

## **Implantation de fragments tumoraux sur la membrane chorio-allantoïdienne d'embryon de poulet : validation d'un modèle préclinique dans le traitement personnalisé des enfants atteints de tumeur cérébrale.**

Parmi les différents types de tumeurs solides touchant les enfants, les tumeurs du système nerveux central sont celles de plus mauvais pronostic avec une survie globale à 5 ans de 65%. Celle-ci peut chuter à 56% pour les médulloblastomes et à 23% pour les gliomes de haut de grade, parmi lesquels les tumeurs du tronc cérébral. Ce constat est en partie lié au type de tissus sur lequel se développe la tumeur (cerveau, cervelet ou moelle épinière) qui limite les possibilités d'éliminer de façon curative la tumeur par voie chirurgicale ; en effet les risques de séquelles définitives pour le patient d'un point de vue physique et mental étant particulièrement élevés. Les solutions thérapeutiques sont donc peu nombreuses et font appel le plus souvent à des agents chimiothérapeutiques (ex. Temodal) associés à des séances de radiothérapie. Bien que possible dans un petit nombre de patients (tumeur peu ou pas infiltrante; anatomiquement accessible), la neurochirurgie permet en général de réduire la masse tumorale et d'augmenter la survie du patient, plus rarement d'éliminer toutes les cellules cancéreuses.

Comme le montre de nombreuses publications scientifiques, les études biologiques à partir d'échantillons tissulaires de patients (biopsie, pièce chirurgicale) sont une étape essentielle à la compréhension des cancers et à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques avec comme objectif le développement de médicaments adaptés aux tumeurs de l'enfant. Cependant, comme bien d'autres cancers, les tumeurs cérébrales pédiatriques diffèrent fortement les unes par rapport aux autres, tant sur le plan de leur origine cellulaire (astrocytes, cellules gliales, cellules nerveuses...), que des mécanismes moléculaires responsables de leur transformation maligne (mutations de gène, autres altérations génétiques). Elles sont également différentes de celles qui se développent chez l'adulte. Difficile donc d'envisager un traitement universel capable de guérir tous les enfants. Enfin, les études cliniques nécessaires à la mise en place de nouveaux protocoles thérapeutiques sont difficilement réalisables du fait de la rareté de ces tumeurs. D'un autre côté, au moins cinquante agents anticancéreux sont disponibles en clinique (source Institut National du Cancer ; Situation de la chimiothérapie des cancers en 2011). Alors plusieurs questions se posent. Est-ce que parmi tous ces médicaments, certains sont efficaces contre certaines tumeurs cérébrales chez l'enfant ? En tenant compte bien sûr des effets secondaires, est-ce que la combinaison de plusieurs de ces molécules pourrait être d'autant plus bénéfique aux patients ? Enfin, est-il possible de déterminer le(s)quel(s) de ces médicaments (sous forme individuelle ou combinée) a(ont) une activité sur la tumeur d'un patient avant même de lui avoir administré en clinique ?

C'est dans ce contexte que le concept de la « Médecine Personnalisée » prend toute son importance et que des solutions thérapeutiques faites sur mesure pour chaque patient pourraient voir le jour. En oncologie, la médecine personnalisée consiste à administrer le médicament anticancéreux le plus adapté et le plus efficace à chaque patient en fonction du type de tumeur dont il est atteint. Il faut donc tout d'abord savoir quel est ce médicament (ou la combinaison de plusieurs d'entre eux). Or cette information déterminante ne peut être obtenue que par des analyses biologiques préalables en laboratoire et sur la base de données expérimentales précliniques solides faites chez l'animal.

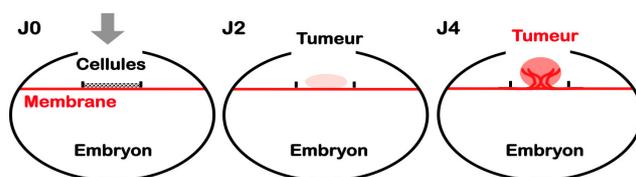
Martin Hagedorn et Christophe Grosset, chercheurs dans une unité INSERM à Bordeaux, proposent un projet dont le but est de vérifier la validité du concept de médecine personnalisée dans le cas d'enfants atteints de tumeurs cérébrales grâce à la mise en place d'un protocole d'analyses rigoureux à partir d'échantillons biologiques tumoraux fraîchement prélevés chez les patients opérés.

La faisabilité d'un tel projet implique deux choses importantes:

- 1) Un partenariat étroit avec des neurochirurgiens et des oncopédiatres spécialistes des tumeurs cérébrales chez l'enfant.
- 2) La disponibilité d'un modèle animal expérimental **en laboratoire** permettant en quelques jours ou en quelques semaines de déterminer quel est l'agent anticancéreux (ou la combinaison de plusieurs d'entre eux) le plus efficace pour bloquer (à plus ou moins long terme) la progression de la tumeur voire entraîner la mort des cellules tumorales.

En ce qui concerne le premier point, nous avons récemment contacté plusieurs chirurgiens et oncopédiatres français et étrangers qui ont accepté de participer à notre projet : les Docteurs Edouard Gimbert et Thomas Roujeau, neurochirurgiens aux CHU de Bordeaux et de Montpellier (France), les Professeurs Michael Grotzer et Michael Weller, les Docteurs Oliver Bozinov, Isabel Tritschler et Elisabeth Rushing du CHU de Zurich (Suisse). D'autres pourraient participer en fonction de nos besoins en matière d'échantillons biologiques et de l'intérêt qu'ils porteraient à notre projet.

Concernant le modèle expérimental, il est important que celui-ci mime des conditions physiologiques dans lesquelles les cellules cancéreuses du patient se développent. Il doit également être facile d'utilisation, informatif en peu de temps, peu onéreux, respectueux de l'animal hôte et permettre l'analyse de plusieurs dizaines de molécules. Or nous disposons d'un modèle animal qui répond à toutes ces exigences : celui de la **membrane chorio-allantoïdienne (CAM) d'embryon de poulet** (voir **schéma 1** ci-dessous).



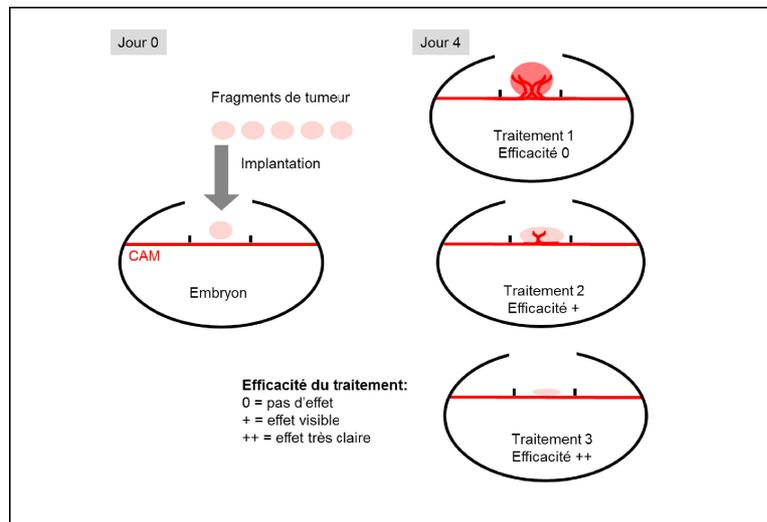
**Schéma 1 : Les cellules tumorales sont implantées sur la membrane de l'embryon de poulet (Jour 0). Après 2 jours (J2), une tumeur se forme. Afin de croître d'avantage, la tumeur stimule le développement de nouveaux vaisseaux sanguins à partir du réseau vasculaire de la membrane de l'embryon (J4).**

Ce modèle, qui a de nombreuses applications en cancérologie (voir les publications principales issues du laboratoire)<sup>1</sup>, imite parfaitement la morphologie des tumeurs se développant chez les patients et leurs interactions avec le tissu normal environnant. Nos travaux antérieurs ont montré que

<sup>1</sup>Dumartin, L. et al. Netrin-1 mediates early events in pancreatic adenocarcinoma progression, acting on tumor and endothelial cells. *Gastroenterology* 138, 1595-1606, 1606 e1591-1598, doi:S0016-5085(10)00025-9 [pii] 10.1053/j.gastro.2009.12.061 (2010). Saidi, A. et al. Experimental anti-angiogenesis causes upregulation of genes associated with poor survival in glioblastoma. *International journal of cancer* 122, 2187-2198 (2008). Hagedorn, M. et al. Accessing key steps of human tumor progression in vivo by using an avian embryo model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 1643-1648 (2005).

dans ce modèle, la croissance tumorale est extrêmement rapide avec l'obtention de tumeurs analysables en 4 jours (**Schéma 1**) au lieu de plusieurs semaines chez la souris et ce, sans aucune souffrance pour l'animal hôte. Enfin des analyses biologiques et précliniques à moyenne échelle (moins de 100 conditions d'analyses) peuvent être envisagées avec ce modèle car plusieurs dizaines d'embryons portant des répliques de la tumeur à analyser (produites par greffes successives à partir d'un fragment initial de la tumeur du patient) peuvent être cultivées par semaine.

Malgré ses nombreux avantages, la membrane chorioallantoïdienne d'embryon de poulet **n'a quasiment jamais été utilisée pour étudier les tumeurs pédiatriques**. Pourtant ce modèle est parfaitement adapté à notre projet qui vise à tester l'efficacité antitumorale d'agents anticancéreux sur des répliques de 4 jours d'une tumeur issue d'un patient (**Schéma 2**). Concrètement, nous allons déposer sur la CAM des cellules tumorales isolées à partir d'une pièce chirurgicale prélevée chez un patient. Puis, nous étudierons la croissance de ces cellules cancéreuses sur la CAM en présence de différentes molécules thérapeutiques connues.



**Schéma 2 : Au moment où la croissance tumorale est optimale (à J4), la tumeur sera traitée par chaque molécule anticancéreuse, à des doses proches de celles administrées en clinique. Puis l'efficacité de chaque molécule sera évaluée en fonction des doses testées.**

De nombreux agents anticancéreux sont déjà disponibles commercialement auprès de fabricants ou de fournisseurs spécialisés. Il sera donc facile de se les procurer. D'autres, par contre, sont encore en phase de test ou seulement disponibles auprès des industriels pharmaceutiques. Pour les obtenir, nous établirons des contrats collaboratifs avec les industriels désireux de participer à notre projet, sachant que si les premiers résultats sont encourageants, ils pourraient nous aider financièrement.

En conclusion, les résultats de ce projet préclinique pourraient avoir des répercussions importantes auprès des malades avec comme perspective la possibilité de proposer un traitement personnalisé à chaque enfant présentant une tumeur cérébrale. Si les résultats de notre projet démontrent l'intérêt de notre approche préclinique dans le traitement personnalisé des enfants souffrant d'une tumeur cérébrale, celle-ci pourra être appliquée à d'autres types de cancers pédiatriques, comme l'hépatoblastome ou le neuroblastome, mais également aux cancers chez l'adulte.