse lors des essais précliniques sur les modèles traditionnels (Khanna *et al.*, 2009). L'un des défis de l'oncologie comparée est justement de poser les bonnes questions aux bons modèles.

La *figure 26* illustre les voies de développement en parallèle des essais cliniques chez le chien et chez l'homme, et les différentes passerelles empruntées.

Figure 26 : Mise en parallèle des voies de développement thérapeutique chez le chien (au-dessus) et chez l'homme (en dessous). On visualise sur ce schéma les différentes passerelles possibles de l'homme au chien (cas le plus fréquent) et du chien à l'homme (apports d'informations précieuses concernant une nouvelle thérapie). Adaptée d'après Rowell *et al.* (2011).



5.3. L'essor de l'oncologie comparée

5.3.1. Définition et principe

L'oncologie comparée ou comparative est l'étude des cancers d'apparition spontanée des animaux domestiques comme modèles pour les cancers chez l'homme. Cela repose sur le fait que de nombreux cancers chez le chien ressemblent par bien des points à leur homologue chez l'homme. Il s'agit ni plus ni moins de l'application du concept « *One Health* » (une santé) qui explique que les espèces animales peuvent être sujettes aux mêmes maladies et aux mêmes maux que l'homme, que l'on fait tous partie du même monde et qu'il sera plus productif d'envisager la médecine de manière globale plutôt que de la diviser en fonction des espèces.

L'oncologie comparée a pour objectif de donner les moyens d'inclure les cancers d'apparition spontanée, autrement dit non provoqués artificiellement, dans les essais cliniques et les études sur le cancer (Paoloni *et al.*, 2009b; Paoloni et Khanna, 2008 ; Vail, 2007).

Le Dr Chand Khanna, créateur du *Comparative Oncology Program* (COP) que nous allons décrire dans un instant, résume judicieusement l'oncologie comparée par cette question : « *si nous avons une question concernant un cancer chez l'homme, cette question se pose-t-elle aussi pour le modèle canin et pouvons-nous y répondre ?* » (Khanna, 2014).

5.3.2. La création du *Comparative Oncology Program* aux États-Unis

L'oncologie comparée est dirigée aux États-Unis par le National Cancer Institute. Il s'agit d'une des missions du Centre de Recherche sur le Cancer (*Center for Cancer Research, CCR*). Sa visée première est le développement et la création de nouvelles stratégies thérapeutiques pour soigner le cancer.

5.3.2.1. Création du *Comparative Oncology Program* et objectifs

Le NCI a lancé en 2003 le COP. Cette date marque déjà une première prise de conscience collective de l'intérêt du chien domestique comme modèle pour le développement thérapeutique en cancérologie. Les objectifs du COP sont :

- d'établir un réseau multicentrique et collaboratif de pôles scientifiques ayant leur propre programme d'oncologie comparée. Ceux-ci pourront organiser des essais précliniques incluant des chiens domestiques pour évaluer les nouvelles stratégies thérapeutiques anticancéreuses ;
- de développer et compléter l'ensemble des outils et réactifs nécessaires pour étudier la biologie du cancer chez le chien domestique dans les domaines de la génétique, de la biologie moléculaire et de la biochimie ;
- de promouvoir une prise de conscience collective de l'intérêt d'utiliser les cancers d'apparition spontanée des animaux de compagnie au sein de la communauté scientifique.

Ces objectifs sont compris au sein d'une mission globale : utiliser les cancers des animaux domestiques pour générer de nouvelles informations à propos du cancer, de tester de nouvelles approches sur des modèles *in vivo* et développer de nouvelles options thérapeutiques pour la gestion du

cancer chez l'homme (Withrow *et al.*, 2012). Notons que le programme est beaucoup plus centré sur le développement thérapeutique que sur la biologie tumorale.

Dans le cadre du COP, les chiens domestiques entrant dans les essais cliniques bénéficient des derniers traitements mis en place et des dernières techniques de pointe au même titre qu'un patient humain. Les propriétaires sont accompagnés dans ces démarches avec leurs animaux par des vétérinaires spécialistes en oncologie quelle que soit l'issue des essais cliniques. Il s'agit là d'un véritable échange donnant-donnant (Paoloni et Khanna, 2008).

5.3.2.2. Les stratégies adoptées

Le COP adopte plusieurs voies pour accélérer le développement pharmaceutique chez l'homme :

- éliminer rapidement les molécules sans réel avenir dans la voie de développement, ce qui limitera les dépenses inutiles ;
- réaliser des comparaisons précliniques de plusieurs molécules équivalentes afin de choisir la plus performante, c'est la stratégie du « *pick the winner* » ;
- déterminer la dose à utiliser chez l'homme en déterminant celle chez le chien, la pharmacocinétique chez le chien pouvant se servir de prélèvements multiples à de nombreux temps de l'étude ;
- effectuer des analyses anatomopathologiques translationnelles à partir d'échantillons canins ;
- fournir un modèle approprié pour tester l'efficacité de molécules à vocation adjuvante comme celles actives sur les micro-métastases et non sur la tumeur primaire ;
- optimiser les études de toxicité.

5.3.2.3. Budget et financement

Le COP bénéficie de fonds générés en grande partie par le financement (par *sponsoring*) de l'industrie pharmaceutique. C'est une obligation pour que le COP puisse utiliser les toutes dernières technologies développées en médecine humaine chez le chien, comme les *micro-arrays* ou la protéomique.

5.3.3. Le *Comparative Oncology Trials Consortium*

Le COP a fondé le *Comparative Oncology Trials Consortium* (COTC) pour mener l'ensemble des études précliniques. Ces études sont complètement intégrées dans la voie de développement pharmaceutique d'une molécule étudiée, et ont pour but de répondre à des problématiques ou des questions où les modèles précliniques conventionnels ou les premières études chez l'homme échouent (Gordon *et al.*, 2009 ; Paoloni *et al.*, 2009b).

Le COTC prévoit de mettre en avant l'approche comparative, d'intégrer plus largement celle-ci dans le développement thérapeutique et le processus d'autorisation et de certification des nouveaux agents anti-cancéreux.

5.3.3.1. Les universités vétérinaires en coopération dans tous les États-Unis

Les essais précliniques sont organisés sur vingt sites différents couvrant l'ensemble des États-Unis (*figure 27*). Ce sont des hôpitaux universitaires vétérinaires faisant partie du COP dont ils dépendent pour décider des projets. Ils sont sous la tutelle du *Center for Cancer Research* (CCR) du NCI. Les essais menés sont de grande échelle, prospectifs, multicentriques, randomisés et contrôlés afin de pouvoir réaliser des analyses statistiques pertinentes par la suite. L'oncologie comparée se voit bénéficier avec le COTC de multiples infrastructures ce qui lui faisait défaut jusqu'à maintenant et freinait sa mise en place pratique. L'ensemble des recherches menées sont publiées dans le journal PLoS ONE pour faciliter l'accès aux informations (Gordon *et al.*, 2009 ; Paoloni et Khanna, 2008).

5.3.3.2. Les priorités des études précliniques du COTC

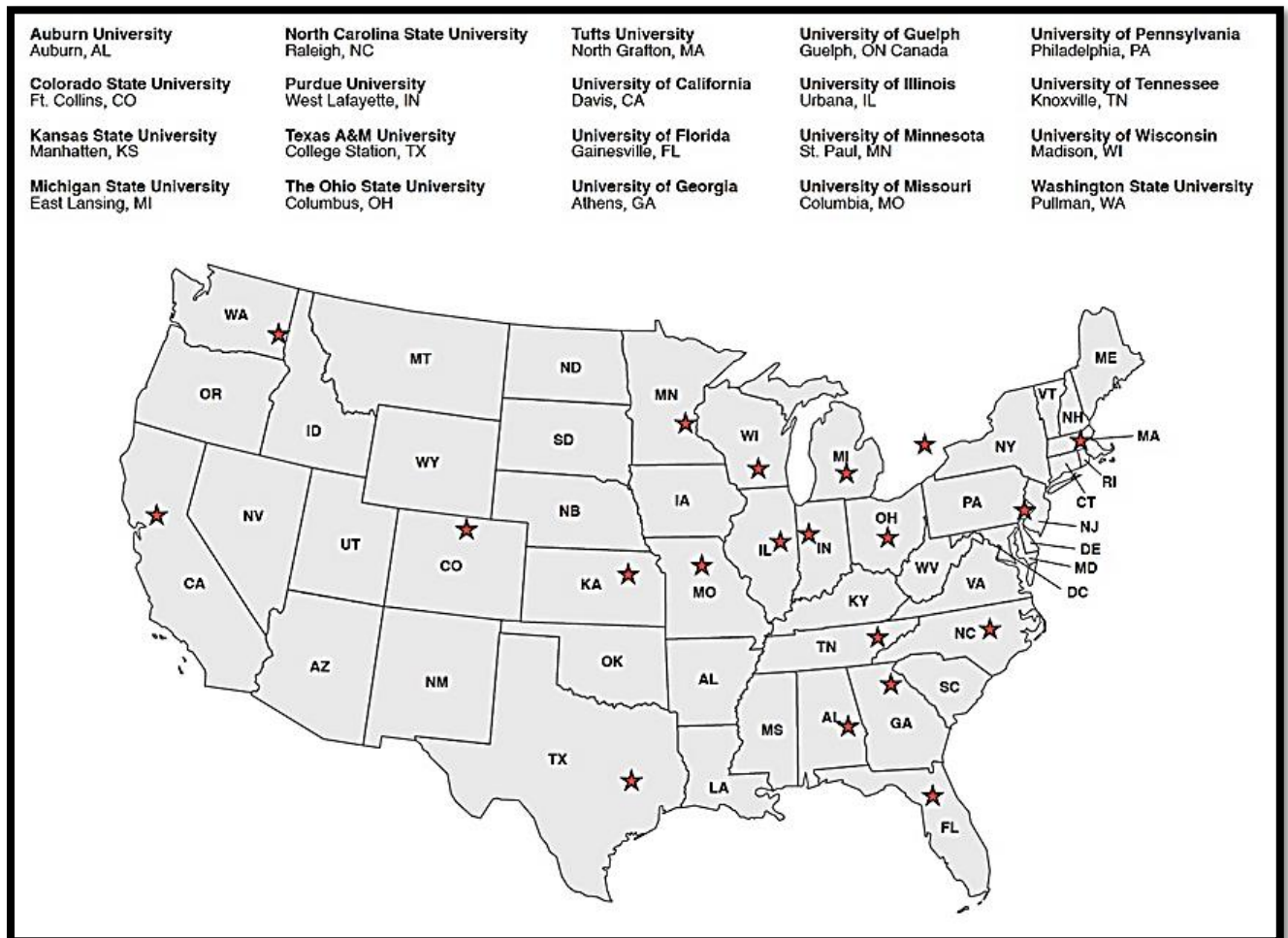
Le COTC adopte une démarche intégrée, c'est-à-dire que les essais cliniques menés sont fait dans l'optique de l'oncologie comparée, dans le but de produire des informations à la fois chez l'homme et chez l'animal. On n'est plus dans le cas des essais chez le chien où l'on extrapole fortuitement des informations pour la médecine humaine ensuite. Ici, les essais sont prévus expressément pour cela.

L'objectif est de pouvoir répondre à une multitude de questions sur la biologie des nouvelles molécules anticancéreuses concernant (Khanna *et al.*, 2009) :

- la pharmacocinétique,
- la pharmacodynamie,
- la toxicité,
- la dose et le schéma thérapeutique,
- l'identification de marqueurs biologiques pertinents.

Au final, il est possible à l'issue des essais de prendre des décisions de type *go-no-go* et de transférer rapidement les données obtenues aux essais cliniques de phase 1 et 2 chez l'homme.

Figure 27 : Les centres universitaires membres du *Comparative Oncology Trials Consortium*. Adaptée d'après Khanna (2014).



5.3.3.3. Création du *COTC Pharmacodynamic Core*

Le *COTC Pharmacodynamic Core (PD Core)* a été dans le même temps créé par le COP pour soutenir le COTC. Il s'agit du pôle pharmacodynamique du COTC. Il fournit l'apport technique et scientifique nécessaire pour analyser et valider les données de pharmacocinétique et de pharmacodynamie obtenues. Il aide dans la construction des études précliniques en proposant les critères biologiques pertinents à utiliser.

Il s'agit d'un véritable laboratoire virtuel proposant des services multidisciplinaires (Paoloni *et al.*, 2010a). En effet, il bénéficie de l'expertise de nombreux scientifiques et dispose d'infrastructures diverses dans la communauté scientifique vétérinaire. Les différents services proposés regroupent :

- L'anatomie pathologique,
- l'immunohistochimie,
- l'immunocytochimie,
- la cytométrie de flux,
- la génomique,
- la protéomique,
- la pharmacocinétique,
- la biologie cellulaire.

Enfin, le PD Core a établi un logiciel informatique de gestion de données électroniques permettant d'archiver les données de chaque essai en temps réel. L'information scientifique est donc facilement partagée (Paoloni et Khanna, 2008).

5.3.3.4. Le *Canine Comparative Oncology and Genomics Consortium* et la création d'une banque tissulaire

Au même titre que le COTC, le COP a créé en 2006 le *Canine Comparative Oncology and Genomics Consortium (CCOGC)*. Ce consortium se concentre sur la génétique et la biologie du cancer, en construisant des infrastructures regroupant l'ensemble des outils génétiques et biologiques nécessaires pour l'étude du modèle canin. Il facilite le partenariat et la collaboration entre de nombreuses disciplines : vétérinaires, médecins spécialistes en oncologie, chirurgiens, anatomo-pathologistes, généticiens, chercheurs en biologie cellulaire et moléculaire, avec un intérêt commun pour l'étude comparative des génomes humains et canins et du cancer (Mack, 2006, 2005).

Ses missions principales sont le développement de réactifs et la construction d'une banque de matériel biologique. Cela a abouti à la construction d'un véritable centre de stockage pour l'ensemble de cette banque, constituée de tissus tumoraux et sains obtenus à partir des biopsies faites pendant les études du COTC sur les chiens domestiques.

Cette banque doit remplir plusieurs critères comme : se focaliser sur des cancers d'intérêt, provenir de prélèvements faits de façon prospective, être annotée par des données cliniques précises, être consultable aisément par la communauté scientifique. Elle ne se résume pas à du tissu tumoral mais comporte aussi des prélèvements sanguins (sérum, plasma, préparations de cellules monocytaires périphériques), de l'ADN, des ARN et de l'urine. Les tumeurs récoltées ne sont pas forcément d'un intérêt primordial pour la médecine vétérinaire mais ont une grande valeur pour l'approche comparative. Les cancers ciblés sont le lymphome, l'ostéosarcome, le mélanome et d'autres tumeurs comme les sarcomes des tissus mous, l'hémangiosarcome, le mastocytome, les tumeurs pulmonaires. À la fin de l'année 2011, elle ne comptait déjà pas moins de 3 000 échantillons. Cette banque est

physiquement localisée dans le Maryland et est reliée au réseau internet (Gordon *et al.*, 2009 ; Gordon et Khanna, 2010 ; Paoloni et Khanna, 2008).

Le CCOGC et la construction de cette banque de matériel biologique furent au départ financés par le laboratoire Pfizer. Ils disposent maintenant de fonds propres en proposant la consultation de ses échantillons à la communauté scientifique et même des services de récolte de prélèvements pour une étude donnée.

5.3.3.5. Schéma d'une étude préclinique classique du COTC

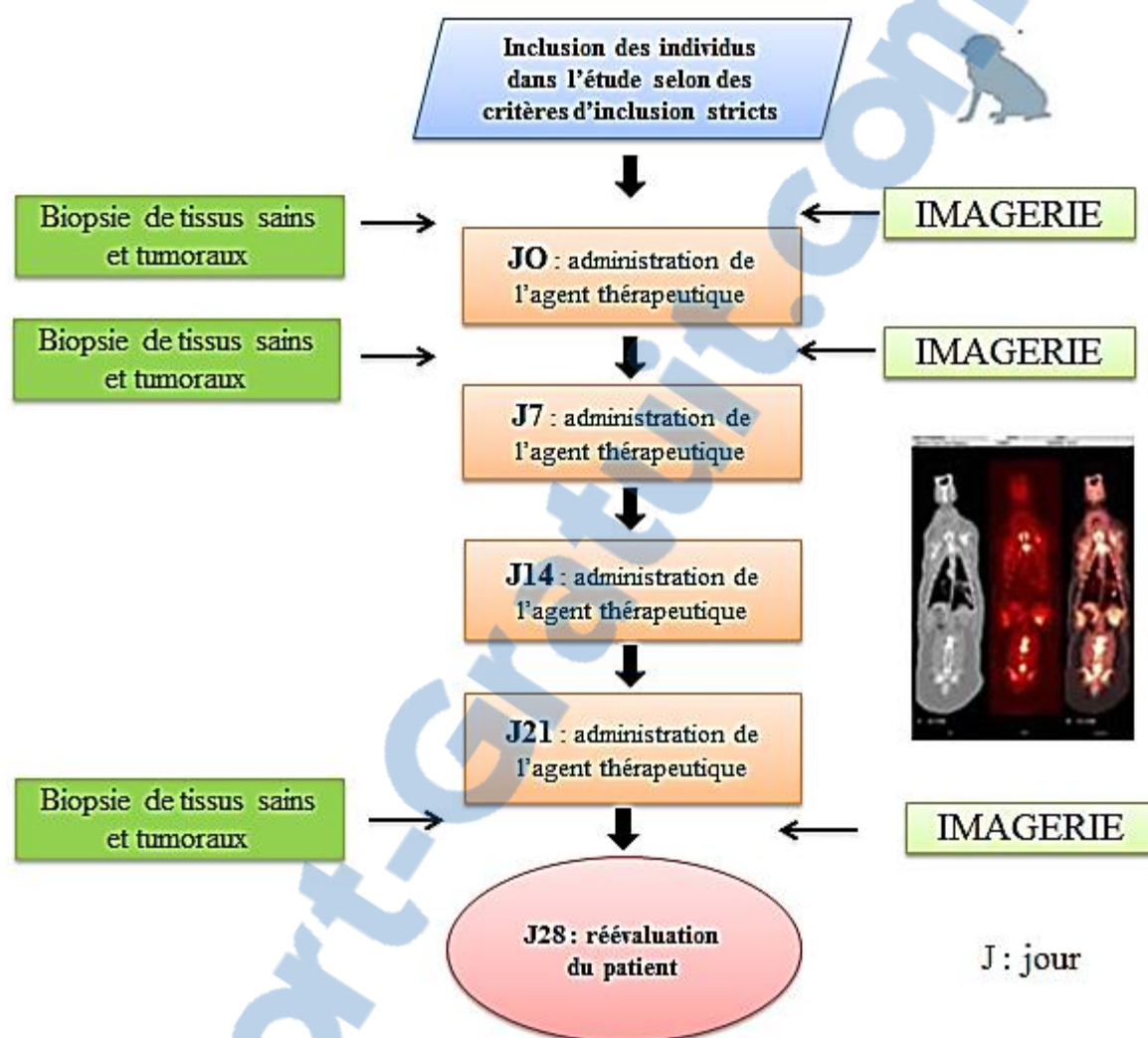
Les essais précliniques construits par le COTC présentent globalement les mêmes étapes (*figure 28*). Au départ, la sélection des individus se fait selon des critères d'inclusion stricts. L'animal ne doit présenter aucune autre comorbidité, comme une insuffisance rénale ou une maladie cardiaque par exemple (Khanna *et al.*, 2009).

Au cours de cet essai, de multiples prélèvements sont effectués avant et après l'exposition à la molécule étudiée. De même, des contrôles par imagerie sont effectués régulièrement.

5.3.3.6. État des lieux des études réalisées

Au mois de juillet 2014, dix essais avaient déjà été menés à leur terme et deux essais étaient en cours (Khanna, 2014). La première étude fut achevée en 2009 (Paoloni *et al.*, 2009b). Elle est nommée COTC001 et consistait en l'évaluation de la technique de distribution du TNF α par un vecteur phage, déjà décrite précédemment. COTC001 était un bon exemple d'une étude complètement centrée sur l'aspect pharmacodynamique d'un nouveau procédé thérapeutique et des opportunités concrètes que l'on tire de ce genre d'étude pour les premiers essais chez l'homme (Paoloni *et al.*, 2009b). Ce premier essai démontrait déjà la performance du COTC et de ses infrastructures.

Figure 28 : Protocole d'un essai clinique du COTC. Adaptée de Paoloni et Khanna (2007).



5.3.4. Règles, précautions et limites

En juin 2008 s'est déroulé un congrès sur l'oncologie comparée s'intitulant « *Translation of new cancer treatments from pet dogs to human cancer patients* ». Il avait pour but de rappeler les précautions à prendre dans le cadre des études menées en oncologie comparée, de fixer les standards et les règles de fonctionnement qui étaient jusqu'alors manquants. Il faisait le point sur les différents risques et opportunités de cette démarche (Khanna *et al.*, 2009). Voici les recommandations retenues.

Les études doivent être sous le contrôle de plusieurs comités d'éthique et de protection animale. Elles doivent être élaborées en respectant les règles d'éthique à l'égard des animaux et les bonnes pratiques cliniques. La question financière doit être claire. Cela doit être une considération primaire.

Pour la plupart des essais les protocoles sont similaires à ceux utilisés chez l'homme. Cependant ils ne doivent pas être contraints à correspondre à une phase mais se concentrer sur la réponse à une question précise. Ainsi, une étude ne pourra évidemment pas répondre à toutes les questions et il ne faudra pas extrapoler une réponse à une question qui n'a pas été posée (Khanna *et al.*, 2009). Elle devra pouvoir être flexible pour s'adapter à une éventuelle mise à jour des connaissances obtenues en dehors de celle-ci.

De plus, le consentement éclairé du propriétaire est obligatoire pour inclure un chien domestique dans un essai clinique. Ce consentement se traduit par une acceptation écrite précédée de l'exposition des effets bénéfiques mais aussi des effets secondaires, connus et inconnus, de l'agent pharmaceutique, du protocole utilisé et des examens qui seront pratiqués. Il y a donc une transparence totale. Une fois l'essai commencé, le propriétaire est libre de continuer ou de retirer son animal de l'essai clinique. Pour autant, l'investigateur proposera d'autres options thérapeutiques pour soigner au mieux l'animal et continuera de suivre son évolution clinique.

Ce congrès a rappelé que des questions restent encore en suspens : on se demande quel est le risque de prendre des données obtenues chez le chien pour les essais chez l'homme ; si les effets secondaires observés chez le chien sont forcément retrouvés chez l'homme ; si la variabilité inter-individuelle des chiens domestiques ne va pas réduire la puissance des conclusions.

Enfin, on ne dispose pas encore du recul suffisant pour évaluer l'impact des informations obtenues chez le chien, par exemple un effet secondaire inconnu, sur le développement de l'agent thérapeutique. Quoiqu'il en soit, si les données produites sont reproductibles, il est probable qu'elles modifient la gestion de l'essai clinique chez l'homme (Khanna *et al.*, 2009).

5.3.5. L'oncologie comparée en Europe et en France

Contrairement aux États-Unis, l'approche de l'oncologie comparée peine à se développer en Europe et en France même si la prise de conscience de la part des autorités politiques et de la communauté scientifique se fait sentir (Paoloni et Khanna, 2008). En cause, un manque flagrant d'infrastructures et de projets de financement à l'échelle européenne.

Tout d'abord, notons que les plans cancer 2009-2013 puis maintenant 2014-2019 de l'INCa incluent dans leurs priorités l'amélioration de la prédictivité de la recherche préclinique, ce qui est déjà un premier pas vers la construction d'un plan d'oncologie comparée.

Certaines organisations nationales, comme l'INCa et l'Institut Cancer de l'alliance AVIESAN (alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé) se sont engagées à favoriser le

rapprochement en oncologie comparée. Celui-ci s'est concrétisé par un congrès qui s'est tenu les 15 et 16 janvier 2014 à l'école vétérinaire de Nantes, qui réunissait des vétérinaires, médecins et scientifiques intervenant dans le même domaine de l'oncologie. L'objectif était d'adopter un langage commun en travaillant à la concordance des classifications chez l'homme et chez le chien, en se concentrant sur quatre cancers : le lymphome, la tumeur mammaire, le mélanome et le sarcome. Par ailleurs depuis 2011 des appels d'offres pour le financement de projets ont été lancés. Huit projets ont ainsi reçu un financement total de 2,5 millions d'euros depuis 2011. Une première dynamique est en marche depuis début 2014 et elle a permis d'établir les premières collaborations et échanges entre de nombreux pays européens et les États-Unis dont le COTC.

À l'échelle européenne, le consortium européen ACT (*Interdisciplinary consortium for Accelerated Cancer Translational Research*) rassemble les chercheurs de 11 pays (dont la France, l'Allemagne et le Royaume-Uni) pour étudier les tumeurs spontanées chez le chien afin de mieux comprendre leur mécanisme de progression tumorale et développer de nouvelles thérapies. L'accent est principalement mis sur le lymphome et le mélanome. Malheureusement, il n'existe pas encore de projets de financement à l'échelle européenne.

Les structures pouvant accueillir des missions en oncologie comparée sont trop peu nombreuses. En France, encore peu de structures vétérinaires possèdent des services en oncologie. Parmi les quatre écoles vétérinaires, seules les écoles de Lyon et Nantes ont un département d'oncologie. Trois cliniques privées sont dédiées à la cancérologie, il s'agit de MICEN VET (Créteil), ONCOVET (Lille) et EIFFELVET à Paris. Cependant plusieurs unités de recherche ont des projets en oncologie comparée comme le CNRS de Rennes et l'unité AMARoC de l'école vétérinaire de Nantes.

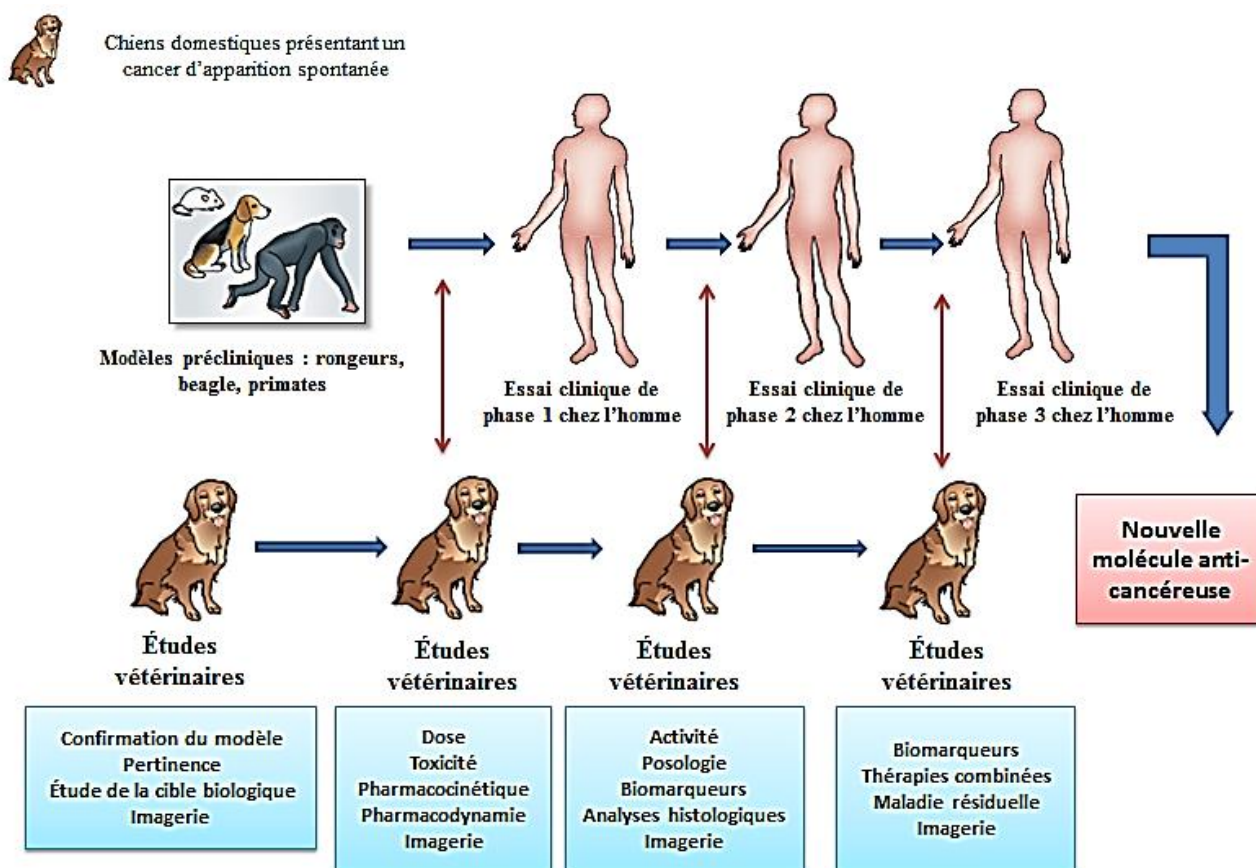
L'unité de recherche AMARoC réunit vétérinaires et médecins pour conduire des projets de recherche sur les tumeurs spontanées du chien ayant une forte homologie avec celles chez l'homme comme le carcinome mammaire, le lymphome, l'ostéosarcome, le mélanome et le gliome. Cette équipe menée par le Dr Abadie à l'école vétérinaire de Nantes a notamment beaucoup œuvré pour la classification moléculaire des carcinomes mammaires et la mise en évidence de leur intérêt translationnel (Abadie, 2014).

Au CNRS de Rennes, une équipe dédiée aux études génétiques et dirigée par Catherine André est à la pointe du décryptage génétique du cancer chez le chien (Gillard *et al.*, 2014). Cette équipe fait déjà état d'un travail conséquent d'une vingtaine d'années. Il s'agit de la création d'une banque d'ADN et de tissus canins regroupant déjà plus de 12 000 échantillons d'ADN et 2 000 tissus pour 100 maladies génétiques différentes, principalement des cancers. Cette base de données d'une grande valeur soutient des études biomédicales grâce à un support matériel (André, 2014).

5.3.6. Schéma récapitulatif de l'intervention du chien dans les différentes phases

L'idée est qu'un essai clinique chez le chien domestique, par les avantages décrits dans un précédent paragraphe, peut fournir des informations à chaque étape de la voie de développement d'une molécule dans les essais cliniques chez l'homme, que ce soit avant la phase 1, avant la phase 2 ou la phase 3. La *figure 29* résume cette approche standardisée des études précliniques sur les cancers spontanés du chien domestique menée par le COTC, faisant partie intégrante de la voie de développement de l'agent anticancéreux chez l'homme.

Figure 29 : Voie de développement d'une molécule anticancéreuse dans le cadre d'une approche comparative intégrée avec le chien domestique. On visualise ici les multiples apports des études précliniques chez le chien domestique qui peuvent intervenir à toutes les étapes des essais cliniques et ainsi moduler la direction prise par la voie de développement. Adaptée de Khanna (2014).



6. CONCLUSION DE LA TROISIÈME PARTIE

La thérapie anticancéreuse chez l'homme est le fruit d'une longue histoire de recherche au cours des 20^{ème} et 21^{ème} siècles où de nombreuses approches ont été testées. Jusqu'à maintenant, il est clair que la chirurgie oncologique, la chimiothérapie et la radiothérapie forment un trépied solide sur lequel se basent l'ensemble des protocoles. Néanmoins, d'autres modalités thérapeutiques se développent de plus en plus comme l'hormonothérapie, l'immunothérapie et l'ensemble des thérapies à action ciblée (Withrow *et al.*, 2012).

Au sein de cette recherche, l'apport des cancers spontanés chez le chien a été important. Les apports historiques marquants ont été l'étude du chien atteint de lymphome pour la mise en place de protocoles de greffe de moelle osseuse et l'utilisation de la similarité de taille et de format du chien pour tester de nouveaux procédés et molécules comme l'immunothérapie ou les interventions chirurgicales de conservation du membre lors d'ostéosarcome (Paoloni et Khanna, 2008).

Ensuite, le chien a contribué à tester la faisabilité de certains traitements ; l'activité et la toxicité d'agents thérapeutiques ayant de nouveaux mécanismes d'action comme des cytokines vectorisées, le L-MTP-PE, le GS-9819, des molécules à activité anti-apoptotique ou anti-angiogénique. Le mastocytome canin s'est révélé être une tumeur instructive pour modéliser les thérapies ciblant les mutations du gène *KIT*, puis pour le transfert du chien vers l'homme des inhibiteurs de tyrosine kinases masitinib et tocéranib. Par ailleurs, l'immunothérapie spécifique active avec l'idée d'une vaccination anti-tumorale est porteuse de grands espoirs surtout depuis la mise au point d'un vaccin contre le mélanome chez le chien.

Par les nombreux points soulevés dans cette troisième partie, il est clair que le chien domestique a apporté sa contribution au développement de nouveaux traitements et qu'il a permis de répondre à de nombreuses questions auxquelles il aurait été difficile voire impossible de répondre en se contentant de l'étude des modèles précliniques traditionnels (souris, rat, chimpanzé) ou de l'homme.

Le NCI a bien intégré cette utilisation des cancers spontanés du chien domestique en créant le COP qui organise des essais précliniques chez le chien pour les inclure dans des essais cliniques thérapeutiques chez l'homme, notamment pour obtenir des données plus complètes concernant l'efficacité et la toxicité des molécules (Paoloni *et al.*, 2009b). Ceci est d'autant plus important à l'heure de la thérapie ciblée pour laquelle le cheminement classique des phases cliniques conventionnelles ne correspond pas.

CONCLUSION

Cette étude bibliographique expose l'intérêt d'utiliser les cancers d'apparition spontanée du chien domestique comme modèle pour l'étude des cancers de l'homme. Les cancers dans ces deux espèces sont similaires en de nombreux points : nature histologique, progression tumorale (métastase, angiogenèse, récidives et résistances). La composition de la population canine, la structure phylogénétique de cette espèce et le grand nombre d'individus atteints de cancers à forte incidence autorisent des études à plus grande échelle que chez l'homme. Le chien domestique présente par ailleurs de nombreux avantages par rapport à la souris. Il comble le fossé entre les études *in vitro* et les études *in vivo* chez l'homme (Gordon *et al.*, 2009 ; Rowell *et al.*, 2011 ; Shearin et Ostrander, 2010).

L'approche de l'oncologie comparée utilisant le chien domestique a permis d'étoffer notre connaissance sur de multiples cancers de l'homme dans de nombreux domaines que ce soit pour les études en génétique, l'impact des facteurs environnementaux sur l'organisme, la connaissance fondamentale de la biologie tumorale, le développement de marqueurs biologiques puis le développement pharmaceutique. Cette approche s'est avérée fortement utile pour la recherche ; cependant, il est évident qu'elle n'est pas applicable à chaque situation et il faut donc définir les cas où elle peut (ou ne peut pas) être utilisée (Paoloni et Khanna, 2008).

Certes, il est clair que la cancérologie vétérinaire doit une très grande majorité de ses connaissances et techniques à la cancérologie humaine. Néanmoins, ce travail bibliographique rappelle les quelques apports importants qu'a fourni l'étude des cancers spontanés du chien domestique dans le cadre de l'oncologie comparée.

La recherche contre le cancer évolue progressivement et la réflexion change. De multiples possibilités sont envisageables dans le cadre de la thérapie contre le cancer : cibler les cellules tumorales, activer le système immunitaire, protéger les cellules saines lors d'une chimiothérapie, activer l'apoptose des cellules tumorales ou l'inhiber chez les cellules saines, réparer les cellules tumorales ou les détruire. Alors que jusqu'à maintenant on s'efforçait de trouver le cancer qui correspondait à une molécule précédemment découverte, la stratégie actuelle consiste à trouver les cibles du cancer puis à développer des molécules adaptées. Il s'agit de la thérapie ciblée. Cette nouvelle stratégie requiert des modèles précliniques plus pertinents, pour poser les bonnes questions lors des essais cliniques et utiliser les outils adaptés. Dans notre cas, il s'agit de trouver le bon modèle qui correspond à chaque situation (Hansen et Khanna, 2004).

Sur la base du constat des multiples avantages du modèle canin et des apports des chiens domestiques pour la compréhension du cancer et le développement de nouvelles thérapies, le *Comparative Oncology Program* aux États-Unis, via le *Comparative Oncology Trials Consortium*, organise des études précliniques standardisées sur les cancers spontanés de chiens de compagnie. Ces études sont complètement intégrées dans la voie de développement des essais cliniques chez l'homme et contribuent à répondre aux nombreuses questions concernant la pharmacocinétique, la pharmacodynamie et la toxicité des molécules. En Europe, l'oncologie comparée en est encore à ses débuts mais des collaborations se nouent.

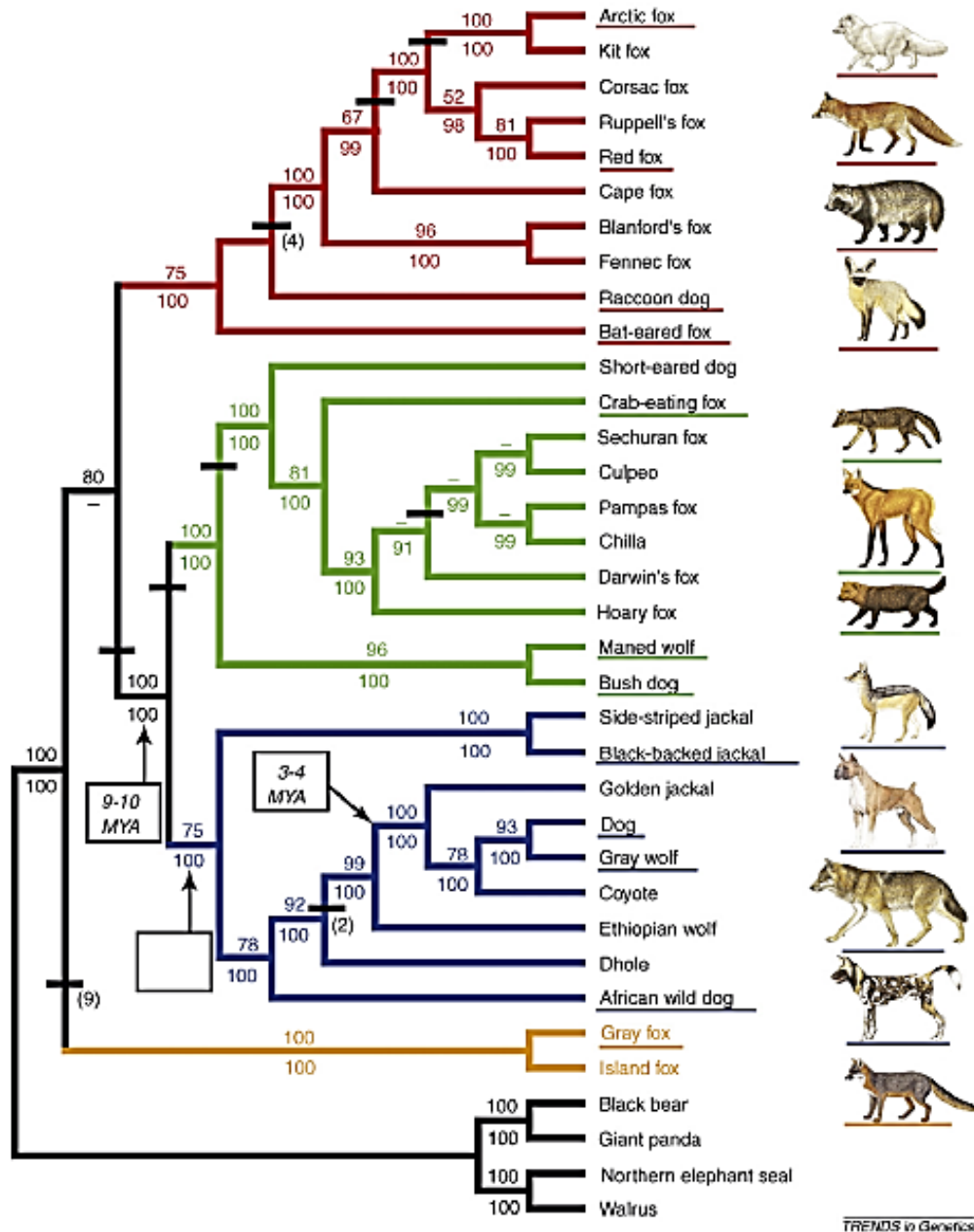
Grâce à l'oncologie comparée, l'homme pourra profiter de thérapies contre le cancer efficaces obtenues plus rapidement, les animaux de compagnie pourront être soignés de leur propre cancer spontané avec les thérapies les plus récentes, souvent grâce à des fonds extérieurs qui vont prendre en charge les frais des propriétaires et de l'équipe de recherche. On espère que dans un futur proche, la

communauté scientifique qualifiera les cancers spontanés des chiens et autres animaux domestiques comme des partenaires indispensables pour un développement thérapeutique rapide et efficace.

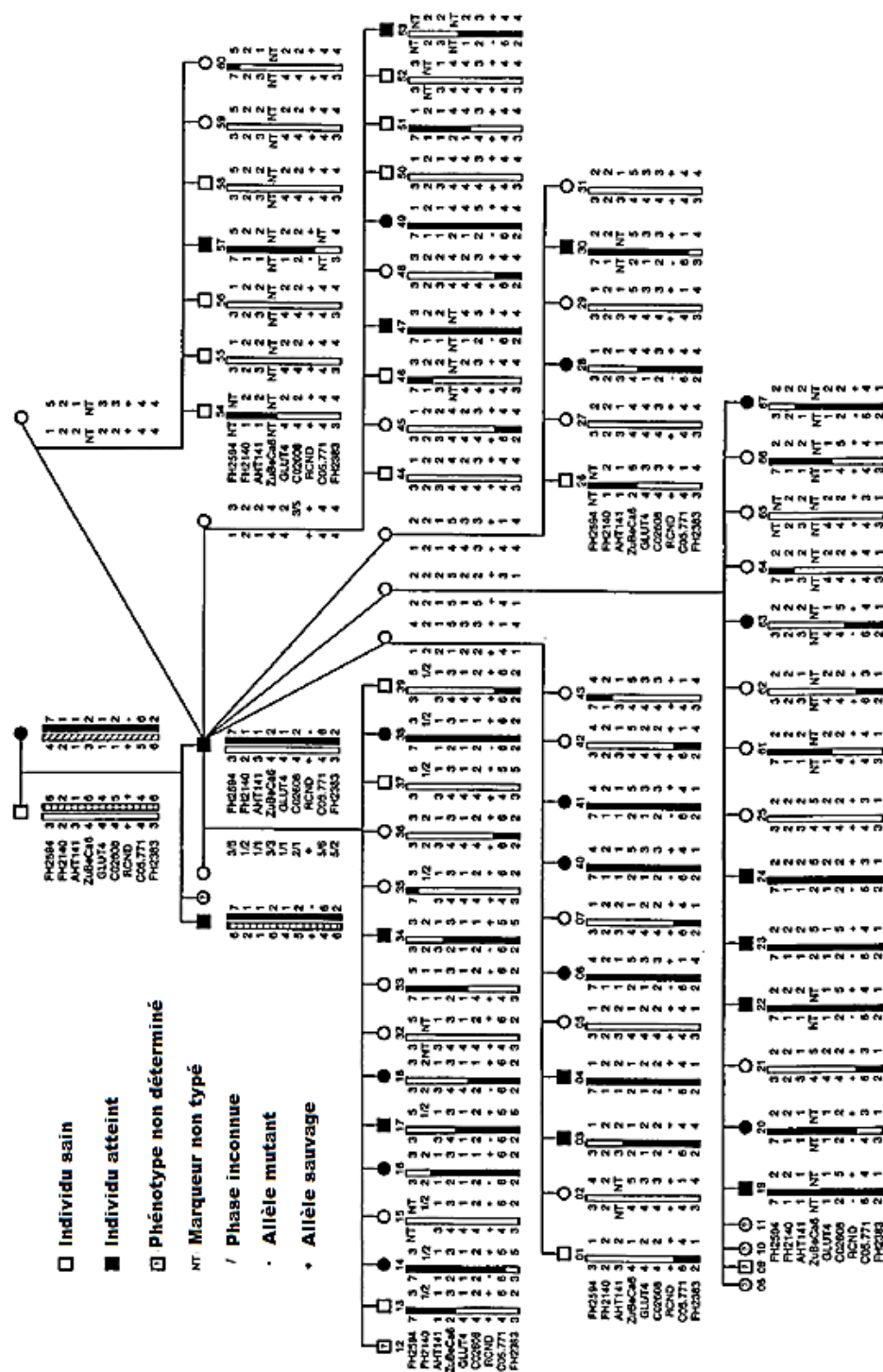
ANNEXE

Annexe 1 : Arbre phylogénique de la famille des *Canidae* (données moléculaires). Adaptée d'après Lindblad-Toh *et al.* (2005).

Les chiffres au-dessus et en dessous des points de ramification sont deux mesures de probabilité (respectivement valeur du test bootstrap et probabilité bayésienne) dont la valeur dépassant 90% indique une forte fiabilité. L'arbre phylogénique distingue 3 grands groupes : les canidés apparentés au renard (en rouge), les canidés sud-américains (en vert), les canidés apparentés au loup (en bleu) dont le chien domestique et le loup gris font partie.



Annexe 2 : Pedigree d'une famille de bergers allemands où ségrège l'allèle mutant *RNCD*. Pedigree utilisé dans l'étude de liaison de Jónasdóttir *et al.* (2000). Sont notés pour chaque individu les génotypes des marqueurs.



Annexe 3 : Tableau de comparaison des différents ITK ayant une AMM chez le chien. Adaptée d'après Morgant (2011).

Molécules	Nom déposé	Cibles principales	Cancers ciblés (AMM)	Voies de développement chez le chien	Laboratoire et année d'enregistrement	Voies de développement chez l'homme
Masitinib	Masivet®	c-Kit, PDGFR, Lyn	Mastocytome cutané de grades 2 ou 3, non opérable ou récidivant après chirurgie sans atteinte métastatique et avec c-Kit mutée	Mélanome, Lymphome T, Ostéosarcome, Hémangiosarcome splénique, Sarcome histiocyttaire, Cancer de la vessie, Tumeur mammaire, Dermatite atopique, MCI, Arthrite	AB science, 2008	Cancer du pancréas, GIST, Myélome multiple, Mélanome, Mastocytose, Arthrite rhumatoïde, Asthme, Maladies du système nerveux central
Toceranib	Palladia®	c-Kit, PDGFR, VEGFR, Flt-3	Mastocytome cutané de grade 2 ou 3, non opérable ou récidivant après chirurgie, avec ou sans atteinte des nœuds lymphatiques régionaux	Carcinome mammaire, Sarcome des tissus mous, Myélome multiple	Pfizer, 2009	

Annexe 4 : Tableaux de comparaison des différents ITK ayant une AMM chez l'homme. Adaptée d'après Morgant (2011).

Molécules	Nom déposé	Cibles principales	Cancers ciblés (AMM)	Voies de développement chez l'homme	Laboratoire et année d'enregistrement	Voies de développement chez le chien
Imatinib	Gleevec®	c-Kit, Bcr-Abl, PDGFR	Leucémie myéloïde chronique, GIST maligne métastatique et/ou non opérable	Leucémie myélomonocytaire chronique, Syndrome hyper-éosinophilique, Dermatofibrosarcome protubérant, Cancer du poulmon à petites cellules, Hypertension pulmonaire idiopathique	Novartis, 2001 pour la leucémie myéloïde chronique et 2008 pour les GIST	Mastocytose mais hépatotoxicité marquée
Sunitinib	Sutent®	PDGFR, c-VEGFR, c-Kit, Flt-3, CSF-1R, RET	GIST maligne non opérable et/ou métastatique résistante à l'imatinib, Carcinome rénal métastatique après échec à l'IFN-alpha ou à l'interleukine 2, Cancer neuroendocrinien du pancréas	Cancer du sein métastatique, Cancer du colon, Cancer urothéliale, Carcinome hépatocellulaire non opérable, Cancer du poulmon non à petites cellules récidivant et à un stade avancé	Pfizer, 2006 pour les GIST et les carcinomes rénaux et 2011 pour le cancer neuroendocrinien du pancréas	
Gefitinib	Iressa®	EGFR	Cancer du poulmon bronchique non à petites cellules avancé localement ou métastatique avec mutation activatrice de l'EGFR	Cancer du poulmon, Cancer du colon, Cancer ovarien, Cancer du sein, Cancer prostatique	AstraZeneca, 2003	
Dasatinib	Sprycel®	Bcr/Abl, familles des Src, c-Kit, PDGFR-beta	Leucémie myéloïde chronique et patients atteints de Leucémie lymphoblastique aiguë positive au chromosome de Philadelphie après une résistance ou une intolérance à l'imatinib	Cancer avancé de la prostate	Bristol-Myers Squibb, 2006	

Annexe 4 (suite et fin)

Molécules	Nom déposé	Cibles principales	Cancers ciblés (AMM)	Voies de développement chez l'homme	Laboratoire et année d'enregistrement	Voies de développement chez le chien
Sorafenib	Nexavar®	VEGFR, PDGFR, Raf	Carcinome rénal avancé et Carcinome hépatocellulaire	Cancer de la thyroïde, Cancer du cerveau, Mélanome métastatique, Cancer du poudon non à petites cellules	Bayer Santé, 2005 pour le carcinome rénal et 2007 pour le carcinome hépatocellulaire	Ostéosarcomes
Lapatinib	Tyverb®	EGFR et HER2	Cancer du sein avancé ou métastatique avec surexpression des HER2 chez des femmes traitées avec la capecitabine et Cancer du sein triple positif		Laboratoire GlaxoSmithKline, 2007 pour le cancer du sein HER2 et 2010 pour le cancer du sein triple positif	
Erlotinib	Tarceva®	EGFR	Cancer du poudon non à petites cellules à un stade avancé ou métastatique, Cancer du pancréas non opérable, avancé ou métastatique		Genentech/Roche, 2004	
Nilotinib	Tasigna®	Bcr-Abl, PDGFR et c-Kit	Leucémie myéloïde chronique en phase accélérée ou chronique, positif au chromosome de Philadelphie, résistant ou ne répondant pas à l'imatinib		Novartis pharma, 2007	



BIBLIOGRAPHIE

- ABADIE J. Orpheo group : Translational research on spontaneous animal models of breast cancer. Powerpoint. In : *International meeting on comparative oncology*. Nantes, 15-16 Janvier 2014, AVIESAN-ITMO.
- ABADIE J, HEDAN B, CADIEU E, DE BRITO C, DEVAUCHELLE P, BOURGAIN C *et al.* Epidemiology, pathology, and genetics of histiocytic sarcoma in the Bernese mountain dog breed. *J. Hered.*, 2009, **100**, S19-27.
- ADAMS VJ, EVANS KM, SAMPSON J, WOOD JLN. Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *J. Small Anim. Pract.*, 2010, **51**, 512-524.
- ADENIS A, BLAY J-Y, BUI-NGUYEN B, BOUCHÉ O, BERTUCCI F, ISAMBERT N *et al.* Masitinib in advanced gastrointestinal stromal tumor (GIST) after failure of imatinib: A randomized controlled open-label trial. *Ann. Oncol.*, 2014, **25**, 1762-1769.
- ADVANI AS. C-kit as a target in the treatment of acute myelogenous leukemia. *Curr. Hematol. Rep.*, 2005, **4**, 51-58.
- AHRAR K, PRICE RE, WALLACE MJ, MADOFF DC, GUPTA S, MORELLO FA *et al.* Percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors in a large animal model. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 2003, **14**, 1037-1043.
- AJANI JA, JIANG Y, FAUST J, CHANG BB, HO L, YAO JC *et al.* A multi-center phase II study of sequential paclitaxel and bryostatin-1 (NSC 339555) in patients with untreated, advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Invest. New Drugs*, 2006, **24**, 353-357.
- AKC Canine Health Foundation. Homepage AKC Canine Health Foundation. [En ligne]. (Date de mise à jour inconnue). [<http://www.akcchf.org/>]. (Consulté le 20/09/2014).
- ALEGRE MM, WEYANT MJ, BENNETT DT, YU JA, RAMSDEN MK, ELNAGGAR A *et al.* Serum Detection of Thymidine Kinase 1 as a Means of Early Detection of Lung Cancer. *Anticancer Res.*, 2014, **34**, 2145-2151.
- ALGRAIN M, TURUNEN O, VAHERI A, LOUVARD D, ARPIN M. Ezrin contains cytoskeleton and membrane binding domains accounting for its proposed role as a membrane-cytoskeletal linker. *J. Cell Biol.*, 1993, **120**, 129-139.
- AL-HAJJ M, WICHA MS, BENITO-HERNANDEZ A, MORRISON SJ, CLARKE MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2003, **100**, 3983-3988.
- AMUNDSEN T, SUNDSTRØM S, BUVIK T, GEDERAAS OA, HAAVERSTAD R. Can dogs smell lung cancer? First study using exhaled breath and urine screening in unselected patients with suspected lung cancer. *Acta Oncol.*, 2013, **53**, 307-315.
- ANDERSON PM, TOMARAS M, MCCONNELL K. Mifamurtide in osteosarcoma--a practical review. *Drugs Today*, 2010, **46**, 327-337.
- ANDO K, MORI K, CORRADINI N, REDINI F, HEYMAN D. Mifamurtide for the treatment of nonmetastatic osteosarcoma. *Expert Opin. Pharmacother.* 2011, **12**, 285-292.
- ANDRAWISS M, OPOLON P, BENIHOUD K, DEVAUCHELLE P, DI FALCO N, VILLETTE J-M *et al.*

- Adenovirus-mediated gene transfer in dog prostate: a preclinical study of a relevant model system for gene therapy of human prostatic cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 1999, **2**, 25-35.
- ANDRÉ C. Canine spontaneous melanoma : comparative genetic and mechanistic analyse of human and canine melanoma pathway. Powerpoint. In : *International meeting on comparative oncology*. Nantes, 15-16 Janvier 2014, AVIESAN-ITMO.
- ANTUOFERMO E, MILLER MA, PIRINO S, XIE J, BADVE S, MOHAMMED SI. Spontaneous mammary intraepithelial lesions in dogs--a model of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2007, **16**, 2247-2256.
- APPELBAUM FR, DEEG HJ, STORB R, SELF S, GRAHAM TC, SALE GE *et al.* Marrow transplant studies in dogs with malignant lymphoma. *Transplantation*, 1985, **39**, 499-504.
- ARAKI S, OMORI Y, LYN D, SINGH RK, MEINBACH DM, SANDMAN Y *et al.* Interleukin-8 is a molecular determinant of androgen independence and progression in prostate cancer. *Cancer Res.*, 2007, **67**, 6854-6862.
- ARESU L, ARICÒ A, COMAZZI S, GELAIN ME, RIONDATO F, MORTARINO M *et al.* VEGF and MMP-9: biomarkers for canine lymphoma. *Vet Comp Oncol.*, 2014, **12**, 29-36.
- ARGYLE DJ, BLACKING T. From viruses to cancer stem cells: dissecting the pathways to malignancy. *Vet. J.*, 2008, **177**, 311-323.
- ASANO T, KLEINERMAN ES. Liposome-encapsulated MTP-PE: a novel biologic agent for cancer therapy. *J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol.*, 1993, **14**, 286-292.
- BACCI G, FERRARI S, BERTONI F, RUGGIERI P, PICCI P, LONGHI A *et al.* Long-term outcome for patients with nonmetastatic osteosarcoma of the extremity treated at the istituto ortopedico rizzoli according to the istituto ortopedico rizzoli/osteosarcoma-2 protocol: an updated report. *J. Clin. Oncol.*, 2000, **18**, 4016-4027.
- BACKER LC, GRINDEM CB, CORBETT WT, CULLINS L, HUNTER JL. Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Sci. Total Environ.*, 2001, **274**, 161-169.
- BAKER LH, ROWINSKY EK, MENDELSON D, HUMERICKHOUSE RA, KNIGHT RA, QIAN J *et al.* Randomized, phase II study of the thrombospondin-1-mimetic angiogenesis inhibitor ABT-510 in patients with advanced soft tissue sarcoma. *J. Clin. Oncol.*, 2008, **26**, 5583-5588.
- BALCH CM, SMALLEY RV, BARTOLUCCI AA, BURNS D, PRESANT CA, DURANT JR. A randomized prospective clinical trial of adjuvant C. parvum immunotherapy in 260 patients with clinically localized melanoma (Stage I): prognostic factors analysis and preliminary results of immunotherapy. *Cancer*, 1982, **49**, 1079-1084.
- BAO S, WU Q, SATHORNSUMETEE S, HAO Y, LI Z, HJELMELAND AB *et al.* Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.*, 2006, **66**, 7843-7848.
- BARTRIP P. History of asbestos related disease. *Postgrad. Med. J.*, 2004, **80**, 72-76.
- BAVCAR S, ARGYLE DJ. Receptor tyrosine kinase inhibitors: molecularly targeted drugs for veterinary cancer therapy. *Vet. Comp. Oncol.*, 2012, **10**, 163-173.
- BEDU N. Les apports de la genetique moleculaire a la cancerologie veterinaire, exemple des tumeurs mammaires de la chienne. Thèse Méd. Vét., 2003, Alfort, 270 p.

- BENJAMINI E, THEILEN GH, TORTEN M, FONG S, CROW S, HENNESS AM. Tumor vaccines for immunotherapy of canine lymphosarcoma. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, **277**, 305-312.
- BENTLEY RT, MUND JA, POLLOK KE, CHILDRESS MO, CASE J. Peripheral blood biomarkers of solid tumor angiogenesis in dogs: a polychromatic flow cytometry pilot study. *Vet. J.*, 2013, **196**, 236-240.
- BERGMAN PJ. Cancer immunotherapy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 2010, **40**, 507-518.
- BERGMAN PJ, CAMPS-PALAU MA, MCKNIGHT JA, LEIBMAN NF, CRAFT DM, LEUNG C *et al.* Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, 2006, **24**, 4582-4585.
- BERGMAN PJ, MCKNIGHT J, NOVOSAD A, CHARNEY S, FARRELLY J, CRAFT D *et al.* Long-Term Survival of Dogs with Advanced Malignant Melanoma after DNA Vaccination with Xenogeneic Human Tyrosinase A Phase I Trial. *Clin. Cancer Res.*, 2003, **9**, 1284-1290.
- BERTONE-JOHNSON ER, PROCTER-GRAY E, GOLLENBERG AL, RYAN MB, BARBER LG. Environmental tobacco smoke and canine urinary cotinine level. *Environ. Res.*, 2008, **106**, 361-364.
- BERTUCCI F, VIENS P, BIRNBAUM D. Profils d'expression génique sur puces à ADN en cancérologie mammaire : principes et applications pronostiques. *Pathologie Biologie*, 2006, **54**, 49-54.
- BETTINI G, MORINI M, MARCONATO L, MARCATO PS, ZINI E. Association between environmental dust exposure and lung cancer in dogs. *Vet. J.*, 2010, **186**, 364-369.
- BIELACK SS, KEMPF-BIELACK B, DELLING G, EXNER GU, FLEGE S, HELMKE K *et al.* Prognostic factors in high-grade osteosarcoma of the extremities or trunk: an analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols. *J. Clin. Oncol.*, 2002, **20**, 776-790.
- BIJLAND LR, BOMERS MK, SMULDERS YM. Smelling the diagnosis: a review on the use of scent in diagnosing disease. *Neth. J. Med.*, 2013, **71**, 300-307.
- BLACKWOOD L, MURPHY S, BURACCO P, DE VOS JP, DE FORNEL-THIBAUD P, HIRSCHBERGER J *et al.* European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet. Comp. Oncol.*, 2012, **10**, 1-29.
- BLAIR A, ZAHM SH, PEARCE NE, HEINEMAN EF, FRAUMENI JF. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scand. J. Work. Environ. Health*, 1992, **18**, 209-215.
- BLAY J, CESNE AL, BUI NB, BOUCHE O, ADENIS A, JULIEN D *et al.* Overall survival benefit with masitinib mesylate in imatinib-naïve, locally advanced, or metastatic gastrointestinal stromal tumor (GIST): 4-years follow-up of the French Sarcoma Group phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 2011, **29**, suppl 4 ; abstr 85.
- BONNET D, DICK JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.*, 1997, **3**, 730-737.
- BONNETT BN, EGENVALL A, HEDHAMMAR Å, OLSON P. Mortality in over 350,000 Insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, Gender-, Age- and Cause-specific Rates. *Acta Vet. Scand.*, 2005, **46**, 105.
- BORIA PA, GLICKMAN NW, SCHMIDT BR, WIDMER WR, MUTSAERS AJ, ADAMS LG *et al.* Carboplatin and piroxicam therapy in 31 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Vet. Comp. Oncol.*, 2005, **3**, 73-80.
- BORIA PA, MURRY DJ, BENNETT PF, GLICKMAN NW, SNYDER PW, MERKEL BL *et al.* Evaluation of

- cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004, **224**, 388-394.
- BOVERI T. *Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren*. 1914, G. Fischer, 70 p.
- BRACHA S, MCNAMARA M, HILGART I, MILOVANCEV M, MEDLOCK J, GOODALL C *et al.* A multiplex biomarker approach for the diagnosis of transitional cell carcinoma from canine urine. *Anal. Biochem.*, 2014, **455**, 41-47.
- BREEN M. Update on genomics in veterinary oncology. *Top. Companion Anim. Med.*, 2009, **24**, 113-121.
- BREEN M, HITTE C, LORENTZEN TD, THOMAS R, CADIEU E, SABACAN L *et al.* An integrated 4249 marker FISH/RH map of the canine genome. *BMC Genomics*, 2004, **5**, 65.
- BREEN M, MODIANO JF. Evolutionarily conserved cytogenetic changes in hematological malignancies of dogs and humans-man and his best friend share more than companionship. *Chromosome Res.*, 2008, **16**, 145-154.
- BRIGGS J, PAOLONI M, CHEN Q-R, WEN X, KHAN J, KHANNA C. A compendium of canine normal tissue gene expression. *PLoS ONE*, 2011, **6**, e17107.
- BRONSON RT. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 2057-2059.
- BROWN DC, PURUSHOTHAM AD, BIRNIE GD, GEORGE WD. Detection of intraoperative tumor cell dissemination in patients with breast cancer by use of reverse transcription and polymerase chain reaction. *Surgery*, 1995, **117**, 95-101.
- BROWN SR, GREGORY WM, TWELVES CJ, BUYSE M, COLLINSON F, PARMAR M *et al.* Designing phase II trials in cancer: a systematic review and guidance. *Br. J. Cancer*, 2011, **105**, 194-199.
- BRUCE B, KHANNA G, REN L, LANDBERG G, JIRSTRÖM K, POWELL C *et al.* Expression of the cytoskeleton linker protein ezrin in human cancers. *Clin. Exp. Metastas.*, 2007, **24**, 69-78.
- BRULAND OS, PIHL A. On the current management of osteosarcoma. A critical evaluation and a proposal for a modified treatment strategy. *Eur. J. Cancer.*, 1997, **33**, 1725-1731.
- BUKOWSKI JA, WARTENBERG D. An alternative approach for investigating the carcinogenicity of indoor air pollution: pets as sentinels of environmental cancer risk. *Environ. Health Perspect.*, 1997, **105**, 1312-1319.
- CADIEU E, OSTRANDER EA. Canine Genetics Offers New Mechanisms for the Study of Human Cancer. *Cancer Epidem. Biomar.*, 2007, **16**, 2181-2183.
- CALESNICK B. Dioxin and Agent Orange. *Am. Fam. phys.*, 1984, **29**, 303-305.
- CAMPONE M, FRENEL J-S. Phase I en oncologie. Le défi de développer de nouveaux agents thérapeutiques à l'ère de la médecine personnalisée. *Méd. Nuc.*, 2012, **36**, 228-232.
- CAPLIER L. L'immunologie des mélanomes canins, étude bibliographique. Thèse Méd. Vét., 2008, Alfort, 289 p.
- CARRASCO DR, FENTON T, SUKHDEO K, PROTOPOPOVA M, ENOS M, YOU MJ *et al.* The PTEN and INK4A/ARF tumor suppressors maintain myelolymphoid homeostasis and cooperate to constrain histiocytic

- sarcoma development in humans. *Cancer Cell*. 2006, **9**, 379-390.
- CHAMBERS AF, NAUMOV GN, VANTYGHM SA, TUCK AB. Molecular biology of breast cancer metastasis. Clinical implications of experimental studies on metastatic inefficiency. *Breast Cancer Res.*, 2000, **2**, 400-407.
- CHON E, MCCARTAN L, KUBICEK LN, VAIL DM. Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study. *Vet. Comp. Oncol.*, 2012, **10**, 184-193.
- CHOONG PF, SIM FH. Limb-sparing surgery for bone tumors: new developments. *Semin. Surg. Oncol.*, 1997, **13**, 64-69.
- CLINE JM, THRALL DE, PAGE RL, FRANKO AJ, RALEIGH JA. Immunohistochemical detection of a hypoxia marker in spontaneous canine tumours. *Br. J. Cancer*, 1990, **62**, 925-931.
- CLINE JM, THRALL DE, ROSNER GL, RALEIGH JA. Distribution of the hypoxia marker CCI-103F in canine tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, **28**, 921-933.
- COHEN MH, WILLIAMS G, JOHNSON JR, DUAN J, GOBBURU J, RAHMAN A *et al.* Approval summary for imatinib mesylate capsules in the treatment of chronic myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 2002, **8**, 935-942.
- CORNELL KK, BOSTWICK DG, COOLEY DM, HALL G, HARVEY HJ, HENDRICK MJ *et al.* Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: a retrospective analysis of 76 cases. *Prostate*, 2000, **45**, 173-183.
- CORNU J-N, GIRARDET C, CUSSENOT O. Des chiens dressés pour une nouvelle méthode de dépistage des cancers ?. *Progrès en urologie - FMC*, 2010, **20**, 135-138.
- CORNU M, ALBERT V, HALL MN. mTOR in aging, metabolism, and cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2013, **23**, 53-62.
- COUSSENS LM, FINGLETON B, MATRISIAN LM. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science*, 2002, **295**, 2387-2392.
- CROW SE. Chemoimmunotherapy for canine lymphoma: tumor vaccines and monoclonal antibodies. *Cancer Ther.*, 2008, **6**, 181-186.
- DARWICHE K, ZAROGULIDIS P, KARAMANOS NK, DOMVRI K, CHATZAKI E, CONSTANTINIDIS TC *et al.* Efficacy versus safety concerns for aerosol chemotherapy in non-small-cell lung cancer: a future dilemma for micro-oncology. *Future Oncol.*, 2013, **9**, 505-525.
- DE MARIA R, MIRETTI S, IUSSICH S, OLIVERO M, MORELLO E, BERTOTTI A *et al.* Met oncogene activation qualifies spontaneous canine osteosarcoma as a suitable pre-clinical model of human osteosarcoma. *J. Pathol.*, 2009, **218**, 399-408.
- DENMAN DL, LEGORRETA RA, KIER AB, ELSON HR, WHITE ML, BUNCHE CR *et al.* Therapeutic responses of spontaneous canine malignancies to combinations of radiotherapy and hyperthermia. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1991, **21**, 415-422.
- DERRIEN T. L'analyse comparée des génomes : applications à l'identification de nouveaux gènes canins. Thèse de Doctorat en Biologie, 2007, Rennes, 147 p.

- DE SOUSA MELO F, GUESSOUS I, VERMEULEN L, MEDEMA JP. Cancer stem cells and future therapeutic implications. *Rev. Med. Suisse*, 2011, **7**, 774-777.
- DEWHIRST MW. Animal modeling and thermal dose. *Radiol. Clin. North Am.*, 1989, **27**, 509-518.
- DICKERSON BD, GEIST BL, SPILLMAN WB, ROBERTSON JL. Canine cancer screening via ultraviolet absorbance and fluorescence spectroscopy of serum proteins. *Appl. Opt.*, 2007, **46**, 8080-8088.
- DIMASI JA, GRABOWSKI HG. Economics of new oncology drug development. *J. Clin. Oncol.*, 2007, **25**, 209-216.
- DOBSON JM. Breed-predispositions to cancer in pedigree dogs. *ISRN Vet. Sci.*, 2013, **vol 2013**, 23 p.
- DOHERTY MK, BEYNON RJ, WHITFIELD PD. Proteomics and naturally occurring animal diseases: Opportunities for animal and human medicine. *Proteomics Clin. Appl.*, 2008, **2**, 135-141.
- DOWNEY RJ. Surgical treatment of pulmonary metastases. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, 1999, **8**, 341.
- DOW SW, ELMSLIE RE, WILLSON AP, ROCHE L, GORMAN C, POTTER TA. In vivo tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. *J. Clin. Invest.*, 1998, **101**, 2406-2414.
- DRUKER BJ, LYDON NB. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.*, 2000, **105**, 3-7.
- DUBOIS S, DEMETRI G. Markers of angiogenesis and clinical features in patients with sarcoma. *Cancer.*, 2007, **109**, 813-819.
- DUBREUIL P, LETARD S, CIUFOLINI M, GROS L, HUMBERT M, CASTÉLAN N *et al.* Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS ONE*, 2009, **4**, e7258.
- ECKERSALL PD, SLATER K, MOBASHERI A. Biomarkers in veterinary medicine: establishing a new international forum for veterinary biomarker research. *Biomarkers*, 2009, **14**, 637-641.
- EHMANN R, BOEDEKER E, FRIEDRICH U, SAGERT J, DIPPON J, FRIEDEL G *et al.* Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: Revisiting a puzzling phenomenon. *Eur. Respir. J.* 2012, **3**, 669-676.
- EISENHAUER EA, THERASSE P, BOGAERTS J, SCHWARTZ LH, SARGENT D, FORD R *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur. J. Cancer*. 2009, **45**, 228-247.
- ELLIOTT BE, MEENS JA, SENGUPTA SK, LOUVARD D, ARPIN M. The membrane cytoskeletal crosslinker ezrin is required for metastasis of breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res.*, 2005, **7**, 365-373.
- EPSTEIN RB, GRAHAM TC, STORB R, THOMAS ED. Studies of marrow transplantation, chemotherapy and cross-circulation in canine lymphosarcoma. *Blood*, 1971, **37**, 349-359.
- FANG D, NGUYEN TK, LEISHEAR K, FINKO R, KULP AN, HOTZ S *et al.* A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res.*, 2005, **65**, 9328-9337.
- FERLETTA M, GRAWÉ J, HELLMÉN E. Canine mammary tumors contain cancer stem-like cells and form spheroids with an embryonic stem cell signature. *Int. J. Dev. Biol.*, 2011, **55**, 791-799.

- FERRACINI R, ANGELINI P, CAGLIERO E, LINARI A, MARTANO M, WUNDER J *et al.* MET oncogene aberrant expression in canine osteosarcoma. *J. Orthop. Res.*, 2000, **18**, 253-256.
- FIDLER IJ. Recognition and destruction of target cells by tumoricidal macrophages. *Isr. J. Med. Sci.*, 1978, **14**, 177-191.
- FIDLER IJ. Macrophages and metastasis-a biological approach to cancer therapy. *Cancer Res.*, 1985, **45**, 4714-4726.
- FIDLER IJ, SONE S, FOGLER WE, BARNES ZL. Eradication of spontaneous metastases and activation of alveolar macrophages by intravenous injection of liposomes containing muramyl dipeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1981, **78**, 1680-1684.
- FLINT AF, U'REN L, LEGARE ME, WITHROW SJ, DERNELL W, HANNEMAN WH. Overexpression of the erbB-2 proto-oncogene in canine osteosarcoma cell lines and tumors. *Vet. Pathol.*, 2004, **41**, 291-296.
- FOLKMAN J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery?. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2007, **6**, 273-286.
- FORT V. Implication des altérations moléculaires du proto-oncogène c-kit en cancérologie: application à l'étude des mastocytomes cutanés félines. Thèse Méd. Vét., 2007, Nantes, 274 p.
- FOSMIRE SP, DICKERSON EB, SCOTT AM, BIANCO SR, PETTENGILL MJ, MEYLEMANS H *et al.* Canine malignant hemangiosarcoma as a model of primitive angiogenic endothelium. *Lab. Invest.*, 2004, **84**, 562-572.
- FOUQUERAY C. Le chien, sentinelle d'exposition ou effet sanitaire pour l'homme, application aux polluants chimiques de l'environnement. Thèse Méd. Vét., 2008, Alfort, 114 p.
- FRANTZ AM, SARVER AL, ITO D, PHANG TL, KARIMPOUR-FARD A, SCOTT MC *et al.* Molecular profiling reveals prognostically significant subtypes of canine lymphoma. *Vet. Pathol.*, 2013, **50**, 693-703.
- FREI E, HOLLAND JF, SCHNEIDERMAN MA, PINKEL D, SELKIRK G, FREIREICH EJ *et al.* A comparative study of two regimens of combination chemotherapy in acute leukemia. *Blood*, 1958, **13**, 1126-1148.
- FREIREICH EJ, GEHAN EA, RALL DP, SCHMIDT LH, SKIPPER HE. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer. Chemother. Rep.*, 1966, **50**, 219-244.
- FUKUMOTO S, HANAZONO K, FU D-R, ENDO Y, KADOSAWA T, IWANO H *et al.* A new treatment for human malignant melanoma targeting L-type amino acid transporter 1 (LAT1): a pilot study in a canine model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013, **439**, 103-108.
- GADALETA C, MATTIOLI V, COLUCCI G, CRAMAROSSA A, LORUSSO V, CANNIELLO E *et al.* Radiofrequency ablation of 40 lung neoplasms: preliminary results. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 2004, **183**, 361-368.
- GAINES PJ, POWELL TD, WALMSLEY SJ, ESTREDGE KL, WISNEWSKI N, STINCHCOMB DT *et al.* Identification of serum biomarkers for canine B-cell lymphoma by use of surface-enhanced laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *Am. J. Vet. Res.*, 2007, **68**, 405-410.
- GALÁN M, VIÑOLAS N, COLOMER D, SOLER G, MUÑOZ M, LONGARÓN R *et al.* Detection of occult breast cancer cells by amplification of CK19 mRNA by reverse transcriptase-polymerase chain reaction: role

- of surgical manipulation. *Anticancer Res.*, 2002, **22**, 2877-2884.
- GAL F-AL. Traitement du mélanome : immunothérapie cellulaire. *Méd. théor.*, 2000, **6**, 487-93.
- GAMBLIN RM, SAGARTZ JE, COUTO CG. Overexpression of p53 tumor suppressor protein in spontaneously arising neoplasms of dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1997, **58**, 857-863.
- GARABRANT DH, PHILBERT MA. Review of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) epidemiology and toxicology. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2002, **32**, 233-257.
- GAVAZZA A, PRESCIUTTINI S, BARALE R, LUBAS G, GUGLIUCCI B. Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners. *J. Vet. Intern. Med.*, 2001, **15**, 190-195.
- GILLARD M, CADIEU E, DE BRITO C, ABADIE J, VERGIER B, DEVAUCHELLE P *et al.* Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-UV pathways of human melanomas. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2014, **27**, 90-102.
- GILLETTE SM, DEWHIRST MW, GILLETTE EL, THRALL DE, PAGE RL, POWERS BE *et al.* Response of canine soft tissue sarcomas to radiation or radiation plus hyperthermia: a randomized phase II study. *Int. J. Hyperther.*, 1992, **8**, 309-320.
- GINSBERG BA, GALLARDO HF, RASALAN TS, ADAMOW M, MU Z, TANDON S *et al.* Immunologic response to xenogeneic gp100 DNA in melanoma patients: comparison of particle-mediated epidermal delivery with intramuscular injection. *Clin. Cancer Res.*, 2010, **16**, 4057-4065.
- GIRON S, TEJERA AM, RIPOLL GV, GOMEZ DE, ALONSO DF. Desmopressin inhibits lung and lymph node metastasis in a mouse mammary carcinoma model of surgical manipulation. *J. Surg. Oncol.*, 2002, **81**, 38-44.
- GLICKMAN LT, DOMANSKI LM, MAGUIRE TG, DUBIELZIG RR, CHURG A. Mesothelioma in pet dogs associated with exposure of their owners to asbestos. *Environ. Res.*, 1983, **32**, 305-313.
- GLICKMAN LT, RAGHAVAN M, KNAPP DW, BONNEY PL, DAWSON MH. Herbicide exposure and the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004, **224**, 1290-1297.
- GLICKMAN LT, SCHOFER FS, MCKEE LJ, REIF JS, GOLDSCHMIDT MH. Epidemiologic study of insecticide exposures, obesity, and risk of bladder cancer in household dogs. *J. Toxicol. Env. Health*, 1989, **28**, 407-414.
- GOLDSCHMIDT MH, HENDRICK MJ, MEUTEN DJ. Tumors of the Skin and Soft Tissues, *in: Tumors in Domestic Animals*, 4th ed., 2002, Iowa State Press, p. 45-117.
- GONZALEZ M, KRUEGER T, WANG Y, RIS H-B, PETERS S. Métastases pulmonaires : quelle place pour la chirurgie ?. *Chirurgie*, 2012, **346**, 1326-1331.
- GOOD DJ, POLVERINI PJ, RASTINEJAD F, LE BEAU MM, LEMONS RS, FRAZIER WA *et al.* A tumor suppressor-dependent inhibitor of angiogenesis is immunologically and functionally indistinguishable from a fragment of thrombospondin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990, **87**, 6624-6628.
- GOODMAN VL, ROCK EP, DAGHER R, RAMCHANDANI RP, ABRAHAM S, GOBBURU JVS *et al.* Approval summary: sunitinib for the treatment of imatinib refractory or intolerant gastrointestinal stromal tumors and advanced renal cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2007, **13**, 1367-1373.

- GOODSTADT L, PONTING CP. Phylogenetic reconstruction of orthology, paralogy, and conserved synteny for dog and human. *PLoS Comput. Biol.*, 2006, **2**, e133.
- GORDON IK, KHANNA C. Modeling opportunities in comparative oncology for drug development. *ILAR J.*, 2010, **51**, 214-220.
- GORDON I, PAOLONI M, MAZCKO C, KHANNA C. The Comparative Oncology Trials Consortium: Using Spontaneously Occurring Cancers in Dogs to Inform the Cancer Drug Development Pathway. *PLoS Med.*, 2009, **6**, e1000161.
- GORIN NC, NAJMAN A, DUHAMEL G. Autologous bone-marrow transplantation in acute myelocytic leukaemia. *Lancet.* 1977, **1**, 1050.
- GORLICK R, KHANNA C. Osteosarcoma. *J. Bone Miner. Res.*, 2010, **25**, 683-691.
- GOTLIB J. KIT mutations in mastocytosis and their potential as therapeutic targets. *Immunol. Allergy Clin.*, 2006, **26**, 575-592.
- GREENE SN, LUCROY MD, GREENBERG CB, BONNEY PL, KNAPP DW. Evaluation of cisplatin administered with piroxicam in dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2007, **231**, 1056-1060.
- GREGORY-BRYSON E, BARTLETT E, KIUPEL M, HAYES S, YUZBASIYAN-GURKAN V. Canine and human gastrointestinal stromal tumors display similar mutations in c-KIT exon 11. *BMC Cancer*, 2010, **10**, 559.
- GUERLIN M. Synthèse bibliographique critique de l'utilisation clinique des AINS en cancérologie chez les carnivores domestiques. Thèse Méd. Vét., 2013, Toulouse, 122 p.
- GUERTIN DA, SABATINI DM. Defining the Role of mTOR in Cancer. *Cancer Cell*, 2007, **12**, 9-22.
- GUPTA SC, SUNG B, PRASAD S, WEBB LJ, AGGARWAL BB. Cancer drug discovery by repurposing: teaching new tricks to old dogs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2013, **34**, 508-517.
- GUPTA UC, BHATIA S, GARG A, SHARMA A, CHOUDHARY V. Phase 0 clinical trials in oncology new drug development. *Perspect. Clin. Res.*, 2011, **2**, 13-22.
- GUSTAVE ROUSSY. Épidémiologie du cancer en France [En ligne]. (Mise à jour le 09/06/2013). [http://www.gustaveroussy.fr/fr/page/epidemiologie-du-cancer-en-france_81]. (Consulté le 16/02/2014).
- GUTIERREZ ME, KUMMAR S, GIACCONE G. Next generation oncology drug development: opportunities and challenges. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2009, **6**, 259-265.
- GUTMAN M, EVEN-SAPIR E, MERIMSKY O, TREJO L, KLAUSNER JM, LEV-CHELOUCHE D. The role of interleukin-8 in the initiation and progression of human cutaneous melanoma. *Anticancer Res.*, 2002, **22**, 3395-3398.
- GUTOVA M, NAJBAUER J, GEVORGYAN A, METZ MZ, WENG Y, SHIH C-C *et al.* Identification of uPAR-positive chemoresistant cells in small cell lung cancer. *PLoS ONE*, 2007, **2**, e243.
- GUYON R, LORENTZEN TD, HITTE C, KIM L, CADIEU E, PARKER HG, *et al.* A 1-Mb resolution radiation hybrid map of the canine genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2003, **100**, 5296-5301.
- GYORFFY S, RODRIGUEZ-LECOMPTE JC, WOODS JP, FOLEY R, KRUTH S, LIAW PCY, *et al.* Bone

- marrow-derived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 antigen. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005, **19**, 56-63.
- HAHN KA, OGILVIE G, OGLIVIE G, RUSK T, DEVAUCHELLE P, LEBLANC A *et al.* Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, **22**, 1301-1309.
- HAJITOU A, RANGEL R, TREPEL M, SOGHOMONYAN S, GELOVANI JG, ALAUDDIN MM *et al.* Design and construction of targeted AAVP vectors for mammalian cell transduction. *Nat. Protoc.*, 2007, **2**, 523-531.
- HANAHAN D, WEINBERG RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**, 646-674.
- HANSEN AE, KRISTENSEN AT, LAW I, JØRGENSEN JT, ENGELHOLM SA. Hypoxia-inducible factors--regulation, role and comparative aspects in tumourigenesis. *Vet. Comp. Oncol.*, 2011, **9**, 16-37.
- HANSEN K, KHANNA C. Spontaneous and genetically engineered animal models; use in preclinical cancer drug development. *Eur. J. Cancer.*, 2004, **40**, 858-880.
- HARBISON ML, GODLESKI JJ. Malignant mesothelioma in urban dogs. *Vet. Pathol.*, 1983, **20**, 531-540.
- HARDELL L. Pesticides, soft-tissue sarcoma and non-Hodgkin lymphoma--historical aspects on the precautionary principle in cancer prevention. *Acta Oncol.*, 2008, **47**, 347-354.
- HARDY RE, IKPEAZU EV. Bone marrow transplantation: a review. *J. Natl. Med. Assoc.*, 1989, **81**, 518-523.
- HARRIS MB, GIESER P, GOORIN AM, AYALA A, SHOCHAT SJ, FERGUSON WS *et al.* Treatment of metastatic osteosarcoma at diagnosis: a Pediatric Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.*, 1998, **16**, 3641-3648.
- HAYES HM, HOOVER R, TARONE RE. Bladder Cancer in Pet Dogs: A Sentinel for Environmental Cancer ?. *Am. J. Epidemiol.*, 1981, **114**, 229-233.
- HAYES HM, TARONE RE, CANTOR KP. On the Association between Canine Malignant Lymphoma and Opportunity for Exposure to 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Environ. Res.*, 1995, **70**, 119-125.
- HAYES HM, TARONE RE, CANTOR KP, JESSEN CR, MCCURNIN DM, RICHARDSON RC. Case-control study of canine malignant lymphoma: positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1991, **83**, 1226-1231.
- HAYES HM, TARONE RE, CASEY HW, HUXSOLL DL. Excess of seminomas observed in Vietnam service U.S. military working dogs. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, **82**, 1042-1046.
- HAYES RB, RAATGEVER JW, DE BRUYN A, GERIN M. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses, and formaldehyde exposure. *Int. J. Cancer.*, 1986, **37**, 487-492.
- HEAD KW, ELSE RW, DUBIELZIG RR, MEUTEN DJ. Tumors of the Alimentary Tract, in: *Tumors in Domestic Animals*, 4th ed., 2002, Iowa State, Wiley Blackwell, 800 p.
- HEDAN B. Histiocytic sarcoma in dog : a spontaneous model to decipher the genetic bases of a rare aggressive human cancer. Powerpoint. In : *International meeting on comparative oncology*. Nantes, 15-16 Janvier 2014, AVIESAN-ITMO.
- HEDAN B, THOMAS R, MOTSINGER-REIF A, ABADIE J, ANDRE C, CULLEN J *et al.* Molecular cytogenetic characterization of canine histiocytic sarcoma: A spontaneous model for human histiocytic

- cancer identifies deletion of tumor suppressor genes and highlights influence of genetic background on tumor behavior. *BMC Cancer*, 2011, **11**, 201.
- HENRY CJ. Biomarkers in veterinary cancer screening: Applications, limitations and expectations. *Vet. J.*, 2010, **185**, 10-14.
- HERMO GA, TORRES P, RIPOLL GV, SCURSONI AM, GOMEZ DE, ALONSO DF *et al.* Perioperative desmopressin prolongs survival in surgically treated bitches with mammary gland tumours: a pilot study. *Vet. J.*, 2008, **178**, 103-108.
- HERNANDEZ JA, ANDERSON AE Jr, HOLMES WL, FORAKER AG. Pulmonary parenchymal defects in dogs following prolonged cigarette smoke exposure. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1966, **93**, 78-83.
- HERSHEY AE, KURZMAN ID, FORREST LJ, BOHLING CA, STONEROOK M, PLACKE ME *et al.* Inhalation chemotherapy for macroscopic primary or metastatic lung tumors: proof of principle using dogs with spontaneously occurring tumors as a model. *Clin. Cancer Res.*, 1999, **5**, 2653-2659.
- HINDORFF LA, SETHUPATHY P, JUNKINS HA, RAMOS EM, MEHTA JP, COLLINS FS *et al.* Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2009, **106**, 9362-9367.
- HITTE C, MADEOY J, KIRKNESS EF, PRIAT C, LORENTZEN TD, SENGHER F *et al.* Facilitating genome navigation: survey sequencing and dense radiation-hybrid gene mapping. *Nat. Rev. Genet.*, 2005, **6**, 643-648.
- HOGGE GS, BURKHOLDER JK, CULP J, ALBERTINI MR, DUBIELZIG RR, KELLER ET *et al.* Development of Human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Transfected Tumor Cell Vaccines for the Treatment of Spontaneous Canine Cancer. *Hum. Gene Ther.*, 1998, **9**, 1851-1861.
- HOGGE GS, BURKHOLDER JK, CULP J, ALBERTINI MR, DUBIELZIG RR, YANG NS *et al.* Preclinical development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected melanoma cell vaccine using established canine cell lines and normal dogs. *Cancer Gene Ther.*, 1999, **6**, 26-36.
- HOLZWARTH JA, MIDDLETON RP, ROBERTS M, MANSOURIAN R, RAYMOND F, HANNAH SS. The Development of a High-Density Canine Microarray. *J. Hered.*, 2005, **96**, 817-820.
- HONG S-H, OSBORNE T, REN L, BRIGGS J, MAZCKO C, BURKETT SS *et al.* Protein kinase C regulates ezrin-radixin-moesin phosphorylation in canine osteosarcoma cells. *Vet. Comp. Oncol.*, 2011, **9**, 207-218.
- HORVATH G, JÄRVERUD GAK, JÄRVERUD S, HORVÁTH I. Human ovarian carcinomas detected by specific odor. *Integr. Cancer Ther.*, 2008, **7**, 76-80.
- HOUGHTON PJ, MORTON CL, GORLICK R, LOCK RB, CAROL H, REYNOLDS CP *et al.* Stage 2 combination testing of rapamycin with cytotoxic agents by the Pediatric Preclinical Testing Program. *Mol. Cancer Ther.*, 2010, **9**, 101-112.
- HOUGHTON PJ, MORTON CL, KOLB EA, GORLICK R, LOCK R, CAROL H *et al.* Initial testing (stage 1) of the mTOR inhibitor rapamycin by the pediatric preclinical testing program. *Pediatr. Blood Cancer*, 2008, **50**, 799-805.
- HOUGHTON PJ, MORTON CL, TUCKER C, PAYNE D, FAVOURS E, COLE C *et al.* The pediatric preclinical testing program: description of models and early testing results. *Pediatr. Blood Cancer*, 2007, **49**, 928-940.

- HUNTER KW. Ezrin, a key component in tumor metastasis. *Trends Mol. Med*, 2004, **10**, 201-204.
- IMBAULT-HUART M-J. *Histoire du cancer*. 1984, Histoire, Paris, France.
- INCa. La destruction tumorale percutanée : la radiofréquence. [En ligne]. [<http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-foie/radiofrequence>]. (Consulté le 10/10/2014).
- INCa. Publication de la situation de la chimiothérapie des cancers en 2011. [En ligne]. (Mise à jour le 03/07/2012). [<http://www.e-cancer.fr/toutes-les-actualites/7063-publication-de-la-situation-de-la-chimiotherapie-des-cancers-en-2011>]. (Consulté le 24/09/2014).
- INOUE K, SLATON JW, EVE BY, KIM SJ, PERROTTE P, BALBAY MD *et al*. Interleukin 8 expression regulates tumorigenicity and metastases in androgen-independent prostate cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2000, **6**, 2104-2119.
- INSERM et INCa. La médecine personnalisée du cancer à portée de mains. [En ligne]. (Créé en Novembre 2012). [<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/la-medecine-personnalisee-du-cancer-a-portee-de-mains>]. (Consulté le 28/05/2014).
- INVS et INCa. Les chiffres clés du cancer. [En ligne]. (Mise à jour le 16/04/2013). [http://www.ligue-cancer.net/article/6397_les-chiffres-cles-des-cancers#.UwD0evl5MrU]. (Consulté le 16/02/2014).
- IRIGARAY P, NEWBY JA, CLAPP R, HARDELL L, HOWARD V, MONTAGNIER L *et al*. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed. Pharmacother.*, 2007, **61**, 640-658.
- ITO D, FRANTZ AM, MODIANO JF. Canine lymphoma as a comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2014, **159**, 192-201.
- JACOLOT M. Les cellules souches cancéreuses, origines du cancer ? Hypothèses, caractéristiques et implications thérapeutiques en médecine humaine et vétérinaire. Thèse Méd. Vét., 2013, Alfort, 86 p.
- JEGLUM KA. Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1996, **26**, 73-85.
- JEGLUM KA. The history and future of canine lymphoma monoclonal antibody 231. *Cancer. Ther.*, 2009, **7**, 59-62.
- JENTZMIK F, STEPHAN C, MILLER K, SCHRADER M, ERBERSDOBLER A, KRISTIANSEN G *et al*. Sarcosine in Urine after Digital Rectal Examination Fails as a Marker in Prostate Cancer Detection and Identification of Aggressive Tumours. *Eur. Urol.*, 2010, **58**, 12-18.
- JIMENO A, RUDEK MA, KULESZA P, MA WW, WHEELHOUSE J, HOWARD A *et al*. Pharmacodynamic-guided modified continuous reassessment method-based, dose-finding study of rapamycin in adult patients with solid tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2008, **26**, 4172-4179.
- JÓNASDÓTTIR TJ, MELLERSH CS, MOE L, HEGGEBØ R, GAMLEM H, OSTRANDER EA *et al*. Genetic mapping of a naturally occurring hereditary renal cancer syndrome in dogs. *PNAS*. 2000, **97**, 4132-4137.
- JUILLARD A. Place des méthodes de conservation du membre dans le traitement de l'ostéosarcome appendiculaire chez le chien étude bibliographique et applicabilité à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. Thèse Méd. Vét., 2010, Lyon, 110 p.
- KAIRA K, ORIUCHI N, IMAI H, SHIMIZU K, YANAGITANI N, SUNAGA N *et al*. l-type amino acid transporter 1 and CD98 expression in primary and metastatic sites of human neoplasms. *Cancer Sci.*, 2008,

99, 2380-2386.

- KALARITI N, LEMBESSIS P, PAPAGEORGIOU E, PISSIMISSIS N, KOUTSILIERIS M. Regulation of the mGluR5, EAAT1 and GS expression by glucocorticoids in MG-63 osteoblast-like osteosarcoma cells. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.*, 2007, **7**, 113-118.
- KAMB A, WEE S, LENGAUER C. Why is cancer drug discovery so difficult?. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007, **6**, 115-120.
- KANEENE JB, MILLER R. Re-analysis of 2,4-D use and the occurrence of canine malignant lymphoma. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1999, **41**, 164-170.
- KANSARA M, THOMAS DM. Molecular pathogenesis of osteosarcoma. *DNA Cell Biol.*, 2007, **26**, 1-18.
- KARAYANNOPOULOU M, KALDRYMIDOU E, CONSTANTINIDIS TC, DESSIRIS A. Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 2001, **48**, 85-96.
- KARLSSON EK, LINDBLAD-TOH K. Leader of the pack: gene mapping in dogs and other model organisms. *Nat. Rev. Gen.*, 2008, **9**, 713-725.
- KARLSSON EK, SIGURDSSON S, IVANSSON E, THOMAS R, ELVERS I, WRIGHT J *et al.* Genome-wide analyses implicate 33 loci in heritable dog osteosarcoma, including regulatory variants near CDKN2A/B. *Genome Biol.*, 2013, **14**, R132.
- KELSEY JL, MOORE AS, GLICKMAN LT. Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pet dogs. *Epidemiol. Rev.*, 1998, **20**, 204-217.
- KHANNA C. Novel targets with potential therapeutic applications in osteosarcoma. *Curr. Oncol. Rep.*, 2008, **10**, 350-358.
- KHANNA C. Comparative Oncology Program. Powerpoint. In : *International meeting on comparative oncology*. Nantes, 15-16 Janvier 2014, AVIESAN-ITMO.
- KHANNA C, ANDERSON PM, HASZ DE, KATSANIS E, NEVILLE M, KLAUSNER JS. Interleukin-2 liposome inhalation therapy is safe and effective for dogs with spontaneous pulmonary metastases. *Cancer*, 1997a, **79**, 1409-1421.
- KHANNA C, FAN TM, GORLICK R, HELMAN LJ, KLEINERMAN ES, ADAMSON PC *et al.* Toward a drug development path that targets metastatic progression in osteosarcoma. *Clin. Cancer Res.*, 2014, **20**, 4200-4209.
- KHANNA C, GORDON I. Catching Cancer by the Tail: New Perspectives on the Use of Kinase Inhibitors. *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**, 3645-3647.
- KHANNA C, HASZ DE, KLAUSNER JS, ANDERSON PM. Aerosol delivery of interleukin 2 liposomes is nontoxic and biologically effective: canine studies. *Clin. Cancer Res.*, 1996, **2**, 721-734.
- KHANNA C, HUNTER K. Modeling metastasis in vivo. *Carcinogenesis*, 2005, **26**, 513-523.
- KHANNA C, KHAN J, NGUYEN P, PREHN J, CAYLOR J, YEUNG C *et al.* Metastasis-associated differences in gene expression in a murine model of osteosarcoma. *Cancer Res.*, 2001, **61**, 3750-3759.
- KHANNA C, LONDON C, VAIL D, MAZCKO C, HIRSCHFELD S. Guiding the optimal translation of new

- cancer treatments from canine to human cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**, 5671-5677.
- KHANNA C, PREHN J, HAYDEN D, CASSADAY RD, CAYLOR J, JACOB S *et al.* A Randomized Controlled Trial of Octreotide Pamoate Long-acting Release and Carboplatin versus Carboplatin Alone in Dogs with Naturally Occurring Osteosarcoma Evaluation of Insulin-like Growth Factor Suppression and Chemotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 2002, **8**, 2406-2412.
- KHANNA C, VAIL DM. Targeting the lung: preclinical and comparative evaluation of anticancer aerosols in dogs with naturally occurring cancers. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2003, **3**, 265-273.
- KHANNA C, WALDREP JC, ANDERSON PM, WEISCHELBAUM RW, HASZ DE, KATSANIS E *et al.* Nebulized interleukin 2 liposomes: aerosol characteristics and biodistribution. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1997b, **49**, 960-971.
- KHANNA C, WAN X, BOSE S, CASSADAY R, OLOMU O, MENDOZA A *et al.* The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. *Nat. Med.*, 2004, **10**, 182-186.
- KIM SY, TORETSKY JA, SCHER D, HELMAN LJ. The Role of IGF-1R in Pediatric Malignancies. *Oncologist*, 2009, **14**, 83-91.
- KINDERS R, PARCHMENT RE, JI J, KUMMAR S, MURGO AJ, GUTIERREZ M *et al.* Phase 0 clinical trials in cancer drug development: from FDA guidance to clinical practice. *Mol. Interv.*, 2007, **7**, 325-334.
- KLEINERMAN ES, GANO JB, JOHNSTON DA, BENJAMIN RS, JAFFE N. Efficacy of liposomal muramyl tripeptide (CGP 19835A) in the treatment of relapsed osteosarcoma. *Am. J. Clin. Oncol.*, 1995, **18**, 93-99.
- KLEINERMAN ES, JIA SF, GRIFFIN J, SEIBEL NL, BENJAMIN RS, JAFFE N. Phase II study of liposomal muramyl tripeptide in osteosarcoma: the cytokine cascade and monocyte activation following administration. *J. Clin. Oncol.*, 1992, **10**, 1310-1316.
- KLEINERMAN ES, MAEDA M, JAFFE N. Liposome-encapsulated muramyl tripeptide: a new biologic response modifier for the treatment of osteosarcoma. *Cancer Treat. Res.*, 1993, **62**, 101-107.
- KLÜMPEN H-J, BEIJNEN JH, GURNEY H, SCHELLENS JHM. Inhibitors of mTOR. *Oncologist*, 2010, **15**, 1262-1269.
- KNAPP DW, GLICKMAN NW, DENICOLA DB, BONNEY PL, LIN TL, GLICKMAN LT. Naturally-occurring canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder A relevant model of human invasive bladder cancer. *Urol. Oncol.*, 2000a, **5**, 47-59.
- KNAPP DW, GLICKMAN NW, WIDMER WR, DENICOLA DB, ADAMS LG, KUCZEK T *et al.* Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2000b, **46**, 221-226.
- KNAPP DW, RICHARDSON RC, BOTTOMS GD, TECLAW R, CHAN TC. Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1992, **29**, 214-218.
- KNAPP DW, RICHARDSON RC, CHAN TC, BOTTOMS GD, WIDMER WR, DENICOLA DB *et al.* Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, **8**, 273-278.
- KNAPP DW, WATERS DJ. Naturally occurring cancer in pet dogs: important models for developing improved cancer therapy for humans. *Mol. Med. Today*, 1997, **3**, 8-11.

- KOLA I, LANDIS J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2004, **3**, 711-716.
- KUMMAR S, GUTIERREZ M, DOROSHOW JH, MURGO AJ. Drug development in oncology: classical cytotoxics and molecularly targeted agents. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2006, **62**, 15-26.
- KUMMAR S, RUBINSTEIN L, KINDERS R, PARCHMENT RE, GUTIERREZ ME, MURGO AJ *et al.* Phase 0 clinical trials: conceptions and misconceptions. *Cancer J.*, 2008, **14**, 133-137.
- KURZMAN ID, MACEWEN EG, ROSENTHAL RC, FOX LE, KELLER ET, HELFAND SC *et al.* Adjuvant therapy for osteosarcoma in dogs: results of randomized clinical trials using combined liposome-encapsulated muramyl tripeptide and cisplatin. *Clin. Cancer Res.*, 1995, **1**, 1595-1601.
- LADIGES WC, STORB R, THOMAS ED. Canine models of bone marrow transplantation. *Lab. Anim. Sci.*, 1990, **40**, 11-15.
- LANA SE, OGILVIE GK, HANSEN RA, POWERS BE, DERNELL WS, WITHROW SJ. Identification of matrix metalloproteinases in canine neoplastic tissue. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, **61**, 111-114.
- LANE DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*, 1992, **358**, 15-16.
- LAPIDOT T, SIRARD C, VORMOOR J, MURDOCH B, HOANG T, CACERES-CORTES J *et al.* A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 1994, **367**, 645-648.
- LAPLANTE M, SABATINI DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 2012, **149**, 274-293.
- LARTIGUE D. Les modèles murins de cancer du sein : synthèse bibliographique et contribution à la constitution d'une banque de xénogreffes de tumeurs primaires dérivées de patientes. Thèse Méd. Vét., 2013, Toulouse, 93 p.
- LARUE SM, WITHROW SJ, POWERS BE, WRIGLEY RH, GILLETTE EL, SCHWARZ PD *et al.* Limb-sparing treatment for osteosarcoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1989, **195**, 1734-1744.
- LASOTA J, MIETTINEN M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Semin. Diagn. Pathol.*, 2006, **23**, 91-102.
- LE CESNE A, BLAY J-Y, BUI BN, BOUCHÉ O, ADENIS A, DOMONT J *et al.* Phase II study of oral masitinib mesilate in imatinib-naïve patients with locally advanced or metastatic gastro-intestinal stromal tumour (GIST). *Eur. J. Cancer*, 2010, **46**, 1344-1351.
- LEE C-H, KIM W-H, LIM J-H, KANG M-S, KIM D-Y, KWEON O-K. Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. *J. Vet. Sci.*, 2004, **5**, 63-69.
- LEJEUNE A. Cancérologie appliquée aux sarcomes chez le chien, étude clinique, pronostic et modalités thérapeutiques. Thèse Méd. Vét., 2008, Alfort, 130 p.
- LE FIGARO. AB Science: poursuite de l'étude de phase 3 du masitinib. [En ligne]. (Mise à jour le 30/09/2014). [<http://bourse.lefigaro.fr/indices-actions/actu-conseils/ab-science-poursuite-de-l-etude-de-phase-3-du-masitinib-2221489>]. (Consulté le 3/10/2014).
- LEONARD JA, WAYNE RK, WHEELER J, VALADEZ R, GUILLÉN S, VILÀ C. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. *Science*. 2002, **298**, 1613-1616.
- LEQUARRÉ A-S, ANDERSSON L, ANDRÉ C, FREDHOLM M, HITTE C, LEEB T *et al.* LUPA: a European

- initiative taking advantage of the canine genome architecture for unravelling complex disorders in both human and dogs. *Vet. J.*, 2011, **189**, 155-159.
- LEVINE RA, FOREST T, SMITH C. Tumor suppressor PTEN is mutated in canine osteosarcoma cell lines and tumors. *Vet. Pathol.*, 2002, **39**, 372-378.
- LIAO JCF, GREGOR P, WOLCHOK JD, ORLANDI F, CRAFT D, LEUNG C *et al.* Vaccination with human tyrosinase DNA induces antibody responses in dogs with advanced melanoma. *Cancer Immun.*, 2006, **6**, 8.
- LINDBLAD-TOH K, WADE CM, MIKKELSEN TS, KARLSSON EK, JAFFE DB, KAMAL M *et al.* Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 2005a, **438**, 803-819.
- LINGAAS F, COMSTOCK KE, KIRKNESS EF, SØRENSEN A, AARSKAUG T, HITTE C *et al.* A mutation in the canine BHD gene is associated with hereditary multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd dog. *Hum. Mol. Genet.*, 2003, **12**, 3043-3053.
- LIPTON A, HARVEY HA, BALCH CM, ANTLE CE, HECKARD R, BARTOLUCCI AA. *Corynebacterium parvum* versus bacille Calmette-Guérin adjuvant immunotherapy of stage II malignant melanoma. *J. Clin. Oncol.*, 1991, **9**, 1151-1156.
- LIU MA. DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. *Immunol. Rev.*, 2011, **239**, 62-84.
- LIUM B, MOE L. Hereditary multifocal renal cystadenocarcinomas and nodular dermatofibrosis in the German shepherd dog: macroscopic and histopathologic changes. *Vet. Pathol.*, 1985, **22**, 447-455.
- LONDON CA, GALLI SJ, YUUKI T, HU ZQ, HELFAND SC, GEISLER EN. Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp. Hematol.*, 1999, **27**, 689-697.
- LONDON CA, HANNAH AL, ZADOVOSKAYA R, CHIEN MB, KOLLIAS-BAKER C, ROSENBERG M *et al.* Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clin. Cancer Res.*, 2003, **9**, 2755-2768.
- LONDON CA, KISSEBERTH WC, GALLI SJ, GEISLER EN, HELFAND SC. Expression of stem cell factor receptor (c-kit) by the malignant mast cells from spontaneous canine mast cell tumours. *J. Comp. Pathol.*, 1996, **115**, 399-414.
- LONDON CA, MALPAS PB, WOOD-FOLLIS SL, BOUCHER JF, RUSK AW, ROSENBERG MP *et al.* Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**, 3856-3865.
- MACEWEN EG. Spontaneous tumors in dogs and cats: models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer Metast. Rev.*, 1990, **9**, 125-136.
- MACEWEN EG, KURZMAN ID, HELFAND S, VAIL D, LONDON C, KISSEBERTH W *et al.* Current studies of liposome muramyl tripeptide (CGP 19835A lipid) therapy for metastasis in spontaneous tumors: a progress review. *J. Drug Target.*, 1994, **2**, 391-396.
- MACEWEN EG, KURZMAN ID, ROSENTHAL RC, SMITH BW, MANLEY PA, ROUSH JK *et al.* Therapy for osteosarcoma in dogs with intravenous injection of liposome-encapsulated muramyl tripeptide. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1989, **81**, 935-938.
- MACEWEN EG, KURZMAN ID, VAIL DM, DUBIELZIG RR, EVERLITH K, MADEWELL BR *et al.* Adjuvant therapy for melanoma in dogs: results of randomized clinical trials using surgery, liposome-

- encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.*, 1999, **5**, 4249-4258.
- MACEWEN EG, PATNAIK AK, HARVEY HJ, HAYES AA, MATUS R. Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.*, 1986, **4**, 397-402.
- MACK GS. Cancer researchers usher in dog days of medicine. *Nat. Med.*, 2005, **11**, 1018-1018.
- MACK GS. Clinical trials going to the dogs: canine program to study tumor treatment, biology. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2006, **98**, 161-162.
- MAGNANI C, DALMASSO P, BIGGERI A, IVALDI C, MIRABELLI D, TERRACINI B. Increased risk of malignant mesothelioma of the pleura after residential or domestic exposure to asbestos: a case-control study in Casale Monferrato, Italy. *Environ. Health Perspect.*, 2001, **109**, 915-919.
- MAHÉ A. Etude comparée du cancer du sein et des tumeurs mammaires chez la chienne. Thèse Méd. Vét., 2010, Nantes, 207 p.
- MÄKITIE T, CARPÉN O, VAHERI A, KIVELÄ T. Ezrin as a prognostic indicator and its relationship to tumor characteristics in uveal malignant melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001, **42**, 2442-2449.
- MALVEZZI M, BERTUCCIO P, LEVI F, LA VECCHIA C, NEGRI E. European cancer mortality predictions for the year 2013. *Ann. Oncol.*, 2013, **24**, 792-800.
- MANNELLO F, TONTI G, PAPA S. Matrix metalloproteinase inhibitors as anticancer therapeutics. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2005, **5**, 285-298.
- MANSKY PJ, LIEWEHR DJ, STEINBERG SM, CHROUSOS GP, AVILA NA, LONG L *et al.* Treatment of metastatic osteosarcoma with the somatostatin analog OncoLar: significant reduction of insulin-like growth factor-1 serum levels. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2002, **24**, 440-446.
- MAN T-K, CHINTAGUMPALA M, VISVANATHAN J, SHEN J, PERLAKY L, HICKS J *et al.* Expression profiles of osteosarcoma that can predict response to chemotherapy. *Cancer Res.*, 2005, **65**, 8142-8150.
- MARCHAND C. Le chien sentinelle du risque sanitaire d'origine environnementale pour la santé humaine: le contre-exemple des tumeurs mammaires. Thèse Méd. Vét., 2011, Alfort, 139 p.
- MARCONATO L, GELAIN ME, COMAZZI S. The dog as a possible animal model for human non-Hodgkin lymphoma: a review. *Hematol. Oncol.*, 2013, **31**, 1-9.
- MARCONATO L, LEO C, GIRELLI R, SALVI S, ABRAMO F, BETTINI G *et al.* Association between waste management and cancer in companion animals. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009, **23**, 564-569.
- MARECH I, PATRUNO R, ZIZZO N, GADALETA C, INTRONA M, ZITO AF *et al.* Masitinib (AB1010), from canine tumor model to human clinical development: Where we are?. *Cr. Rev. Oncol-Hem.*, 2014, **91**, 98-111.
- MARINA N, GEBHARDT M, TEOT L, GORLICK R. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *Oncologist*, 2004, **9**, 422-441.
- MARTIN TA, HARRISON G, MANSEL RE, JIANG WG. The role of the CD44/ezrin complex in cancer metastasis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2003, **46**, 165-186.
- MATHAROO-BALL B, MILES AK, CREASER CS, BALL G, REES R. Serum biomarker profiling in cancer

- studies: a question of standardisation?. *Vet. Comp. Oncol.*, 2008, **6**, 224-247.
- MAYR B, REIFINGER M. Canine tumour suppressor gene p53 mutation in a case of anaplastic carcinoma of the intestine. *Acta Vet. Hung.*, 2002, **50**, 31-35.
- MCCAW DL, CHAN AS, STEGNER AL, MOONEY B, BRYAN JN, TURNQUIST SE *et al.* Proteomics of canine lymphoma identifies potential cancer-specific protein markers. *Clin. Cancer Res.*, 2007, **13**, 2496-2503.
- MCCULLOCH M, JEZIERSKI T, BROFFMAN M, HUBBARD A, TURNER K, JANECKI T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integr. Cancer Ther.*, 2006, **5**, 30-39.
- MCGAHAN JP, BROCK JM, TESLUK H, GU WZ, SCHNEIDER P, BROWNING PD. Hepatic ablation with use of radio-frequency electrocautery in the animal model. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 1992, **3**, 291-297.
- MELLERSH CS, LANGSTON AA, ACLAND GM, FLEMING MA, RAY K, WIEGAND NA *et al.* A Linkage Map of the Canine Genome. *Genomics*, 1997, **46**, 326-336.
- MENDOZA M, KHANNA C. Revisiting the seed and soil in cancer metastasis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009, **41**, 1452-1462.
- MENDOZA S, KONISHI T, DERNELL WS, WITHROW SJ, MILLER CW. Status of the p53, Rb and MDM2 genes in canine osteosarcoma. *Anticancer Res.*, 1998, **18**, 4449-4453.
- MERLO DF, ROSSI L, PELLEGRINO C, CEPPI M, CARDELLINO U, CAPURRO C *et al.* Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, **22**, 976-984.
- MEYERS PA, SCHWARTZ CL, KRAILO MD, HEALEY JH, BERNSTEIN ML, BETCHER D *et al.* Osteosarcoma: the addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival--a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol.*, 2008, **26**, 633-638.
- MILLAR AW, LYNCH KP. Rethinking clinical trials for cytostatic drugs. *Nat. Rev. Cancer*, 2003, **3**, 540-545.
- MILLER DR. A tribute to Sidney Farber – the father of modern chemotherapy. *Brit. J. Haematol.*, 2006, **134**, 20-26.
- MILLWARD MJ, HOUSE C, BOWTELL D, WEBSTER L, OLVER IN, GORE M *et al.* The multikinase inhibitor midostaurin (PKC412A) lacks activity in metastatic melanoma: a phase IIA clinical and biologic study. *Br. J. Cancer*, 2006, **95**, 829-834.
- MIRABELLO L, TROISI RJ, SAVAGE SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. *Cancer*, 2009, **115**, 1531-1543.
- MITRY E, HAMMEL P, DEPLANQUE G, MORNEX F, LEVY P, SEITZ J-F *et al.* Safety and activity of masitinib in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2010, **66**, 395-403.
- MOBASHERI A, CASSIDY JP. Biomarkers in veterinary medicine: Towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Vet. J.*, 2010, **185**, 1-3.
- MODIANO JF, BREEN M, BURNETT RC, PARKER HG, INUSAH S, THOMAS R *et al.* Distinct B-cell and T-cell lymphoproliferative disease prevalence among dog breeds indicates heritable risk. *Cancer Res.*, 2005, **65**, 5654-5661.

- MOHAMMED SI, BENNETT PF, CRAIG BA, GLICKMAN NW, MUTSAERS AJ, SNYDER PW *et al.* Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Res.*, 2002, **62**, 356-358.
- MOLLARD S, MOUSSEAU Y, BAAJ Y, RICHARD L, COOK-MOREAU J, MONTEIL J *et al.* How can grafted breast cancer models be optimized?. *Cancer Biol. Ther.*, 2011, **12**, 855-864.
- MOORE AS, DERNELL WS, OGILVIE GK, KRISTAL O, ELMSLIE R, KITCHELL B *et al.* Doxorubicin and BAY 12-9566 for the treatment of osteosarcoma in dogs: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Vet. Intern. Med.*, 2007, **21**, 783-790.
- MORAND S. Virothérapie anticancéreuse chez les carnivores domestiques : actualités bibliographiques. Thèse Méd. Vét., 2010, Toulouse, 104 p.
- MORELLO E, VASCONI E, MARTANO M, PEIRONE B, BURACCO P. Pasteurized tumoral autograft and adjuvant chemotherapy for the treatment of canine distal radial osteosarcoma: 13 cases. *Vet. Surg.*, 2003, **32**, 539-544.
- MORGANT C. Les inhibiteurs de tyrosines kinases en cancérologie vétérinaire: actualité chez le chien et comparaison avec l'homme. Thèse Méd. Vét., 2011, Lyon, France, 149 p.
- MORGES MA, BURTON JH, SABA CF, VAIL DM, BURGESS KE, THAMM DH. Phase II Evaluation of VDC-1101 in Canine Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 2014, **28**, 1569-1574.
- MORI K, ANDO K, HEYMANN D. Liposomal muramyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine: a safe and effective agent against osteosarcoma pulmonary metastases. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2008, **8**, 151-159.
- Morris Animal Foundation. MAF homepage. [En ligne]. (Date de mise à jour en Octobre 2014). [<http://www.morrisanimalfoundation.org/>]. (Consulté le 20/09/2014).
- MOTZER RJ, ESCUDIER B, OUDARD S, HUTSON TE, PORTA C, BRACARDA S *et al.* Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet*, 2008, **372**, 449-456.
- MOURA DS, SULTAN S, GEORGIN-LAVIALLE S, PILLET N, MONTESTRUC F, GINESTE P *et al.* Depression in Patients with Mastocytosis: Prevalence, Features and Effects of Masitinib Therapy. *PLoS ONE*, 2011, **6**, e26375.
- MUELLER F, FUCHS B, KASER-HOTZ B. Comparative biology of human and canine osteosarcoma. *Anticancer Res.*, 2007, **27**, 155-164.
- MURRAY JL, KLEINERMAN ES, CUNNINGHAM JE, TATOM JR, ANDREJCIO K, LEPE-ZUNIGA J *et al.* Phase I trial of liposomal muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine in cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, 1989, **7**, 1915-1925.
- MUTSAERS AJ, GLICKMAN NW, DENICOLA DB, WIDMER WR, BONNEY PL, HAHN KA *et al.* Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2002, **220**, 1813-1817.
- NARANG AS, DESAI DS. Anticancer Drug Development, in: LU Y, MAHATO RI. *Pharmaceutical Perspectives of Cancer Therapeutics*, 2009, Springer US, New York, 49-92.
- NARDIN A, LEFEBVRE M-L, LABROQUÈRE K, FAURE O, ABASTADO J-P. Liposomal muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine: Targeting and activating macrophages for adjuvant treatment of

- osteosarcoma. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2006, **6**, 123-133.
- NASIR L. Telomeres and telomerase: Biological and clinical importance in dogs. *Vet. J.*, 2008, **175**, 155-163.
- NATURE.COM. Lymphoid neoplasms associated with concurrent t(14 ;18) and 8q24/c-MYC translocation generally have a poor prognosis. [En ligne]. (Mise à jour en 2014). [http://www.nature.com/modpathol/journal/v19/n1/fig_tab/3800500f3.html]. (Consulté le 23/04/2014).
- NICKERSON ML, WARREN MB, TORO JR, MATROSOVA V, GLENN G, TURNER ML *et al.* Mutations in a novel gene lead to kidney tumors, lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Cell*, 2002, **2**, 157-164.
- NIELSEN TO, HSU FD, JENSEN K, CHEANG M, KARACA G, HU Z *et al.* Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2004, **10**, 5367-5374.
- NORDEN-ZFONI A, DESAI J, MANOLA J, BEAUDRY P, FORCE J, MAKI R *et al.* Blood-based biomarkers of SU11248 activity and clinical outcome in patients with metastatic imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *Clin. Cancer Res.*, 2007, **13**, 2643-2650.
- O'BRIEN CA, POLLETT A, GALLINGER S, DICK JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 2007, **445**, 106-110.
- O'BRIEN DJ, KANEENE JB, POPPENG RH. The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. *Environ. Health Perspect.*, 1993, **99**, 351-368.
- O'BRIEN MG, STRAW RC, WITHROW SJ, POWERS BE, JAMESON VJ, LAFFERTY M *et al.* Resection of pulmonary metastases in canine osteosarcoma: 36 cases (1983-1992). *Vet. Surg.*, 1993, **22**, 105-109.
- O'DONOGHUE LE, PTITSYN AA, KAMSTOCK DA, SIEBERT J, THOMAS RS, DUVAL DL. Expression profiling in canine osteosarcoma: identification of biomarkers and pathways associated with outcome. *BMC Cancer*, 2010, **10**, 506.
- OHTANI K, SAKAMOTO H, RUTHERFORD T, CHEN Z, KIKUCHI A, YAMAMOTO T *et al.* Ezrin, a membrane-cytoskeletal linking protein, is highly expressed in atypical endometrial hyperplasia and uterine endometrioid adenocarcinoma. *Cancer Lett.*, 2002, **179**, 79-86.
- OMHOLT K, PLATZ A, KANTER L, RINGBORG U, HANSSON J. NRAS and BRAF mutations arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin. Cancer Res.*, 2003, **9**, 6483-6488.
- ONIONS DE. A prospective survey of familial canine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1984, **72**, 909-912.
- ORENSTEIN MR, SCHENKER MB. Environmental asbestos exposure and mesothelioma. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2000, **6**, 371-377.
- OSBORNE TS, KHANNA C. A review of the association between osteosarcoma metastasis and protein translation. *J. Comp. Pathol.*, 2012, **146**, 132-142.
- OSTRANDER EA, WAYNE RK. The canine genome. *Genome Res.*, 2005, **15**, 1706-1716.
- OTTERSON GA, VILLALONA-CALERO MA, HICKS W, PAN X, ELLERTON JA, GETTINGER SN *et al.* Phase I/II study of inhaled doxorubicin combined with platinum-based therapy for advanced non-small cell

- lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2010, **16**, 2466-2473.
- OTTERSON GA, VILLALONA-CALERO MA, SHARMA S, KRIS MG, IMONDI A, GERBER M *et al.* Phase I study of inhaled Doxorubicin for patients with metastatic tumors to the lungs. *Clin. Cancer Res.*, 2007, **13**, 1246-1252.
- PADGETT GA, MADEWELL BR, KELLER ET, JODAR L, PACKARD M. Inheritance of histiocytosis in Bernese mountain dogs. *J. Small Anim. Pract.*, 1995, **36**, 93-98.
- PAGET S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metast. Rev.*, 1989, **8**, 98-101.
- PALKA JA, PHANG JM. Prolidase in human breast cancer MCF-7 cells. *Cancer Lett.*, 1998, **127**, 63-70.
- PANG LY, ARGYLE DJ. Using naturally occurring tumours in dogs and cats to study telomerase and cancer stem cell biology. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2009, **1792**, 380-391.
- PANG LY, GATENBY EL, KAMIDA A, WHITELAW BA, HUPP TR, ARGYLE DJ. Global Gene Expression Analysis of Canine Osteosarcoma Stem Cells Reveals a Novel Role for COX-2 in Tumour Initiation. *PLoS ONE*, 2014, **9**, e83144.
- PANTEL K, ALIX-PANABIÈRES C, RIETHDORF S. Cancer micrometastases. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2009, **6**, 339-351.
- PAOLONI M, KHANNA C. Comparative Oncology Today. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 2007, **37**, 1023-1032.
- PAOLONI M, KHANNA C. Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. *Nat. Rev. Cancer*, 2008, **8**, 147-156.
- PAOLONI M, DAVIS S, LANA S, WITHROW S, SANGIORGI L, PICCI P *et al.* Canine tumor cross-species genomics uncovers targets linked to osteosarcoma progression. *BMC Genomics*, 2009a, **10**, 625.
- PAOLONI M, LANA S, THAMM D, MAZCKO C, WITHROW S. The creation of the Comparative Oncology Trials Consortium Pharmacodynamic Core: Infrastructure for a virtual laboratory. *Vet. J.*, 2010a, **185**, 88-89.
- PAOLONI M, MAZCKO C, FOX E, FAN T, LANA S, KISSEBERTH W *et al.* Rapamycin pharmacokinetic and pharmacodynamic relationships in osteosarcoma: a comparative oncology study in dogs. *PLoS ONE*, 2010b, **5**, e11013.
- PAOLONI M, TANDLE A, MAZCKO C, HANNA E, KACHALA S, LEBLANC A *et al.* Launching a novel preclinical infrastructure: comparative oncology trials consortium directed therapeutic targeting of TNFalpha to cancer vasculature. *PLoS ONE*, 2009b, **4**, e4972.
- PAOLONI M, WEBB C, MAZCKO C, CHERBA D, HENDRICKS W, LANA S *et al.* Prospective Molecular Profiling of Canine Cancers Provides a Clinically Relevant Comparative Model for Evaluating Personalized Medicine (PMed) Trials. *PLoS ONE*, 2014, **9**, e90028.
- PARKER HG, KIM LV, SUTTER NB, CARLSON S, LORENTZEN TD, MALEK TB *et al.* Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science*, 2004, **304**, 1160-1164.
- PARODI AL, MISDORP W, MIALOT JP, MIALOT M, HART AA, HURTREL M *et al.* Intratumoral BCG and *Corynebacterium parvum* therapy of canine mammary tumours before radical mastectomy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1983, **15**, 172-177.

- PATRUNO R, ARPAIA N, GADALETA CD, PASSANTINO L, ZIZZO N, MISINO A *et al.* VEGF concentration from plasma-activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *J. Cell. Mol. Med.*, 2009, **13**, 555-561.
- PAUL C, SANS B, SUAREZ F, CASASSUS P, BARETE S, LANTERNIER F *et al.* Masitinib for the treatment of systemic and cutaneous mastocytosis with handicap: a phase 2a study. *Am. J. Hematol.*, 2010, **85**, 921-925.
- PERALES M-A, YUAN J, POWEL S, GALLARDO HF, RASALAN TS, GONZALEZ C *et al.* Phase I/II study of GM-CSF DNA as an adjuvant for a multi-peptide cancer vaccine in patients with advanced melanoma. *Mol. Ther.*, 2008, **16**, 2022-2029.
- PETERS JA. Canine mastocytoma: excess risk as related to ancestry. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1969, **42**, 435-443.
- PETERSON JK, HOUGHTON PJ. Integrating pharmacology and in vivo cancer models in preclinical and clinical drug development. *Eur. J. Cancer.*, 2004, **40**, 837-844.
- PETERSON QP, HSU DC, NOVOTNY CJ, WEST DC, KIM D, SCHMIT JM *et al.* Discovery and canine preclinical assessment of a nontoxic procaspase-3-activating compound. *Cancer Res.*, 2010, **70**, 7232-7241.
- PHILLIPS JC, STEPHENSON B, HAUCK M, DILLBERGER J. Heritability and segregation analysis of osteosarcoma in the Scottish deerhound. *Genomics*, 2007, **90**, 354-363.
- PHILLIPS M, CATANEO RN, DITKOFF BA, FISHER P, GREENBERG J, GUNAWARDENA R *et al.* Volatile markers of breast cancer in the breath. *Breast J.*, 2003, **9**, 184-191.
- PICKEL D, MANUCY GP, WALKER DB, HALL SB, WALKER JC. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 2004, **89**, 107-116.
- PINHO SS, CARVALHO S, CABRAL J, REIS CA, GÄRTNER F. Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis. *Transl. Res.*, 2012, **159**, 165-172.
- PONCE F, MARCHAL T, MAGNOL JP, TURINELLI V, LEDIEU D, BONNEFONT C *et al.* A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Vet. Pathol.*, 2010, **47**, 414-433.
- PORRELLO A, CARDELLI P, SPUGNINI EP. Pet models in cancer research: general principles. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2004, **23**, 181-193.
- PORRELLO A, CARDELLI P, SPUGNINI EP. Oncology of companion animals as a model for humans. An overview of tumor histotypes. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2006, **25**, 97-105.
- POSSIK E, JALALI Z, NOUET Y, YAN M, GINGRAS M-C, SCHMEISSER K *et al.* Folliculin Regulates Ampk-Dependent Autophagy and Metabolic Stress Survival. *PLoS Genet.*, 2014, **10**, e1004273.
- PRIAT C, HITTE C, VIGNAUX F, RENIER C, JIANG Z, JOUQUAND S *et al.* A whole-genome radiation hybrid map of the dog genome. *Genomics*, 1998, **54**, 361-378.
- PRIESTER WA. Data from eleven United States and Canadian colleges of veterinary medicine on pancreatic carcinoma in domestic animals. *Cancer Res.*, 1974, **34**, 1372-1375.
- PROSCHOWSKY HF, RUGBJERG H, ERSBØLL AK. Morbidity of purebred dogs in Denmark. *Prev. Vet. Med.*, 2003, **58**, 53-62.

- PRYER NK, LEE LB, ZADOVASKAYA R, YU X, SUKBUNTHERNG J, CHERRINGTON JM *et al.* Proof of target for SU11654: inhibition of KIT phosphorylation in canine mast cell tumors. *Clin. Cancer Res.*, 2003, **9**, 5729-5734.
- PUTT KS, CHEN GW, PEARSON JM, SANDHORST JS, HOAGLAND MS, KWON J-T *et al.* Small-molecule activation of procaspase-3 to caspase-3 as a personalized anticancer strategy. *Nat. Chem. Biol.*, 2006, **2**, 543-550.
- RANIERI G, AMMENDOLA M, PATRUNO R, CELANO G, ZITO FA, MONTEMURRO S *et al.* Tryptase-positive mast cells correlate with angiogenesis in early breast cancer patients. *Int. J. Oncol.*, 2009, **35**, 115-120.
- RANIERI G, GADALETA CD, PATRUNO R, ZIZZO N, DAIDONE MG, HANSSON MG *et al.* A model of study for human cancer: Spontaneous occurring tumors in dogs. Biological features and translation for new anticancer therapies. *Cr. Rev. Oncol-Hem.*, 2013a, **88**, 187-197.
- RANIERI G, GASPARINI G. Angiogenesis and angiogenesis inhibitors: a new potential anticancer therapeutic strategy. *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.*, 2001, **1**, 241-253.
- RANIERI G, PANTALEO M, PICCINNO M, RONCETTI M, MUTINATI M, MARECH I *et al.* Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in human and pet tumours with special reference to breast cancer: A comparative review. *Cr. Rev. Oncol-Hem.*, 2013b, **88**, 293-308.
- RANIERI G, PASSANTINO L, PATRUNO R, PASSANTINO G, JIRILLO F, CATINO A *et al.* The dog mast cell tumour as a model to study the relationship between angiogenesis, mast cell density and tumour malignancy. *Oncol. Rep.*, 2003, **10**, 1189-1193.
- RANIERI G, PATRUNO R, LIONETTI A, DI SUMMA A, MATTIOLI E, BUFO P *et al.* Endothelial area and microvascular density in a canine non-Hodgkin's lymphoma: an interspecies model of tumor angiogenesis. *Leuk. Lymphoma*, 2005, **46**, 1639-1643.
- RANIERI G, PATRUNO R, RUGGIERI E, MONTEMURRO S, VALERIO P, RIBATTI D. Vascular endothelial growth factor (VEGF) as a target of bevacizumab in cancer: from the biology to the clinic. *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 1845-1857.
- RAO RD, ANDERSON PM, ARNDT CAS, WETTSTEIN PJ, MARKOVIC SN. Aerosolized granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) therapy in metastatic cancer. *Am. J. Clin. Oncol.*, 2003a, **26**, 493-498.
- RAO RD, MARKOVIC SN, ANDERSON PM. Aerosol therapy for malignancy involving the lungs. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2003b, **3**, 239-250.
- REIF JS. Animal Sentinels for Environmental and Public Health. *Public Health Rep.*, 2011, **126**, 50-57.
- REIF JS, BRUNS C, LOWER KS. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and exposure to environmental tobacco smoke in pet dogs. *Am. J. Epidemiol.*, 1998, **147**, 488-492.
- REIF JS, DUNN K, OGILVIE GK, HARRIS CK. Passive smoking and canine lung cancer risk. *Am. J. Epidemiol.*, 1992, **135**, 234-239.
- REIF JS, LOWER KS, OGILVIE GK. Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma. *Am. J. Epidemiol.*, 1995, **141**, 352-359.
- REISER H, WANG J, CHONG L, WATKINS WJ, RAY AS, SHIBATA R *et al.* GS-9219--a novel acyclic

- nucleotide analogue with potent antineoplastic activity in dogs with spontaneous non-Hodgkin's lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2008, **14**, 2824-2832.
- REN L, HONG SH, CASSAVAUGH J, OSBORNE T, CHOU AJ, KIM SY *et al.* The actin-cytoskeleton linker protein ezrin is regulated during osteosarcoma metastasis by PKC. *Oncogene*, 2009, **28**, 792-802.
- RESSEL L, MILLANTA F, CALERI E, INNOCENTI VM, POLI A. Reduced PTEN protein expression and its prognostic implications in canine and feline mammary tumors. *Vet. Pathol.*, 2009, **46**, 860-868.
- REYES-GOMES E. Photographie d'une coupe histologique d'un adénocarcinome pulmonaire de type papillaire chez le chien. Unité d'Anatomie-Pathologie de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 2014.
- REYES-GOMES E. Photographie d'une coupe histologique d'un lymphome intestinal de haut grade chez le chien. Unité d'Anatomie-Pathologie de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 2014.
- REYNOLDS PM, REIF JS, RAMSDELL HS, TESSARI JD. Canine exposure to herbicide-treated lawns and urinary excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1994, **3**, 233-237.
- RICHARDSON RC, ANDERSON VL, VOORHEES WD 3rd, BLEVINS WE, INSKEEP TK, JANAS W *et al.* Irradiation-hyperthermia in canine hemangiopericytomas: large-animal model for therapeutic response. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1984, **73**, 1187-1194.
- RIVERA P, MELIN M, BIAGI T, FALL T, HÄGGSTRÖM J, LINDBLAD-TOH K *et al.* Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Res.*, 2009, **69**, 8770-8774.
- ROBERTS TG Jr, LYNCH TJ Jr, CHABNER BA. The phase III trial in the era of targeted therapy: unraveling the « go or no go » decision. *J. Clin. Oncol.*, 2003, **21**, 3683-3695.
- ROSEN Y. Coupe histologique de poumon. (Mise à jour en 2014). In : Pulmonary Pathology. [En ligne]. [https://www.flickr.com/photos/pulmonary_pathology/4563169466/sizes/l/in/photostream/]. (Consulté le 23/04/2014).
- ROSENBERGER JA, PABLO NV, CRAWFORD PC. Prevalence of and intrinsic risk factors for appendicular osteosarcoma in dogs: 179 cases (1996-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2007, **231**, 1076-1080.
- ROSSIGNOL A. Prévalence des lésions précancéreuses et cancéreuses de la prostate du chien : analogie avec l'homme. Thèse Méd. Vét., 2001, Toulouse, 58 p.
- ROWELL JL, MCCARTHY DO, ALVAREZ CE. Dog models of naturally occurring cancer. *Trends in Mol. Med.*, 2011, **17**, 380-388.
- RUBIE C, FRICK VO, PFEIL S, WAGNER M, KOLLMAR O, KOPP B *et al.* Correlation of IL-8 with induction, progression and metastatic potential of colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.*, 2007, **13**, 4996-5002.
- RUEDA OM, DIAZ-URIARTE R. Flexible and Accurate Detection of Genomic Copy-Number Changes from aCGH. *PLoS Comput. Biol.*, 2007, **3**, e122.
- RUOSLAHTI E, PIERSCHBACHER MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science*, 1987, **238**, 491-497.
- RUSK A, COZZI E, STEBBINS M, VAIL D, GRAHAM J, VALLI V *et al.* Cooperative Activity of Cytotoxic Chemotherapy with Antiangiogenic Thrombospondin-I Peptides, ABT-526 in Pet Dogs with Relapsed

- Lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2006a, **12**, 7456-7464.
- RUSK A, MCKEEGAN E, HAVIV F, MAJEST S, HENKIN J, KHANNA C. Preclinical evaluation of antiangiogenic thrombospondin-1 peptide mimetics, ABT-526 and ABT-510, in companion dogs with naturally occurring cancers. *Clin. Cancer Res.*, 2006b, **12**, 7444-7455.
- RUTTEN VP, MISDORP W, GAUTHIER A, ESTRADA M, MIALOT JP, PARODI AL *et al.* Immunological aspects of mammary tumors in dogs and cats: a survey including own studies and pertinent literature. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1990, **26**, 211-225.
- SABATINI DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat. Rev. Cancer*, 2006, **6**, 729-734.
- SALMON HILLBERTZ NHC, ISAKSSON M, KARLSSON EK, HELLMÉN E, PIELBERG GR, SAVOLAINEN P *et al.* Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs. *Nat. Genet.*, 2007, **39**, 1318-1320.
- SANDBERG AA, BRIDGE JA. Updates on the cytogenetics and molecular genetics of bone and soft tissue tumors: osteosarcoma and related tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2003, **145**, 1-30.
- SAVAGE SA, MIRABELLO L, WANG Z, GASTIER-FOSTER JM, GORLICK R, KHANNA C *et al.* Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for osteosarcoma. *Nat. Genet.*, 2013, **45**, 799-803.
- SAVOLAINEN P, ZHANG Y, LUO J, LUNDEBERG J, LEITNER T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*, 2002, **298**, 1610-1613.
- SCHAPPA JT, FRANTZ AM, GORDEN BH, DICKERSON EB, VALLERA DA, MODIANO JF. Hemangiosarcoma and its cancer stem cell subpopulation are effectively killed by a toxin targeted through epidermal growth factor and urokinase receptors. *Int. J. Cancer*, 2013, **133**, 1936-1944.
- SCHEIDEGGER P, WEIGLHOFER W, SUAREZ S, KASER-HOTZ B, STEINER R, BALLMER-HOFER K *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in tumor-bearing dogs. *Biol. Chem.*, 1999, **380**, 1449-1454.
- SCHMIDT BR, GLICKMAN NW, DENICOLA DB, DE GORTARI AE, KNAPP DW. Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2001, **218**, 1783-1786.
- SCHUH JCL. Trials, tribulations, and trends in tumor modeling in mice. *Toxicol. Pathol.*, 2004, **32**, 53-66.
- SCOTT MC, SARVER AL, GAVIN KJ, THAYANITHY V, GETZY DM, NEWMAN RA *et al.* Molecular subtypes of osteosarcoma identified by reducing tumor heterogeneity through an interspecies comparative approach. *Bone*, 2011, **49**, 356-367.
- SELVARAJAH GT, KIRPENSTEIJN J. Prognostic and predictive biomarkers of canine osteosarcoma. *Vet. J.*, 2010, **185**, 28-35.
- SELVARAJAH GT, KIRPENSTEIJN J, WOLFEREN ME, RAO NA, FIETEN H, MOL JA. Gene expression profiling of canine osteosarcoma reveals genes associated with short and long survival times. [En ligne], *Mol. Cancer*, 2009, **8**, 72. [<http://www.molecular-cancer.com/content/pdf/1476-4598-8-72.pdf>]. (Consulté le 8/05/2014).
- SETOGUCHI A, SAKAI T, OKUDA M, MINEHATA K, YAZAWA M, ISHIZAKA T *et al.* Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in various tumors in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2001, **62**, 433-439.

- SHACKLETON M, QUINTANA E, FEARON ER, MORRISON SJ. Heterogeneity in Cancer: Cancer Stem Cells versus Clonal Evolution. *Cell*, 2009, **138**, 822-829.
- SHEARIN AL, HEDAN B, CADIEU E, ERICH SA, SCHMIDT EV, FADEN DL *et al*. The MTAP-CDKN2A locus confers susceptibility to a naturally occurring canine cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2012, **21**, 1019-1027.
- SHEARIN AL, OSTRANDER EA. Leading the way: canine models of genomics and disease. *Dis. Mod. Mech.*, 2010, **3**, 27-34.
- SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013. *CA. Cancer J. Clin.*, 2013, **63**, 11-30.
- SIMPSON RM, BASTIAN BC, MICHAEL HT, WEBSTER JD, PRASAD ML, CONWAY CM *et al*. Sporadic naturally occurring melanoma in dogs as a preclinical model for human melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2014, **27**, 37-47.
- SONDAK VK, WOLFE JA. Adjuvant therapy for melanoma. *Curr. Opin. Oncol.*, 1997, **9**, 189-204.
- SONODA H, KOHNOE S, YAMAZATO T, SATOH Y, MORIZONO G, SHIKATA K *et al*. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. *Gut*, 2011, **60**, 814-819.
- SORIA JC, MASSARD C, MAGNÉ N, BADER T, MANSFIELD CD, BLAY JY *et al*. Phase 1 dose-escalation study of oral tyrosine kinase inhibitor masitinib in advanced and/or metastatic solid cancers. *Eur. J. Cancer*, 2009, **45**, 2333-2341.
- SORLIE T, PEROU CM, TIBSHIRANI R, AAS T, GEISLER S, JOHNSEN H *et al*. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2001, **98**, 10869-10874.
- SOYER C, DOLIGER S, DEVAUCHELLE P *et al*. *Vade-mecum de cancérologie vétérinaire*. 2^{ème} éd., 2011, Paris, Éd. Med'com, 320 p.
- SRIVASTAVA A, FUCHS B, ZHANG K, RUAN M, HALDER C, MAHLUM E *et al*. High WT1 expression is associated with very poor survival of patients with osteogenic sarcoma metastasis. *Clin. Cancer Res.*, 2006, **12**, 4237-4243.
- STARKEY MP, SCASE TJ, MELLERSH CS, MURPHY S. Dogs really are man's best friend--canine genomics has applications in veterinary and human medicine!. *Brief. Funct. Genomic. Proteomic.*, 2005, **4**, 112-128.
- STEIN R, BALKMAN C, CHEN S, RASSNICK K, MCENTEE M, PAGE R, *et al*. Evaluation of anti-human leukocyte antigen-DR monoclonal antibody therapy in spontaneous canine lymphoma. *Leuk. Lymphoma*. 2011, **52**, 273-284.
- STEPLEWSKI Z, JEGLUM KA, ROSALES C, WEINTRAUB N. Canine lymphoma-associated antigens defined by murine monoclonal antibodies. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1987, **24**, 197-201.
- STORB R, EPSTEIN RB, RAGDE H, BRYANT J, THOMAS ED. Marrow Engraftment by Allogeneic Leukocytes in Lethally Irradiated Dogs. *Blood*, 1967, **30**, 805-811.
- STORCK F. *Cancérologie fondamentale : pharmacologie anti-cancéreuse*. Polycopié, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Physiologie-Pharmacologie, 2014, 43 p.
- STRICKER T, CATENACCI DVT, SEIWERT TY. Molecular profiling of cancer--the future of personalized

cancer medicine: a primer on cancer biology and the tools necessary to bring molecular testing to the clinic. *Semin. Oncol.*, 2011, **38**, 173-185.

SUTTER NB, EBERLE MA, PARKER HG, PULLAR BJ, KIRKNESS EF, KRUGLYAK L *et al.* Extensive and breed-specific linkage disequilibrium in *Canis familiaris*. *Genome Res.*, 2004, **14**, 2388-2396.

SUTTER NB, OSTRANDER EA. Dog star rising: the canine genetic system. *Nat. Rev. Genet.*, 2004, **5**, 900-910.

TABARIES A. Le chien, modèle ou sentinelle du risque sanitaire d'origine environnementale pour l'homme: intérêt en cancérologie. Thèse Méd. Vét., 2009, Alfort, 200 p.

TABORI U, MALKIN D. Risk stratification in cancer predisposition syndromes: lessons learned from novel molecular developments in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Res.*, 2008, **68**, 2053-2057.

TABRUYN SP, GRIFFIOEN AW. Molecular pathways of angiogenesis inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007, **355**, 1-5.

TAKASHIMA-UEBELHOER BB, BARBER LG, ZAGARINS SE, PROCTER-GRAY E, GOLLENBERG AL, MOORE AS *et al.* Household chemical exposures and the risk of canine malignant lymphoma, a model for human non-Hodgkin's lymphoma. *Environ. Res.*, 2012, **112**, 171-176.

TALMADGE JE, SINGH RK, FIDLER IJ, RAZ A. Murine Models to Evaluate Novel and Conventional Therapeutic Strategies for Cancer. *Am. J. Pathol.*, 2007, **170**, 793-804.

TAMBURINI BA, TRAPP S, PHANG TL, SCHAPPA JT, HUNTER LE, MODIANO JF. Gene Expression Profiles of Sporadic Canine Hemangiosarcoma Are Uniquely Associated with Breed. *PLoS ONE*, 2009, **4**, e5549.

TAMURA K, YAMADA M, ISOTANI M, ARAI H, YAGIHARA H, ONO K *et al.* Induction of dendritic cell-mediated immune responses against canine malignant melanoma cells. *Vet. J.*, 2008, **175**, 126-129.

TANDLE A, HANNA E, LORANG D, HAJITOU A, MOYA CA, PASQUALINI R *et al.* Tumor vasculature-targeted delivery of tumor necrosis factor- α . *Cancer*, 2009, **115**, 128-139.

TANG N, SONG W-X, LUO J, HAYDON RC, HE T-C. Osteosarcoma Development and Stem Cell Differentiation. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2008, **466**, 2114-2130.

TERRAGNI R, CASADEI GARDINI A, SABATTINI S, BETTINI G, AMADORI D, TALAMONTI C *et al.* EGFR, HER-2 and KRAS in Canine Gastric Epithelial Tumors: A Potential Human Model?. *PLoS ONE*. 2014, **9**, e85388.

TESKE E, RUTTEMAN GR, VDI NGH TS, VAN NOORT R, MISDORP W. Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine (L-MTP-PE): a randomized clinical trial in dogs with mammary carcinoma. *Anticancer Res.*, 1998, **18**, 1015-1019.

THAMM DH, KURZMAN ID, CLARK MA, EHRHART EJ, KRAFT SL, GUSTAFSON DL *et al.* Preclinical investigation of PEGylated tumor necrosis factor α in dogs with spontaneous tumors: phase I evaluation. *Clin. Cancer Res.*, 2010, **16**, 1498-1508.

THAMM DH, KURZMAN ID, KING I, LI Z, SZNOL M, DUBIELZIG RR *et al.* Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: phase I evaluation. *Clin. Cancer Res.*, 2005, **11**, 4827-4834.

- THAMM DH, O'BRIEN MG, VAIL DM. Serum vascular endothelial growth factor concentrations and postsurgical outcome in dogs with osteosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.*, 2008, **6**, 126-132.
- THAMM DH, VAIL DM, KURZMAN ID, BABUSIS D, RAY AS, SOUSA-POWERS N *et al.* GS-9219/VDC-1101--a prodrug of the acyclic nucleotide PMEG has antitumor activity in spontaneous canine multiple myeloma. *BMC Vet. Res.*, 2014, **10**, 30.
- THEILEN GH, WORLEY M, BENJAMINI E. Chemoimmunotherapy for canine lymphosarcoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977, **170**, 607-610.
- THOMAS AF. Current status of bone marrow transplantation for aplastic anemia and acute leukemia. *Blood*, 1977, **49**, 671-81.
- THOMAS ED, COLLINS JA, EMERY C. HERMAN J, FERREBEE JW. Marrow Transplants in Lethally Irradiated Dogs Given Methotrexate. *Blood*, 1962, **19**, 217-228.
- THOMAS ED, STORB R, EPSTEIN RB, RUDOLPH RH. Symposium on bone marrow transplantation: experimental aspects in canines. *Transplant. Proc.*, 1969, **1**, 31-33.
- THOMAS R, SCOTT A, LANGFORD CF, FOSMIRE SP, JUBALA CM, LORENTZEN TD *et al.* Construction of a 2-Mb resolution BAC microarray for CGH analysis of canine tumors. *Genome Res.*, 2005, **15**, 1831-1837.
- THOMAS R, WANG HJ, TSAI P-C, LANGFORD CF, FOSMIRE SP, JUBALA CM *et al.* Influence of genetic background on tumor karyotypes: evidence for breed-associated cytogenetic aberrations in canine appendicular osteosarcoma. *Chromosome Res.*, 2009, **17**, 365-377.
- THRALL DE, PRESCOTT DM, SAMULSKI TV, ROSNER GL, DENMAN DL, LEGORRETA RL *et al.* Radiation plus local hyperthermia versus radiation plus the combination of local and whole-body hyperthermia in canine sarcomas. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1996, **34**, 1087-1096.
- THUMSHIRN G, HERSEL U, GOODMAN SL, KESSLER H. Multimeric Cyclic RGD Peptides as Potential Tools for Tumor Targeting: Solid-Phase Peptide Synthesis and Chemoselective Oxime Ligation. *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 2717-2725.
- TIAN Q, PRICE ND, HOOD L. Systems cancer medicine: towards realization of predictive, preventive, personalized and participatory (P4) medicine. *J. Intern. Med.*, 2012, **271**, 111-121.
- TIRET L, KESSLER J-L, BENTOLILA S, FAURÉ S, BACH J-M, WEISSENBACH J, *et al.* Characterization and mapping of canine polymorphic markers. *Anim. Genet.*, 1999, **30**, 475-476.
- TIRET L, KESSLER J-L, BENTOLILA S, FAURÉ S, BACH J-M, WEISSENBACH J *et al.* Assignment of highly polymorphic markers on a canine purebred pedigree. *Mamm. Genome*, 2000, **11**, 703-705.
- TNS SOFRES. Les maladies les plus redoutées par les Français. [En ligne]. (Mise à jour le 05/03/2008). [<http://www.tns-sofres.com/etudes-et-points-de-vue/les-maladies-les-plus-redoutees-par-les-francais>]. (Consulté le 11/02/2014).
- TSIMBERIDOU A-M, ISKANDER NG, HONG DS, WHELER JJ, FALCHOOK GS, FU S *et al.* Personalized medicine in a phase I clinical trials program: the MD Anderson Cancer Center initiative. *Clin. Cancer Res.*, 2012, **18**, 6373-6383.
- TSOI MS, WEIDEN PL, STORB R. Lymphocyte reactivity to autochthonous tumor cells in dogs with spontaneous malignancies. *Cell. Immunol.*, 1974, **13**, 431-439.

- UVA P, AURISICCHIO L, WATTERS J, LOBODA A, KULKARNI A, CASTLE J *et al.* Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. *BMC Genomics*, 2009, **10**, 135.
- VAIL DM. Cancer clinical trials: development and implementation. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 2007, **37**, 1033-1057.
- VAIL DM, MACEWEN EG. Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Invest.*, 2000, **18**, 781-792.
- VAIL DM, MACEWEN EG, KURZMAN ID, DUBIELZIG RR, HELFAND SC, KISSEBERTH WC *et al.* Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. *Clin. Cancer Res.*, 1995, **1**, 1165-1170.
- VAIL DM, THAMM DH, REISER H, RAY AS, WOLFGANG GHI, WATKINS WJ *et al.* Assessment of GS-9219 in a Pet Dog Model of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**, 3503-3510.
- VON EULER H, ERIKSSON S. Comparative aspects of the proliferation marker thymidine kinase 1 in human and canine tumour diseases. *Vet. Comp. Oncol.*, 2011, **9**, 1-15.
- VON HOFF DD, STEPHENSON JJ Jr, ROSEN P, LOESCH DM, BORAD MJ, ANTHONY S *et al.* Pilot study using molecular profiling of patients' tumors to find potential targets and select treatments for their refractory cancers. *J. Clin. Oncol.*, 2010, **28**, 4877-4883.
- WANG F, WANG L, ZHAO Y, LI Y, PING G, XIAO S *et al.* A novel small-molecule activator of procaspase-3 induces apoptosis in cancer cells and reduces tumor growth in human breast, liver and gallbladder cancer xenografts. *Mol. Oncol.*, 2014, **8**, 1640-1652.
- WAYNE RK, OSTRANDER EA. Lessons learned from the dog genome. *Trends Genet.*, 2007, **23**, 557-567.
- WEBER LW, BOWNE WB, WOLCHOK JD, SRINIVASAN R, QIN J, MOROI Y *et al.* Tumor immunity and autoimmunity induced by immunization with homologous DNA. *J. Clin. Invest.*, 1998, **102**, 1258-1264.
- WEBSTER JD, YUZBASIYAN-GURKAN V, KANEENE JB, MILLER R, RESAU JH, KIUPEL M. The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Neoplasia*, 2006, **8**, 104-111.
- WEIDEN PL, STORB R, LERNER KG, KAO GF, GRAHAM TC, THOMAS ED. Treatment of canine malignancies by 1200 R total body irradiation and autologous marrow grafts. *Exp. Hematol.*, 1975, **3**, 124-134.
- WEIS LD. The success of limb-salvage surgery in the adolescent patient with osteogenic sarcoma. *Adolesc. Med.*, 1999, **10**, 451-458.
- WELLE MM, BLEY CR, HOWARD J, RÜFENACHT S. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet. Dermatol.*, 2008, **19**, 321-339.
- WESTPHAL JR. Technology evaluation: ABT-510, Abbott. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2004, **6**, 451-457.
- WILLIAMS H, PEMBROKE A. Sniffer dogs in the melanoma clinic?. *Lancet*, 1989, **1**, 734.
- WILLIS CM, CHURCH SM, GUEST CM, COOK WA, MCCARTHY N, BRANSBURY AJ *et al.* Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *BMJ*, 2004, **329**, 712.

- WILSON H, HUELSMEYER M, CHUN R, YOUNG KM, FRIEDRICHS K, ARGYLE DJ. Isolation and characterisation of cancer stem cells from canine osteosarcoma. *Vet. J.*, 2008, **175**, 69-75.
- WITHROW SJ, KHANNA C. Bridging the gap between experimental animals and humans in osteosarcoma. *Cancer Treat. Res.*, 2009, **152**, 439-446.
- WITHROW SJ, THRALL DE, STRAW RC, POWERS BE, WRIGLEY RH, LARUE SM *et al.* Intra-arterial cisplatin with or without radiation in limb-sparing for canine osteosarcoma. *Cancer*, 1993, **71**, 2484-2490.
- WITHROW SJ, VAIL DM, PAGE RL. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed., 2012, St. Louis, Missouri, Elsevier-Saunders, 763 p.
- WITHROW SJ, WILKINS RM. Cross talk from pets to people: translational osteosarcoma treatments. *ILAR J.* 2010, **51**, 208-213.
- WOLCHOK JD, YUAN J, HOUGHTON AN, GALLARDO HF, RASALAN TS, WANG J *et al.* Safety and immunogenicity of tyrosinase DNA vaccines in patients with melanoma. *Mol. Ther.*, 2007, **15**, 2044-2050.
- XIAN W, MCKEON F. The challenges and hopes of personalized cancer medicine. [En ligne], *Genome Med.*, 2011, **3**, 22. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3129638/pdf/gm236.pdf>]. (Consulté le 10/10/2014).
- YAO C, LIN Y, YE C, BI J, ZHU Y, WANG S. Role of interleukin-8 in the progression of estrogen receptor-negative breast cancer. *Chin. Med. J.*, 2007, **120**, 1766-1772.
- YUAN J, KU GY, GALLARDO HF, ORLANDI F, MANUKIAN G, RASALAN TS *et al.* Safety and immunogenicity of a human and mouse gp100 DNA vaccine in a phase I trial of patients with melanoma. *Cancer Immun.*, 2009, **9**, 5.
- YU Y, KHAN J, KHANNA C, HELMAN L, MELTZER PS, MERLINO G. Expression profiling identifies the cytoskeletal organizer ezrin and the developmental homeoprotein Six-1 as key metastatic regulators. *Nat. Med.*, 2004, **10**, 175-181.
- ZAHM SH, BLAIR A. Pesticides and Non-Hodgkin's Lymphoma. *Cancer Res.*, 1992, **52**, 5485-5488.
- ZEMAN EM, CALKINS DP, CLINE JM, THRALL DE, RALEIGH JA. The relationship between proliferative and oxygenation status in spontaneous canine tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1993, **27**, 891-898.
- ZHUO R, KOSAK KM, SANKAR S, WILES ET, SUN Y, ZHANG J *et al.* Targeting Glutathione S-transferase M4 in Ewing sarcoma. [En ligne], *Front. Pediatr.*, 2014, **2**, 83. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4123608/pdf/fped-02-00083.pdf>]. (Consulté le 9/09/2014).
- ZIZZO N, PATRUNO R, ZITO FA, DI SUMMA A, TINELLI A, TROILO S *et al.* Vascular endothelial growth factor concentrations from platelets correlate with tumor angiogenesis and grading in a spontaneous canine non-Hodgkin lymphoma model. *Leuk. Lymphoma*, 2010, **51**, 291-296.

L'APPORT DU CHIEN DOMESTIQUE POUR LA CANCÉROLOGIE HUMAINE

NOM et Prénom : LACOSTE Antoine

Résumé :

Aux États-Unis, le *National Cancer Institute* mène depuis une dizaine d'années un programme qui intègre des cancers d'apparition spontanée du chien domestique au sein d'essais cliniques thérapeutiques chez l'Homme. Le but de ces essais croisés à bénéfice réciproque est d'optimiser les essais cliniques chez l'Homme, tout en faisant bénéficier les chiens concernés des protocoles thérapeutiques les plus en pointe. De toute évidence, le chien domestique représente donc un atout pour l'avenir de l'oncologie comparée. L'objectif de cette thèse est de retracer, sous un angle historique et prospectif, l'intérêt du chien de compagnie en oncologie comparée.

Dans une première partie, ce travail bibliographique souligne l'intérêt d'utiliser les cancers d'apparition spontanée du chien domestique comme modèle d'étude pour la cancérologie humaine. Ces cancers partagent de nombreuses caractéristiques avec le cancer chez l'Homme, qu'il s'agisse de leur nature histologique, leurs composantes génétiques, leurs cibles moléculaires, leur comportement biologique et leur réponse aux thérapies conventionnelles.

Dans une deuxième partie, sont exposés les multiples apports historiques de ce modèle dans la découverte des mutations à l'origine des cancers, l'étude des facteurs environnementaux lorsque le chien est utilisé en tant que sentinelle ou encore l'approfondissement des connaissances sur la biologie tumorale concernant le processus métastatique ou la néo-angiogenèse.

Une troisième partie présente les apports des cancers spontanés canins pour le développement et le perfectionnement de nouvelles approches thérapeutiques. Parmi celles-ci, le chien domestique fut par exemple un outil précieux pour l'élaboration de techniques chirurgicales permettant d'éviter l'amputation en cas d'ostéosarcome appendiculaire pédiatrique. Ce travail bibliographique conclut sur l'initiative du *Comparative Oncology Program*, qui intègre les essais précliniques sur les cancers de nos chiens de compagnie dans la voie de développement des essais cliniques chez l'Homme.

En conclusion, ce travail démontre l'intérêt privilégié du chien domestique en oncologie comparée, tant d'un point de vue historique que futur.

Mots clés : ONCOLOGIE / CANCER / TUMEUR / MODÈLE / ESSAI CLINIQUE /
PATHOLOGIE COMPARÉE / OSTÉOSARCOME / LYMPHOME / CARNIVORE /
CHIEN

Jury :

Président : Pr.

Directeur : **Dr Pilot-Storck Fanny**

Assesseur : **Pr Panthier Jean-Jacques**

CONTRIBUTION OF PET DOGS TO HUMAN ONCOLOGY

SURNAME and given name: LACOSTE Antoine

Summary:

In the United States of America, the National Cancer Institute is leading a program that includes naturally occurring cancers of pet dogs for therapeutic clinical trials for human oncology. These combined trials of reciprocal benefit aim at both optimizing human clinical trials and providing enrolled dogs with the best available therapeutic protocols. Obviously, companion dogs thus represent an asset for the future of comparative oncology. The purpose of this thesis is to relate the interest of pet dogs in comparative oncology from an historical as well as prospective point of view.

In the first part, this bibliographic study highlights the interest of using naturally occurring cancers in pet dogs as a model for human oncology. Cancers in human and pet dogs share many features including histological structure, genetic determination, molecular targets, biological behavior and response to conventional therapies.

In the second part, the numerous historical contributions of this model are presented, as the discovery of causal mutations in cancers, the study of environmental factors when pet dogs acts as a sentinel, and the growing knowledge of tumor biology regarding metastasis or neoangiogenesis.

In the third part, the contributions of naturally occurring cancers model in pet dogs for the development and the improvement of new therapeutic approaches are exposed. For example, pet dog was a useful tool in elaborating new limb-sparing surgeries for the management of pediatric osteosarcoma. This bibliographic work concludes on Comparative Oncology Program's initiative, which integrates preclinical trials on pet dogs with cancers in the drug development path for human medicine.

As a conclusion, this study demonstrates the preponderant interest of pet dogs in past and future comparative oncology.

Keywords: ONCOLOGY / CANCER / TUMOR / MODEL / CLINICAL TRIAL / COMPARATIVE PATHOLOGY / OSTEOSARCOMA / LYMPHOMA / CARNIVORE / DOG

Jury:

President: Pr.

Director: **Dr. PILOT-STORCK Fanny**

Assessor: **Pr. PANTHIER Jean-Jacques**