VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n°095

ETUDE COMPAREE DE LA PATHOGENIE DU CANCER DE LA PROSTATE DANS LES MODELES HUMAIN ET CANIN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 11 Décembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

FANT Cécile
Née le 26 Août 1991
à Dijon

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n°095

ETUDE COMPAREE DE LA PATHOGENIE DU CANCER DE LA PROSTATE DANS LES MODELES HUMAIN ET CANIN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 11 Décembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

FANT Cécile
Née le 26 Août 1991
à Dijon

LISTE DES ENSEIGNANTS DU CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Mise à jour le 09 juin 2015

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUWA	Théodore	UP Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	UP Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BERTHELET	Marie-Anne	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CADORE	Jean-Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	COMMUN	Loic	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	UP Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	UP Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	LACHERETZ	Antoine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	UP Pathologie du bétail	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	UP Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	UP Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	MOUNIER	Luc	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences stagiaire
M.	ROGER	Thierry	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Serge	UP Equine	Professeur associé
Mme	SEGARD	Emilie	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	TORTEREAU	Antonin	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences stagiaire
M.	VIGUIER	Eric	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Remerciements

A Monsieur le Professeur Frédéric Berard,

De la faculté de Médecine de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir de présider cette thèse
Pour m'avoir accompagné dans mon cursus universitaire et m'avoir appris nombre de choses
Mes hommages respectueux

A Monsieur le Docteur Ludovic Freyburger

Du campus vétérinaire de Lyon VetAgro Sup,
Pour avoir accepté de m'accompagner dans ce travail
Pour vos corrections précises et détaillées
Pour l'intérêt que vous avez porté à ce manuscrit
Mes sincères remerciements

A Monsieur le Professeur Thierry Marchal

Du campus vétérinaire de Lyon VetAgroSup
Pour avoir accepté de juger ce travail
Pour votre aide précieuse tout au long de ces années universitaires
Pour votre enseignement de qualité
Ma profonde reconnaissance

Table des matières

Remerciements 5
Table des annexes 12
Table des figures 13
Table des tableaux 14
Liste des abréviations 15
Introduction 18
Partie I : Anatomie et physiologie de la prostate chez l'Homme et le chien 20
I Rappels anatomiques 20
1) Morphologie 20
2) Topographie 21
3) Vascularisation et innervation 22
4) Histologie 22
II Physiologie 25
1) Contrôle endocrinien de la croissance prostatique 25
2) Production des androgènes 25
3) Mécanismes de régulation de la croissance prostatique par les androgènes 27
III Fonctions de la prostate 28
Partie II : Épidémiologie du cancer de la prostate 30
I Prévalence 30
II Incidence 30
III Morbidité et Mortalité 31
IV Facteurs de risque 32
1) Facteurs endogènes 32
a) Facteurs génétiques 32
i. Facteurs familiaux 33
ii. Chromosome Y 33
iii. Facteurs ethniques et prédispositions raciales 33
b) Age 34
c) Implication de la testostérone 34
2) Facteurs environnementaux 35
V Signes cliniques 37
1) Signes cliniques communs 37
a) Symptômes généraux 37

b) Symptômes urinaires 37
c) Symptômes digestifs 38
d) Symptômes nerveux et orthopédiques 38
2) Signes cliniques moins communs 38
VI Diagnostic 39
1) Diagnostic différentiel 39
2) Diagnostic 39
a) Anamnèse/Commémoratifs 39
b) Examen clinique 40
c) Examens de laboratoire 40
i. Analyse d'urine 40
ii. Dosage sanguin PSA 41
d) Imagerie 41
i. Radiographie 41
ii. Échographie abdominale 43
iii. Scanner 44
e) Cytologie 44
f) Biopsies 45
3) Dépistage 45
VII Pronostic 46
Partie III : Les caractéristiques du cancer de la prostate 48
I Caractéristiques histologiques 48
1) Localisation histologique 48
a) localisation acinaire 48
b) localisation caniculaire 49
2) Les différents types histologiques 49
II Les stades cliniques 50
1) « T » ou Tumeur 50
a) Stade T1 51
b) Stade T2 51
c) Stade T3 52
d) Stade T4 52
2) « N » ou Nœuds lymphatiques 52
3) « M » ou Métastases 53

a) Stade M1a 53
b) Stade M1b 53
c) Stade M1c 54
III Le score de Gleason 54
Partie IV : Physiopathologie du cancer de la prostate 59
I De la lésion précancéreuse au cancer de la prostate 59
1) La néoplasie prostatique intra épithéliale 59
a) Prévalence chez l'homme et le chien 60
b) Caractéristiques histologiques 61
c) Le chien est-il un modèle possible d'étude dans le cadre de ces lésions ? 65
2) L'hyperplasie bénigne de la prostate 67
3) L'atrophie inflammatoire proliférative 69
II Lien entre le carcinome prostatique et l'inflammation 74
1) Lien entre inflammation et carcinogenèse 75
2) Possibles mécanismes 76
a) Rôle de l'inflammation dans les dommages cellulaires & la prolifération cellulaire 76
b) Implication des cytokines inflammatoires 77
c) Surexpression de COX2 77
3) Prévention : Influence des anti-inflammatoires 78
III Mécanismes génétiques et épigénétiques de la cancérogenèse du carcinome prostatique 80
1) Oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs et mécanismes épigénétiques 81
a) Mécanismes génétiques 81
i. Anomalies chromosomiques 81
ii. p53 82
iii. c-MYC 83
iv. HSP90 84
b) Mécanismes épigénétiques 85
2) Gènes incriminés dans la carcinogenèse du carcinome prostatique 86
a) Gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire et prolifération cellulaire 86
i. Les « checkpoints » du cycle cellulaire 87
ii. p16 et p27 88
iii. PTEN 88
iv. TGFβ 90
v. Récepteur androgénique 90

b) Gènes impliqués dans l'échappement à la mort cellulaire 91
i. Voie intrinsèque : Bcl-2 et Bax/Bak 92
ii. Voie extrinsèque : TRAIL et NFκB 93
iii. Heat Shock Proteins 93
c) Gènes impliqués dans l'autosuffisance en signaux de croissance 94
i. EGF 94
ii. FGF 94
iii. IGF 95
iv. PTEN 95
d) Gènes impliqués dans l'angiogenèse soutenue 95
i. TGFβ 96
ii. VEGF 97
iii. bFGF 97
iv. IL8 98
v. TSP1 98
e) Gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et la communication intercellulaire 100
i. Cadhérines 100
ii. Caténines 101
IV Physiopathologie du passage d'un carcinome prostatique hormono dépendant à un carcinome prostatique hormono indépendant 103
1) Le modèle canin comme modèle réaliste pour le cancer hormono indépendant 103
a) Prévalence du carcinome entre les chiens entiers et castrés 103
b) Age au diagnostic entre les chiens entiers et castrés 104
c) Conséquences physiopathologiques de la castration 105
i. Pression de sélection 105
ii. Étiologie non médiée par des hormones 106
iii. Des hormones non testiculaires influencent le développement du cancer 106
iv. La castration favorise seulement la progression 107
2) Effets de la privation androgénique 108
a) Effets et modifications du récepteur androgénique 108
i. Surexpression et mutation 109
ii. Augmentation de cofacteurs et protéines adaptatrices 109
b) Effets sur des gènes impliqués dans des voies enzymatiques cellulaires 110
i. Gènes impliqués dans la prolifération cellulaire 111

ii. Gènes impliqués dans l'apoptose 112
c) Effets sur la cellule prostatique 114
i. Différenciation cellulaire 114
ii. Sélection clonale 115
Implication des facteurs de croissance 115
iii. 115
V Physiopathologie du phénomène métastatique 117
1) Étapes nécessaires à la création de métastases 117
a) Dissémination 118
b) Homing 118
c) Extravasation 119
d) Développement d'une masse secondaire et lésions métastatiques 119
2) Modifications génétiques et épigénétiques impliquées 121
a) CD44 121
b) Drg-1 121
c) E Cadherine 122
d) KAI 1 122
e) Maspin 122
f) MKK4 123
g) Nm23 123
h) *PTEN* 123
i) TGFβ 123
j) RKIP 124
Partie V : Immunopathologie du cancer de la prostate 126
I La réponse immunitaire anti tumorale 127
1) Les effecteurs du système immunitaire 127
a) Immunité innée 127
b) Immunité spécifique 128
2) Les cibles de la réponse immunitaire : les antigènes tumoraux 129
3) Mécanismes de la réponse immunitaire anti tumorale 130
a) Chimiotactisme des cellules immunitaires sur le site tumoral 131
b) Action des effecteurs de la réponse innée 132
c) Action des effecteurs de la réponse adaptative 133
II Les mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire 136

1) Échappement 137
a) La présentation des antigènes tumoraux 137
b) La régulation du CMH 137
c) La résistance à l'activité cytotoxique des cellules effectrices 138
d) La résistance à l'apoptose 139
2) Immunosubversion 139
III Le traitement par immunothérapie : résultats, limites et perspectives 145
1) Immunothérapie active 145
a) Sipuleucel T 146
b) ProstVac 149
c) GVAX 150
2) Thérapies ciblées 151
a) *Inhibiteurs de l'angiogénèse* 151
b) *Inhibition du potentiel métastatique* 152
c) *Anticorps Anti CTLA4* 152
d) *Anticorps anti - PD1L* 153
e) *Anticorps anti-CD40* 154
f) *Agoniste de OX40* 155
g) *Stratégie épigénétique* 155
3) IFNα 156
4) Action sur les cellules dendritiques 156
5) Combinaison radiothérapie, chimiothérapie ou traitement hormonal et immunothérapie .. 157
a) Immunothérapie et radiothérapie/chimiothérapie 157
b) Immunothérapie et traitement hormonal 159
Conclusion 163
Bibliographie 164
Annexes 175

Table des annexes

Annexe n°1 : Classification TNM clinique pour les tumeurs prostatiques d'après l'AJCC (American Joint Committee on Cancer 2010)……..p175
Annexe n°1 bis : Etablissement d'un stade global prenant en compte la classification TNM, le taux de PSA (ng/mL) et le score de Gleason d'après l'AJCC (American Joint Committee on Cancer, 2010)……p176
Annexe n°2 : Gènes cibles incriminés dans la carcinogenèse du cancer de la prostate humain et canin……..…p177
Annexe n°3 : Gènes cibles incriminés dans le processus métastatique chez le cancer prostatique humain et canin……..……p182

Table des figures

Figure n°1 : Les relations anatomiques entre la prostate et les différents organes de l'abdomen caudal chez le chien mâle (d'après Morey 2008) ……..…… p20
Figure n°2 : Anatomie zonale de la prostate : Modèle de MacNeal …… p22
Figure n°3 : Les cellules de l'épithélium glandulaire prostatique (d'après Dayon 2008…. p23
Figure n°4 : Le mode d'action des androgènes (d'après Dayon 2008) …… p25
Figure n°5 : Minéralisation de la prostate sur une radiographie du tractus urinaire d'un chien (d'après Morey 2008) ……..…… p40
Figure n°6 : Métastases prostatiques pulmonaires sur une radiographie thoracique pulmonaire d'un chien (d'après Morey 2008) ……...…… p41
Figure n°7 : Carcinome prostatique canin à l'échographie (d'après Morey 2008…...…… p42
Figure n°8 : Schéma des 5 grades de Gleason (d'après Delahunt et al, 2012)…….. p54
Figure n°9 : Coupe histologique de prostate a. Épithélium normal de la prostate du chien b. Lésion de PIN au niveau de la prostate d(un chien (d'après Rossignol et al, 2004) …… p60
Figure n°10 : Progression histologique supposée de l'épithélium bénin au carcinome prostatique (d'après Haggman et al, 1997) ……..…… p60
Figure n°11 : Atrophie inflammatoire proliférative d'une prostate canine (Palmieri et al (b), 2014)……...p66
Figure n°12 : Schéma du cycle cellulaire……...……... p83
Figure n°13 : Modèle schématique des checkpoints cellulaires…… p84
Figure n°14 : Modèle d'action de PTEN (D'après Tamura et al, 2008) ……p86
Figure n°15 : Voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose…… p88
Figure n°16 : Mécanisme de la voie intrinsèque de l'apoptose…… p89
Figure n°17 : Les mécanismes impliqués dans l'hormono-indépendance tumorale (d'après Dayon A., 2008)……p110
Figure n°18 : Stratégies immunosuppressives du micro environnement tumoral (D'après Gajewski et al, 2006)……p137
Figure n°19 : Cytokines immunosuppressives du micro environnement tumoral (D'après Stagg et al, 2007)……..……p140
Figure n°20 : Stades de fabrication et possibles mécanismes du vaccin Sipuleucel T (d'après Kirkwood et al, 2012)……p144
Figure n °21 : les molécules co stimulatrices et co inhibitrices lors de l'interaction CPA-Lymphocyte T……p152

Table des tableaux

Tableau n°1 : Les signes cliniques communs chez l'homme et chez le chien…… p35
Tableau n°2 : Aspect macroscopique et microscopique des 5 grades de Gleason…… p53
Tableau n°3 : Comparaison histologique, cytologique et morphologique de tissus de prostate saine, de PIN ou de carcinome prostatique. …….…… p58
Tableau n°4 : Arguments en faveur ou non du rôle de lésion précancéreuse des lésions de PIN, PIA et BPH……...…… p69-70

Liste des abréviations

ADCC =Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps
ADN = acide désoxyribonucléique
AINS = anti inflammatoires non stéroïdiens
APC = Anaphase Promoting Complex
ARE = Elements de Réponse aux Androgènes
ATF3 = Activating Transcription Factor 3
BCL-6 = B cell lymphoma 6
Bcl2 = B cell lymphoma 2
bFGF = basic Fibroblast Growth Factor
BMPs = Bone Morphogenic Proteins
BPH = Hyperplasie Bénigne de la Prostate
CCR4 = CC Chemokine Receptor 4
CD = Cluster of Differenciation
CDK = Cyclin Dependent Kinase
cIAP = cellular Inhibitor of Apoptosis Protein
CK7 = Cytokératine 7
CMH = Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CNF1 = Facteur Nécrotisant Cytotoxique 1
COX2 = Cyclo-oxygénase 2
CPA = Cellule Présentatrice d'Antigène
CTLA4 = Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CXCL = CXC Ligand
CYP17 = Cytochrome P450 17
DAMPs = Motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires
DHT = Dihydrotestostérone
Drg-1 = Differentiation related gene 1
E Boxes = Enhancer Boxes
EGF = Epidermial Growth Factor
EGFR = HER = Human EGF Receptor
ET1 = Endothelin 1
FAK = Focal Adhesion Kinase
FasL = Fas Ligand
FDA = Food and Drug Administration
FGF = Fibroblast Growth Factor
GH = Hormone de croissance
GM-CSF = Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
GST = Glutathion S-Transferase

GSTA1 = Glutathion S-Transferase alpha 1
GSTP1 = Glutathion S-Transferase pi 1
HAS = Haute Autorité de Santé
HGPIN = Néoplasie prostatique intra épithéliale de haut grade
(HSF)-1 = Heat shock transcription factor 1
HSP = Heat shock proteins
ICR = Impriming Control Region
IDO = Indoleamine 2,3-dioxygenase
IFN = Interferon
IGF = Insulin Growth Factor
IL = Interleukine
KGF = Facteur de croissance des kératinocytes
KIR = Killer cell Ig-like receptor
MDC = Macrophage – derived chemoattractant
MDR1 = Multi-drug resistance 1
MDSC = Cellules myéloïdes hétérogènes provenant de la moelle osseuse
MICA = MHC class I polypeptide-related sequence A
MICB = MHC class I polypeptide-related sequence B
MKK4= Mitogen-activated protein kinase kinase 4
MMP = Métalloprotéinase matricielle
MSR1 = Macrophage scavenger Receptor 1
MTG1 = Mitochondrial Ribosome-associated GTPase 1
NADPH = Nicotinamide Adénine Dinucléotide PHosphate
NK = Natural Killer
NKG2D = Killer cell lectin-like receptor subfamily K member 1
NO = Monoxyde d'azote
OMS = Organisation Mondiale de la Santé
PAMPs = Motifs moléculaires associés aux pathogènes
PAP = Phosphatase Acide Prostatique
PD1 = Programmed cell death
PIA = Atrophie inflammatoire proliférative
PIN = Néoplasie prostatique intra épithéliale
PSA = Antigène prostatique spécifique
PSAP = Acide phosphatase spécifique
PSCA = Prostate Stem Cell Antigen
PSMA = Prostate-specific membrane antigen
PTEN = Phosphatase and TENsing homologue
PTHrP = Parathyroid hormone related protein
RA = Récepteur à androgène
RANK = receptor activator of nuclear factor kappa B

RANKL = RANK Ligand
Rb = Retinoblastoma
RECIST = Critères d'Evaluation de la Réponse dans les Tumeurs Solides
RKIP = Raf kinase inhibitor protein
SDF1= Stromal derived factor 1
SHBG = Binding Sex Hormon Globulin
SPI = Serin Protease Inhibitor
TAA = Tumor associated antigen
TAMs = Tumor associated macrophage
TARC = Thymus and activation-regulated chemokine
TCR = Récepteur des cellules T
TGF = Facteur de croissance transformant
TLR = Toll like receptor
TNF = Facteur de nécrose tumorale
TRAMP = Transgenic adenocarcinoma mouse prostate
TSA = Tumor specific antigen
TSP = Thrombospondine
uPA = Activator plasminogen urokinase
UV = Ultra violets
VEGF = Vascular endothelial growth factor
XMRV = Xenotropic Murine Leukaemia virus

Introduction

Le cancer prostatique est une prolifération cellulaire incontrôlée et désorganisée du tissu prostatique. Les cellules les plus touchées sont les cellules épithéliales, menant à des adénocarcinomes le plus fréquemment.

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme et se situe au 3e rang des causes de décès par cancer. Son incidence croit depuis une dizaine d'années en faisant un vrai problème de santé publique.

Malgré sa haute incidence, la pathogenèse du cancer de la prostate et du processus métastatique n'est pas entièrement élucidée. Ce cancer manque donc d'un modèle animal pour étudier la physiopathologie et l'immunopathologie de sa carcinogenèse *in vivo* afin de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques et préventives.

Le chien est l'une des rares autres espèces où le cancer de la prostate se développe spontanément à n'importe quel niveau (local ou métastatique). Quelques cas ont été rapportés chez le chat ainsi qu'un cas de carcinome prostatique sans évidence de métastase chez un macaque Rhesus. La prostate du chien partage par ailleurs de nombreuses similarités avec celle de l'homme, d'un point de vue anatomique (taille, localisation) comme histologique (adénocarcinome le plus fréquent, présence de lésions précancéreuses) ou encore physiopathologique (invasion métastatique osseuse).

L'idée d'utiliser le modèle canin comme un modèle spontané d'étude de cancer de la prostate a donc été considérée. La plupart des cancers observés chez l'homme sont trouvés dans l'espèce canine, partageant une présentation clinique, une physiopathologie et une réponse aux traitements fréquemment similaires, suggérant ainsi que le chien peut être intéressant en tant que modèle pour les cancers humains et notamment dans le cadre du cancer de la prostate. Cependant, même si ce modèle représente une opportunité unique d'étudier le cancer de la prostate humain, il présente le défaut majeur d'avoir une incidence très faible chez le chien (incidence de 0.2 % à 0.6 %).

De plus, le cancer prostatique est de pronostic très sombre dans l'espèce canine, étant diagnostiqué très tardivement et semblant croître bien plus vite que dans l'espèce humaine. Le cancer prostatique humain pourrait ainsi apporter quelques pistes à creuser afin d'avoir des informations plus précises sur la carcinogenèse du cancer de la prostate canin.

Après de brefs rappels anatomiques de la prostate chez l'homme et le chien et la présentation de l'épidémiologie et des caractéristiques cliniques du cancer de la prostate chez

ces deux espèces, nous verrons donc si le chien peut être un modèle réaliste du cancer de la prostate pour l'homme au niveau physiopathologique. Nous verrons également en quoi l'étude très riche du cancer de la prostate chez l'homme au niveau physiopathologique comme immunopathologique peut nous aider à trouver de nouvelles pistes diagnostiques, thérapeutiques ou préventives pour l'espèce canine, où cette maladie est quasi systématiquement fatale.

Partie I : Anatomie et physiologie de la prostate chez l'Homme et le chien

La prostate est une glande génitale accessoire exocrine du système reproducteur masculin dont les sécrétions constituent une partie du liquide séminal (Deschamps 2006). Alors que l'on compte 3 glandes annexes chez l'homme (vésicules séminales, prostate et glandes de Cowper), la prostate est la seule glande génitale accessoire du chien (Evans et al 1993 ; Swinney 1998). Sa croissance se fait en deux temps : on a tout d'abord une croissance physiologique chez le jeune adulte (jusqu'à 20 ans chez l'homme, 4 ans chez le chien), puis une croissance hyperplasique pendant l'âge moyen (à partir de 50 ans chez l'homme, à partir de 10 ans chez le chien)(Morey 2008).

Sa croissance et son fonctionnement dépendent de plusieurs hormones qui interviennent avec une importance différente et sont donc sous le contrôle endocrinien de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Morey 2008). Après un bref rappel anatomique et histologique, nous verrons donc selon quels mécanismes endocriniens la prostate est régulée et développerons brièvement les fonctions de cette glande sexuelle.

I Rappels anatomiques

Les prostates canine et humaine sont très semblables d'un point de vue morphologique, topographique, histologique et de leur vascularisation et innervation. Pour cette raison, sauf exception, aucune distinction n'a été faite entre l'espèce canine et l'espèce humaine.

1) Morphologie

La prostate est constituée d'un corps volumineux et bilobé chez le chien, quadrilobé chez l'homme (Morey 2008).

Chez l'homme, elle est conique, en forme de châtaigne et mesure environ 3 centimètres. Elle pèse entre 25 et 35 grammes (Dayon 2008). Chez le chien, sa taille, sa forme et son poids varient selon les races et le poids de l'animal.

Sa face postérieure, équivalent à la face dorsale dans l'espèce canine, est parcourue par le sillon médian, séparant la glande en deux lobes (droit et gauche). Ce sillon est palpable lors d'un toucher rectal. Il existe également un sillon dorsal, plus profond, dans la partie crâniale (Morey 2008).

Le corps prostatique est entouré par une capsule fibro-élastique ou capsule prostatique.

La prostate possède deux sphincters musculaires :

- Un sphincter interne formé de fibres musculaires lisses (sphincter lisse) dont la tonicité empêche l'écoulement spontané de l'urine provenant de la vessie.
- Un sphincter externe formé de fibres musculaires striées (sphincter strié) responsable de l'acte volontaire de la miction.

2) Topographie

Le corps de la prostate est situé en position rétro-péritonéale dans une loge prostatique, en avant du rectum, en arrière de la symphyse pubienne et immédiatement au-dessous de la vessie (*cf Figure n°1*) (Dayon 2008 ; Morey 2008). Elle est recouverte par le péritoine sur sa face cranio-dorsale. Elle est facilement palpable à travers la paroi du rectum et est de consistance ferme.

Elle entoure complètement l'urètre proximal et le col de la vessie en avant du rectum. Elle contient également l'urètre prostatique, entourée d'un sphincter lisse, à la base de la prostate.

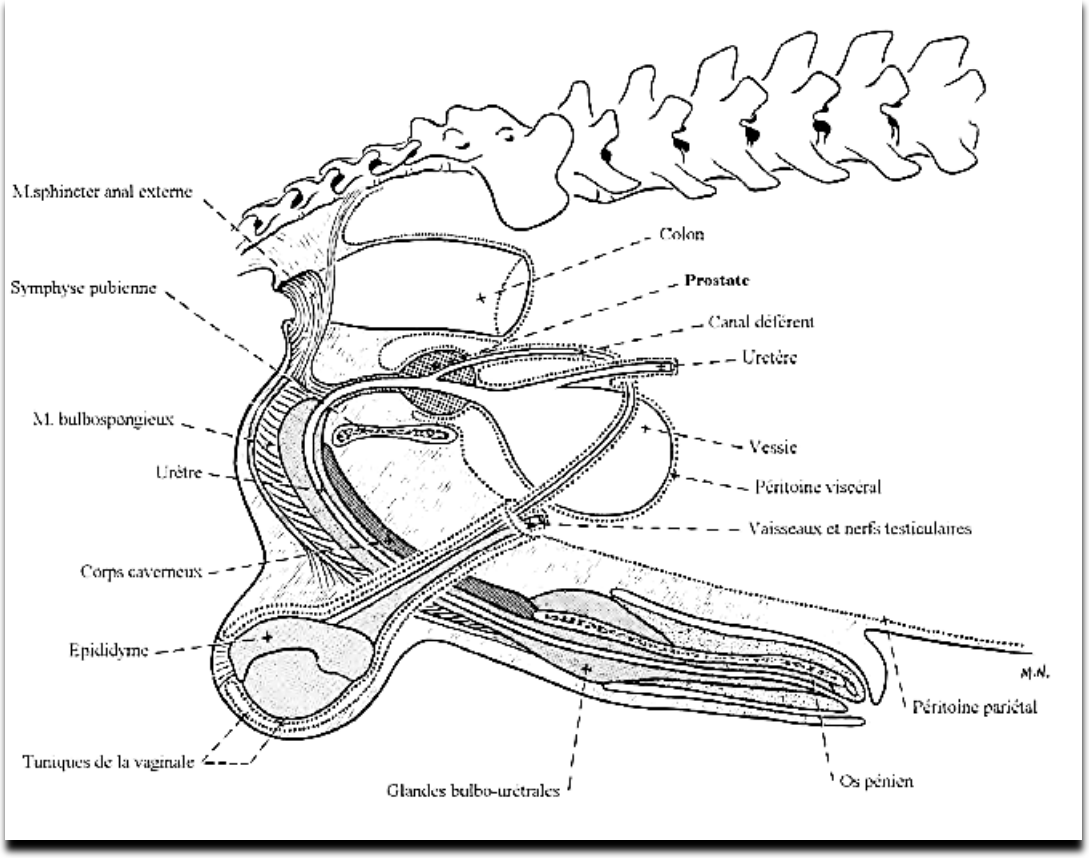


Figure n°1 : Les relations anatomiques entre la prostate et les différents organes de l'abdomen caudal chez le chien mâle (d'après E. Morey, 2008)

Chez le chien, sa position dans l'abdomen caudal dépend de l'âge de l'animal (Morey 2008). Chez le fœtus et les chiots jusqu'à deux mois d'âge, la prostate est en position intra-abdominale. Entre deux mois et la puberté, la prostate se trouve dans la cavité pelvienne, sous le plancher du rectum. Sa taille augmente progressivement et le pôle crânial se développe. Après 4 ans, elle est à moitié en position abdominale et après 10 ans, elle bascule de nouveau en position abdominale. Sa position dans l'abdomen caudal conditionne le toucher rectal.

3) Vascularisation et innervation

La prostate est entourée par des pédicules vasculo-nerveux impliqués dans le mécanisme d'éjaculation (nerfs caverneux et spongieux, artères pudendales accessoires et plexus veineux de Santorini) et dotée de cellules musculaires lisses participant, en association avec les fibres musculaires des canaux déférents, des vésicules séminales et du canal de l'urètre, à produire l'éjaculation (Morey 2008).

L'innervation appartient au système nerveux autonome à la fois parasympathique (ou cholinergique) et sympathique (ou non adrénergique). Le parasympathique innerve le muscle lisse de la capsule et le stroma vasculaire. Les stimulations parasympathiques participent à l'érection et à la production des sécrétions prostatiques. Le système sympathique contrôle les fibres musculaires qui sont responsables de l'occlusion du col vésical au cours de l'orgasme et de l'éjaculation (Morey 2008).

4) Histologie

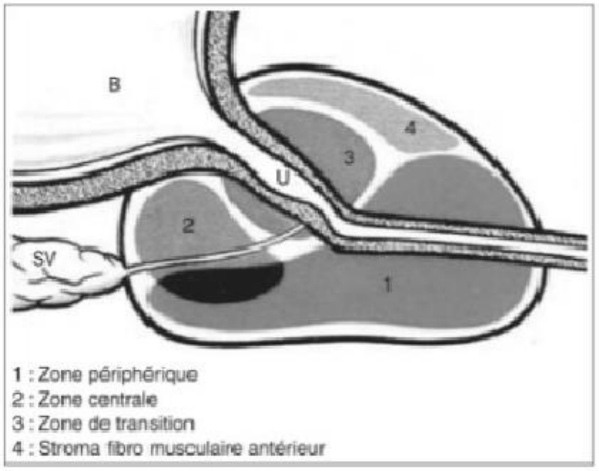
La prostate est composée de glandes tubulo-alvéolaires logées dans des travées de stroma fibromusculaire et entourées d'une capsule riche en fibres musculaires lisses (couche interne) et en fibres de collagènes (couche externe) (Morey 2008). Chaque groupe de glandes constitue un acinus et s'ouvre sur un canal collecteur qui se jette dans l'urètre prostatique.

Le système canalaire de la prostate est constitué de conduits excréteurs qui possèdent des dilatations sacculaires dans lesquelles le matériel sécrété peut être stocké. Ces conduits aboutissent dans les canalicules prostatiques qui s'ouvrent dans l'urètre prostatique.

La prostate est divisée en 4 zones, selon la description de Mac Neal (Dayon 2008 ; Halvorsen et al 2008 ; Morey 2008 ; Tan et al 2014) (*cf Figure n°2*). Cette classification a l'intérêt de distinguer des zones d'origines embryologiques différentes et prend donc en compte la susceptibilité des différentes zones au développement d'un phénomène néoplasique.

- La zone de transition : elle représente 5-10 % de la glande. Elle est séparée du reste de la glande par un fin liseré fibromusculaire et est constituée de deux lobes entourant l'urètre prostatique proximal. 20 % des cancers s'y développent.
- La zone centrale : elle représente 25 % de la glande. Ses canaux s'ouvrent autour des canaux éjaculateurs. 10 % des cancers s'y développent.

- La zone périphérique : elle représente 70 % du volume glandulaire. Ses canaux se drainent sur toute la longueur de l'urètre prostatique. C'est la zone de prédilection des processus néoplasiques, avec 70 % des cancers qui s'y développent.
- Le stroma fibromusculaire dépourvu de tissu glandulaire mais riche en fibres musculaires lisses, en fibres élastiques comme les fibroblastes, en cellules endothéliales, en cellules immunitaires comme les cellules dendritiques, en vaisseaux et en nerfs. Ce stroma part de la capsule, forme des septums et séparent les lobes en lobules (Dayon 2008 ; Morey 2008).



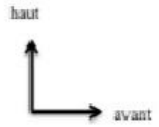


Figure n°2 : Anatomie zonale de la prostate : Modèle de MacNeal

L'épithélium glandulaire, qui entoure la lumière des tubulo-acini dans laquelle se jette le liquide prostatique, est composé de trois types cellulaires (Dayon 2008 ; Halvorsen et al 2008 ; Tan et al 2014) (*cf Figure n°3*) :

- Des cellules sécrétrices qui bordent la lumière. Ces cellules sont prismatiques ou cubiques voire aplaties. Elles ont des récepteurs aux androgènes et sont donc hormono-dépendantes. Ce sont elles qui sécrètent la PSA chez l'homme. Elles ont un gros noyau basal et le cytoplasme contient des granules de sécrétion.
- Des cellules basales, cellules épithéliales non sécrétrices, qui sont situées entre la membrane basale et le pôle basal des cellules sécrétrices. Elles se distinguent des cellules sécrétrices par leur localisation, par leur morphologie et par l'expression de cytokeratines et de p53. A cet étage, on pourrait également trouver parfois des cellules souches (Tan et al 2014), hypothèse actuellement en débat (Kiviharju-af et al 2008).
- Des cellules neuroendocriniennes qui sont peu nombreuses, morphologiquement hétérogènes, avec un processus neurite-like (« prolongements neuronaux »), qui s'étendent entre les autres sous-types et dans la lumière de l'acinus.

On y trouve des granules neurosécréteurs riches en neuropeptides dont le rôle fonctionnel n'est pas encore très clair (Ismail et al 2002). Une des hypothèses serait qu'ils induisent une prolifération des cellules adjacentes par stimulation paracrine (Dayon 2008). Le nombre de ces cellules augmente pendant la progression du cancer de la prostate vers un stade androgéno-indépendant. On a en effet une corrélation entre l'augmentation de la population de cellules neuro-endocriniennes et la prolifération de cellules épithéliales sécrétrices androgéno-indépendantes, associées à un mauvais pronostic. Cependant, les cellules neuro-endocriniennes qui apparaissent pendant la privation androgénique ne présentent pas toutes les caractéristiques des cellules neuro-endocriniennes normales et sont appelées cellules neuro-endocriniennes like. Cette différenciation précède l'augmentation de la prolifération tumorale et la progression vers un état androgéno-indépendant, laissant penser que ces « nouvelles » cellules neuro endocriniennes favorisent la survie et la progression tumorale (Dayon 2008).

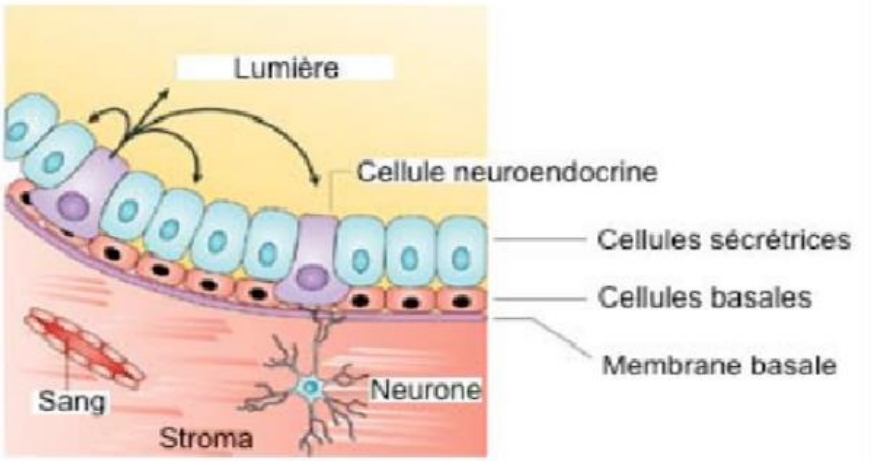


Figure n°3 : Les cellules de l'épithélium glandulaire prostatique (d'après Dayon A., 2008)

La prostate est donc une glande exocrine de l'appareil reproducteur masculin, située dans la région abdominale caudale et composée de glandes tubulo-alvéolaires logées dans un stroma fibromusculaire. Les cellules de ces glandes permettent la sécrétion de constituants du liquide séminal et sont sous contrôle hormonal.

II Physiologie

La glande prostatique est un organe androgène dépendant (Deschamps 2006). Son développement, sa croissance et la cytodifférenciation de la prostate ainsi que son fonctionnement (sécrétions prostatiques) sont sous dépendance des androgènes, et principalement de la testostérone (Dayon 2008 ; Morey 2008 ; Waters et al 2000).

1) Contrôle endocrinien de la croissance prostatique

Le contrôle de la croissance prostatique se fait selon plusieurs facteurs (Morey 2008) :

- Facteurs paracrines : facteurs de croissance tissulaires solubles sécrétés par les cellules prostatiques à un faible niveau et agissant sur les cellules prostatiques voisines. Ils stimulent ou inhibent la croissance de la prostate.
- Facteurs autocrines : facteurs solubles sécrétés par une cellule et agissant sur cette même cellule afin de réguler sa croissance
- Facteurs endocrines : facteurs les plus importants dans la croissance prostatique. Ils regroupent des familles d'hormones : les hormones stéroïdiennes – androgènes (la testostérone principalement) et œstrogènes – et les hormones polypeptidiques avec la prolactine. Ils sont transportés depuis les organes producteurs jusqu'à la prostate via le plasma (protéines de transport ou libres). La testostérone est l'androgène qui a l'action majeure sur la croissance prostatique.

2) Production des androgènes

La testostérone est le principal androgène régulant la croissance prostatique. C'est une hormone stéroïdienne produite primairement par les cellules de Leydig dans les testicules (Dayon 2008 ; Tan et al 2014) et en moindre proportion par les glandes surrénales (10 %) à partir de l'androstènedione (Dayon 2008 ; Morey 2008). Les testicules produisent entre 3 et 10 mg de testostérone chaque jour (Tan et al 2014). La synthèse et la sécrétion de la testostérone sont sous contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Une fois libérée dans le sang, la testostérone est soit liée à des protéines de transport (58 % à l'albumine et 40 % à la SHBG (Binding Sex Hormon Globulin) ou sous forme libre (2 %). Sa fraction biodisponible correspond à sa fraction libre et à sa fraction liée à l'albumine, la testostérone pouvant s'en détacher lors du passage dans les tissus (Morey 2008) (*cf Figure n°4*).

Une fois au contact de la prostate, la testostérone agit directement sur les Récepteurs à l'Androgène ou RA, entre dans la cellule, et agit sur la survie et la prolifération de la cellule via deux de ses métabolites actifs : la Dihydrotestostérone ou DHT (synthétisée à partir de la

testostérone grâce à l'enzyme 5α réductase) et l'estradiol (synthétisée à partir de la testostérone grâce à l'enzyme aromatase) (*cf Figure n°4*) (Morey 2008).

La conversion de la testostérone en DHT se fait dans le cytosol de la cellule prostatique grâce à une réaction enzymatique irréversible utilisant le NADPH et l'enzyme 5α réductase, située dans le réticulum endoplasmique et la membrane nucléaire. La DHT peut ensuite être la cible de plusieurs réactions enzymatiques réversibles conduisant à une formation de diols : 3α androstanediol et 3β androstanediol (Morey 2008).

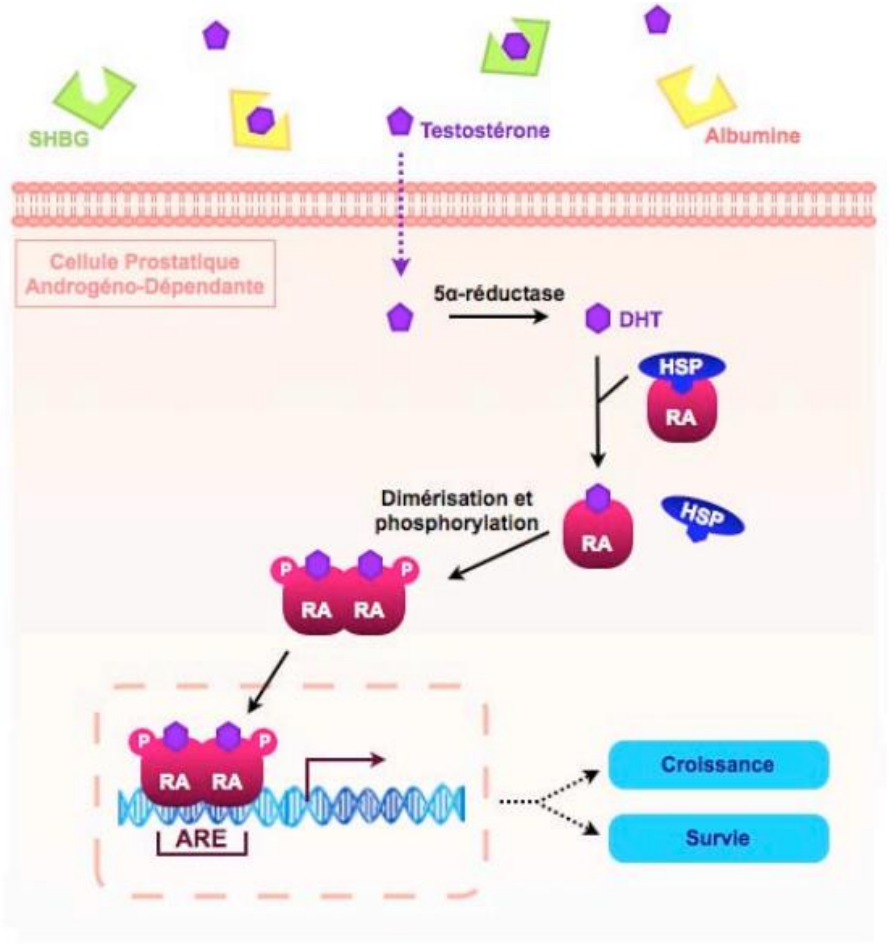


Figure n°4 : le mode d'action des androgènes (d'après Dayon A., 2008)

3) Mécanismes de régulation de la croissance prostatique par les androgènes

La régulation de la croissance prostatique et ses mécanismes ont été largement étudiés chez les chiens. La castration chez des chiens normaux et chez des chiens avec une hyperplasie bénigne de la prostate (BPH) entraîne une régression de la prostate (Deschamps 2006). La taille de la prostate diminue de 50 % en 3 semaines après la castration et jusqu'à 70 % en 9 semaines (Johnston et al 2000). Cette régression est due à une diminution du nombre de cellules de l'épithélium luminal, le nombre de cellules basales restant inchangé (Deschamps 2006). De plus, l'administration d'androgènes à des chiens castrés entraine une hypertrophie de la glande (Deschamps 2006). Les androgènes, et notamment la testostérone, ont donc un rôle important dans la croissance prostatique.

L'action des androgènes sur les cellules prostatiques se fait par l'intermédiaire de la DHT. Une fois formée, la DHT se lie à des récepteurs spécifiques aux androgènes. A l'état basal, ces récepteurs sont liés à des protéines HSP (Heat Shock Proteins) et des protéines chaperonnes qui empêchent l'interaction entre le récepteur et l'ADN (cf *Figure n°4*). La liaison de la DHT au niveau des RA présents dans le cytoplasme provoque un changement de conformation du récepteur et la dissociation des protéines associées. Cela démasque le site de liaison du ligand, les sites de dimérisation et la séquence de localisation nucléaire (Dayon 2008). La liaison de la DHT entraîne une hyperphosphorylation et une dimérisation du récepteur, éléments nécessaires à la liaison du récepteur au niveau de l'ADN (cf *Figure n°4*). Le complexe DHT-Récepteur s'associe avec des cofacteurs, est transféré dans le noyau, se lie à des séquences spécifiques d'ADN appelées ARE (Androgen Response Element) situées dans les régions promotrices de gènes cibles et entraîne alors l'augmentation de la transcription de certains gènes spécifiques (Dayon 2008 ; Morey 2008). Cette interaction stimule ou inhibe la transcription de gènes impliqués dans la régulation, la prolifération et la survie des cellules épithéliales prostatiques (*cf Figure n°4*).

L'action des androgènes déclenche donc une série complexe d'événements chronologiquement ordonnés : transcription de facteurs d'initiation, synthèse de protéines cellulaires et enfin synthèse d'ADN et réplication cellulaire (Alifrangis et al 2011 ; Morey 2008).

Les androgènes agissent sur la régulation de la prolifération (Dayon 2008) :

- <u>Par la régulation du cycle cellulaire</u> via la régulation des gènes codant pour des protéines contrôlant le cycle cellulaire. Ils stimulent l'expression des cyclines et des CDK (Cyclin Dependent Kinases) permettant ainsi la progression en phase G1 et la transition G1/S du cycle cellulaire. On a également une diminution de l'expression par la DHT de la protéine p16, protéine inhibitrice des CDKs.

- Par l'augmentation de production de facteurs de croissance produits par les cellules stromales prostatiques en réponse aux androgènes : IGF1, EGF, VEGF. Ils agissent de manière paracrine en stimulant les cellules épithéliales prostatiques. Les androgènes favorisent également l'action de ces facteurs en augmentant le nombre de leurs récepteurs à la surface des cellules épithéliales.
- Par l'inhibition de facteurs de croissance négatifs tel que le récepteur TGFβ. Ce récepteur agit de manière paracrine en inhibant la prolifération et en induisant l'apoptose des cellules épithéliales prostatiques.
- Par l'inactivation de l'apoptose. Les androgènes bloquent l'activation des caspases des voies intrinsèque et extrinsèque de la mort cellulaire programmée. Par exemple, le gène codant pour la caspase 2 a deux séquences ARE. Les androgènes régulent également positivement l'expression de gènes codant pour les protéines anti apoptotiques.

La DHT régule donc la croissance, la différentiation et le fonctionnement de la prostate à l'échelle cellulaire, au niveau des cellules épithéliales prostatiques saines comme tumorales. Dans l'épithélium prostatique sain, on trouve un équilibre entre la prolifération et la mort cellulaire de façon à maintenir une homéostasie de la glande. Lors du développement du cancer de la prostate, cette balance est déséquilibrée en faveur de la prolifération, ce qui conduit à la croissance exagérée.

Outre son rôle dans la prolifération cellulaire, la DHT entraîne également la production des sécrétions participant au liquide séminal (Morey 2008).

III Fonctions de la prostate

La prostate contribue à la 1e et à la 3e fraction du liquide séminal. La composante musculaire lisse de la prostate participe à l'évacuation des sécrétions ainsi qu'aux phénomènes complexes de la continence involontaire et de l'éjaculation du sperme (Swinney 1998).

Les sécrétions sont composées de divers composants et comprennent entre autres du zinc (activité antibactérienne), du citrate (maintien de l'équilibre osmotique et transport des ions) et des enzymes protéiques : arginine estérase (représente 90 % des protéines totales retrouvées dans le liquide prostatique) et phosphatase acide (maintien de l'activité sous dépendance des diols issus du métabolisme de la DHT).

Les sécrétions prostatiques interviennent principalement dans le transport et la conservation du sperme. La diminution des sécrétions prostatiques n'est pas en elle-même un facteur d'infertilité, mais un facteur d'altération de la fertilité. Ces sécrétions sont sous

contrôle nerveux et hormonal. En effet, l'expulsion des fluides prostatiques dans l'urètre est due à la contraction du stroma fibromusculaire stimulée par le sympathique. Les androgènes régulent la régulation des protéines du liquide telle que l'arginine estérase.

La prostate est donc une glande sexuelle exocrine située au carrefour uro-génital dans la région abdominale caudale. Son anatomie est définie par le modèle de MacNeal qui la divise en plusieurs zones d'origines embryologiques différentes et ayant une susceptibilité différente au développement d'un phénomène néoplasique, la zone périphérique étant la zone de prédilection (70 % des cancers s'y développent). Sa croissance est majoritairement régulée par les hormones sexuelles stéroïdiennes et principalement la testostérone via son métabolite actif, la DHT.

La prostate est un organe fréquemment touché par un phénomène néoplasique chez l'homme, contrairement à l'espèce canine où il est très rare d'y diagnostiquer un cancer.

Partie II : Épidémiologie du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le premier cancer chez les hommes en matière de prévalence, avec une contribution de 26,7 % à l'ensemble des cancers (Annels et al 2014 ; Barayan et al 2014 ; Leal et al 2014). Ce n'est cependant pas le plus meurtrier : contribution de 10,4 % à l'ensemble des cancers, en se situant au 3e rang des cancers les plus mortels chez l'homme après le cancer du poumon (25 %) et le cancer colorectal (10,9 %) (Barayan et al 2014 ; Leal et al 2014).

Chez le chien, la tendance est plutôt inversée. Le cancer de la prostate est très rare, avec une incidence de 0,43 % mais de pronostic très sombre, les chiens atteints de cette pathologie étant généralement euthanasiés (Axiak et al 2012).

I Prévalence

La vraie prévalence du cancer de la prostate chez l'homme est difficile à connaître car, comme on le verra par la suite, ce cancer est sur diagnostiqué. La prévalence histologique du cancer moyenne est de 40 % entre 55 et 70 ans (Nicholson et al 2004). Elle ne reflète pas vraiment la réalité car le cancer peut être histologiquement présent sans que la maladie devienne clinique. Elle augmente en moyenne de 1-2 % pour les hommes âgés de 20-29 ans à 59-72 % pour ceux âgés de 90-99 ans (Leal et al 2014).

Chez le chien, plusieurs études ont été menées afin d'estimer la prévalence du cancer prostatique, mais les chiffres varient considérablement. Dans plusieurs articles, les auteurs rapportent que, selon des études nécropsiques, la prévalence histologique des tumeurs prostatiques est de 0,29 % à 0,6 % chez les chiens mâles, tout âge et races confondus, et de 3,5 % à 15 % chez les chiens atteints d'affections prostatiques (Bell et al 1991 ; Feeney et al 1984 ; Forrester et al 1997 ; Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014 ; Teske et al 2002).

II Incidence

Au niveau international, l'incidence du cancer de la prostate chez l'homme (standardisé monde) estimée en France en 2008 est de 118,3 cas pour 100 000 personnes. L'incidence standardisée à la population mondiale a augmenté entre 1980 et 2005 passant de 24,8 à 127,1 cas pour 100 000 en 2005 avant d'amorcer une diminution pour atteindre 99,4 cas pour 100 000 personnes en 2009 (Leal et al 2014). Cette augmentation significative est bien expliquée par le fait que la détection des cancers latents, asymptomatiques ou histologiques est améliorée (biopsies plus performantes, test PSA, …) (Leal et al 2014).

Cette incidence varie selon des variations géographiques et ethniques. L'incidence est la plus forte en Amérique du Nord, la plus faible en Asie (Halvorsen 2008). Aux États-Unis, l'incidence est plus élevée chez les Afro Américains que chez les caucasiens.

Chez le chien, il existe peu de données quant à l'incidence réelle du cancer de la prostate. D'une part, cela vient du fait que les chiens documentés viennent des écoles vétérinaires (cas référés, propriétaires motivés, …) et non pas de la population de base (Dobson et al 2002). D'autre part, le diagnostic du cancer de la prostate est rarement mené à terme. L'incidence standardisée du cancer de la prostate est d'environ 14/100 000 chiens/an (Dobson et al 2002).

Il est intéressant de noter que l'augmentation de l'incidence canine et humaine a une courbe similaire. La courbe de l'incidence canine croit juste légèrement plus vite. Cela peut nous faire penser que les facteurs prédisposants, quels qu'ils soient, sont partagés par l'espèce humaine comme canine. En effet, bien que les techniques de dépistage et de diagnostic (biopsies, techniques d'imagerie ciblant plus précisément les zones possiblement cancéreuses, test PSA, …) se soient considérablement améliorés chez l'homme, ce n'est pas le cas pour l'espèce canine. Cependant, la courbe de l'incidence du cancer de la prostate chez le chien et celle de l'incidence de la castration chez cette même espèce sont très similaires également. On peut donc se demander si ces courbes d'incidence similaires entre l'homme et le chien sont dues à des facteurs communs ou non : dépistage et diagnostic plus performants chez l'homme, incidence de la castration plus importante chez le chien ou exposition environnementale à des facteurs endogènes plus importante chez les deux espèces (Bryan et al 2007).

III Morbidité et Mortalité

Après avoir culminé en 1990 (18,1 décès pour 100 000 hommes), le taux de mortalité standardisé monde par cancer de la prostate a par la suite diminué de manière notable : il est passé de 18,1 à 11,3 pour 100 000 entre 1990 et 2012 chez l'homme soit une baisse de 37 % (site de l'Institut National du Cancer). Le taux de survie du cancer de la prostate au stade local ou régional à 5 ans approche les 100 %. Le taux de survie à 5 ans pour tout stade est passé de 67,8 % à 99,7 % en 25 ans. Le taux de survie pour tout stade est de 98,8 % à 10 ans et de 94,3 % à 15 ans (Desantis et al 2014).

Malgré ces chiffres, le cancer de la prostate reste le 3e cancer le plus mortel chez l'homme avec une mortalité moyenne pour les 70-85 ans de 0,2 morts pour 1000 (Waters et al 2000).

Chez le chien, le carcinome prostatique est responsable de 0,2 % à 0,6 % de mortalité à l'échelle de la population (Lévy et al 2014).

IV Facteurs de risque

Le risque pour un homme d'avoir un cancer de la prostate diagnostiqué a fortement augmenté au cours du temps. En effet, un homme né en 1940 a un risque de 10,7 % d'être atteint d'un cancer de la prostate avant l'âge de 75 ans soit un risque 4 fois plus élevé que celui qu'un homme né en 1910 avait jusqu'à l'âge de ses 75 ans (2,7 %) (site de l'Institut National du Cancer).

L'étiologie précise du cancer de la prostate est inconnue comme pour beaucoup de cancers (Drake 2010). Les facteurs de risque sont quant à eux peu définis chez l'homme comme chez le chien mis à part l'âge (Cornell et al 2000).

L'implication des facteurs environnementaux peut être démontrée par le fait que l'incidence du cancer prostatique dans des populations à risque « faible » telles que les Japonais ou les Polonais augmente lorsqu'ils migrent dans des zones plus à risque comme les USA (Bostwick et al 2004). Tous ces facteurs entraîneraient un dysfonctionnement cellulaire (ou tout de moins y participeraient) menant à une prolifération cellulaire incontrôlée (Prezioso et al 2007).

Ces facteurs de risque peuvent être endogènes (changement hormonal, historique familial, race pour l'espèce canine, …) ou exogènes (environnement, radiations, agents chimiques, …) (Bostwick et al 2004 ; Drake et al 2010 ; Portela et al 2012).

1) Facteurs endogènes

a) Facteurs génétiques

L'implication de mutations génétiques dans la carcinogenèse du cancer de la prostate est un des facteurs de risque le plus connu et le plus étudié chez l'homme (Cannon-Albright et al 2014). Cette implication se fait par des mutations génétiques sur des gènes suppresseurs de tumeur ou des oncogènes permettant alors la prolifération cellulaire incontrôlée.
On trouve parmi les facteurs de risque génétiques les facteurs familiaux, lié à l'historique familial à propos du cancer de la prostate et étudié exclusivement chez l'homme, des facteurs liés au chromosome Y, exclusif à l'homme également, et des facteurs raciaux, étudiés dans les deux espèces.

i. Facteurs familiaux

On définit un caractère héréditaire lors de cancer de la prostate lorsque l'on a au moins deux cas dans la famille (Cannon-Albright et al 2014). Le facteur héréditaire impliqué dans la carcinogenèse du cancer de la prostate est présent dans 20 % des cas. Cette « hérédité » peut être due au hasard, à l'exposition d'un carcinogène commun ou être une véritable forme héréditaire (mais dans seulement 3,6 % des cas). Dans ce cas, la transmission peut se faire par mode autosomique dominant (chromosome 1 et 16q impliqués (Prezioso et al 2007)) mais aussi sur un mode lié au sexe via le chromosome X. Les gènes héréditaires susceptibles d'être touchés comptent parmi eux RNASEL, ELAC2, MSR1, gènes impliqués dans la carcinogenèse mais rarement mutés lors de cancer sporadique (Halvorsen 2008).

Il faut noter que le risque d'avoir un cancer de la prostate est 1,4 à 3,5 fois plus élevé chez les hommes apparentés aux 1e et 2e degrés d'un patient atteint (Dayon 2008 ; Deschamps 2006 ; Giovannucci 1995).

ii. Chromosome Y

Peu d'études génétiques ont été effectuées sur ce chromosome quant à son implication dans le risque pour le cancer de la prostate. Une étude a utilisé la base de données de l'Utah pour trouver les hommes qui partagent le même chromosome Y et regarder le risque de cancer sur chaque groupe. Ils ont ainsi pu identifier des chromosomes Y spécifiques ayant un rôle dans la carcinogenèse et partagés par plusieurs hommes. Près de 7,3 % de ces chromosomes Y sont associés à un haut risque de cancer de la prostate. Malheureusement, peu d'études confirment ces résultats, cela reste donc à étudier (Cannon-Albright et al 2014).

iii. Facteurs ethniques et prédispositions raciales

La prédisposition ethnique dans l'espèce humaine a été fortement démontrée dans les populations Afro Américaine, d'Afrique de l'Ouest et des Antilles. En effet, on trouve dans ces populations le plus haut taux d'incidence de la maladie, les stades les plus avancés lors du diagnostic de la maladie et une mortalité spécifique à la maladie plus forte (Onukwugha et al 2014, Deschamps 2008). Il faut tout de même faire attention au biais sociologique (accès plus difficile aux soins, moins de consultations auprès d'urologistes, …) Les Asiatiques sont quant à eux moins à risque de manière significative par rapport aux Caucasiens (Leal et al 2014).

Dans l'espèce canine, le risque augmenté d'une maladie prostatique est significatif chez certaines races de taille moyenne et grande (Cornell et al 2000) : le Scottish terrier, le Bouvier des Flandres (25 % des chiens touchés d'après une étude de Teske (Teske et al 2002)), le Bernese Mountain Dog, le Pointer Allemand, le Doberman Pinscher, le German

Shorthair, l'Airedale terrier, le Norvégien elkhounds et le Shetland (Axiak et al 2012 ; Bryan et al 2007 ; Morey 2008 ; Teske et al 2002). Mais certaines études contestent ces prédispositions raciales (Cornell et al 2000 ; Lévy et al 2014). D'autres démontrent également que certaines races pourraient être moins à risque comme les races miniatures, le Cocker Américain et le Dachshund (Bryan et al 2007).

Il faut tout de même faire attention au biais de la base de données sachant que la quasi-totalité des chiens étudiés viennent d'universités.

b) Age

L'âge est le facteur de risque le plus important et le plus reconnu lors de la survenue du cancer de la prostate. En effet, le cancer de la prostate est très rarement diagnostiqué avant 45 ans (0,5 % des cas) et plus de 75 % des nouveaux cas sont diagnostiqués après 55 ans (Cannon-Albright 2014 ; Dayon 2008 ; Leal et al 2014). De même, lors d'autopsies, la proportion d'hommes avec un cancer de la prostate passe de 12 % à 40-49 ans à 43 % au-delà de 80 ans.

Chez le chien, on remarque la même tendance : les chiens atteints de cancer de la prostate sont significativement plus âgés que les chiens atteints d'autres maladies prostatiques (moyenne d'âge au diagnostic de 10 ans concernant le cancer de la prostate contre une moyenne d'âge au diagnostic de 7 ans pour les prostatites et l'hyperplasie bénigne de la prostate) (Dayon 2008 ; Teske et al 2002).

Il est intéressant de noter que l'âge pourrait, outre son influence sur l'incidence du cancer de la prostate, modifier quelque peu son comportement biologique, dans le sens où les patients atteints du cancer prostatique et d'âge jeune dans l'espèce humaine comme canine sont confrontés à un processus plus agressif, ayant deux fois plus de risque d'avoir des métastases osseuses (Cornell et al 2000).

c) Implication de la testostérone

L'implication de la testostérone dans la carcinogenèse sera vue plus en détails dans la partie IV. Néanmoins, on peut noter que la testostérone en tant que facteur de risque indépendant a été très étudiée et mène à des résultats conflictuels (Morey 2008 ; Tan et al 2014). Certains ont émis l'hypothèse qu'un environnement riche en testostérone pourrait augmenter le risque du cancer de la prostate – voire l'initier – vu qu'un faible taux de testostérone réduit la croissance de cancer prostatique métastatique (traitement à la privation androgénique). D'autres ont émis l'hypothèse qu'un faible taux d'androgènes entraîne des cancers plus agressifs ou des cancers androgèno-indépendants.

Mais des études ont montré qu'il n'y avait pas de relation entre taux de testostérone endogène et taux de PSA, volume prostatique ou prolifération cellulaire (Tan et al 2014).

Chez le chien, le lien entre la castration et l'augmentation de l'incidence du cancer de la prostate a été clairement établi (Johnston et al 2000 ; Morey 2008 ; Lévy et al 2014). Les causes de cette augmentation sont, quant à elles, peu claires. En effet, l'âge de diagnostic du cancer de la prostate entre les chiens castrés et les entiers n'est pas significativement différent, la castration n'ayant pas non plus d'effet sur la fréquence ou le pattern des métastases (Teske et al 2002). On suppose ainsi que la castration n'initie pas le cancer mais pourrait favoriser sa progression (ce qui est contradictoire avec ce que l'on voit chez l'homme et qui sera détaillé ultérieurement).

Le taux de testostérone (qu'il baisse ou qu'il augmente) n'est donc pas un facteur de risque clairement identifié pour le cancer de la prostate, malgré son implication certaine dans la carcinogenèse, et ce chez les espèces canine comme humaine.

2) Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux incriminés dans la carcinogenèse du cancer de la prostate sont nombreux. Ils peuvent être impliqués dans la carcinogenèse en général, comme l'alimentation ou l'exposition à des carcinogènes selon le mode de vie, ou spécifiques à la carcinogenèse du cancer de la prostate comme l'inflammation chronique, certains agents pathogènes ou la vasectomie (Nakai et al 2013). Tous ont été principalement étudiés chez l'homme.

Concernant les facteurs alimentaires, la viande rouge grillée (qui amène à la production de carcinogènes comme les époxydes cholestérol qui s'accumulent dans le tissu prostatique) (Giovannucci 1995 ; Cannon-Albright 2014 ; Nakai et al 2013), les produits laitiers à base de lait entier et l'amine hétérocyclique ont été incriminés dans le cancer de la prostate (Nakai et al 2013). Les bêta carotènes, les lycopènes, la vitamine A, la vitamine E et le sélénium sont quant à eux corrélés à un risque diminué, bien que les données soient inconstantes (Giovannucci 1995 ; Halvorsen 2008 ; Deschamps 2006). Une étude effectuée sur des Beagles âgés a également montré qu'une supplémentation en sélénium entraînait une diminution de la formation de fragments d'ADN et une augmentation de l'apoptose des cellules épithéliales de la prostate, indiquant un possible effet protecteur anti-prolifératif du sélénium (Leroy et al 2009). Il est important de noter que l'alimentation pourrait être, comme dans beaucoup de pathologies, le facteur de prévention qui peut avoir le plus de succès (diminution de la consommation de viande et de produits laitiers) (Giovannucci 1995).

D'autres facteurs environnementaux ont été étudiés et incriminés dans la carcinogenèse du cancer de la prostate chez l'homme : exposition au cadmium, aux pesticides (Bostwick et al 2004 ; Giovannucci 1995), vasectomie (Bostwick et al 2004 ; Deschamps 2008), agents pathogènes tels que Proprionibacterium acnes (Nakai et al 2013 ; Sfanos et al 2012), Klebsiella, Pseudomonas (Sfanos et al 2012), agents de maladies sexuellement transmissibles (Deschamps 2008 ; Nakai et al 2013), agent viral XMRV (xenotropic murine leukaemia virus-related virus) (Nakai et al 2013 ; Sfanos et al 2012). Tous ces facteurs sont susceptibles d'induire une inflammation chronique.

L'implication de l'inflammation dans la carcinogenèse sera étudiée plus en détail dans la partie IV, sous partie 3. En effet, l'inflammation chronique est un des facteurs de risque les plus importants dans la carcinogenèse de la prostate et est donc très étudiée (Nakai et al 2013 ; Poutahidis et al 2009 ; Rajarubendra et al 2010 ; Sfanos et al 2012). Beaucoup d'études ont, par exemple, montré qu'il y avait un plus haut risque de cancer chez les hommes atteints de prostatite (Daniels et al 2009 ; Dennis et al 2002 ; Nakai et al 2013). De même, la prise d'anti inflammatoires naturels (thé vert, soja, tomate, …) ou pharmaceutiques a montré un risque moins important de cancer de la prostate chez l'homme et le chien (Sfanos et al 2012). De plus, les conditions promouvant l'inflammation augmentent la fréquence et la sévérité du cancer de la prostate (cancer de plus haut grade avec un score de Gleason de 7-10) (Nakai et al 2013 ; Poutahidis et al 2009 ; Rajarubendra et al 2010 ; Sfanos et al 2012). L'inflammation aurait un rôle dans le développement et la progression du cancer confiné à un organe à un stade métastatique, situation très bien décrite dans d'autres cancers (cancer de l'estomac, du côlon, du foie, …) (Drake et al 2010 ; Rajarubendra et al 2010 ; Sfanos et al 2012).

Bien qu'aucun facteur étiologique n'ait été déterminé, les facteurs de risque identifiés sont donc sans conteste impliqués dans la progression voire dans l'initiation du cancer de la prostate. La connaissance et l'étude de ces facteurs permettraient d'agir de manière préventive voire même curative (en limitant la progression). Comme nous avons pu le voir, ces facteurs sont principalement étudiés chez l'homme et non dans l'espèce canine. Or le chien pourrait être un bon sujet épidémiologique. En effet, son espérance de vie est moins longue, il est donc possible de trouver plus vite des facteurs de risques, qui pourraient ensuite être recherchés chez l'homme. Les facteurs environnementaux pourraient également être plus simples à étudier, le chien n'ayant qu'un mode de vie particulier (pièce particulière de la maison, quartier bien défini, …) (Kelsey et al, 1998).

Le chien pourrait également être particulièrement intéressant concernant les facteurs génétiques, le pool génétique des chiens de race étant généralement réduit. On peut donc étudier les familles à haut risque assez facilement, faire des analyses génétiques sur les portées, … (Kelsey et al, 1998). Cependant, il ne faut pas oublier la très faible incidence du cancer prostatique chez le chien, facteur limitant principal pour ces études.

V Signes cliniques

Les signes cliniques sont similaires chez l'homme et le chien. Ils ressemblent à tout syndrome prostatique sévère (Lévy et al 201). Ils peuvent être dus primairement à l'hypertrophie de la prostate et à sa localisation (proximité des voies urinaires et du côlon) ou, dans les stades les plus avancés, à la localisation des métastases (principalement osseuse à localisation vertébrale et au niveau des membres, pulmonaire, …) (Lévy et al 2014).

1) Signes cliniques communs

a) Symptômes généraux

Les signes cliniques les plus fréquents et signes d'appel de la maladie sont généraux. 42 % des chiens atteints de cancer de la prostate présentent un ou plusieurs de ces symptômes (Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Morey 2008) (*cf Tableau n°1*). Ces signes systémiques sont plus marqués et plus importants que lors d'autres affections prostatiques, bien que l'objectivation de leur sévérité reste subjective.

Tableau n°1 : Les signes cliniques communs chez le chien

Signes cliniques	**Pourcentage chez le chien**
Signes généraux	
Fatigabilité, Dépression	23%
Anorexie	23%
Perte de poids	15%
Amyotrophie	15%
Symptômes urinaires	
Strangurie	45%
Dysurie	62%
Hématurie	29%
Incontinence	62%
Symptômes digestifs	
Constipation, diarrhées	30%
Ténesme	30%
Dyschésies	30%

b) Symptômes urinaires

Les symptômes urinaires sont souvent la conséquence de la compression de l'urètre par une prostate hypertrophiée, de l'invasion de l'urètre ou de la vessie par la tumeur ou d'une prostatite concurrente (Axiak et al 2012). 61 % des chiens atteints de tumeur prostatique présentent des signes du bas appareil urinaire (*cf Tableau n°1*) (Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014 ; Morey 2008). Ces symptômes sont beaucoup moins fréquents chez l'homme, l'évolution lente de la tumeur et son caractère localisé n'entraînant pas de signe clinique.

c) Symptômes digestifs

Les symptômes digestifs sont dus principalement à l'obstruction du colon descendant par une prostate élargie et/ou par des nœuds lymphatiques hypertrophiés dans la région sous-lombaire (Axiak et al 2012). 31 % des chiens atteints de cancer de la prostate présentent des symptômes digestifs (cf *Tableau n°1*)(Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014 ; Morey 2008).

d) Symptômes nerveux et orthopédiques

Les symptômes nerveux et orthopédiques apparaissent lors de maladie maligne avancée, étant la conséquence des métastases du cancer prostatique à localisation osseuse préférentielle. Ces métastases mènent à des myélopathies (compression des nerfs par des métastases vertébrales), à des problèmes locomoteurs et surtout à de la douleur (Johnston et al 2000). 7,7 % des chiens atteints de cancer prostatique présentent des signes nerveux et/ou locomoteurs (Axiak et al 2012). Parmi eux se trouvent :

- Douleur au niveau des membres postérieurs (Cornell et al 2000), en regard du rachis lombaire et au niveau cervical (colonisation néoplasique des os ou des vertèbres) (Axiak et al 2012)
- Ataxie, parésie ou paralysie des membres postérieurs (par compression nerveuse par des métastases vertébrales L7-S1) (Axiak et al 2012 ; Lévy et al 2014)
- Boiterie (Axiak et al 2012 ; Johnston et al 2000)
- Microfractures à l'origine de douleurs voire de fractures pathologiques (Axiak et al 2012 ; Morey 2008)

2) Signes cliniques moins communs

Parmi les signes cliniques plus rares, on retrouve l'hyperthermie maligne (Lévy et al 2014 ; Morey 2008), la polyuro-polydipsie (Lévy et al 2014), le syndrome de Cadiot Ball (associé à une ostéopathie hypertrophique), voire des symptômes respiratoires dans le cadre d'une maladie très avancée (dus à la localisation de métastases au niveau pulmonaire) comme de la toux, une intolérance à l'effort, des bruits respiratoires voire de la dyspnée (Axiak et al 2012 ; Lévy et al 2014).

Le cancer de la prostate a donc une symptomatologie typique d'un syndrome prostatique chez le chien, il est difficilement diagnostiqué par la simple clinique. Chez l'homme, l'évolution lente de la tumeur et son caractère localisé entraînent peu de signes cliniques, 80 % des cancers de la prostate étant découverts à un stade précoce localisé à l'occasion d'un dépistage ou d'un examen de contrôle.

VI Diagnostic

Le diagnostic du cancer de la prostate est principalement basé chez le chien sur l'apparition des symptômes cliniques. En effet, il n'y a pas de marqueur biologique du cancer permettant un dépistage. Le diagnostic est donc tardif et est souvent fait à un stade d'incurabilité lorsque le cancer a envahi toute la glande et/ou a métastasé (Axiak et al 2012 ; Deschamps 2006 ; Kelsey et al 1998 ; Teske et al 2002).

Chez l'homme, le dépistage se basant sur le taux sanguin de PSA et les biopsies prostatiques permettent de détecter la maladie de plus en plus tôt, parfois même lorsqu'elle n'est pas encore clinique (Barayan et al 2014).

Le diagnostic se fait par étapes : on a d'abord un diagnostic d'atteinte prostatique (que ce soit via la clinique et le toucher rectal pour le chien ou le toucher rectal et l'élévation du taux de PSA pour l'homme) puis un diagnostic de la lésion prostatique en cause (grâce à d'autres examens complémentaires comme l'imagerie, la cytologie ou la biopsie prostatique).

1) Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel du cancer de la prostate se fait avec toutes les autres causes d'affection prostatique (Morey 2008) :

- Prostatite chronique
- Abcédassion de la prostate
- Hyperplasie bénigne de la prostate
- Kyste prostatique ou paraprostatique

Il est important de noter qu'une prostatomégalie chez un chien castré est souvent due à un phénomène néoplasique. Chez un chien entier, les causes les plus fréquentes de prostatomégalie sont les kystes prostatiques et l'hyperplasie bénigne de la prostate (Axiak et al 2012).

2) Diagnostic

a) Anamnèse/Commémoratifs

Il faut tenir compte de l'épidémiologie (populations ou races canines à risque, âge, …) et des signes cliniques rapportés par le patient/le propriétaire comme ils ont été décrits précédemment (Morey 2008).

Chez l'homme, l'âge médian de diagnostic est compris entre 67 ans et 70 ans (Desantis et al 2014 ; Deschamps 2006 ; Gerritsen et al 2012 ; Halvorsen 2008). 85 % des cas sont diagnostiqués après 65 ans, moins de 1 % avant 50 ans (Halvorsen 2008).

Chez le chien, l'âge médian de diagnostic est de 10 ans ce qui, rapporté à un âge humain, est similaire à l'âge médian de diagnostic chez l'homme (Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Morey 2008 ; Teske et al 2002). Cependant, les chiens atteints de cancer de la prostate sont généralement à un stade bien plus avancé, nous permettant d'émettre deux hypothèses : soit l'espèce canine est atteinte plus précocement soit le phénomène néoplasique est bien plus agressif, et donc rapide, dans cette espèce.

b) Examen clinique

Outre les signes cliniques précédemment évoqués, l'examen clinique par le vétérinaire ou l'urologiste devra comprendre un toucher rectal. En effet, le toucher rectal va permettre de sentir la prostate et détecter des anomalies morphologiques de celle-ci (Deschamps 2006). On pourra mettre en évidence la taille de la prostate, son aspect régulier ou irrégulier, une sensibilité douloureuse ou non lors de la palpation, des indurations nodulaires et leur localisation, une asymétrie de consistance de la glande voire une atteinte extra prostatique (Axiak et al 2012 ; Deschamps 2006 ; Morey 2008). C'est un examen avec une sensibilité de 59 %, une spécificité de plus de 90 % et une VPP faible de 30 % (Deschamps 2006).

Le toucher rectal n'est par contre pas un outil de dépistage approprié seul, il ne sert qu'à orienter le diagnostic (Deschamps 2006). En effet, il ne permet de palper que la zone postérieure de la prostate et ne permet pas d'explorer les zones transitionnelle et antérieure de la prostate où apparaissent 30 % des cancers (Deschamps 2006). De plus, il ne permet de reconnaître que les tumeurs de taille importante. L'absence d'anomalie ne permet donc pas d'exclure la présence de cancer existant (Deschamps 2006).

Les nœuds lymphatiques hypertrophiés en région sous lombaire peuvent aussi être palpés lors de cet examen. Si l'urètre est obstruée, la vessie est ferme, douloureuse et plus grosse (Axiak et al 2012).

c) Examens de laboratoire

i. <u>Analyse d'urine</u>

L'analyse d'urine est incontournable dans la démarche diagnostique. Elle révèle souvent une hématurie (77 % des cas chez le chien) et une pyurie (13 % des cas). Parfois, des cellules atypiques ou néoplasiques peuvent être vues, bien que la différenciation entre des cellules épithéliales réactives ou néoplasiques soit difficile (Axiak et al 2012, Morey 2008).

ii. Dosage sanguin PSA

La PSA est une glycoprotéine produite quasi exclusivement par les cellules épithéliales prostatiques sous l'influence des androgènes (Deschamps 2006). Son utilisation dans le diagnostic (et surtout le dépistage) du cancer de la prostate se fait exclusivement chez l'homme. Son augmentation n'est pas spécifique d'une pathologie tumorale maligne, toute affection prostatique ou manipulation prostatique peut faire augmenter la PSA (Desantis et al 2014 ; Deschamps 2006). C'est le taux de PSA combiné aux autres techniques de diagnostic (toucher rectal et biopsie) qui oriente fortement le diagnostic (taux supérieur à 0,4 ng/mL) (Deschamps 2006).

Contrairement à l'homme, les cancers prostatiques canins ne produisent pas de PSA mais plutôt une enzyme de la famille des kallikréines, l'arginine estérase, pour laquelle il n'existe encore aucun anticorps commercialisable (Leroy et al 2009 ; Morey 2008 ; Sorenmo et al 2003). Malheureusement, cette enzyme est par ailleurs non spécifique à la prostate, pouvant être exprimée par d'autres composants du tractus urinaire (Leroy et al 2009). Il est donc actuellement difficile de diagnostiquer précocement un cancer de la prostate chez le chien et les marqueurs biologiques actuellement identifiés chez l'homme (PSA et PSMA) ne sont pas applicables à l'espèce canine (Leroy et al 2009). Il est donc nécessaire de trouver des marqueurs biologiques idéalement sanguins afin de dépister précocement les chiens atteints de cancer prostatique (Leroy et al 2009).

d) Imagerie

i. Radiographie

La radiographie permet d'évaluer un peu plus précisément la taille de la prostate (Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014 ; Morey 2008) (le diamètre de la prostate doit être égal aux deux tiers de la largeur de l'entrée du bassin sur la vue ventro-dorsale), bien que celle-ci puisse être difficile à estimer sans produit de contraste et que la radiographie ne soit dans ce cas pas l'examen de choix. L'urétrographie rétrograde peut aider à visualiser la symétrie de la prostate de part et d'autre de l'urètre prostatique, la taille de la prostate, l'apparence de l'urètre prostatique et la présence ou non de reflux de produit de contraste dans la prostate (Axiak et al 2012 ; Lévy et al 2014 ; Morey 2008).

On peut également voir des minéralisations sur la prostate (qui sont fortement prédictives d'une néoplasie chez les chiens castrés avec une sensibilité de 84 % et une spécificité de 100 % (Axiak et al 2012) mais peu spécifiques chez le chien mâle entier) (cf *Figure n°5*). Un déplacement ventral du colon dû à une hypertrophie des nœuds lymphatiques dans la région sous lombaire peut être constaté (Axiak et al 2012, Morey 2008).

Les métastases dans la moelle lombaire, au niveau du pelvis, au niveau du fémur ou au niveau pulmonaire peuvent aussi être vues (Axiak et al 2012 ; Lévy et al 2014) (cf *Figure*

n°6). Les métastases osseuses apparaissent lytiques, proliférative ou mixte (Axiak et al 2012 ; Morey 2008) et sont le plus souvent localisées au niveau des corps vertébraux des vertèbres lombaires (Morey 2008). La scintigraphie osseuse permet de voir de manière plus spécifique et plus sensible les métastases osseuses.

Malgré cela, la radiographie reste un examen d'imagerie peu sensible, rarement diagnostique et très peu utilisée en humaine. L'échographie abdominale sera préférée comme examen de choix dans l'espèce canine (Morey 2008).

Figure n°5 : Minéralisation de la prostate sur une radiographie du tractus urinaire d'un chien (d'après Morey 2008)

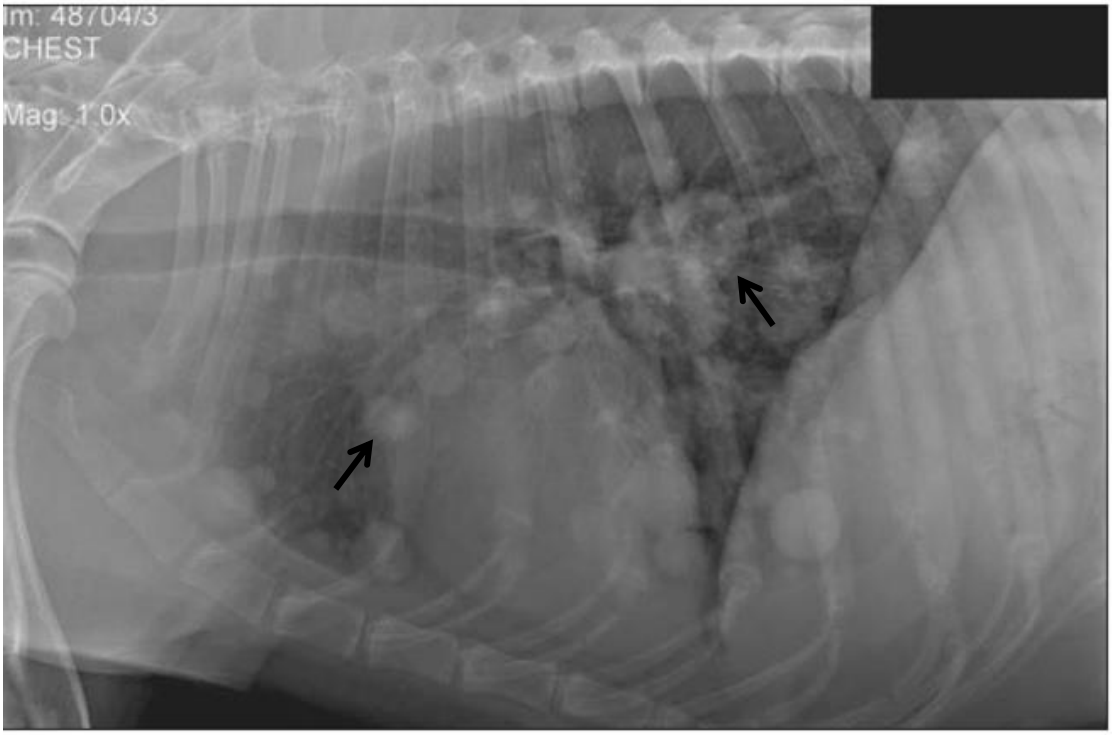


Figure n°6 : Métastases prostatiques pulmonaires sur une radiographie thoracique pulmonaire d'un chien (d'après Morey 2008)

ii. Échographie abdominale

L'échographie de la prostate permet de mieux visualiser la prostate et de mieux estimer sa taille, son irrégularité, son hétérogénéité et ses minéralisations (Axiak et al 2012 ; Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014 ; Morey 2008) (cf *Figure n°7*). Cet examen ne permet pas d'établir un diagnostic précis et de certitude mais permet de formuler une liste plus restreinte d'hypothèses diagnostiques et peut servir pour des biopsies échoguidées. Un haut degré d'asymétrie et une perte de l'architecture du parenchyme de la prostate ainsi que la présence de foyers de minéralisations et une atteinte de l'intégrité de la capsule prostatique confortent l'hypothèse d'un phénomène néoplasique (Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014). Les nœuds lymphatiques peuvent être explorés et peuvent apparaître hypertrophiés avec des nodules hyperéchogènes et irréguliers (Axiak et al 2012 ; Johnston et al 2000 ; Lévy et al 2014).

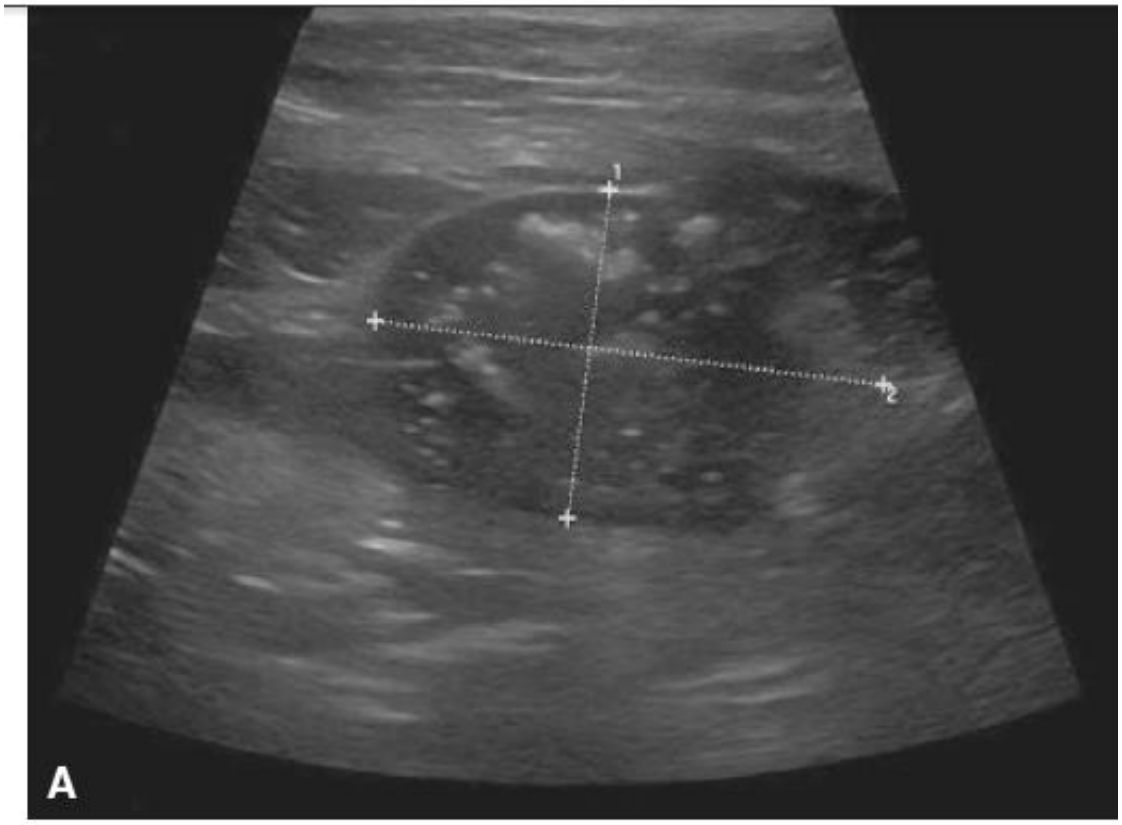


Figure n°7 : Carcinome prostatique canin à l'échographie (d'après Morey 2008)

iii. Scanner

Le scanner est un examen d'imagerie très sensible pour détecter l'invasion locale et les phénomènes métastatiques (métastases pulmonaires, cérébrales, osseuses, …). Il sera préféré à la radiographie lorsque cela est possible (Axiak et al 2012).

e) Cytologie

L'échantillon utilisé pour la cytologie est le liquide prostatique, extrait par aspiration à l'aiguille fine échoguidée (Axiak et al 2012 ; Johnston et al 2000). Une cytologie des nœuds lymphatiques, du foie ou de la rate peut également être effectuée s'ils apparaissent anormaux à l'échographie (Axiak et al 2012). Le lien entre la cytologie et l'histologie est généralement de 80 % pour le carcinome prostatique (Johnston et al 2000). Cependant, l'aspiration à l'aiguille fine reste non conseillée par risque de dissémination de cellules cancéreuses sur le chemin de l'aiguille (Lévy et al 2014 ; Nyland et al 2002). Cet examen pourra donc être fait principalement chez l'espèce canine lorsqu'on voudra intervenir de manière non invasive (Axiak et al 2012 ; Morey 2008).

L'examen cytologique permet de voir une cellularité modérée à marquée, des cellules souvent attachées les unes aux autres, formant des amas (alors qu'elles sont généralement peu nombreuses et en amas de petite taille chez un patient sain) et présentant une anisocaryose. La dilatation et l'irrégularité nucléaire est marquée, avec une élévation du rapport nucléo-cytoplasmique (Morey 2008). Les membranes cellulaires sont généralement distinctes dans les tumeurs bien différenciées et invisibles dans les tumeurs peu différenciées.

f) Biopsies

La biopsie est l'examen de choix effectué en humaine afin d'obtenir un diagnostic de certitude de cancer de la prostate. Elle sera effectuée en canine lorsque les propriétaires voudront aller jusqu'au diagnostic de certitude (Axiak et al 2012 ; Deschamps 2006 ; Morey 2008).

Des biopsies prostatiques sont indiquées lorsque les anomalies constatées lors du toucher rectal et des examens d'imagerie suggèrent fortement un processus néoplasique, et lorsque le taux de PSA est augmenté chez l'homme. Cet examen est effectué par voie transrectale de manière échoguidée sous anesthésie locale (Deschamps 2006).

L'analyse des biopsies permet de confirmer un processus néoplasique et de classer la tumeur selon le Score de Gleason, classification qui sera détaillée ultérieurement (Deschamps 2006).

Cependant, une biopsie négative n'écarte pas totalement l'existence d'un cancer de la prostate. Dans moins d'un cas sur cinq, il est possible que les prélèvements aient manqué la zone tumorale (Deschamps 2006).

3) Dépistage

La problématique du dépistage du cancer de la prostate ne se pose que chez l'homme où cette maladie est un problème de santé publique majeure. La HAS et l'OMS publient régulièrement leurs recommandations officielles quant au dépistage du cancer de la prostate (Deschamps 2006). La problématique vient d'un éventuel « sur diagnostic » où des cancers seraient dépistés alors qu'ils n'auraient jamais provoqué de symptôme clinique et menant alors à des traitements par excès, événements éprouvants pour les patients au niveau physique comme mental (Deschamps 2006 ; Ito 2009 ; Leal et al 2014 ; Teske et al 2002). On ne sait pas encore prévoir la progression d'un cancer dépisté ni savoir quels cancers vont bénéficier d'une détection précoce et d'un traitement précoce au niveau du taux de survie et de l'amélioration de la qualité de vie et lesquels nécessitent juste une surveillance active (Barayan et al 2014 ; Leal et al 2014). Ainsi, un dépistage de masse n'a pas encore été établi car il n'y a pas de consensus quant à ce dépistage (Deschamps 2006 ; Sfanos et al 2012). Les bénéfices en terme de réduction de la mortalité globale via un dépistage systématique par un dosage de la PSA sérique total n'a toujours pas été démontré (Ito 2009 ; Sfanos et al 2012).

VII Pronostic

Le pronostic chez le chien est très sombre. En effet, la maladie est généralement diagnostiquée très tard, au stade métastatique et d'incurabilité. L'euthanasie est donc généralement choisie par les propriétaires (Cornell et al 2000 ; Swinney 1998).

Chez l'homme, l'évolution et le pronostic sont liés au volume tumoral, au taux sanguin de PSA total pré-opératoire, au stade clinique (classification TNM) et au degré de différenciation histologique (score de Gleason) au moment du diagnostic (Deschamps 2006 ; Halvorsen 2008 ; Kimura et al 2014 ; Miles et al 2011). L'âge est également un facteur important à considérer : le pronostic est généralement plus sombre pour les jeunes patients (Kimura et al 2014).

Le pronostic est excellent si le cancer est détecté à un stade où un traitement curatif telle que la prostatectomie associée ou non au traitement de privation androgénique ou à de la radiothérapie ou tout autre thérapie adjuvante (chimiothérapie, immunothérapie, …) peut être mis en place (Ebelt et al 2008).

Le pronostic baisse dramatiquement lorsque l'on se heurte à un cancer de la prostate résistant au traitement de privation androgénique (Ebelt et al 2008). Le pronostic baisse également lors de la progression de la tumeur vers un stade métastatique (après 10 ans de suivi, moins d'un patient sur 3 déclare un stade métastatique) (Deschamps 2006 ; Kimura et al 2014). Le délai moyen entre le diagnostic et l'apparition de métastases varie ainsi de cinq ans (pour un score de Gleason haut de 8 à 10) à plus de 15 ans (pour un score de Gleason de 2 à 4). Le décès survient alors deux à trois ans en moyenne après l'apparition des métastases (Deschamps 2006).

Le cancer de la prostate est donc le premier cancer en termes d'incidence et le troisième cancer en termes de mortalité chez l'homme. Chez le chien, la tendance est inversée, le cancer prostatique restant un phénomène rarissime mais de pronostic très sombre. Les signes cliniques sont discrets chez l'homme, le cancer étant généralement diagnostiqué avant leur apparition grâce au test PSA et aux biopsies prostatiques. Chez le chien, les signes d'appel sont des signes cliniques généraux voire urinaires, digestifs ou orthopédiques (lors de métastases osseuses), signant une maladie déjà avancée. Le diagnostic est alors difficile et se base principalement sur l'anamnèse, la clinique et l'échographie. Il serait très intéressant de trouver, comme chez l'homme, un marqueur biologique sanguin afin de dépister précocement les chiens atteints de cancer prostatique, la PSA ne pouvant pas être utilisée.

L'homme et le chien partagent quelques caractéristiques épidémiologiques similaires, tel que l'âge au diagnostic ou les facteurs environnementaux incriminés dans la carcinogenèse

(alimentation, rôle de l'inflammation), nous permettant d'émettre l'hypothèse que l'homme comme le chien pourraient être un bon modèle pour l'autre espèce. Il existe également quelques différences. La castration est, par exemple, un facteur de risque bien identifié de cancer prostatique chez le chien, phénomène en contradiction avec ce qu'il se passe chez l'homme (cancer androgeno-dépendant répondant à la privation androgénique).De plus, bien que l'âge médian au diagnostic soit similaire pour les deux espèces, les chiens diagnostiqués sont généralement à un stade bien plus avancé. Cette différence pourrait être imputable à un comportement biologique différent de la tumeur.

Partie III : Les caractéristiques du cancer de la prostate

Des caractéristiques précises du cancer de la prostate ont largement été étudiées afin de pouvoir affiner la démarche thérapeutique et le pronostic. En effet, selon ses caractéristiques histologiques, le stade tumoral ou le score de Gleason, il est possible de prédire la réponse thérapeutique du cancer ainsi qu'un pronostic. Ces caractéristiques ont principalement été étudiées dans l'espèce humaine, au vu de son incidence ainsi que de son taux de morbidité et de mortalité.

I Caractéristiques histologiques

Différents processus tumoraux chez l'homme comme chez le chien peuvent toucher la prostate concernant leur localisation histologique (zone acinaire ou canalaire) ou leur type histologique (carcinome, sarcome, lymphome, …). Les tumeurs touchant la prostate sont toujours malignes (Morey 2008).

1) Localisation histologique

Les tumeurs de la prostate peuvent avoir comme point de départ une localisation acinaire ou canalaire. La grande différence entre l'espèce humaine et l'espèce canine concernant les caractéristiques histologiques du cancer prostatique proviennent de l'origine du cancer. En effet, le cancer prostatique chez le chien a pour point de départ essentiellement les cellules canalaires ou urotheliales (Axiak et al 2012 ; Bryan et al 2007 ; Morey 2008). Chez l'homme, la plupart des cancers de la prostate sont d'origine acinaire, tissu hormono-dépendant de la prostate (Sorenmo et al 2003).

a) localisation acinaire

Chez l'homme, le point de départ est attribué aux cellules sécrétrices de l'épithélium glandulaire des acini prostatiques hormonosensibles, productrices de l'antigène prostatique spécifique (PSA) (Sorenmo et al 2003). Il se développe le plus souvent dans la zone périphérique (70 % des cas), parfois dans la zone de transition (20 %) et exceptionnellement dans la zone centrale (10 %) (Dayon 2008 ; Deschamps 2006).

Chez le chien, de nombreuses études ont utilisé le marquage immunohistochimique des tissus prostatiques (PSA & PSAP (acide phosphatase spécifique) spécifiques des tissus acinaire, CK7 (cytokeratine7) spécifique des tissus canalaires ou urothéliaux) afin d'identifier le tissu spécifique du développement cancéreux (Axiak et al 2012 ; Sorenmo et al 2003). Les

tissus cancéreux du cancer prostatique canin n'exprimaient que très rarement la PSA ou la PSAP, menant à penser que la plupart des tumeurs n'étaient donc pas d'origine acinaire et n'entraînaient donc pas de libération de PSA ou PSAP. Cela pourrait expliquer pourquoi le taux sanguin de PSA peut être un bon test de dépistage chez l'homme et non chez le chien (Sorenmo et al 2003).

b) localisation caniculaire

Les mêmes études marquant les tissus cancéreux prostatiques canins à l'immunohistochimie ont montré que la plupart des cancers (presque 80 %) exprimaient la CK7 et venaient donc des tissus canalaires/urothéliaux. Ces tissus sont androgènes indépendants. Cette origine pourrait expliquer l'incidence forte de cancers prostatiques chez les chiens ayant subi une castration, le tissu prostatique d'où se développe le cancer étant hormono-indépendant (Bryan et al 2007 ; Morey 2008 ; Sorenmo et al 2003).

Les carcinomes prostatiques urothéliaux ou canalaires sont rares chez l'homme, ils représentent 2-4 % des cancers prostatiques au total. Ce sont alors des tumeurs agressives, généralement réfractaires à l'ablation endocrinienne et associées à un pronostic plus grave. Le chien serait donc un modèle parfait pour ce rare type de cancer humain (Sorenmo et al 2003).

2) Les différents types histologiques

Chez l'homme comme chez le chien, l'adénocarcinome est le type le plus fréquemment rencontré (95 % chez le chien comme chez l'homme) (Axiak et al 2012 ; Deschamps 2006 ; Rossignol 2004).

Chez le chien, aucune différence de médiane de survie n'a été trouvée entre les différents sous-types. En effet, les sous-types tumoraux canins sont tous considérés comme malins avec un fort potentiel métastatique (Axiak et al 2012).

Chez le chien, dans l'ordre de fréquence, on trouve l'adénocarcinome, le carcinome des cellules transitionnelles, le carcinome indifférencié et les sarcomes (léiomyosarcome, hémangiosarcome et fibrosarcome) (Smith 2008).

Chez l'homme, on trouve du plus au moins fréquent l'adénocarcinome (comprenant lui-même plusieurs sous types), les autres carcinomes prostatiques (le carcinome sarcomatoïde, l'adénocarcinome ductal, le carcinome urothélial, le carcinome squameux et adénosquameux, le carcinome des cellules basales et le carcinome à petites cellules) et les sarcomes (Axiak et al 2012 ; Swinney 1998 ; Teske et al 2002).

Les carcinomes sont généralement de pronostic plus sombre que l'adénocarcinome classique, avec une médiane de survie variant entre 6 mois et 7 ans selon le type histologique (Cornell et al 2000 ; Humphrey 2012).

Le type histologique a donc une importance pronostique dans l'espèce humaine, non reconnue dans l'espèce canine.

II Les stades cliniques

L'évaluation du stade clinique du cancer a des indications pronostiques et thérapeutiques importantes chez l'homme comme chez le chien (Johnston et al 2000). Effectuer le bilan d'extension du cancer est donc une partie intégrante de sa caractérisation et permet d'aider à la compréhension du comportement de la tumeur, à la sélection du traitement et à l'évaluation de la réponse au traitement établi (Cheng et al 2012). La classification TNM est la classification clinique la plus utilisée (Dayon 2008). Elle fait appel à des examens tels que le toucher rectal (afin de voir l'extension locale) ou différents examens d'imagerie comme l'IRM ou la scintigraphie osseuse afin de voir l'extension locale, régionale et à distance du phénomène néoplasique (Dayon 2008).

La tumeur est ensuite « classée » selon le mode TNM : T pour tumeur et extension locale, N pour adénopathies et extension locale et régionale, et M pour métastases et extension à distance (cf *Annexe n°1*).

Cependant, le stade clinique sous-estime souvent le stade histologique de la tumeur. Il est donc nécessaire d'effectuer ces classements en parallèle (valeur de PSA, Score de Gleason, …) afin d'être le plus complet et le plus précis possible (Cheng et al 2012). (cf *Annexe n°1bis*).

1) « T » ou Tumeur

Une étude spécifique de cohorte dite de « haute résolution » réalisée par le réseau Francim à partir de données issues de 11 départements français a montré que la plupart des cancers de la prostate diagnostiqués en France en 2001 étaient de stade localisé : 86,6 % dont 27,4 % de stade T1 et 59,2 % de stade T2 (site de l'Institut National du Cancer).

a) *Stade T1*

A ce stade, le carcinome prostatique est cliniquement inapparent : il n'est ni palpable ni visible à l'imagerie. Il est divisé en 3 catégories (cf *Annexe n°1*)(Cheng et al 2012) :

- T1a : tumeur identifiée accidentellement lors de résection prostatique transurethral impliquant moins de 5 % du tissu retiré (concerne environ 6 % des hommes)
- T1b : tumeur identifiée accidentellement lors de résection prostatique transurethral impliquant plus de 5 % du tissu retiré
- T1c : tumeur non palpable ou visible mais identifiée lors de biopsies suite à un taux de PSA élevé

Le souci lors de ce stade est que l'on diagnostique la présence d'un cancer ne conduisant pas à des signes cliniques évidents et de taille réduite mais comportant un comportement variable et non prédictible. La question porte donc sur la nécessité d'un traitement ou non : si l'on résèque la tumeur, la durée sans rechute est de 100 % à 10 ans, mais cette maladie évolue en moyenne en 9,5 ans si l'on ne traite pas. Tout dépendra donc de l'espérance de vie restante du patient (Cheng et al 2012). Cette question ne se pose évidemment qu'en humaine, une découverte fortuite chez le chien, outre le fait d'être exceptionnelle, amène à une résection immédiate.

b) *Stade T2*

Lors du stade T2, le phénomène néoplasique est confiné à l'organe mais est palpable au toucher rectal ou visible à l'imagerie. Le pronostic est sensiblement le même pour un stade T1c ou un stade T2.
Il est divisé en 3 catégories (cf *Annexe n°1*)(Cheng et al, 2012) :

- Stade T2a : la tumeur envahit moins de la moitié d'un lobe
- Stade T2b : la tumeur envahit plus de la moitié d'un lobe
- Stade T2c : la tumeur envahit les deux lobes

Certaines études ont démontré l'intérêt de la taille de tumeur, non utilisée dans cette classification, et utilisée pour d'autres cancers. Il existe une forte corrélation entre la taille maximale et le volume maximal du carcinome et le pronostic (volume $\leqslant$ à 0,5 et tumeur $\leqslant$ à 5 mm et très bon pronostic. A chaque centimètre de plus, on a un risque de 70 % de récurrence qui augmente). Le volume tumoral pourrait donc être inclus dans ces stades cliniques.

c) Stade T3

Lors d'un stade T3, on voit une invasion de la tumeur en dehors de la prostate. Il est souvent associé à un facteur de mauvais pronostic quant à la progression du cancer et la survie du patient humain comme canin (Cheng et al 2012 ; Dayon 2008 ; Johnston et al 2000).

Le stade T3 est défini par 4 critères :

- Stade T3a : invasion tumorale du tissu adipeux
- Stade T3b : invasion tumorale des vésicules séminales

d) Stade T4

Lors d'un stade T4, le phénomène néoplasique a envahi les structures environnantes autres que les vésicules séminales telles que la vessie, le rectum et/ou le mur pelvien (Cheng et al 2012).

2) « N » ou Nœuds lymphatiques

La classification nodale est un important indicateur de pronostic et de stade de la maladie dans le cancer de la prostate. La présence de métastases dans les nœuds lymphatiques indique un pronostic plus sombre. Dans la nouvelle classification, les stades N2 ou N3 n'existent plus (Cheng et al 2012) (cf *Annexe n°1*).

La présence de métastases dans les nœuds lymphatiques régionaux concernent les nœuds lymphatiques : hypogastrique, obturateur, iliaque interne, iliaque externe, sacral latéral, pré sacral et sacral promontoire. La latéralité ou la bilatéralité des métastases n'influe pas sur l'impact pronostique (Cheng et al 2012).

La présence de métastases lymphatiques est très fréquente chez le chien, 43 % seraient touchés selon une étude de Sorenmo (Sorenmo et al 2003).

Après une évolution intra capsulaire (stade T1 et T2), puis extra capsulaire (stade T3 et T4) et régionale (stade N), le phénomène peut évoluer à distance, généralement au niveau osseux (Deschamps 2006).

3) « M » ou Métastases

Chez les chiens, le phénomène métastatique est bien plus fréquent que chez l'homme, avec environ 64 % des chiens qui comportent des métastases selon plusieurs études (Bell et al 1991, Sorenmo et al 2003). En effet, les tumeurs prostatiques canines métastasent précocement, ainsi, au moment du diagnostic, il n'est pas rare de se retrouver face à un phénomène métastatique (Morey 2008).

Chez l'homme, la progression tumorale est généralement plus lente, avec un temps de doublement du cancer long, de 3-4 ans, par rapport à d'autres cancers. Il est donc moins fréquent d'observer un phénomène métastatique lors de cancer prostatique humain (Deschamps 2006).

Un examen histologique des métastases osseuses peut être réalisé, on peut alors généralement voir un amas de cellules polyédriques pléiomorphes qui forment parfois des acini irréguliers (Morey 2008).

a) Stade M1a

Lors de stade M1a, on se trouve face à la présence de cellules tumorales dans des nœuds lymphatiques n'appartenant pas à la région lombaire ou pelvienne. Les nœuds lymphatiques concernés sont les nœuds lymphatiques : aortique, iliaque commun, inguinal profond, inguinal superficiel, supraclaviculaire, cervical, scalène et rétropéritonéal (cf *Annexe n°1*)(Cheng et al 2012).

b) Stade M1b

Lors de stade M1b, le phénomène métastatique a touché des régions osseuses, avec des localisations variées (cf *Annexe n°1*)(Cheng et al 2012 ; Cornell et al 2000 ; Deschamps 2006 ; Sorenmo et al 2003). Les os les plus touchés, dans l'espèce canine comme humaine, sont : les vertèbres lombaires caudales, le bassin, les côtes, les scapula, le crâne, le sternum et enfin la diaphyse des os long (Deschamps 2006 ; Johnston et al 2000 ; Morey 2008 ; Sorenmo et al 2003).

Les métastases osseuses issues de carcinomes prostatiques peuvent être ostéoblastiques et/ou ostéoclastiques (Deschamps 2006 ; Morey 208).

Ce stade est généralement associé à un âge au diagnostic plus important et un carcinome de plus haut grade histologique (Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Morey 2008).

Ces phénomènes sont très fréquents chez le chien (présence de métastases osseuses chez 25 % à 42 % des chiens touchés selon certaines études (Cornell et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Sorenmo et al 2003)), ce qui fait du modèle canin un modèle parfait pour les cancers prostatiques humains à ce stade avancé. En effet, étudier les mécanismes de dissémination de métastases en région osseuse et leur croissance à cet endroit pourrait aider à les prévenir chez l'homme et à les traiter (Bryan et al 2007).

c) Stade M1c

A ce stade, les métastases sont localisées sur d'autres sites que des os (Cheng et al 2012). Si elles sont présentes, elles sont généralement associées à des métastases osseuses (cf *Annexe n°1*)(Cornell et al 2000).

Les sites sont, dans l'ordre de fréquence : poumon (32 % à 47 % chez le chien (Cornell et al 2000 ; Sorenmo et al 2003)), foie, rate, mésentère et carcinomatose (15 % chez le chien (Sorenmo et al 2003)), cœur, rein, glandes surrénaliennes, muscle squelettique, tissu sous-cutané (Sorenmo et al 2003).

III Le score de Gleason

Chez le chien, les tumeurs prostatiques sont histologiquement très hétérogènes. Aucune classification ou grade n'est donc possible (Axiak et al 2012).

Chez l'homme, le grade histologique suite aux biopsies effectuées est possible et est un puissant prédicteur de la progression tumorale. Il est donc très utilisé (Halvorsen 2008).

La technique majoritaire de grading dans le cancer prostatique a été inventée en 1966 par Donald Gleason, qui a établi un système de score et de grading pour l'adénocarcinome prostatique appelé Score de Gleason (Delahunt et al 2012). Celui-ci a été redéfini en 1974 et est devenu universellement accepté. Il permet de classer la tumeur en différents grades (1 à 5) et scores (2 à 10), ayant une valeur pronostique importante.

Les grades sont établis selon l'architecture de la tumeur étudiée : ils vont d'une architecture histologique très différenciée (grade 1) à indifférenciée (grade 5) (cf *Figure n°8*) (Deschamps 2006).

Les deux variants les plus fréquents en grade sont ensuite additionnés afin de former le score (Dayon 2008) :

- Tumeurs bien différenciées : score 2 à 4
- Tumeurs moyennement différenciées : score 5 à 7
- Tumeurs peu ou pas différenciées : score 8 à 10.

Les différents grades sont décrits dans le *Tableau n°2*.

Il existe une corrélation proche entre le stade de la tumeur, son degré de différenciation, le score de Gleason et la valeur pronostique. En effet, plus le score est élevé, plus la tumeur est considérée comme moins bien différenciée et agressive, plus le pronostic est défavorable (Delahunt et al 2012 ; Halvorsen 2008).

Ainsi, le pronostic diminue de manière significative pour un score 6 à 7 et les tumeurs avec des scores 8 à 10 sont pauvrement différenciées, avec le pronostic le plus sévère (Halvorsen 2008).

Il a aussi été montré que, pour les patients avec deux grades dans leur tumeur, la survie était intermédiaire entre ceux ayant juste un grade ou l'autre (Delahunt et al 2012).

Des schémas « Gleason-like » ont été trouvés dans les glandes prostatiques canines (Aquilina et al, 1998) mais leur valeur pronostique n'a pas été étudiée et reste donc inconnue (Leroy et al 2009).

Tableau n°2 : Aspect macroscopique et microscopique des 5 grades de Gleason

Les différents grades	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
Grade 1	Les glandes étudiées sont très différenciées, petites, et très proches, formant ainsi une masse tumorale bien définie. Elles sont de taille uniforme, n'infiltrent pas les glandes prostatiques bénignes adjacentes ou le stroma.	Cellules avec un cytoplasme pâle et de petite taille et des nuclei uniformes. Peu de mitoses sont présentes.
Grade 2	Les caractéristiques des glandes sont très proches du grade 1, mais celles-ci forment une masse moins bien définie et ont des variations de taille et de forme plus importantes.	Les cellules de la glande forment parfois plus d'un étage.
Grade 3	On note la présence de glandes similaires à celles du grade 2 - mais avec la présence de la pénétration stromale diffuse de minuscules glandes ou de cellules seules – et de glandes cribriformes avec de grandes variations comparées à celles du grade 2.	Des cellules en amas ou en cordes montrant un certain degré de différenciation glandulaire sont présentes.
Grade 4	On a typiquement une infiltration stromale diffuse.	Présence de cellules pâles, polygonales, larges et très amassées, qui ressemblent aux cellules claires trouvées lors de carcinome rénal. Il y a quelques aspects de différenciation glandulaire mais qui restent faibles.
Grade 5	On a un carcinome indifférencié avec peu ou pas de formation de glande.	

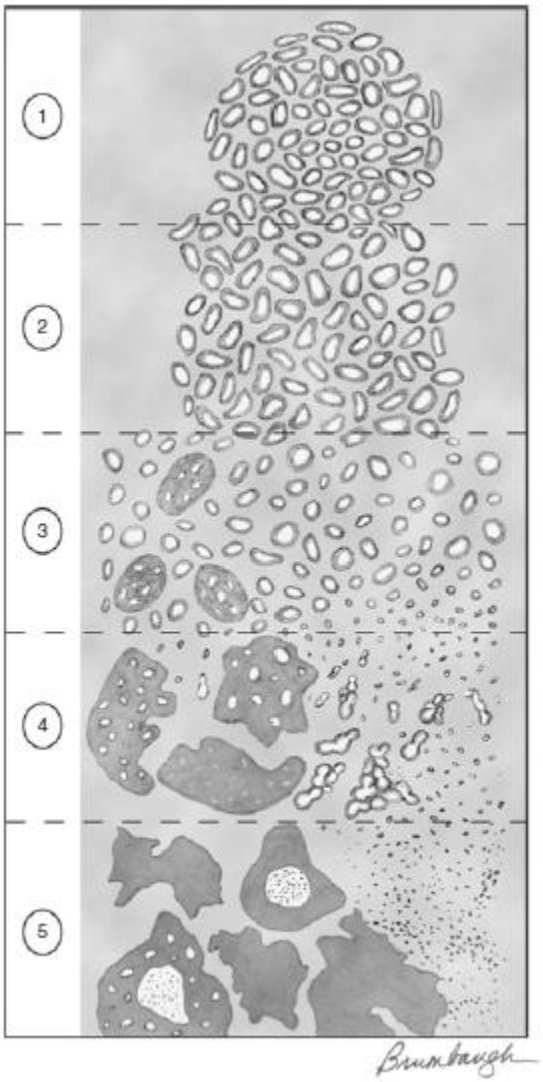


Figure n°8 : Schéma des 5 grades de Gleason (d'après Delahunt et al, 2012)

Les caractéristiques histologiques sont à la fois très similaires et très différentes chez l'homme et le chien : la plupart des cancers prostatiques canins et humains sont des adénocarcinomes malins (95 % des cancers chez ces deux espèces) mais provenant d'un tissu d'origine différent : ces cancers sont généralement acinaires chez l'homme et canalaires chez le chien. Cette différence peut avoir des conséquences au niveau de l'hormono-dépendance du cancer, les cancers du chien touchant des cellules non sensibles aux hormones et étant donc des cancers androgéno-indépendants, ce qui explique la forte incidence des cancers prostatiques chez les chiens castrés. Les carcinomes prostatiques urothéliaux sont rares chez l'homme (2-4 %), et représentent des tumeurs agressives généralement réfractaires à l'ablation endocrinienne et associées à un pronostic plus grave. Le chien serait un modèle parfait pour ce rare type de cancer humain.

La classification TNM et le Score de Gleason ont été établis chez l'homme afin d'affiner le pronostic et la démarche thérapeutique ainsi que la réponse au traitement. Aucune donnée similaire n'a été établie chez le chien, de par la forte hétérogénéité histologique du cancer de la prostate et sa très faible incidence.

La plupart des cancers de la prostate humain sont localisés et non métastatiques, avec 86,6 % des cancers à un stade T1 ou T2. Le stade métastatique est quant à lui très fréquent chez le chien (25 % à 42 % des chiens diagnostiqués ont des métastases osseuses) ce qui fait du modèle canin un modèle parfait pour les cancers prostatiques humains à ce stade avancé En effet, étudier les mécanismes de dissémination de métastases en région osseuse et leur croissance à cet endroit pourrait aider à les prévenir et à les traiter chez l'homme.

La compréhension des mécanismes physiopathologiques de la carcinogenèse et de la dissémination métastatique du cancer de la prostate ainsi que sa comparaison entre les modèles canin et humain peut également permettre de trouver des moyens thérapeutiques plus efficaces pour contrer le phénomène néoplasique.

Partie IV : Physiopathologie du cancer de la prostate

Des études sur la carcinogenèse du cancer de la prostate ont permis de démontrer l'existence de 4 étapes (Bostwick et al 2000) :

- Lésion précancéreuse
- Cancer invasif
- Switch spontané en un cancer-androgène indépendant
- Phénomène métastatique

Nous verrons donc dans cette partie les mécanismes cellulaires, moléculaires et génétiques permettant de passer d'une lésion pré cancéreuse à un cancer prostatique métastatique dans l'espèce humaine et canine. Nous essaierons également de déterminer tout au long en quoi le chien peut être un modèle pour le cancer prostatique humain et inversement.

I De la lésion précancéreuse au cancer de la prostate

L'examen nécropsique de prostates a permis de mettre en évidence l'existence chez plusieurs patients (27 % d'hommes âgés de 30 à 40 ans à 60 % chez les hommes de 80 ans) de lésions ressemblant histologiquement au cancer de la prostate. Ces découvertes ont amené les chercheurs à se poser la question de l'existence d'une lésion précancéreuse au carcinome prostatique, caractérisée également par une prolifération épithéliale atypique (Haggman et al 1997). La lésion la plus communément incriminée est la néoplasie prostatique intra épithéliale ou PIN. L'atrophie inflammatoire proliférative ou PIA est également un candidat. Bien que peu probable, l'hyperplasie bénigne de la prostate ou BPH pourrait être également une lésion pré cancéreuse.

1) La néoplasie prostatique intra épithéliale

La PIN serait l'étape la plus précoce connue dans la carcinogenèse de la prostate (Bostwick et al 2000). Elle a été décrite en premier par Bostwick et Mac Neal en 1987 et a été depuis acceptée internationalement comme lésion précurseur la plus probable du cancer de la prostate humain (Bostwick et al 1994 ; Bostwick et al 2000 ; Rossignol et al 2004). Ces auteurs divisent alors la PIN en 3 grades, nous ne nous intéresserons qu'à la PIN de haut grade, étant la lésion la plus proche du cancer précoce (Haggman et al 1997 ; Rossignol et al 2004).

Le continuum histopathologique présent entre la PIN de haut grade et le cancer précoce invasif a permis de démontrer que la PIN est la seule lésion ayant un rôle

prédisposant au cancer (Prezioso et al 2007 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (a) 1997). En effet, plusieurs études ont démontré une association spatiale entre PIN et cancer, la PIN de haut grade accompagnant 53 % des cancers, et plusieurs caractéristiques morphologiques, cytologiques ou encore génétiques sont partagées telles que la capacité augmentée à proliférer, la densité de microvaisseaux, l'élargissement nucléaire et nucléolaire, la ploïdie de l'ADN ou la perte allélique (Bostwick 1994 ; Khamis et al 2011 ; Prezioso et al 2007 ; Waters et al (b) 1997). Son rôle de précurseur est donc fortement reconnu par ses aspects moléculaires mais n'a pas été confirmé par le fait qu'un carcinome se développe à partir de la zone de transition (Halvorsen 2008).

Néanmoins, la PIN serait une valeur prédictive haute de carcinome prostatique, la découverte lors de biopsies de telles lésions dans une prostate humaine amenant à chercher plus intensément un cancer de la prostate (Bostwick 1994).

Chez le chien, cette lésion a donc été recherchée, l'espèce canine étant la seule autre espèce actuellement connue qui développe spontanément le cancer de la prostate. Plusieurs études ont démontré la présence de PIN dans les prostates canines aux caractéristiques similaires aux lésions humaines (Bostwick et al 2000 ; Kelsey et al 1998 ; Madewell et al 2004).

Après avoir étudié la prévalence de cette lésion dans l'espèce humaine et canine ainsi que les caractéristiques histologiques de la PIN, nous verrons donc s'il est possible de faire de l'espèce canine un modèle prostatique pour la carcinogenèse du cancer de la prostate pour l'homme.

a) Prévalence chez l'homme et le chien

La prévalence de PIN lors des études est haute, chez l'homme comme chez le chien. Elle est fortement corrélée à la présence d'un carcinome prostatique au moment de la biopsie ou postérieurement dans l'espèce humaine (Haggman et al 1997).

En effet, des lésions de PIN ont été trouvées selon certaines études chez 3 % à 55 % des chiens âgés entiers et indemnes et chez 35 % à 72 % des chiens avec un carcinome prostatique (Aquilina et al 1998 ; Bryan et al 2007 ; Johnston et al 2000 ; Madewell et al 2004 ; Waters et al (a) 1997).

Chez l'homme, plusieurs études ont montré que la fréquence de PIN était significativement plus haute dans les prostates avec un cancer que dans les prostates sans cancer : 82 % à 85 % des hommes avec un cancer de la prostate ont la présence de PIN lors des biopsies contre 43 % pour les patients indemnes (Waters et al (a) 1997).

Ces études ont également permis de mettre en évidence l'influence de l'âge chez les espèces humaine comme canine. En effet, la prévalence des lésions de PIN de haut grade ou HGPIN augmente avec l'âge : chez l'homme, elle est estimée à 23 % avant 59 ans (Rossignol et al 2004). Chez le chien, elle est estimée chez les jeunes chiens entiers autour de 8 % (Bostwick et al 2000).

La PIN serait donc une lésion androgène et âge dépendant chez l'homme comme chez le chien. Une étude a observé les effets de la privation androgénique sur les lésions de PIN et a pu noter une diminution marquée de la prévalence et de l'extension des HGPIN en comparaison aux cas non traités (Bostwick et al 1994). Cette lésion est donc androgène dépendant (Bostwick et al 1994 ; Haggman et al 1997).

Elle est également un facteur pronostique de survenue de cancer fort chez l'homme (avec la survenue d'un carcinome entre 5 et 10 ans suivant la biopsie révélant la PIN chez l'homme) (Bostwick et al 2000 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (b) 1997).

Il pourrait donc être intéressant d'utiliser la PIN comme biomarqueur « endpoint » lors des études de chimioprévention : la réduction de PIN et la non progression vers le carcinome serait une stratégie potentielle afin de prévenir le cancer de la prostate chez l'homme comme chez le chien (Waters et al (b) 1997). La prévalence de PIN étant haute chez le chien, il pourrait servir de modèle pour tester ces agents chimiopréventifs (Aquilina et al 1998 ; Bostwick et al 1994).

b) Caractéristiques histologiques

La HGPIN est histologiquement identique chez le chien et chez l'humain (Bostwick et al 2000 ; Rossignol et al 2004 ; Teske et al 2002 ; Waters et al (a) 1997).

Elle comporte plusieurs caractéristiques morphologiques, cytologiques et histologiques qui se rapprochent des caractéristiques du carcinome prostatique (cf *Tableau n°3*). La PIN, comme le carcinome prostatique, présentes des lésions multifocales et extensives ayant les mêmes localisations préférentielles que le carcinome : zone périphérique puis zone centrale et enfin zone de transition (Bostwick et al 1994 ; Haggman et al 1997).

Tableau n°3 : Comparaison histologique, cytologique et morphologique de tissus de prostate saine, de PIN ou de carcinome prostatique.

Caractéristiques histologiques, cytologiques et morphologiques	***Tissu prostatique sain***	***Lésion de PIN***	***Carcinome prostatique***
Prolifération cellulaire (Bostwick et al 2000 ; Johnston et al 2000 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (a) 1997)	Prolifération épithéliale organisée et contrôlée	Prolifération épithéliale anormale dans les canaux et les acini. Inversion de la prolifération des cellules basales au dépend de cellules dysplasiques luminales.	Prolifération épithéliale incontrôlée dans les canaux et les acini. Dysplasie sévère des cellules luminales au dépend de cellules basales.
Index proliferatif (Waters et al (a) 1997)	0.6 % - 3.2 %	7.9 % - 13.8 %	8.7 % - 17.6 %
Figures mitotiques (Bostwick et al 1994 ; Bostwick et al 1996 ; Bostwick et al 2000 ; Haggman et al 1997 ; Waters et al (a) 1997)	Faible quantité	Quantité intermédiaire	Grande quantité
Présence de corps apoptotiques (Bostwick et al 1994 ; Bostwick et al 1996)	Pas de pourcentage	0.75 %	0.92 % - 2.1 %
Ploïdie ADN (Bostwick et al 1994, Boswtick et al 1996)	Très rares anomalies	Aneuploïdie 32 % (1) Gain chromosomique (2)	Aneuploïdie 55 % Gain chromosomique (2)
Pertes alléliques (Bostwick et al 1996)	Très rares pertes alléliques	Perte d'hétérozygotie pour 8p12-21 dans 64 % des cas Pertes alléliques 8p, 10q et 16q dans 29 % des cas	Perte d'hétérozygotie pour 8p12-21 dans 91 % des cas Pertes alléliques 8p, 10q, et 16q dans 42 % des cas
Etage basal (Bostwick et al 1996 ; Waters et al (a) 1997)	Etage basal continu, marquage positif à 100 %	Etage basal fragmenté, marquage positif à 72 %	Etage basal complètement absent
Densité de microvaisseaux (Bostwick et al 1994 ; Johnston et al 2000 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (a) 1997)	23 mm²	32 mm² Vaisseaux plus petits, avec des contours irréguliers et avec un nombre plus important de cellules endothéliales.	39 mm² Vaisseaux plus petits, avec des contours irréguliers et avec un nombre plus important de cellules endothéliales.

(1) Selon Montironi et al, cette ploïdie intervient selon 2 phases successives : la première intervient entre l'épithélium hyperplasique et le PIN de bas grade et est caractérisée par la duplication de l'ADN sans division nucléaire, résultant à des diploïdies et tétraploïdies. La deuxième phase intervient entre le HGPIN et l'émergence du cancer avec l'émergence d'éléments aneuploïdes (triploïdie, hyperdiploïdie, …) (Bostwick et al 1994).

(2) Le chromosome 8 est le gain le plus fréquent dans la PIN et le carcinome, avec la perte de la portion de son bras court, suggérant qu'il doit y avoir dans ce bras des gènes suppresseurs de tumeurs (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997).

(3) La fragmentation de l'étage basal est visible par immunohistochimie sur des protéines caractéristiques de l'étage basal telle que la kératine 34βE12.

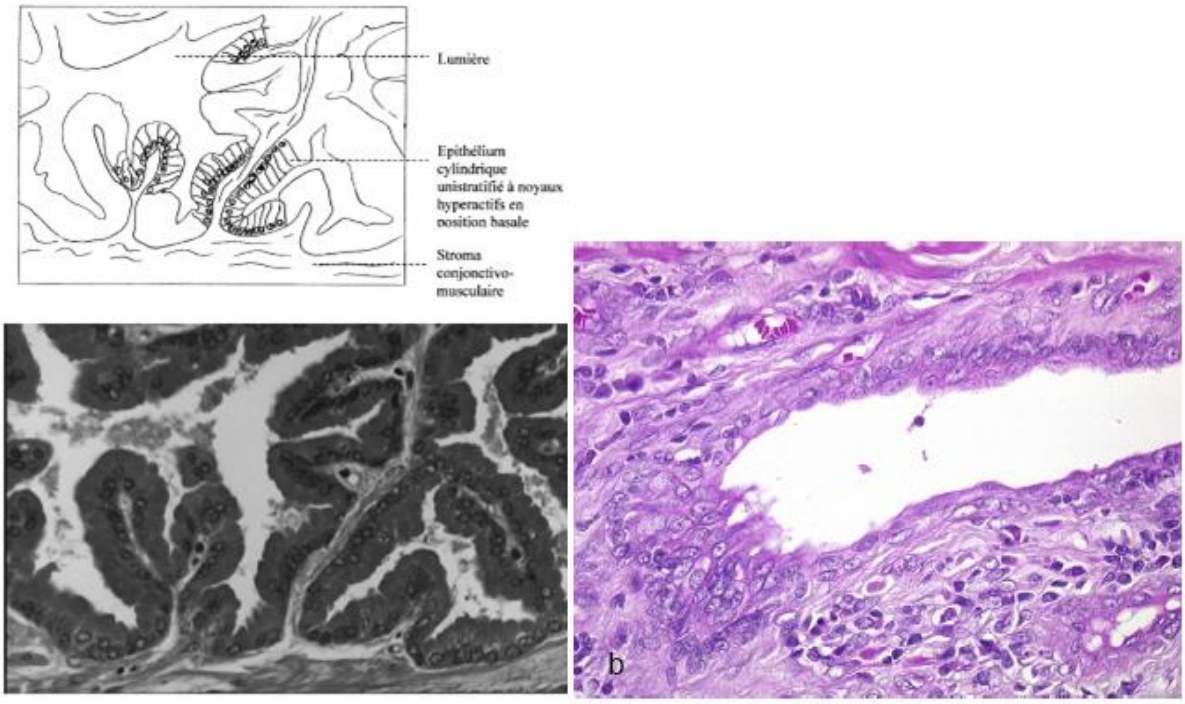


Figure n°9 : Coupe histologique de prostate a. Épithélium normal de la prostate du chien b. Lésion de PIN au niveau de la prostate d(un chien (d'après Rossignol et al, 2004)

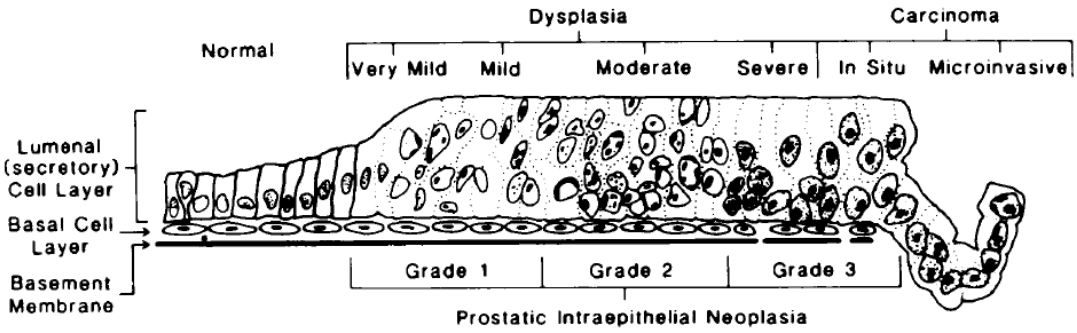


Figure n°10 : Progression histologique supposée de l'épithélium bénin au carcinome prostatique (d'après Haggman et al, 1997)

Toutes ces similitudes suggèrent donc que la PIN est, chez le chien comme chez l'homme, une lésion précancéreuse et qu'il existe un continuum morphologique et histologique de la progression de l'épithélium bénin au cancer prostatique (Bostwick et al 1994 ; Haggman et al 1997 ; Halvorsen 2008 ; Waters et al (a) 1997)(cf F*igures n°9 et n°10*).

La HGPIN étant supposée comme une lésion précancéreuse, des mécanismes physiopathologiques doivent permettre le passage entre cette lésion et le développement tumoral.
Ces lésions s'étendent dans les canaux selon 3 façons similaires au carcinome (Bostwick et al 1994) :

- Les cellules remplacent l'épithélium sécrétoire luminal avec préservation de l'étage des cellules basales et de la membrane basale
- Invasion directe à travers le mur acinus/canal avec rupture de la couche basale
- Invagination des cellules entre l'étage basal et la colonne sécrétoire (très rare)

Une des étapes nécessaires à ce passage est donc la rupture de l'étage basal. En effet, comme on a pu le voir précédemment, l'épithélium lors de HGPIN est cytologiquement malin mais l'étage basal est conservé. Sa rupture amène à une invasion tumorale (Khamis et al 2011).
Plusieurs hypothèses concernant cette capacité à détruire l'étage basal ont été formulées :

- les produits de dégradation de cellules basales âgées ou blessées ou les molécules diffusibles des cellules tumorales se situant juste en-dessous entraîneraient la migration et l'infiltration de cellules immunoréactives sur le site et amèneraient à la destruction physique de l'étage basal (Khamis et al 2011).
- Augmentation de l'expression de la collagénase de type IV dans la HGPIN et le carcinome qui fragmente le stroma durant l'invasion (cf *Figure n°10*).

D'autres étapes sont nécessaires à la progression de la PIN au carcinome et impliquent des modifications génétiques importantes : échappement à l'apoptose (plus grande expression de Bcl2 dans PIN (Bostwick et al 1994)), prolifération cellulaire incontrôlée (expression plus grande de facteurs de croissance tels que EGF ou TGF (Prezioso et al 2007)), diminution de l'adhésion intercellulaire (diminution de l'expression d'E-Cadhérine (Bostwick et al 1996)), ou encore la perte de différenciation (perte de marqueurs des cellules sécrétrices telles que la PAP (prostatic acid phosphatase) ou la mucine (Bostwick et al 1996)). Il apparaît donc qu'à un moment donné, ces cellules sécrétrices anormales dans les zones de PIN pratiquent une réplication non contrôlée avec synthèse d'ADN non surveillée par les mécanismes de réplication-protection ce qui permet l'accumulation d'erreurs génétiques menant à la transformation néoplasique (De Marzo et al 1999).

Tous ces mécanismes étant vus ultérieurement dans le chapitre III, nous verrons à ce moment quelles instabilités génétiques sont présentes dans la HGPIN et permet ainsi d'avoir non pas qu'un continuum morphologique et histologique entre la PIN et le carcinome mais également génétique (Bostwick et al 1994 ; Haggman et al 1997).

c) *Le chien est-il un modèle possible d'étude dans le cadre de ces lésions ?*

A partir de ces données de prévalence et d'histologie, on peut donc se demander si le chien est un modèle d'étude possible pour l'homme dans le cadre de PIN et si le modèle humain nous permet de mettre en évidence certaines pistes à explorer dans l'espèce canine.

Comme dit précédemment, on retrouve une prévalence similaire de HGPIN chez l'homme comme chez le chien, prévalence influencée par l'âge et les androgènes, et comprenant des caractéristiques histologiques communes pour les deux espèces (Johnston et al 2000 ; Kelsey et al 1998 ; Waters et al (b) 1997).

Cela nous amène donc à penser que la PIN du chien est, comme la PIN chez l'homme, une lésion précancéreuse dans le continuum morphologique de la progression entre épithélium bénin et carcinome et que la prostate canine peut donc servir comme modèle.

Pour la plupart, le chien pourrait être un modèle pour la HGPIN et sa progression en cancer prostatique (Madewell et al 2004). Il est en effet nécessaire d'avoir des modèles animaux afin de comprendre la carcinogenèse et trouver des traitements ou des mesures de préventions (Bostwick et al 2000). De par leurs points communs (influence de l'âge, prévalence de PIN, PIN semblant être l'intermédiaire entre l'épithélium bénin et le carcinome chez les deux espèces, caractéristiques histologiques similaires, … (Bostwick et al 2000)), l'espèce canine pourrait être un bon modèle pour l'homme. Il pourrait d'ailleurs servir pour des études épidémiologiques afin de déterminer les facteurs qui régulent la carcinogenèse et la progression maligne chez le chien comme chez l'homme (Kelsey et al 1998 ; Waters et al (b) 1997). Les facteurs trouvés chez l'homme pourraient être expérimentés et plus facilement étudiés chez le chien. Le chien pourrait également servir de modèle en chimioprévention, la régression de la HGPIN étant le checkpoint final (Aquilina et al 1998 ; Madewell et al 2004 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (a) 1997 ; Waters et al (b) 1997).

Ce modèle comporte néanmoins quelques limites :

- il est difficile de trouver la présence de HGPIN en une simple biopsie. Cela pourrait être une limite lors d'étude de chimioprévention, il ne faut pas être trop invasif si l'on veut suivre l'effet d'une substance sur la prostate et sa carcinogenèse Il faudrait donc trouver un moyen de suivre la progression de la PIN au cancer chez le chien autre que la biopsie.
- il existe encore peu de biomarqueurs de PIN chez le chien (Madewell et al 2004 ; Waters et al (b) 1997). Il est donc nécessaire, afin de distinguer les animaux sains des animaux atteints de ces lésions précancéreuses et afin donc de cibler la population canine, de trouver de tels biomarqueurs. Les connaissances chez l'homme concernant la PIN, bien plus avancées, pourraient permettre d'ouvrir quelques pistes.

Mais il comporte également quelques avantages (Bostwick et al 2000) :

- Modèle spontané et vaste qui permet certaines imageries ou interventions thérapeutiques
- La durée de vie des chiens permet des études sur une longue durée pour tester de nouveaux agents thérapeutiques et/ou chimiopréventifs

Cependant, cette conclusion peut être soumise à discussion. En effet, le carcinome prostatique canin est probablement androgène indépendant, comme nous le verrons ultérieurement. Le fait que la prévalence de HGPIN est bien plus basse chez les chiens castrés que chez les chiens entiers est donc en contradiction avec le fait que la HGPIN est précurseur du cancer prostatique canin (Madewell et al 2004 ; Teske et al 2002). D'autres hypothèses seraient que le passage d'un cancer androgène dépendant à un cancer androgène indépendant est très rapide dans l'espèce canine ou bien que la carcinogenèse chez le chien entier ou castré est complètement différente.

Une étude menée par Rossignol et al a également montré qu'une des caractéristiques histologiques sensée être similaire chez l'homme et chez le chien, la rupture de la couche basale, n'est plus d'actualité (Rossignol et al 2004). En effet, il semblerait que la couche basale soit rarement observée et de façon toujours discontinue chez des prostates de chiens sains bien qu'âgés, observation également soutenue par une autre étude de marquage immunohistochimique de Leav et al (2001)(Leroy et al 2009). La validité du modèle canin dans le cadre de la PIN est donc à reconsidérer. Il semblerait de même que les atypies nucléaires ne sont pas non plus des caractéristiques suffisantes pour établir le diagnostic de HGPIN chez le chien, l'épithélium prostatique bénin canin présentant les mêmes critères histologiques que les noyaux atypiques chez les PIN de l'homme. Le chien ne serait, d'après eux, pas un bon modèle animal, la prévalence de cancer et de PIN étant très faible dans leur étude et les caractéristiques histologiques différentes (Rossignol et al 2004). Une autre hypothèse, rejoignant celle sur l'influence androgénique, serait que les lésions démarrent au niveau des acini (et donc androgène dépendant) et s'étendent rapidement au niveau des canaux (et donc androgène indépendant) où se développe le carcinome (Leav et al 2001). Tous ces mécanismes restent actuellement encore inexpliqués.

Le rôle de la PIN en tant que marqueur de future progression maligne chez le chien reste donc incertain et les croyances de similitudes entre le chien et l'homme commencent à être discutées (cf *Tableau n°4*). Il est cependant possible que des lésions de PIN existent chez les chiens à des stades plus précoces mais qu'elles ne soient pas étudiées car les chiens asymptomatiques ne sont pas biopsiés. Il est également possible que ces lésions soient largement cachées par le carcinome prostatique étendu, les chiens symptomatiques et donc biopsiés étant à un stade déjà très avancé (Leroy et al 2009).

La PIN serait donc l'étape la plus précoce connue dans la carcinogenèse de la prostate, ayant été acceptée internationalement comme lésion précurseur la plus probable du cancer de la prostate humain. Concernant le rôle de la PIN dans le cancer prostatique canin, cela reste actuellement en débat, des similitudes comme des différences entre les lésions de PIN et de carcinome prostatique ayant été trouvées.

2) L'hyperplasie bénigne de la prostate

L'hyperplasie bénigne de la prostate ou BPH est une prolifération des cellules épithéliales incontrôlée mais bénigne caractérisée par une expansion nodulaire d'éléments glandulaires et/ou stromaux (McNeal, 1997) (Leroy et al 2009). Cette lésion est rarement retrouvée chez les jeunes chiens et les hommes de moins de 30 ans, mais est très fréquente chez les chiens âgés entiers (de plus de 7 ans, presque 100 % de ces chiens développent une BPH) et les hommes de plus de 60 ans (50 % de ces hommes ont une BPH) (De Marzo et al 1999 ; Leroy et al 1994 ; Morey 2008). Chez les chiens comme chez l'homme, la BPH apparaît comme une prolifération de l'épithélium sécrétoire diffuse s'étendant ensuite au stroma et aux muscles lisses (De Marzo et al 1999 ; Leroy et al 1994).
L'hypothèse que l'hyperplasie bénigne de la prostate soit une lésion précancéreuse du carcinome prostatique est depuis longtemps reconnue comme improbable, pour le chien comme pour l'homme (Teske et al 2002). Plusieurs arguments sont avancés à cela (cf *Tableau n°4)* :

- <u>Facteurs épidémiologiques chez l'espèce canine</u> : Forte incidence de la BPH chez les chiens contrairement à la très faible incidence du carcinome prostatique (Leav et al 2001 ; Leroy et al 2009 ; Teske et al 2002).
  Incidence de la BPH chez les chiens entiers alors que les chiens castrés font des carcinomes (Leav et al 2001 ; Teske et al 2002).
- <u>Localisation</u> : chez l'homme, la BPH se développe principalement au niveau de la zone de transition alors que le carcinome prostatique provient principalement de la zone périphérique (De Marzo et al 1999 ; Leroy et al 2009). On ne trouve la concomitance que dans 20 % des cas (De Nunzio et al 2011). Chez le chien, la BPH pourrait donner naissance à des carcinomes dans la zone de transition (bien que peu probable), ces carcinomes étant de bas grade (De Marzo et al 1999).
- Le développement d'une BPH n'implique pas le développement de PIN, principal candidat en tant que lésion précancéreuse (De Marzo et al 1999).
- La BPH n'est pas un désordre clonal menant à un phénomène malin. Il n'y a que très peu de preuves d'instabilité génétique et d'anomalies génétiques en comparaison à la PIN et au cancer (De Marzo et al 1999).

Cependant, quelques similitudes entre la BPH et le carcinome existent, ne nous permettant pas d'affirmer avec certitude que BPH et carcinome n'ont aucun lien physiopathologique (cf *Tableau n°4)* :

- Facteurs épidémiologiques similaires : âge avancé, rôle incontournable des androgènes testiculaires pour l'homme, existence de ces désordres prostatiques uniquement chez ces deux espèces mammifères (Alcaraz et al 2009 ; De Marzo et al 1999 ; Leav et al 2001 ; Leroy et al 2009)
- Schéma de développement similaire : maladies chroniques avec initiation précoce et progression lente dans les espèces canine comme humaine (De Nunzio et al 2011)
- Rôle de l'inflammation : des antécédents d'inflammation chronique (et notamment de prostatite) sont fréquemment rapportés lors de diagnostic de BPH ou de carcinome, chez l'homme comme chez le chien (Alcaraz et al 2009 ; Leroy et al 2009). Le rôle de l'inflammation dans la carcinogenèse sera détaillé ultérieurement et se rapproche de celui dans la BPH, l'inflammation étant un élément prédisposant voire initiateur au développement de telles lésions (De Nunzio et al 2011).
- Anomalies génétiques : certains gènes sont altérés communément dans la BPH et le carcinome tel que le gène CYP17 (gène codant pour une enzyme impliquée dans la synthèse des hormones stéroïdiennes), le gène SRDAR2 (polymorphisme sur le promoteur), le gène PSA (polymorphisme sur le promoteur), ou les gènes MDR1, MTG1 et RASSF1A hyperméthylés dans le carcinome et la BPH chez l'homme (Alcaraz et al 2009).
- Voies biologiques dérégulées communes : Chez le chien, une étude a regardé l'expression de la β-catenine dans la BPH et le carcinome et a pu montrer une expression progressive non plus membranaire mais cytoplasmique et nucléaire de la BPH au carcinome (Lean et al 2014). Une étude a fait de même pour la protéine HSP90 (protéine impliquée dans la régulation du cycle cellulaire) et a montré une expression modérée à forte dans les lésions de PIN, PIA, BPH et carcinome (Palmieri et al (a) 2014). De plus, l'expression de cette protéine est nucléaire dans l'épithélium normal et diffuse dans le carcinome, la PIN et la PIA. Dans la BPH, elle est à la fois nucléaire et diffuse. Ces études montrent donc que la BPH a une expression intermédiaire de certaines protéines clés dans la régulation du cycle cellulaire et la prolifération. Cela pourrait impliquer que la BPH soit une lésion précancéreuse très précoce à la PIA, la PIN et le carcinome, bien que cette hypothèse soit peu probable. Ces résultats pourraient également suggérer que la dérégulation de l'expression des gènes de ces protéines aurait une forte implication dans la carcinogenèse du carcinome prostatique (Palmieri et al (a) 2014).

La BPH ne serait donc pas une lésion précancéreuse au carcinome prostatique, bien qu'un doute subsiste sur l'apparition d'un carcinome dans la zone de transition, zone préférentielle de développement de BPH (cf *Tableau n°4*)(Alcaraz et al 2009 ; Leroy et al 2009).

Beaucoup d'événements sont néanmoins similaires entre la BPH et le cancer, mais des événements supplémentaires apparaissent lors de carcinome qui ne sont pas vus dans la BPH et qui seront détaillés par la suite. Il a donc été proposé que la BPH et le cancer n'ont aucune relation cause à effet mais se développent en parallèle dans des zones différentes (De Marzo et al 1999). L'inflammation chronique, quant à elle, pourrait avoir un rôle dans le développement et la progression de ces deux entités et pourrait être le lien entre la présence fréquente et/ou simultanée de la BPH et du carcinome (De Nunzio et al 2011).

La BPH étant une prolifération cellulaire incontrôlée bénigne et sa prévalence étant haute chez le chien comme l'homme, elle peut également servir de modèle comparatif lors d'études sur l'expression de gènes ou sur des voies métaboliques en particulier.

3) L'atrophie inflammatoire proliférative

L'atrophie inflammatoire proliférative ou PIA a été décrite en premier par De Marzo et al (1994) et est caractérisée par des foyers discrets de prolifération d'épithélium glandulaire avec l'apparence morphologique d'une simple atrophie ou d'une hyperplasie post atrophique, phénomène apparaissant également lors d'inflammation aiguë ou chronique, caractéristiques partagées pour l'homme comme pour le chien (De Nunzio et al 2011 ; Leroy et al 2009 ; Palmieri et al 2014 ; Sfanos et al 2012). La plupart des prostates canines comprenant des preuves histologiques d'une inflammation chronique de la prostate (tels que des agrégats lymphocytiques) sont associées à des PIA (Palmieri et al (b) 2014).

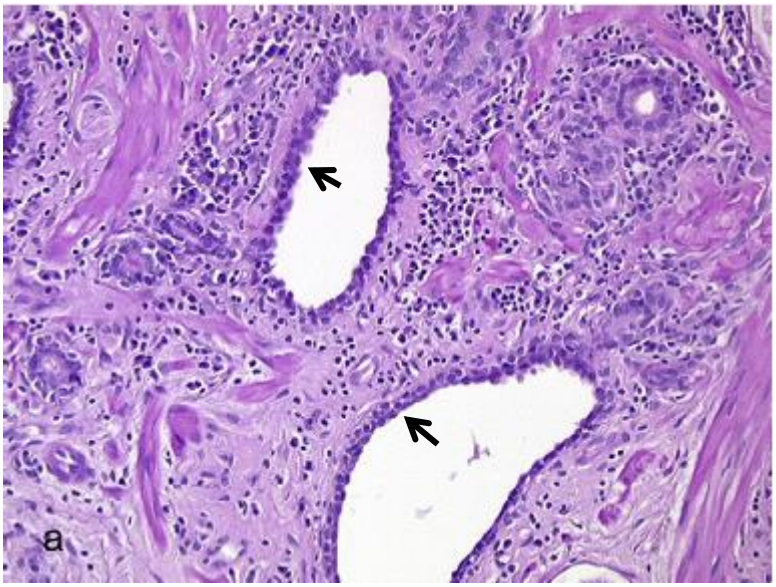


Figure n°11 : Atrophie inflammatoire proliférative d'une prostate canine (Palmieri et al (b) 2014)

Les caractéristiques de cette lésion sont la présence de deux étages cellulaires distincts, la présence d'infiltrats de cellules inflammatoires mononucléées ou polynucléées dans les compartiments épithélial et stromal et une atrophie stromale avec des amas de fibrose variable (cf *Figure n°11*) (De Nunzio et al 2011 ; Sfanos et al 2012). Ces lésions étant très proches de régions d'inflammation chronique, un rôle prépondérant de l'inflammation est fortement suggéré dans le processus (Leroy et al 2009 ; Palmieri et al (b) 2014 ; Sfanos et al 2012).

De Marzo et al en 1999 ont alors avancé l'hypothèse que la PIA pouvait être considérée comme possible précurseur du carcinome prostatique directement ou indirectement via le développement de la PIN (De Marzo et al 1999 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008 ; Palmieri et al (b) 2014).

Les lésions de PIA tendent à apparaître à la périphérie de la prostate, tout comme la PIN et le carcinome, et émergent comme une conséquence d'une prolifération régénérative des cellules épithéliales de la prostate en réponse à une « blessure » causée par une inflammation, le traumatisme cellulaire résultant des dommages oxydatifs, de l'hypoxie et des phénomènes d'auto-immunité (De Nunzio et al 2011 ; Palmieri et al (b) 2014 ; Rodrigues et al 2013). Ces lésions sont souvent observées près de lésions de HGPIN ou de carcinome précoce (De Nunzio et al 2011 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008 ; Leroy et al 2009 ; Sfanos et al 2012). On retrouve la PIA dans 28 % des biopsies de prostates canines et elle est associée à la HGPIN dans 40 % des cas (Palmieri et al (b) 2014). Les PIA fusionnent même directement avec les lésions cancéreuses dans 28 % des cas (Sfanos et al 2012). De plus, il existe un schéma génétique commun entre la PIA, le HGPIN et le cancer, avec des mutations fréquentes et progressives de la protéine p53 ainsi que le gain du chromosome 8 ou encore l'hyperméthylation des ilôts CpG près du promoteur du gène GSTP1 (De Nunzio et al 2011 ; Sfanos et al 2012).

GSTP1 est un gène codant pour une glutathion S-transferase, une enzyme antioxydante, impliquée dans la détoxification des carcinogènes et des oxydants inflammatoires dans les cellules prostatiques. GSTP1 est considérée comme un signal de stress cellulaire et est surexprimée dans la PIA et l'inflammation chronique. GSTP1 est inactivée, principalement par hyperméthylation, de façon croissante dans la PIA, la HGPIN et le carcinome prostatique (hyperméthylation dans 98 % des adénocarcinomes, 70 % des PIN et 6.4 % des PIA (Sfanos et al 2012)) et peut augmenter la susceptibilité des cellules prostatiques à des dommages génétiques additionnels causés par les oxydants inflammatoires ou les carcinogènes (nutritionnels, environnementaux, …) (Alcaraz et al 2009 ; De Nunzio et al 2011 ; Leroy et al 2009). L'examen histologique de prostates canines a également montré que la PIA partage quelques grandes altérations génomiques trouvées dans le carcinome prostatique et la HGPIN (Palmieri et al (b) 2014).

La PIA en tant que lésion précancéreuse est donc controversée, des études supplémentaires étant nécessaire, mais sa localisation (association spatiale à la PIN et au carcinome), ainsi que ses altérations génétiques précoces tendent à faire penser qu'elle est une lésion précancéreuse très précoce au carcinome prostatique (cf *Tableau n°4*). Elle a également été proposée comme lésion « facteur de risque » car elle est fort probablement une preuve histologique du rôle de l'inflammation dans la carcinogenèse du carcinome prostatique (Halvorsen et al 2008 ; Khamis et al 2011 ; Palmieri et al (b) 2014 ; Sfanos et al 2012).

La PIA est une lésion assez fréquente dans les biopsies de prostate canine tout comme la PIN. Des études supplémentaires devraient être menées afin de voir la force de l'association entre la PIA, la HGPIN et le carcinome au niveau temporel, topographique, génétique et phénotypique.

Tableau n°4 : Arguments en faveur ou non du rôle de lésion précancéreuse des lésions de PIN, PIA et BPH

	PIN	PIA	BPH
Arguments en faveur d'une lésion précancéreuse	**PIN fortement corrélée** à présence carcinome prostatique ultérieurement (homme) ou non (chien) à la biopsie. (Haggman et al 1997) **Association spatiale** entre PIN et cancer. (Bostwick et al 1994 ; Haggman et al 1997 ; Khamis et al 2011 ; Prezioso et al 2007 ; Waters et al (a) 1997) Caractéristiques histologiques, morphologiques et cytologiques partagées (cf *Tableau n°3*). **Continuum histopathologique de la HGPIN au carcinome prostatique.** (Bostwick et al 1994 ; Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997 ; Johnston et al 2000 ; Rossignol et al 2004 ; Waters et al (a) 1997) Modifications génétiques partagées : échappement à l'apoptose, prolifération cellulaire incontrôlée, diminution de l'adhésion cellulaire, perte de différenciation. (Bostwick et al 1994 ; Bostwick et al 1996 ; Prezioso et al 2007). **Continuum génétique de la HGPIN au carcinome prostatique.**	**Association spatiale** entre PIA, PIN et cancer (De Nunzio et al 2011 ; Rodrigues et al 2013) **Mutations génétiques communes** entre la PIA, la HGPIN et le carcinome prostatique : p53 muté, gain du chromosome 8, gène GSTP1 (De Nunzio et al 2011 ; Sfanos et al 2012)	**Facteurs épidémiologiques similaires :** âge avancé, rôle androgènes testiculaires (Alcaraz et al 2009 ; De Marzo et al 1999 ; Leav et al 2001 ; Leroy et al 2009) **Schéma de développement similaire :** maladies chroniques avec initiation précoce et progression lente (De Nunzio et al 2011) **Rôle de l'inflammation chronique** (Alcaraz et al 2009 ; Leroy et al 2009) **Anomalies génétiques** : altérations des gènes CYP17, SRDAR2, PSA, MDR1, MTG1, RASSF1A (Alcaraz et al 2009) **Voies biologiques dérégulées communes** : β-catenine, protéine HSP90 (Lean et al 2014 ; Palmieri et al (a) 2014)
	Aucune preuve démontrée à ce jour qu'un		

Arguments contre l'idée d'une lésion précancéreuse	carcinome se développe à partir de cette lésion Aucune preuve à ce jour que les chiens présentant des lésions de PIN ont développé par la suite un carcinome prostatique (Aquilina et al 1998 ; Madewell et al 2004) Discussion sur une réelle rupture de la couche basale lors de lésions de HGPIN dans le carcinome canin (Rossignol et al 2004). PIN semble androgène-dépendant dans l'espèce canine contrairement au carcinome prostatique qui est lui androgène indépendant (Leav et al 2001).	Aucune preuve démontrée à ce jour qu'un carcinome se développe à partir de cette lésion	Forte incidence de la BPH dans l'espèce canine contrairement à la très faible incidence du carcinome prostatique (Leav et al 2001 ; Leroy et al 2009 ; Teske et al 2002). Localisation : BPH & zone de transition, carcinome prostatique & zone périphérique principalement (De Marzo et al 1999 ; Leroy et al 2009). BPH n'est pas un désordre clonal menant à un phénomène malin : peu de preuves d'instabilité et d'anomalies génétiques (De Marzo et al 1999).

La PIN et la PIA sont donc deux lésions précancéreuses fortement suspectées chez l'homme et encore controversées quant à leur rôle précurseur chez le chien. Des études supplémentaires sont donc nécessaires afin de confirmer ou d'infirmer la valeur réelle de ces lésions dans les biopsies de prostate canine. Le chien pourrait alors fort probablement être un bon modèle pour la PIN ainsi que pour la PIA et pourrait être un bon outil pour l'évaluation d'agents chimiopréventifs pour évaluer la régression de PIA ou de PIN ou du moins l'arrêt de progression de ces lésions en carcinome (Palmieri et al (b) 2014).

La BPH n'aurait pas de relation cause à effet avec le cancer prostatique mais se développerait en parallèle dans des zones différentes (De Marzo et al 1999). Cependant, la BPH étant une prolifération cellulaire incontrôlée bénigne et sa prévalence étant haute chez le chien comme chez l'homme, elle pourrait servir de modèle comparatif lors d'études sur l'expression de gènes ou sur des voies métaboliques communes au cancer de la prostate.

II Lien entre le carcinome prostatique et l'inflammation

L'étiologie précise du cancer de la prostate, comme pour beaucoup de cancers, est inconnue. Comme vu précédemment, cela semble être un mélange entre facteurs génétiques et facteurs environnementaux. L'inflammation chronique pourrait jouer un rôle dans l'initiation du phénomène tumoral (Drake et al 2010 ; Nakai et al 2013).

L'inflammation chronique secondairement à des agents infectieux et/ou à l'exposition d'autres facteurs environnementaux est impliquée dans la pathogenèse d'environ 20 % des cancers humains comme le cancer de l'estomac, du foie, ou du colon (Drake et al 2010 ; Nakai et al 2013). Des études épidémiologiques, histopathologiques et moléculaires fournissent de plus en plus une preuve d'un possible rôle de l'inflammation prostatique dans la pathogenèse et la progression du cancer de la prostate (Bhutia et al 2010 ; De Nunzio et al 2011).

L'inflammation pourrait jouer un rôle dans la carcinogenèse en causant des dommages cellulaires et génomiques et promouvant le turn over cellulaire, créant ainsi un micro environnement tissulaire induisant la réplication cellulaire, l'angiogenèse et la réparation tissulaire (De Nunzio et al 2011). En effet, l'inflammation chronique est associée à un milieu riche en cytokines pro inflammatoires, en médiateurs de l'inflammation et en facteurs de croissance qui pourraient conduire à une réponse proliférative incontrôlée, menant à des divisions cellulaires rapides et ayant pour conséquence des mutations génétiques.

La haute prévalence d'infiltrats d'inflammation chronique dans les échantillons de prostate (provenant de prostatectomie radicale, de biopsies, …) a suggéré également un lien

possible entre inflammation chronique et carcinome. Cette hypothèse est renforcée par le partage de voies moléculaires communes aux deux processus (De Nunzio et al 2011).

1) Lien entre inflammation et carcinogenèse

Certaines études ont montré que l'inflammation chronique dans la prostate était prédictive d'un risque plus fort de diagnostic de cancer et de plus haut grade (score de Gleason de 7 à 10). L'incidence plus forte de cancer de la prostate chez les afro américains est corrélée avec une incidence plus forte de présence d'infiltrats inflammatoires dans les biopsies (Sfanos et al 2012). Le plus haut taux de cancers chez les asiatiques (normalement à plus bas risque) vivant dans les pays de l'ouest démontre également la possible influence de l'inflammation (Nakai et al 2013). Les conditions qui promeuvent l'inflammation augmenteraient donc la fréquence et la sévérité de ce cancer (Poutahidis et al 2009 ; Sfanos et al 2012).

Plusieurs étiologies de cette inflammation chronique ont été proposées :

- Antécédents de prostatite bactérienne : beaucoup d'études ont montré qu'il y avait un plus haut risque de cancer chez les hommes avec une prostatite (Nakai et al 2013 ; Poutahidis et al 2009 ; Rajarubendra et al 2010 ; Sfanos et al 2012). L'agent infectieux incriminé est Escherichia coli uropathogène. L'infection de la prostate par cette bactérie dans le modèle murin induit une prolifération de l'épithélium avec une dysplasie et des dommages oxydatifs de l'ADN ainsi qu'une réduction marquée du gène NKX3.1, un gène suppresseur de tumeur. Le facteur nécrotique cytotoxique 1 CNF1 d'E Coli provoque des dommages tissulaires, la colibactine induit, elle, des cassures double brin de l'ADN. L'infection par ces bactéries uropathogènes pourrait donc contribuer à la carcinogenèse même si cela reste à confirmer (Sfanos et al 2012). Il existe cependant un biais de détection (suivi plus régulier par l'urologue des patients précédemment atteints de prostatite) et de rappel (les patients se souviennent plus facilement d'un épisode antérieur de prostatite), nécessitant des études complémentaires afin d'établir un lien certain entre prostatite et cancer (Nakai et al 2013).
- Risque augmenté relatif chez les patients avec un historique de MST (Rajarubendra et al 2010 ; Sfanos et al 2012). Les agents infectieux incriminés sont :
    - Syphilis
    - Gonorrhée
- Présence d'amylacea corpora et de calculs dans la prostate provoquerait un traumatisme physique et induirait alors une inflammation aiguë puis chronique de la prostate (Sfanos et al 2012).

2) Possibles mécanismes

Bien que l'inflammation aiguë, induisant des cytokines stimulant le système immunitaire, puisse aider à détruire les cellules tumorales, l'inflammation chronique est associée à des changements tissulaires importants, qui prédisposeraient certains individus au cancer (Poutahidis et al 2009). Les mécanismes précis n'étant pas élucidés, l'inflammation chronique pourrait cependant influencer la carcinogenèse en infligeant des dommages cellulaires et génétiques, provoquant ainsi la prolifération cellulaire pour réparer les cellules endommagées et entraînant des cytokines inflammatoires qui conduisent à la réplication cellulaire, l'angiogenèse et la réparation tissulaire (Nakai et al 2013).

a) Rôle de l'inflammation dans les dommages cellulaires & la prolifération cellulaire

Il a été suggéré que le stress oxydatif produit par les cellules inflammatoires pourrait être un des mécanismes menant à la carcinogenèse (Kiviharju-af Hällström et al 2008). En effet, la production de radicaux libres comme le monoxyde d'azote NO et les dérivés d'oxygène hautement réactifs générés par les cellules inflammatoires en réponse à l'agression primaire induirait des dommages sur l'ADN (Prezioso et al 2007 ; Rajarubendra et al 2010).

Ces dommages créeraient des mutations génétiques, comme des mutations sur GSTP1 (Prezioso et al 2007 ; Rajarubendra et al 2010). Les GST sont des enzymes inductibles qui catalysent la détoxification des réactifs électrophiles et des oxydants produits par l'inflammation et qui protègent contre une transformation néoplasique. Les cellules prostatiques entourant les ilots inflammatoires montrent de hauts taux de GTSP1 et GSTA1 montrant que cette lésion est soumise au stress cellulaire (Nakai et al 2013). L'expression de GSTP1, un des groupes majeurs des GST, est dérégulée via l'hyperméthylation des ilots CpG de son promoteur (Nakai et al 2013).

Cette mutation est également retrouvée dans les lésions de PIA (Nakai et al 2013). On peut donc émettre l'hypothèse que ces cellules mutées sont plus vulnérables aux oxydants et électrophiles, accumuleraient des dommages génétiques et se transformeraient donc éventuellement en PIA, PIN puis cellules cancéreuses (6.3 % des lésions de PIA ont cette hyperméthylation, 68.8 % de PIN et 90.9 % de cancer) (Nakai et al 2013 ; Prezioso et al 200). Cette mutation est un argument supplémentaire pour l'association entre inflammation et cancer (Nakai et al 2013).

D'autres similarités génétiques sont retrouvées, comme la mutation du gène p53 à un taux similaire tant dans les lésions inflammatoires que dans les HGPIN (5 %) (Nakai et al 2013).

Le stress oxydatif généré suite à la présence d'infiltrats inflammatoires mènerait donc à une réponse proliférative des cellules prostatiques adjacentes et à des dommages de l'ADN et des mutations génétiques pouvant mener à un développement de lésions précancéreuses (PIA, PIN, …) ou de lésions néoplasiques (De Marzo et al 1999).

b) Implication des cytokines inflammatoires

Outre les radicaux libres menant à un stress oxydatif, les cellules inflammatoires activées sécrètent également des cytokines inflammatoires, capables d'augmenter la prolifération cellulaire et l'angiogenèse.

On compte parmi ces cytokines IL1β, IL10, TNF et IL6. IL6 aurait, par exemple, un rôle dans l'initiation ou la progression du cancer de la prostate bien qu'on ne connaisse pas le mécanisme exact. Le taux d'IL6 et de son récepteur sont plus importants dans l'épithélium de PIN et tumoral. Le taux circulant d'IL6 est également élevé dans les patients avec un cancer prostatique métastatique ou un cancer réfractaire aux hormones (Sfanos et al 2012).

Une variabilité génétique concernant la sensibilité individuelle à ces cytokines est à l'étude actuellement (Cannon-Albright et al 2014). Certains variants génétiques entraîneraient un plus haut risque de cancer de la prostate (Sfanos et al 2012).

c) Surexpression de COX2

L'inflammation chronique entraîne la surexpression des cyclo-oxygènases, enzymes permettant la formation de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique, ayant un rôle primordial dans la réaction inflammatoire. La surexpression de ces cyclo-oxygénases a été également incriminée dans la carcinogenèse du cancer de la prostate.

En effet, COX1 et COX2 sont surexprimés dans les cancers au niveau stromal, avec une expression plus grande dans les tumeurs peu différenciées (Nicholson et al 2004). Des études utilisant le marquage immunohistochimique ont montré une surexpression de COX2 dans les cellules prostatiques malignes et dans la HGPIN. 80 % à 90 % des tumeurs prostatiques humaines ont une surexpression en COX2 (Rodrigues et al 2010).

Chez le chien, Sorenmo et al ont démontré par technique d'immunohistochimie que les cellules tumorales prostatiques produisent COX2 dans 88.2 % des cas et COX1 dans 94.1 %. COX2 est produite exclusivement par les cellules tumorales alors que COX1 est produite par les cellules prostatiques normales. Ces résultats suggèrent donc qu'il y a également une dérégulation à propos des enzymes COX qui peut être impliquée dans la pathogénie des carcinomes prostatiques chez le chien également. L'expression de COX2 est corrélée avec le grade de la tumeur (Sorenmo et al 2004).

COX2 a également été retrouvé dans des lésions de PIN et de PIA chez l'homme comme chez le chien, pouvant être un argument de plus en faveur de l'influence de l'inflammation chronique sur l'apparition de ces lésions potentiellement pré cancéreuses, malgré que le rôle de l'inflammation dans l'expression de COX2 soit controversé (les cytokines pro inflammatoires TNFα et IL6 ne stimulent pas l'expression de COX2 dans les cellules prostatiques cancéreuses canine (L'Eplattenier et al 2007, Rodrigues et al 2010).

Le chien pourrait donc être un excellent modèle spontané pour étudier le rôle de COX à la fois dans la carcinogenèse ainsi que dans l'effet des traitements anti cancéreux ciblant cette enzyme (Sorenmo et al 2004).

3) Prévention : Influence des anti-inflammatoires

Un possible lien entre l'inflammation chronique de la prostate et le carcinome prostatique étant avancé, la lutte contre l'inflammation de la prostate est considérée comme une possible piste de prévention contre le carcinome prostatique (De Nunzio et al 2011).

La prise d'anti-inflammatoires alimentaires (comme le thé vert, la tomate ou le « soja ») ou médicamenteux (AINS) entraînerait un risque moins grand de cancer de la prostate chez l'homme comme chez le chien. Les mécanismes exacts ne sont pas connus mais pourraient faire intervenir l'épigénétique (comme les méthylations sur l'ADN) (Sfanos et al 2012).

Beaucoup d'études épidémiologiques ont également montré un risque réduit de cancer lors de prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, via une possible inhibition de l'enzyme COX2 (réduction de 17 % du risque total de cancer si on prend de l'aspirine).

L'effet des COX2 sélectifs (celecoxib, rofecoxib, …) a également été étudié. Chez l'homme, l'effet préventif et thérapeutique de l'administration de COX2 a été étudié dans des études cliniques qui ont malheureusement été stoppées, cette administration étant fort probablement corrélée à des effets secondaires cardiovasculaires sévères (De Nunzio et al 2011).

Une étude sur des chiens recevant des AINS a démontré des bénéfices thérapeutiques anti cancéreux de cette prise sur le carcinome prostatique à un stade local (médiane de survie de 6.9 mois et plus de 50 % ont vécu un an ou plus chez les chiens traités par rapport à une médiane de survie de 0.7 mois chez les chiens non traités) suggérant un possible intérêt des AINS dans le traitement anti cancéreux (Sorenmo et al 2004). Cette étude suggère un possible rôle des COX2 sélectifs pour la prévention du cancer prostatique dans l'espèce

canine mais ces résultats restent expérimentaux et nécessitent des études sur de plus larges cohortes et des essais cliniques confirmant les données obtenues sur des petites séries et des expériences épidémiologiques (De Nunzio et al 2011). Ces COX2 sélectifs pourraient agir en faveur d'une prévention du cancer en induisant l'apoptose des cellules entourant les ilots inflammatoires (via des mécanismes dépendant ou non de COX2) (Sorenmo et al 2004).

La prise d'AINS ou d'autres agents anti inflammatoires médicamenteux ou alimentaires pourrait donc avoir un effet préventif ou thérapeutique sur le carcinome prostatique chez le chien comme l'homme, à des stades précoces ou tardifs (métastatique ou réfractaire aux hormones). Ceci reste cependant à être largement étudié, les mécanismes exacts n'étant pas élucidés et les effets secondaires pouvant être catastrophiques comme ce fut le cas dans la prise de COX2 sélectifs chez l'homme (De Nunzio et al 2011). De plus, certains de ces médicaments ont une toxicité non négligeable (comme une toxicité rénale), il convient donc d'être très prudent dans leur utilisation et de peser la balance bénéfice/risque de ce traitement.

La relation causale entre l'inflammation prostatique et le cancer de la prostate reste à être établie bien que les dommages et le renouvellement cellulaires causés par cette inflammation via probablement le stress oxydatif et les cytokines inflammatoires générés puissent contribuer à la carcinogenèse (Drake 2010). Les infections prostatiques et les calculs prostatiques sont les plus souvent incriminés. La prise d'anti-inflammatoires pourrait avoir un potentiel effet protecteur, chez le chien comme chez l'homme, bien que des études supplémentaires soient nécessaires.

Les patients ayant une inflammation chronique de la prostate pourraient donc être considérés comme étant à risque pour le carcinome prostatique, surtout si les lésions sont associées à des lésions de PIA (De Nunzio et al 2011).

III Mécanismes génétiques et épigénétiques de la cancérogenèse du carcinome prostatique

Le cancer est vu comme une maladie génétique causée par une instabilité génétique (Halvorsen 2008), définition partagée pour le carcinome.
En effet, afin que le carcinome se développe, 2 événements doivent se passer (De Marzo et al 1999) :

- Prolifération incontrôlée des cellules cibles
- Ces cellules cibles en prolifération doivent hériter lors de ce processus d'altérations génétiques (comme des mutations), cet héritage étant l'élément clé de la transformation maligne. Il lui permet en effet d'acquérir toutes les caractéristiques nécessaires à un développement tumoral.

Les 7 caractéristiques tumorales acquises par ce processus sont les suivantes (Halvorsen 2008) :

- Auto suffisance en signaux de croissance
- Insensibilité aux signaux d'anticroissance
- Échappement à l'apoptose
- Potentiel réplicatif sans limite
- Angiogenèse soutenue
- Processus létal d'invasion et métastases
- Évasion active des cellules cancéreuses de l'attaque et de l'élimination du système immunitaire

Cette transformation cellulaire est générée par des altérations génétiques ainsi qu'épigénétiques. Ces altérations activent alors des oncogènes et des facteurs de croissance et désactivent des gènes suppresseurs de tumeurs (Foster et al 1999 ; Stagg et al 2007). Le développement tumoral nécessite un échappement des cellules cibles à plusieurs facteurs intrinsèques suppresseurs de tumeurs : les cellules transformées perdent par exemple leur capacité à répondre aux signaux extrinsèques de la matrice extra cellulaire et des cellules voisines qui maintiennent normalement l'homéostasie de l'organe (Stagg et al 2007).

L'étiologie même de cette prolifération incontrôlée et ainsi de l'acquisition d'altérations génétiques héréditaires n'est pas connue. Seules des hypothèses ont été formulées : facteurs génétiques et environnementaux, rôle de l'inflammation… Certains chercheurs (Pirce et al, Buick and Polla) ont également avancé l'hypothèse que les cellules tumorales peuvent provenir des cellules souches présentes dans la prostate, cellules ayant un potentiel réplicatif important. Un de leurs arguments est que l'expression d'oncogènes dans les cellules saines est très fortement régulée en relation avec leur différentiation. L'existence même et la localisation des cellules souches prostatiques sont tout de même encore en débat (De Marzo et al 1999).

Nous nous intéresserons dans cette partie aux mécanismes génétiques et épigénétiques menant à l'acquisition des caractéristiques principales d'un phénomène néoplasique. L'évasion des cellules cancéreuses à l'attaque et à l'élimination du système immunitaire ne sera pas développée ici mais dans la partie V. L'acquisition du processus létal d'invasion et de métastases sera quant à lui vu dans la sous partie 5.

1) Oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs et mécanismes épigénétiques

L'acquisition par les cellules cancéreuses des caractéristiques énumérées ci-dessus s'effectue par des mutations génétiques et des mécanismes épigénétiques permettant l'expression ou la surexpression d'oncogènes et la répression de gènes suppresseurs de tumeur (Alifrangis et al 2011).

Les mutations (ponctuelles par addition ou délétion, instabilité des microsatellites, perte d'hétérozygotie, ….) s'effectuent sur des gènes critiques à l'homéostasie cellulaire et à différents stades de l'évolution de la tumeur (dès la HGPIN au cancer métastatique). Elles confèrent alors aux cellules tumorales un avantage sélectif, leur permettant d'atteindre leur but ultime : l'invasion tissulaire et le potentiel métastatique (Bhutia et al 2010 ; Halvorsen 2008).

Ces mutations ont été très étudiées chez l'homme mais peu de données existent quant à la pathogénie moléculaire du cancer prostatique canin. Très peu de mutations somatiques prédisposant au développement d'un carcinome prostatique ont été identifiées chez le chien. Des études supplémentaires sont donc fortement nécessaires afin de pouvoir comprendre et comparer la carcinogenèse entre ces deux espèces (Leroy et al 2009).

Nous verrons dans cette partie certaines mutations et mécanismes épigénétiques identifiés dans le cadre du cancer de la prostate sur des gènes ubiquitaires, impliqués dans différentes voies biologiques de la cellule comme le contrôle de la fidélité de la réplication de l'ADN, l'efficacité de la réparation de l'ADN ou encore le contrôle de checkpoints lors de la séparation chromosomique (Bhutia et al 2010).

a) Mécanismes génétiques

i. Anomalies chromosomiques

Comme vu dans la partie II, les anomalies chromosomiques (polysomie) fréquentes chez l'homme touchent les chromosomes 4q et 8q. Il a été alors suggéré que ces chromosomes, et en particulier le chromosome 8q, contiennent beaucoup de loci impliqués dans le cancer de la prostate. Un exemple est la présence dans le chromosome 8q de

l'oncogène c-MYC, codant pour un facteur de transcription impliqué dans la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose (Davis et al). Cet oncogène lorsqu'il est activé est impliqué dans beaucoup de cancers humains et est associé à des maladies agressives. Comme nous le verrons par la suite, il est amplifié dans beaucoup de cancers prostatiques humains (Davis et al).

Une perte d'hétérozygotie d'un autre chromosome a également été mise en évidence, le chromosome 10q23, comprenant le gène d'un suppresseur de tumeur, PTEN. Cette perte d'hétérozygotie a été mise en évidence dans 60 % des cancers de la prostate avancés (Tamura et al 1999).

Des anomalies chromosomiques ont également été mises en évidence chez le chien, telles que l'aneuploïdie (trouvée chez 10 prostates sur 22 dans une étude de Leroy et al) ou la polysomie de chromosomes (Leroy et al 2009). La polysomie la plus retrouvée chez le chien concerne le chromosome 13, région synténique avec les chromosomes humains 4q et 8q (Leroy et al 2009).

On peut donc émettre l'hypothèse que les mécanismes amenant à ces anomalies chromosomiques sont similaires chez l'homme comme chez le chien et provoquent l'expression d'oncogènes très bien identifiés chez l'homme. Il serait donc intéressant de voir si les gènes canins correspondant à ceux identifiés chez l'homme ont un locus sur le chromosome 13 ce qui permettrait peut-être d'avoir plus de connaissances quant aux mécanismes moléculaires de la carcinogenèse dans l'espèce canine.

ii. p53

Le gène p53 code pour une protéine ayant un rôle fondamental dans l'homéostasie cellulaire comme l'arrêt du cycle cellulaire ou l'induction de l'apoptose après dommage de l'ADN ou signaux de stress. La protéine p53 se lie à l'ADN et provoque ainsi l'arrêt du cycle. Sa mutation permet alors un cycle cellulaire qui perdure malgré l'existence de dommages sur l'ADN. Ce gène est le gène le plus fréquemment muté dans le cancer humain (plus de 50 % des tumeurs humaines ont une mutation p53) (Bostwick et al 1996 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008).

Cette mutation est un événement tardif de la carcinogenèse dans le cadre du cancer de la prostate (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008). En effet, cette mutation atteint son niveau le plus haut lors de cancer métastatique : la mutation est retrouvée dans 6 % de lésions de PIN, 11 % des lésions de cancer et 56 % des lésions de cancer métastatique (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997).

C'est donc un marqueur pronostique indépendant de létalité et d'invasion, cette mutation est associée à un pronostic sombre (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

Aucun gène candidat mimant le caractère ubiquitaire de p53 et présent dans la plupart des cancers canins n'a pu être identifié dans le cancer prostatique canin.

iii. c-MYC

c-MYC est un facteur de transcription ayant un rôle dans la prolifération cellulaire, l'apoptose et le contrôle de la réplication. Le gène codant pour c-MYC est classé dans la catégorie des oncogènes.

On trouve dans le cancer de la prostate humain un haut taux d'ARNm c-MYC. Son taux d'expression étant bas dans les lésions de PIN et haut lors de carcinome invasif, son expression est considérée comme un événement tardif de la carcinogenèse (Kiviharju-af Hällström et al 2008). Elle entraîne alors une réplication continue malgré des dommages de l'ADN et une résistance à l'apoptose (Kiviharju-af Hällström et al 2008). Son action serait ciblée sur la répression d'un gène suppresseur de tumeur NKX3.1 menant normalement à la différenciation des cellules épithéliales prostatiques. On note effectivement une diminution de l'expression progressive de NKX3.1 concomitante à l'augmentation de l'expression de c-MYC chez l'homme. Le développement normal des cellules prostatiques dépendrait donc de l'interaction complexe entre ces deux gènes (NKX3.1 a un feedback négatif fort sur l'expression de c-MYC) (Fonseca-Alves et al 2013).

La dérégulation de la protéine c-MYC est également impliquée chez l'homme dans la progression du carcinome prostatique, de son stade localement invasif à son passage à un statut androgène indépendant (Bernard et al 2003 ; Fonseca-Alves et al 2013), comme nous le verrons ultérieurement.

La surexpression de c-MYC semble être similaire dans l'espèce canine. En effet, une étude a pu observer une surexpression de c-MYC progressive entre les lésions de HGPIN et PIA chez le chien et le carcinome prostatique, permettant de faire l'hypothèse que ce gène a également un rôle très important dans la pathogénie du cancer de la prostate canin. Cette étude a également montré la forte diminution d'expression du gène NKX3.1, suggérant que les mécanismes de l'interaction entre c-MYC et NKX3.1 et la prolifération anormale des cellules prostatiques due à cette interaction seraient les mêmes dans les deux espèces (Fonseca-Alves et al 2013). Cependant, une seule étude a sorti de tels résultats et le nombre de prostates étudiées n'est pas suffisant pour conclure franchement. D'autres études sont donc nécessaires pour voir le rôle de c-MYC dans la carcinogenèse du cancer de la prostate chez le chien (Fonseca-Alves et al 2013).

Si les résultats se confirment, le chien pourrait servir de modèle pour étudier la progression spontanée de la maladie (Fonseca-Alves et al 2013).

iv. HSP90

Les HSPs (heat shock proteins) sont un groupe de molécules très conservées qui jouent un rôle fondamental dans l'homéostasie cellulaire sous conditions physiologiques de stress : fonctions anti-apoptotiques et stabilisation de protéines (Romanucci et al 2014).

La protéine HSP90 assure que les protéines accomplissent leur travail même en présence d'erreurs de repliement (soit non encore repliées ou dont le bon repliement est affecté par les conditions de stress). Elle a donc un rôle dans la survie cellulaire prostatique et dans la régulation du récepteur androgénique (rôle dans la surexpression et les mutations de ce récepteur) (Palmieri et al (a) 2014).

Cette protéine chaperon peut réguler plusieurs événements nucléaires contribuant à la carcinogenèse, étant impliquée dans la régulation du cycle cellulaire et pouvant initier une prolifération cellulaire en affectant des protéines nécessaires à la croissance cellulaire [99]. Parmi ceux-là, elle régule l'activité de la (HSF)-1 (heat shock transcription factor 1) impliquée dans la survie cellulaire sous conditions de stress. Elle se lie également à la protéine BCL-6 (B cell lymphoma 6) dont le complexe supprime la transcription de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs (Palmieri et al (a) 2014).

Son rôle le plus crucial dans la carcinogenèse du cancer de la prostate repose sur son activité sur le récepteur androgénique (Palmieri et al (a) 2014). HSP90 module sa localisation cellulaire, sa stabilité et son habilité à se lier et avoir une activité transcriptionnelle.

L'expression de cette protéine lors de processus néoplasique a été démontrée pour quelques cancers canins : ostéosarcome, tumeur mammaire, cancer de la prostate, avec un schéma similaire à celui de l'homme (Palmieri et al (a) 2014). Dans le cancer prostatique canin, l'expression de HSP90 est de plus en plus importante de la PIN au carcinome prostatique. Sa localisation évolue également : elle est périnucléaire dans la prostate saine et devient progressivement nucléaire et diffuse de la PIN au carcinome (Palmieri et al (a) 2014). Ce schéma d'expression suppose donc que cette protéine a un rôle dans la carcinogenèse du cancer prostatique canin précoce (haute expression de la HSP90 dès les lésions de PIN et PIA).

Chez l'homme, une surexpression de HSP90 est rapportée lors de cancer prostatique avancé à haut score de Gleason (Palmieri et al (a) 2014).

Les mécanismes similaires sur cette protéine entre l'espèce canine et humaine supportent l'usage potentiel du chien comme modèle pour étudier la carcinogenèse du cancer de la prostate ou afin de tester de nouvelles thérapies anti cancéreuses ciblant la protéine HSP 90 (Palmieri et al (a) 2014). Des études complémentaires sont donc nécessaires, chez le chien comme chez l'homme, afin d'élucider au possible les mécanismes de cette surexpression (moment dans la carcinogenèse, effet précis sur d'autres gènes, interaction avec le récepteur androgénique et lien avec l'hormono-indépendance, ….)

b) Mécanismes épigénétiques

Les processus épigénétiques sont un autre mécanisme de régulation de gènes qui contribuent à différents stades de la carcinogenèse au développement ou à la progression du cancer (Alcaraz et al 2009 ; Bhutia et al 2010). Ces mécanismes comprennent :

- L'hyperméthylation de l'ADN. De nombreux gènes ont été identifiés comme étant hyperméthylés et donc inactivés lors de la progression du carcinome prostatique humain : ces gènes sont des gènes suppresseurs de tumeur (comme APC ou RASSF1A), des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (14-3-3s), l'apoptose, la différenciation, l'adhésion cellulaire ou qui codent pour des protéines clés comme GSTP1. GSTP1 est le gène le plus fréquemment altéré dans le cancer de la prostate avec une hyperméthylation de sa région promotrice dans 70 % des cas de PIN et dans 90 % à 95 % des cas de carcinome prostatique, la modification de son expression étant donc un événement précoce de la carcinogenèse (Kiviharju-af Hällström et al 2008). L'hypométhylation globale de promoteurs de gènes oncogènes est également fréquemment rencontrée (expression de gènes normalement silencieux comme l'activation des cancer testis antigen). Cette déméthylation globale, outre l'expression de gènes d'ordinaire silencieux, peut aussi amener à l'augmentation de l'instabilité génomique et donc à contribuer à la carcinogenèse (Bhutia et al 2010).
- Méthylation / Acétylation / Phosphorylation des histones et autres protéines (Bhutia et al 2010).
- Existence de miARN et lncARN (Bhutia et al 2010)

Il existe donc des similitudes génétiques et épigénétiques entre le cancer prostatique humain et canin telles que les mutations de gènes c-MYC ou HSP90 dans les deux espèces. Des anomalies chromosomiques se retrouvent également dans les deux espèces et concernent les chromosomes 4q et 8q pour l'homme et le chromosome canin 13, région synténique des chromosomes humains. Des oncogènes ont été clairement identifiés sur les chromosomes humains et il serait intéressant d'étudier le chromosome canin 13 afin de rechercher des oncogènes similaires ou propres à l'espèce. Ces oncogènes pourraient éclairer des mécanismes

moléculaires de la carcinogenèse au niveau de l'adénocarcinome prostatique ou être partagés avec d'autres phénomènes néoplasiques.

2) Gènes incriminés dans la carcinogenèse du carcinome prostatique

Nous verrons dans cette partie un panel de gènes incriminés, principalement dans l'espèce humaine, lors de la carcinogenèse du carcinome prostatique, et plus précisément lors de l'acquisition de chacune des caractéristiques nécessaires à la cellule tumorale (prolifération cellulaire, résistance à l'apoptose, …).

L'intégralité de ce paragraphe est résumée dans l'*Annexe n°2*.

a) Gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire et prolifération cellulaire

La croissance tumorale est due à l'altération de la balance entre prolifération cellulaire et mort cellulaire, permettant en temps normal l'homéostasie cellulaire. L'acquisition via des modifications génétiques d'une prolifération cellulaire incontrôlée est donc cruciale (Bostwick et al 1996). Les gènes ciblés sont généralement des gènes permettant le contrôle et la régulation du cycle cellulaire (réplication de l'ADN, mitoses, …)(cf *Figure n°12*). L'inhibition de ces gènes permet alors une prolifération cellulaire malgré des erreurs de réplication ou de mitose et est fortement intriquée avec la résistance à l'apoptose.

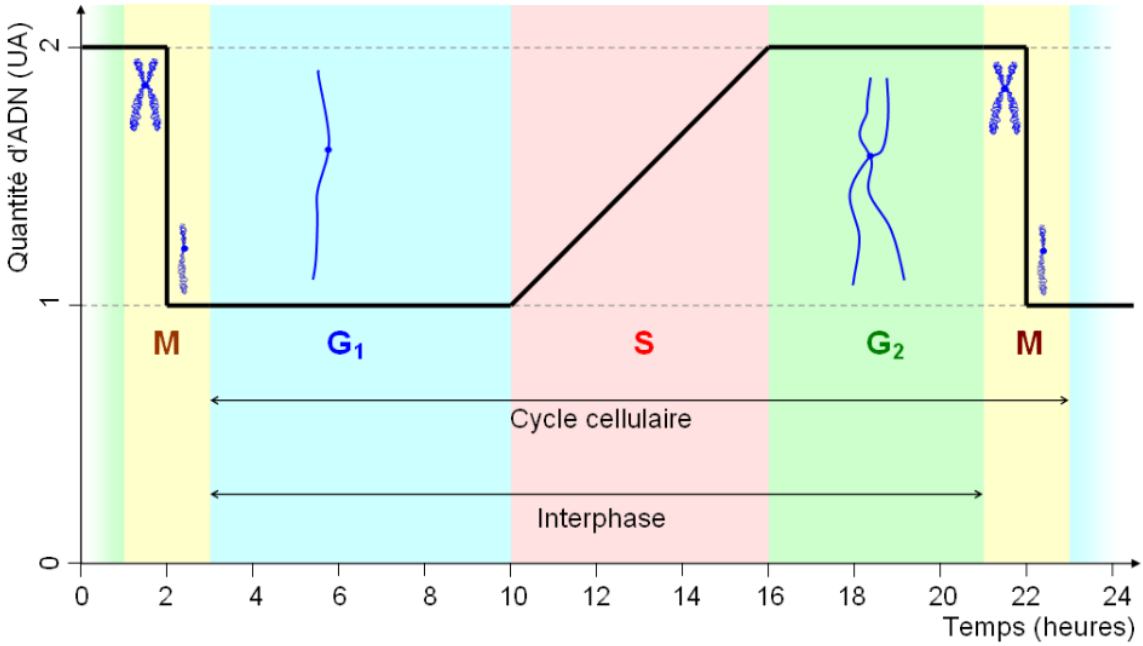


Figure n°12 : Schéma du cycle cellulaire

i. Les « checkpoints » du cycle cellulaire

Les « checkpoints » du cycle cellulaire sont orchestrés sous forme de cascades biochimiques. Ils permettent de stopper ou de supprimer la progression du cycle cellulaire en réponse à un dommage de l'ADN, s'assurant ainsi de l'intégrité de l'information génétique (cf *Figure n°13*) (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

L'arrêt du cycle cellulaire mène à l'apoptose et à la sénescence si la réparation est irréparable. Ces mécanismes sont activés très précocement lors de la carcinogenèse et forment ainsi une des barrières principales contre la formation d'une tumeur.

Si l'on a un dysfonctionnement de ces checkpoints, on a alors une instabilité génomique, la cellule ne « répare plus bien » et la carcinogenèse en est accélérée. La tumeur réussit donc à échapper à ce contrôle en inhibant/mutant grâce à des cancérigènes (comme les UV par exemple) les gènes codant pour ces protéines « checkpoints » entraînant donc un échappement à la régulation du cycle cellulaire, une prolifération cellulaire incontrôlée et une des voies d'échappement à l'apoptose.

Les cellules épithéliales prostatiques ont des checkpoints très performants lors des transitions entre la phase G1 et la phase S et la phase G2 et la phase M (permettant d'empêcher la mitose lorsque l'ADN est endommagé et non réparé) et ce sont principalement sur ces gènes que l'on trouve alors des mutations ou des répressions d'expression (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

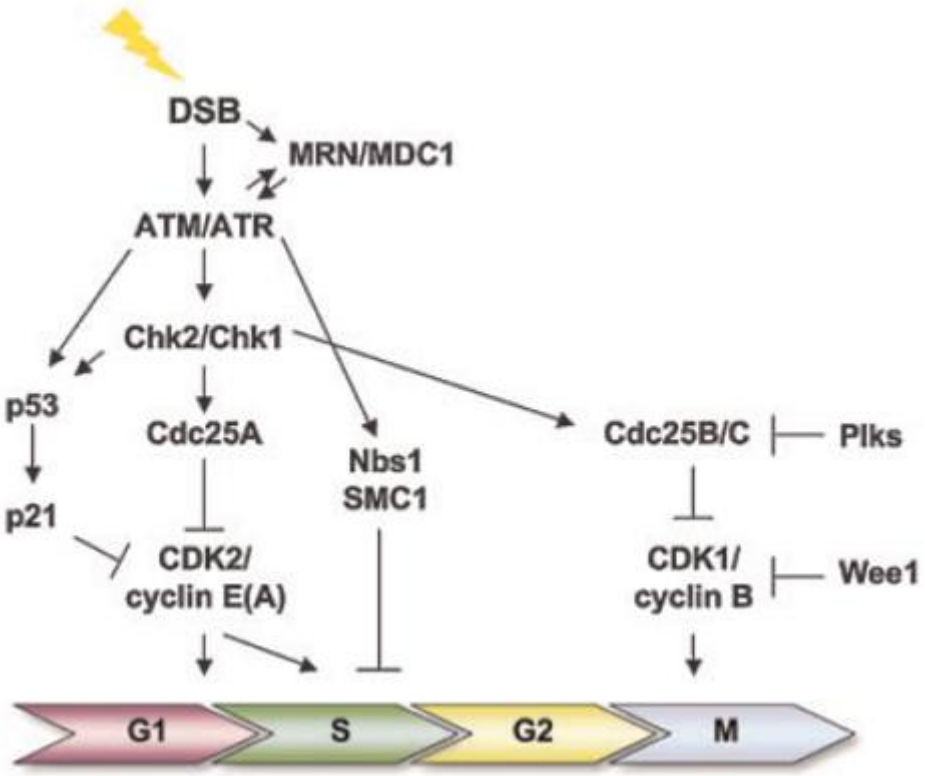


Figure n°13 : Modèle schématique des checkpoints cellulaires

ii. p16 et p27

La cycline D CDK4 est un complexe checkpoint primordial de la transition entre la phase G1 et la phase S. Il promeut la progression du cycle cellulaire en phosphorylant la protéine Rétinoblastoma Rb (maintenant la cellule en phase G1).

Les protéines p16 et p27 sont des protéines régulant le cycle cellulaire durant la transition entre la phase G1 et la phase S également. Elles interfèrent avec la formation des cyclines, des kinases cyclines-dépendantes, et avec la protéine Rb et influencent donc la progression du cycle cellulaire (Halvorsen 2008).

La protéine p16 se lie à CDK4 et inhibe alors la formation du complexe. Le gène p16 est donc un gène suppresseur de tumeur. Ce gène est souvent inactivé lors du cancer de la prostate par délétion (perte d'hétérozygotie dans 20 % des cancers primaires), mutations ou hyperméthylation (plus rare, généralement au stade métastatique). Ce gène est également altéré lors de HGPIN, supposant que cette modification a lieu à un stade précoce de la carcinogenèse (Halvorsen 2008).

La protéine p27 peut également se lier au complexe cycline D-CDK4 et contrôler la transition G1-S. L'expression du gène p27 est diminuée dans la PIN, le carcinome prostatique précoce et invasif ainsi que le carcinome métastatique (Halvorsen 2008).

La perte de p27 est un facteur pronostique indépendant au niveau du temps avant l'échec biochimique à la privation d'androgènes (soit le passage à un cancer androgéno-indépendant) et la récurrence clinique (Halvorsen 2008).

Ces phénomènes se déroulent donc à un stade précoce de la carcinogenèse et pourraient être un mécanisme clé de la dérégulation du cycle cellulaire dans le cadre du cancer de la prostate.

Aucun mécanisme sur un des checkpoints du cycle cellulaire n'a été étudié chez le chien à ce jour. Il serait donc intéressant de voir si de telles modifications existent dans l'espèce canine concernant les cancers de prostate. Une perte d'expression majeure de p16, et à moindre effet de p21, a en effet été démontrée dans le mélanome canin (Koenig et al 2002).

iii. PTEN

Le gène PTEN code pour une phosphatase impliquée dans de multiples aspects de l'homéostasie cellulaire : régulation du cycle cellulaire, adhésion cellulaire, migration cellulaire (cf *Figure n°14*) (Halvorsen 2008).

Cette phosphatase bloque alors la voie PIP3/Akt et la voie PI3K.

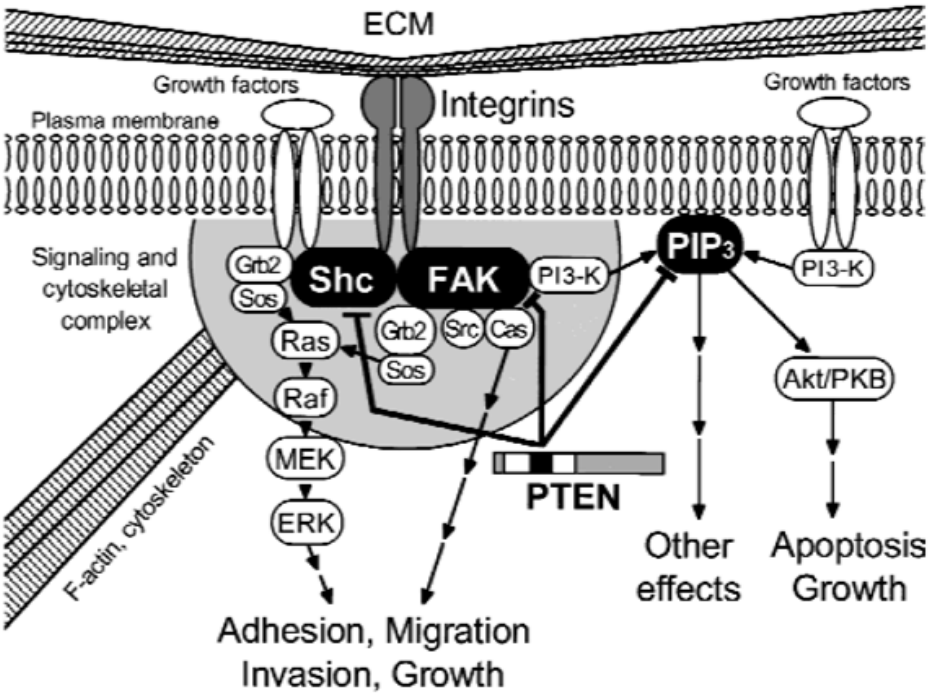


Figure n°14 : Modèle d'action de PTEN (D'après Tamura et al, 2008)

Des altérations génétiques concernant le gène PTEN sont fréquemment observées dans le cancer prostatique (Halvorsen 2008 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008) :

- Par délétion : perte d'hétérozygotie dans 40 % du cancer de la prostate (Halvorsen 2008 ; Tamura et al 1999)
- Par mutation : mutations non héréditaires ponctuelles dans 16 % des carcinomes locaux, la fréquence augmente au stade métastatique (Halvorsen 2008)
- Par hyperméthylation de l'ADN (Kiviharju-af Hällström et al 2008)

La perte de fonction de PTEN entraîne alors une accumulation de PIP3, l'activation de la voie AKT/protéine kinase B et alors l'inhibition de l'apoptose et l'augmentation de la prolifération cellulaire (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

Son altération semble être un événement tardif de la carcinogenèse (mutations fréquentes dans les cancers prostatiques de haut grade (Tamura et al 1999).

La perte de PTEN est un facteur pronostique indépendant au niveau du temps avant l'échec biochimique à la privation d'androgènes (soit le passage à un cancer androgéno-indépendant) et la récurrence clinique (Halvorsen 2008).

Chez le chien, une réduction d'expression ou une mutation du gène PTEN ont été démontrées dans la carcinogenèse des nombreux types tumoraux touchant d'autres organes (sein, os, peau, …) : mutation de PTEN par délétion dans les ostéosarcomes canins amenant à

une augmentation de l'activité Akt, réduction de l'expression de PTEN dans le mélanome et les tumeurs mammaires, … (Koenig et al 2002 ; Levin et al 2002 ; Qiu et al 2008 ; Ressel et al 2009). Il serait donc intéressant d'étudier l'expression de PTEN dans le cancer prostatique canin afin de voir si un mécanisme similaire se déroule.

iv. TGFβ

La TGFβ est une cytokine impliquée dans une grande variété de processus biologiques : régulation de la croissance cellulaire, angiogenèse, réponse immune, modulation de la matrice extra cellulaire, … (Wikström et al 2002).

TGFβ a 3 isoformes : TGFβ1 (la plus importante), TGFβ2 et TGFβ3 (Wikström et al 2002).

TGFβ1 est un inhibiteur local de la croissance prostatique en bloquant les cellules épithéliales prostatiques en phase G1. Un potentiel rôle de TGFβ1 sur le récepteur androgénique est également discuté : TGFβ1 inhiberait la prolifération cellulaire en rendant le récepteur à androgène cytoplasmique et non plus nucléaire (Wikström et al 2002).

Les cellules malignes humaines et canines acquièrent une résistance à l'inhibition de croissance de TGFβ1 par perte ou dysfonctionnement des récepteurs à TGFβ1 (Wikström et al 2002).

TGFβ1 est surexprimé lors de cancer de la prostate humain. Sa surexpression semble être un événement précoce dans le cancer de la prostate et est corrélée avec la progression du cancer : l'augmentation sérique de TGFβ1 corrèle avec le fardeau tumoral, le stade de la tumeur et la progression à un stade métastatique. Sa surexpression peut être expliquée d'une part par la perte ou le dysfonctionnement de ses récepteurs mais également via son rôle dans l'angiogenèse nécessaire au développement tumoral, qui sera développé par la suite (Wikström et al 2002).

v. Récepteur androgénique

Comme vu dans la partie I sous partie 2, la testostérone a un rôle primordial dans la survie et la prolifération des cellules prostatiques. La testostérone se lie à son récepteur, qui s'internalise alors et va dans le noyau de la cellule et interagit avec de nombreux gènes menant à la survie de cellules et la prolifération cellulaire (Halvorsen 2008).

Les altérations sur le récepteur androgénique permettent une prolifération cellulaire même en absence ou à de très bas taux d'androgènes. Ces phénomènes arrivent généralement

lors du passage du cancer androgène dépendant au cancer androgène indépendant et seront donc discutés dans la sous-partie 4.

b) Gènes impliqués dans l'échappement à la mort cellulaire

Le mécanisme d'apoptose est gouverné par deux voies principales d'activation (cf *Figure n°15*) :

- La voie intrinsèque mettant en jeu la mitochondrie et gouvernée principalement par des protéines appartenant à la super-famille de Bcl-2
- La voie extrinsèque, impliquant des récepteurs appartenant à la super-famille des récepteurs au facteur de nécrose tumorale TNF

Ces voies conduisent à l'activation de caspases effectrices responsables du clivage de plusieurs molécules (comme certaines protéines de structure). Cela se traduit par des phénomènes morphologiques et biochimiques caractéristiques se déterminant par le démantèlement de la cellule, la formation de corps apoptotiques et la phagocytose de ces corps par les cellules environnantes. Des cytokines telles que TGFβ augmentent le phénomène d'apoptose. D'autres protéines, comme les HSP (heat shock proteins), inhibent l'apoptose suite à des signaux de stress afin de maintenir l'homéostasie cellulaire.

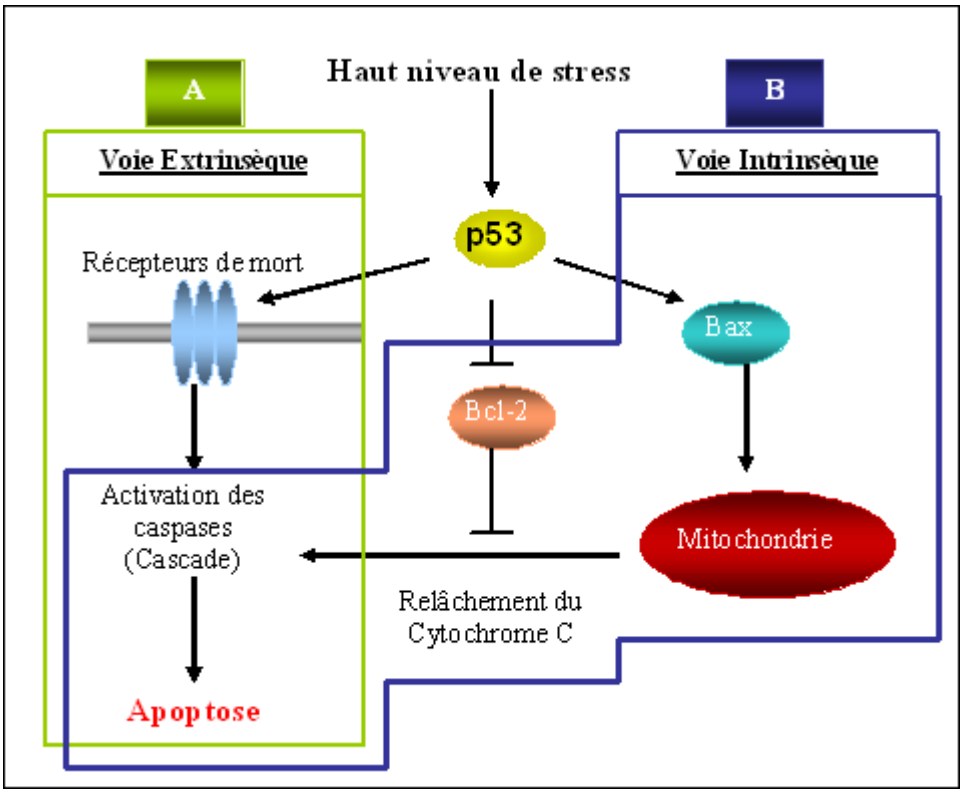


Figure n°15 : Voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose

Les cellules tumorales prostatiques modifient donc ces voies ou ces protéines régulatrices afin d'acquérir une résistance au phénomène apoptotique.

i. Voie intrinsèque : Bcl-2 et Bax/Bak

L'initiation de l'apoptose par la voie intrinsèque repose sur une balance entre des signaux pro et anti-survie : Bax/Bak, pro-apoptotique, et Bcl2, anti-apoptotique, déterminent la perméabilité mitochondriale à relarguer des molécules pro apoptotiques comme le cytochrome C. Le cytochrome C coopère alors avec Apaf1, active la caspase 9 et induit l'apoptose (Halvorsen 2008 ; Stagg et al 2007) (cf *Figure n°16*).

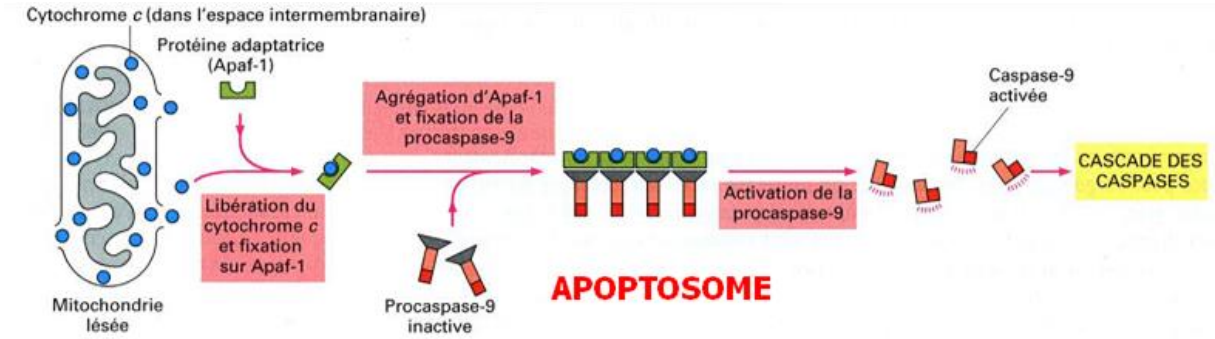


Figure n°16 : Mécanisme de la voie intrinsèque de l'apoptose

On observe dans la cellule cancéreuse prostatique un renforcement de l'expression de Bcl-2 et une diminution de l'expression de Bax (Bhutia et al 2010 ; Halvorsen 2008 ; Stagg et al 2007). Ceci leur permet donc d'échapper à l'apoptose et d'augmenter la durée de survie cellulaire. La suppression de la mort cellulaire par Bcl-2 peut aussi résulter à l'accumulation d'anomalies génétiques et possiblement augmenter l'agressivité du cancer (Bostwick et al 1996).

La surexpression de Bcl 2 se retrouve dans la HGPIN, signant un événement plutôt précoce (Haggman et al 1997). Mais son rôle est surtout capital lors du passage du cancer androgéno-dépendant au cancer androgéno-indépendant. En effet, lors de privation d'androgènes, les cellules épithéliales meurent par apoptose. La surexpression de Bcl-2 leur permet donc de survivre dans un milieu sans androgène et est alors associée à l'émergence d'un cancer prostatique androgène – indépendant (Bostwick et al 1996 ; Halvorsen 2008).

L'inhibition de l'apoptose par surexpression des membres de la famille Bcl-2 peut donc représenter une voie par laquelle la cellule cancéreuse surpasse la dépendance au récepteur androgénique (Halvorsen 2008).

Aucun mécanisme n'a été étudié chez le chien à ce jour. Il serait donc intéressant de voir si de telles modifications existent dans l'espèce canine concernant les cancers de prostate.

ii. Voie extrinsèque : TRAIL et NFκB

La voie extrinsèque de l'apoptose est déclenchée par un signal extérieur à la cellule : des ligands de mort tels que FasL, TNFα ou TRAIL se lient à des récepteurs spécifiques. Cette liaison entraîne une réaction en chaîne menant à l'activation des caspases effectrices (Stagg et al 2007).

L'expression endogène de TRAIL joue un rôle important dans l'apoptose et l'immunosurveillance des cellules cancéreuses. Son activation mène à la mort cellulaire mais peut aussi mener à l'activation d'autres voies telle que la voie NFκB, voie d'échappement à l'apoptose (Stagg et al 2007).

Chez le chien, une résistance au ligand de mort TRAIL via l'expression d'inhibiteurs de l'apoptose telle que la protéine XIAP a été démontrée principalement dans l'ostéosarcome et les tumeurs mammaires (Spee et al 2006).

iii. Heat Shock Proteins

Les HSPs, et particulièrement les Hsp70, Hsp27 et Hsp60, sont souvent surexprimées dans les cellules cancéreuses et sont essentielles à leur survie : elles permettent à la cellule tumorale de survivre dans un environnement hostile grâce leurs propriétés anti-apoptotiques (Romanucci et al 2014).

Des études de marquage immunohistochimique ont pu mettre en évidence la surexpression de ces protéines dans les lésions de HGPIN et de carcinome prostatique chez l'homme comme chez le chien. La surexpression de ces protéines est, par ailleurs, corrélée chez l'homme à un carcinome à haut score de Gleason et un développement précoce d'une maladie réfractaire aux hormones (Romanucci et al 2014).

Des études supplémentaires sont maintenant nécessaires pour confirmer le rôle des HSPs dans ces carcinomes et comprendre comment elles interagissent dans le cadre du cancer de la prostate.

Ainsi, les cellules cancéreuses développent des stratégies permettant de modifier sévèrement la machinerie apoptotique via des changements génétiques et épigénétiques (Bhutia et al 2010).

c) Gènes impliqués dans l'autosuffisance en signaux de croissance

i. EGF

L'EGF (epidermal growth factor) fait partie d'une famille d'une douzaine de facteurs de croissance impliqués dans le développement et le fonctionnement normal de différents organes (peau, cœur, poumon, système nerveux, glande mammaire, …). L'action de ces facteurs de croissance est médiée par une famille de quatre récepteurs membranaires ubiquitaires EGFR ou HER (human EGF receptor related), récepteur glycoprotéique transmembranaire associé à des tyrosine kinases. L'interaction EGF-EGFR amène principalement à la prolifération et la migration cellulaire.

EGF est peu exprimé dans l'épithélium bénin et la PIN. Son expression serait augmentée dans le cancer prostatique malgré des résultats contradictoires (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997).

La surexpression de son récepteur est retrouvée dans 40 % à 80 % des cellules cancéreuses de la prostate. Aucune mutation activatrice spécifique n'a encore été identifiée (Alifrangis et al 2011).

Ce récepteur est peu exprimé dans les lésions de HGPIN, ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse que la surexpression d'EGFR consécutive à la surexpression d'EGF a un rôle crucial dans le passage entre la HGPIN et le cancer de la prostate (Prezioso et al 2007).

Son rôle reste ainsi encore imprécis et des études supplémentaires sont nécessaires dans l'espèce humaine. De plus, aucun mécanisme n'a été étudié chez le chien à ce jour. Il serait donc intéressant de voir si de telles modifications existent dans l'espèce canine concernant les cancers de prostate.

ii. FGF

Il semblerait que FGF n'ait été étudié que chez l'homme. Les cellules cancéreuses prostatiques expriment un facteur de croissance FGF6 que les cellules normales n'expriment pas. Ce FGF6 exogène stimule la prolifération primaire des cellules épithéliales et stromales prostatiques. Son expression augmente de la lésion HGPIN au cancer prostatique (Nicholson et al 2004).

iii. IGF

Les IGF (insulin-like growth factor) sont des protéines ressemblant fortement au niveau de leur séquence peptidique à l'insuline et sécrétées par le foie suite à sa stimulation par la GH. Elles ont comme action principale, via leurs récepteurs spécifiques, la prolifération cellulaire.

IGF2 provient de l'expression du gène paternel. Dans le cancer de la prostate humain, des méthylations de la région ICR (impriting control region) du gène maternel permet l'expression d'IGF2 et donc l'augmentation du taux en IGF (Bhutia et al 2010).

iv. PTEN

Outre son action dans la prolifération cellulaire, le gène PTEN intervient également dans le contrôle des mécanismes d'action d'EGF et IGF (cf *Figure n°14*). En effet, ces facteurs de croissance se lient à leurs récepteurs tyrosine kinase qui recrutent et activent la voie PIP3/Akt. Or, PTEN intervient normalement dans ce processus en déphosphorylant PIP3. L'altération de son expression est donc impliquée dans l'augmentation de la sensibilité des cellules prostatiques aux facteurs de croissance (Halvorsen 2008).

Les altérations de gènes impliqués dans l'autosuffisance en signaux de croissance sont donc encore très peu connues. Aucune étude n'a été effectuée dans l'espèce canine et les mécanismes exacts sont très peu élucidés dans l'espèce humaine.

d) Gènes impliqués dans l'angiogenèse soutenue

Les tumeurs dépendent de la néovascularisation pour une plus grande croissance et une extension à distance (Doll et al 2001 ; Halvorsen 2008). En 1973, Folkman a démontré sur un modèle de lapin que les tumeurs étaient capables de recruter leur propre approvisionnement en sang. Cet approvisionnement est possible grâce à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (Nicholson et al 2004). Les cellules tumorales libèrent des facteurs solubles angiogéniques induisant alors la néovascularisation, ce phénomène est appelé l' « angiogenic switch » (Halvorsen 2008 ; Nicholson et al 2004). Des facteurs solubles tels que VEGF (vascular endothelial growth factor), les FGF (fibroblast growth factor) ou TGFβ sont donc produits par les cellules tumorales et permettent de passer d'un état de quiescence vasculaire à celui d'une angiogenèse soutenue menant alors à l'invasion tumorale et au phénomène métastatique (la migration dans le système circulatoire se fait grâce à la surface de vaisseaux dans la tumeur) (Bhutia et al 2010).

L'angiogenèse est régulée par une balance entre des médiateurs stimulateurs et inhibiteurs sécrétés dans l'environnement extracellulaire. Dans un tissu normal, les vaisseaux sont

quiescents car on note une présence forte d'inhibiteurs et un taux bas d'inducteurs. Lors du « switch », le taux de médiateurs sécrétés s'inverse. Cette inversion est souvent une conséquence d'altérations génétiques et épigénétiques qui conduisent à la surexpression de facteurs angiogéniques comme ceux cités ci-dessus, à l'altération de la régulation de facteurs angiogéniques endogènes ou à la diminution des taux des médiateurs inhibiteurs. Ces mécanismes déséquilibrent donc la balance proangiogénique/antiangiogénique et amènent à la création d'une néovascularisation (Doll et al 2001 ; Nicholson et al 2004).

Le processus d'angiogenèse implique la dégradation de la membrane basale autour des capillaires, la migration de cellules endothéliales dans la matrice extra cellulaire grâce à des stimuli angiogéniques et la prolifération et la réorganisation des cellules endothéliales menant à la différenciation en capillaires et à la fusion en un réseau tubulaire de nouveaux capillaires (Nicholson et al 2004).

La densité vasculaire est également un marqueur pronostic dans le cancer de la prostate, une densité vasculaire importante étant corrélée à un pronostic plus faible et une progression vers le stade métastatique plus précoce (Doll et al 2001 ; Halvorsen 2008 ; Wikström et al 2002).

i. TGFβ

TGFβ1 aide à la progression tumorale via son influence sur la matrice extra-cellulaire, l'adhésion cellulaire et l'angiogenèse. Ce rôle lui est permis grâce au récepteur III endoglin, exprimé exclusivement par les cellules endothéliales et se liant à TGFβ1 et TGFβ3 (Wikström et al 2001). Ce récepteur, une fois couplé à son ligand, joue un rôle important dans la formation de nouveaux vaisseaux (les animaux endoglin knock out ont une angiogenèse défective). Des études ont permis de montrer que la densité des vaisseaux positifs à l'endoglin signait une angiogenèse en cours, ces vaisseaux étant immatures et néoformés, et ont permis de supposer que cette densité pourrait être un facteur prédictif fort et indépendant de survie spécifique dans le cancer de la prostate comme c'est le cas dans le cancer du sein. En effet, cette densité est hautement associée au score de Gleason, au stade de la tumeur et à la survie. Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour faire ou non du récepteur III un facteur prédictif (Wikström et al 2002).

TGFβ1 lie donc l'endoglin et permet une angiogenèse soutenue (Wikström et al 2002). Ainsi, bien que TGFβ1 soit un inhibiteur cytostatique de la croissance des cellules épithéliales, il peut stimuler la croissance des cellules endothéliales via un de ses récepteurs spécifiques, l'endoglin (Nicholson et al 2004).

TGFβ1 joue également un rôle sur la matrice extra cellulaire et le phénotype angiogénique et métastatique du cancer agressif via l'augmentation de l'expression de

collagénases de type IV comme MMP9 et MMP2. Ces collagénases sont impliquées dans la dégradation de la membrane basale et aident donc à l'angiogenèse soutenue (Nicholson et al 2004).

TGFβ est également surexprimé dans les cellules de l'adénocarcinome prostatique canin (Rodrigues et al 2010) mais son rôle dans l'angiogenèse, bien que suspecté, n'a pas été étudié.

ii. VEGF

VEGF est un facteur pro angiogénique qui, en se liant à ses 3 récepteurs tyrosine kinase : VEGFR1 VEGFR2 et VEGFR3, induit une prolifération des cellules endothéliales (Nicholson et al 2004).

On assiste à une surexpression de VEGF dans le cancer prostatique (Wikström et al 2002). En effet, de nombreuses études sur des biopsies de carcinome prostatique ont montré une augmentation du taux de l'ARNm de VEGF par les cellules malignes et une augmentation du taux d'ARNm du VEGFR par les cellules endothéliales adjacentes. Cette surexpression de VEGF est corrélée à une densité vasculaire augmentée et un stade tumoral plus grand (Nicholson et al 2004). Son taux est également corrélé avec un score de Gleason augmenté (Doll et al 2001).

Un rôle de VEGF a été démontré dans les tumeurs mammaires canines, avec une surexpression de la protéine de 78 % dans la glande mammaire (Qiu et al 2008).

La présence accrue de récepteurs à VEGF au niveau des cellules prostatiques malignes chez le chien et l'homme, et particulièrement au niveau des cellules neuro—endocriniennes, a été démontré, supposant un potentiel rôle de VEGF dans la phase d'angiogenèse de la carcinogenèse mais également dans la progression vers un stade androgène indépendant (les cellules neuro-endocriniennes étant incriminées dans la progression du cancer prostatique vers un stade androgène indépendant et vers un pronostic plus faible) et vers un profil métastatique (augmentation de leur motilité) de ces cellules dont le mécanisme exact reste à élucider (Chevalier et al 2002).

iii. bFGF

FGF2 (fibroblast growth factor) ou bFGF (basic FGF) est un facteur pro angiogénique qui, en se liant à son récepteur tyrosine kinase, entraîne une prolifération des cellules

endothéliales et l'induction d'une angiogenèse dose-dépendante (Nicholson et al 2004). FGF exerce ses fonctions de manière autocrine et paracrine (Ronca et al 2013). On note une synergie entre VEGF et bFGF dans l'induction de l'angiogenèse (Nicholson et al 2004).

Sa surexpression et la surexpression en conséquent de son récepteur intervient lors de la privation androgénique et a donc un rôle lors du passage d'un cancer androgène dépendant à un cancer androgène indépendant. La surexpression de l'ARNm du FGFR et le taux mesurable de bFGF sont de plus en plus grands du cancer androgène indépendant et peu métastatique au cancer androgène indépendant hautement métastatique (Nicholson et al 2004).

FGF a donc un rôle dans la vascularisation tumorale et sa progression vers un statut réfractaire aux hormones, sûrement par dérégulation de la signalisation FGFR en activant des mutations ou surexpression du ligand ou du récepteur (Ronca et al 2013).

iv. IL8

IL8 est un médiateur pro angiogénique. C'est un facteur chimiotactique et mitogène pour les cellules endothéliales humaines. Ferrer et al ont comparé l'expression de VEGF et d'IL8 dans les cellules prostatiques malignes humaines. Les cellules malignes coloraient très fortement VEGF et IL8 par rapport à l'épithélium normal. On avait également une plus grande expression dans les cancers métastatiques. Une autre étude a montré la corrélation de l'expression d'IL8 avec l'induction de l'angiogenèse, la tumorigénicité et les métastases (Nicholson et al 2004).

v. TSP1

Plusieurs inhibiteurs angiogéniques sont connus dans la prostate dont la thrombospondin 1 ou TSP1 qui est un inhibiteur clé de l'angiogénèse. Elle est exprimée dans le tissu sain et a une expression variable dans le cancer. Sa persistance fonctionnelle dans le cadre de l'angiogenèse est peu connu, TSP1 ayant d'autres activités biologiques : activation de TGFβ, adhésion cellulaire, … Doll et al a démontré une diminution de TSP1 corrélée à l'augmentation de l'angiogenèse dans le tissu prostatique tumoral et avec la progression de la maladie (Doll et al 2001).

Le rôle exact de TSP1 reste donc à être confirmé mais il est fortement probable que la perte de TSP1 contribue à l'environnement permettant l'angiogénèse essentielle pour l'hyperplasie épithéliale et la croissance tumorale. Sa répression pourrait également être corrélée avec le haut taux de VEGF et bFGF dans le tissu cancéreux (Doll et al 2001).

Plusieurs études sur différents facteurs pro ou anti angiogéniques ont donc été menées. On a pu voir par exemple que TGFβ1, VEGF ou bFGF avaient un rôle dans la vascularisation tumorale voire sa progression vers un statut réfractaire aux hormones. Cependant, les mécanismes exacts d'interactions entre ces facteurs de croissance et leurs récepteurs sont à approfondir.

En effet, l'endoglin lie aussi l'activine A qui est un inhibiteur d'angiogenèse, ce qui est en contradiction avec son potentiel rôle dans l'angiogenèse en se liant à TGFβ1.

Les mécanismes génétiques et épigénétiques permettant d'expliquer la surexpression de ces facteurs restent également non élucidés à ce jour. Par exemple, le gène codant pour VEGF se trouve sur le chromosome 6p21.3. La régulation de VEGF peut se faire au niveau transcriptionnel ou post transcriptionnel ou traductionnel. Les voies de signalisation Ras, Raf et Src induisent une transcription de VEGF. Tout facteur stimulant ces voies peut donc contribuer à l'angiogénèse tumorale par induction de VEGF. La transcription de VEGF peut aussi être régulée par des contacts cellule-cellule ou cellule-MEC (Nicholson et al 2004). Un rôle du récepteur androgénique est également possible (Doll et al 2001).

Peu de connaissances ont été acquises quant aux mécanismes de la dérégulation de FGF dans le cancer prostatique. Une étude a montré qu'un récepteur antagoniste, PTX3, normalement abondant dans les cellules basales saines et inhibant l'action de FGF en liant à lui, n'était plus exprimé via une mutation dans la HGPIN et le cancer invasif (Ronca et al 2013). Mais cela ne suffit pas à expliquer la surexpression de FGF dans le cancer prostatique et des études supplémentaires sont donc nécessaires.

Le cancer prostatique est donc très hétérogène au niveau des mécanismes angiogéniques mis en œuvre (Doll et al 2001). Cela est sûrement dû à une hétérogénéité génétique, la sécrétion des médiateurs angiogéniques étant régulés par des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. La multitude des facteurs pro angiogéniques et anti angiogéniques sont également une cause d'hétérogénéité. Les thérapies ciblant l'angiogenèse mèneront donc sûrement à des résultats mixtes. Même si on cible chez un patient un inducteur majeur, cibler cet inducteur pourrait conduire les cellules tumorales à ne simplement plus sécréter cet inducteur mais un autre. Cependant, beaucoup d'agents anti angiogéniques ciblent les cellules endothéliales et les rendent insensibles à des inducteurs multiples, supposant des voies de signalisation communes.

L'étude des mécanismes de néo-angiogenèse lors de processus tumoral, notamment prostatique, est donc assez récent et beaucoup de points restent à éclaircir ou à approfondir.

e) Gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et la communication intercellulaire

La transition d'un phénotype épithélial à un phénotype mésenchymateux est importante pour la dédifférenciation et la dissémination des cellules malignes. La perte d'adhésion cellulaire est centrale dans ce processus (Halvorsen 2008). Il existe effectivement une communication intercellulaire entre le stroma et les cellules épithéliales saines ou malignes à base de signaux paracrines et d'adhésion cellule-cellule (Bhutia et al 2010 ; Halvorsen 2008). Cette interaction cellule-matrice est régulée par des molécules classiques d'adhésions telles que les cadhérines et les caténines (Halvorsen 2008 ; Nicholson et al 2004). Cette communication intercellulaire joue un rôle clé dans le contrôle de la croissance et de la différentiation et influence le potentiel oncogénique des cellules épithéliales prostatiques malignes (Nicholson et al 2004).

Comprendre ces mécanismes a donc un intérêt potentiel dans la compréhension de la carcinogenèse et l'élaboration de nouvelles thérapies (Halvorsen 2008).

i. Cadhérines

Les E, N et P cadhérines sont des protéines transmembranaires qui forment des jonctions adhérentes avec d'autres cellules. La N cadhérine joue un rôle également dans l'adhésion des cellules stromales et l'augmentation de la mobilité des cellules tumorales et donc de ses propriétés invasives (Halvorsen 2008).

Le profil d'expression de ces cadhérines est modifié lors de carcinome prostatique. On observe en effet une expression réduite de la E cadhérine et une augmentation de l'expression des N et P cadhérines dans le cancer de haut grade, appelé le « cadherin switch » (Halvorsen 2008).

Des mutations concernant les gènes de ces cadhérines sont supposées mais n'ont pas encore été mises en évidence (Bhutia et al 2010 ; Halvorsen 2008).

Enfin, on trouve dans les lésions de HGPIN de grandes variétés de protéines hemidesmosomales qui sont absentes dans les cellules cancéreuses : intégrine α4β6, collagène de type VII, laminine γ2… (Bostwick et al 1996).

Toutes ces données suggèrent donc que l'attachement cellulaire et la composition de la membrane basale évoluent avec la progression du cancer, avec une « downrégulation » des molécules d'adhésion épithéliales et transmembranaires telles que la E cadhérine (expression inversée avec le stade, le grade et la progression du cancer prostatique). On a donc l'acquisition progressive d'un phénotype d'invasion par les cellules cancéreuses, où les

mécanismes d'adhésion cellulaire jouent un rôle clé. Ces mutations sont un événement tardif de la carcinogenèse (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997).

Chez le chien, la E-cadhérine est également sous exprimée dans les carcinomes prostatiques de manière significative en comparaison avec la BPH et la prostate saine. Les lésions précancéreuses avaient aussi une réduction de l'expression de E cadherine de plus de 50 % dans 30 % des cas. La perte d'adhésion cellulaire est donc un événement assez précoce dans l'espèce canine (Rodrigues et al 2013).

La perte d'expression de E cadherine est corrélée avec un pronostic plus faible chez l'homme et dans les tumeurs mammaires canines mais n'a pas encore été étudiée dans le cancer prostatique canin (Rodrigues et al 2013).

ii. Caténines

Les caténines régulent l'adhésion cellulaire des cadhérines (Bostwick et al 1996). La β-caténine régule par exemple l'adhésion cellulaire de la E-cadhérine (Halvorsen 2008).

Les altérations dans l'expression de la β-caténine sont dues à des mutations sur le gène APC (adenomatosis polyposis coli), gène critique suppresseur de tumeur dans la prostate et le colon humain. La perte de ce gène conduit à une perturbation de l'expression de β-caténine et de son interaction avec la E-cadhérine ce qui amène à une perte d'architecture tissulaire. 15 % des facteurs génétiques contribuant au cancer de la prostate (facteurs familiaux) ont été liés à une inactivation du gène APC. Presqu'un quart des cancers de la prostate avancés chez l'homme ont une altération dans l'expression du gène APC et par conséquent de la β-caténine (Halvorsen 2008). Cette altération amène également à la translocation de la β-caténine dans le noyau, augmentant son pouvoir de facteur de transcription (Rodrigues et al 2013).

Cette caténine est également impliquée dans l'activation de la transcription des gènes comme MYC, MMP7 et VEGF via la voie de signalisation Wnt et aurait un rôle dans la prolifération de cellules peu différenciées. Mais ce rôle est controversé (Lean et al 2014). Néanmoins, des études ont pu montrer une localisation nucléaire de la β-caténine plus importante dans le carcinome prostatique canin et humain, suggérant son rôle dans la prolifération et la survie cellulaire (Lean et al 2014 ; Rodrigues et al 2013). La perte de β-catenine intra membranaire a été associée avec une progression d'un profil bénin à un profil malin (Rodrigues et al 2013).

Elle est également impliquée dans le phénomène de transition des cellules épithéliales en cellules mésenchymateuses, dans lequel les cellules épithéliales prostatiques sont converties en cellules mésenchymateuses, résultant en des altérations dans l'adhésion, la

morphologie cellulaire et leur potentiel de migration. Ce phénomène pourrait être une étape amenant à un profil métastatique (Lean et al 2014). La perte d'interaction entre la E-cadherine et la β-catenine aurait des effets sur l'adhésion intercellulaire mais également sur la croissance cellulaire et la différenciation (Rodrigues et al 2013).

Comme chez l'homme, la β-caténine est impliquée dans la carcinogenèse du cancer de la prostate chez le chien au niveau de l'adhésion cellulaire, de l'activation de la transcription de certains gènes et de son implication dans la transition épithélium-mésenchyme (Lean et al 2014).

Les modifications génétiques dans le cancer de la prostate ont été étudiées et identifiées chez l'homme principalement. Quelques-unes de ces modifications ont été retrouvées chez le chien, comme le dysfonctionnement des récepteurs à TGFβ1, la mutation des HSP, la diminution de l'expression de l'E Cadhérine et l'altération de l'expression de la β-caténine ou la surexpression des facteurs pro angiogéniques comme VEGF. Cependant, il reste encore beaucoup de mécanismes génétiques à éclaircir chez le chien, et l'homme pourrait être un bon modèle pour cela. Quelques-uns de ces gènes cibles ont été étudiés dans d'autres cancers canins et il serait intéressant de les étudier dans le cancer de la prostate canin : dérégulation des checkpoints cellulaires p13 et p21 dans le mélanome canin, altération du gène PTEN dans l'ostéosarcome canin, dérégulation du gène TRAIL dans l'ostéosarcome canin et les tumeurs mammaires canines, …. D'autres n'ont jamais été étudiés chez le chien et restent donc à être totalement investigués comme la dérégulation des gènes de facteurs de croissance EGF, FGF et IGF et/ou de leurs récepteurs, ou la perte du gène TSP1.

Les gènes retrouvés à la fois dans l'espèce canine et humaine correspondent à des modifications que l'on retrouve dans des cancers humains à haut score de Gleason, signant des pathologies agressives, évoluant vite vers un stade androgéno-indépendant. Cela conforte donc l'hypothèse que le chien serait un bon modèle pour le cancer de la prostate androgéno-indépendant de l'homme.

Ces gènes sont néanmoins trouvés à des étapes précoces de la carcinogenèse dans l'espèce canine et à des étapes tardives de la carcinogenèse dans l'espèce humaine, ce qui peut nous faire penser que la carcinogenèse est possiblement différente entre l'espèce humaine et canine.

IV Physiopathologie du passage d'un carcinome prostatique hormono dépendant à un carcinome prostatique hormono indépendant

Malgré un traitement hormonal, le cancer de la prostate humain finit par devenir, au bout d'une longue période, androgène-indépendant, ne nécessitant alors plus de haut taux de testostérone pour sa croissance. La haute prévalence de cancers prostatiques chez les chiens castrés nous amène à penser que les cancers prostatiques canins sont également androgène-indépendant. Le chien a alors très vite été avancé comme un modèle animal réaliste pour le cancer androgène-indépendant humain. Après avoir vu en quoi le modèle canin peut être ou non réaliste pour le cancer hormono-indépendant, nous verrons comme s'effectue le passage d'un carcinome prostatique hormono-dépendant à un carcinome prostatique hormono-indépendant au niveau physiopathologique.

1) Le modèle canin comme modèle réaliste pour le cancer hormono indépendant

Le cancer de la prostate canin est proposé par beaucoup d'études comme un modèle pour le cancer hormono-indépendant de l'homme. L'étude de ce cancer pourrait aider à la compréhension de la progression du cancer humain local peu problématique pour la santé publique au cancer hormono-indépendant beaucoup plus mortel. Cependant, quelques différences dans le comportement biologique et la dépendance hormonale chez le cancer de la prostate canin posent la question d'un modèle réellement réaliste (Sorenmo et al 2003).

En effet, le cancer de la prostate canin aurait une origine canalaire et donc primairement androgène-indépendant. De son côté, le cancer prostatique humain se développe au niveau des acini, primairement androgène-dépendant et progresse vers un cancer androgène-indépendant (Sorenmo et al 2003 ; Teske et al 2002). Ainsi, la plupart des carcinomes prostatiques canins n'exprimerait pas le récepteur androgénique, ne venant pas de l'épithélium sécrétoire de la prostate (Leroy et al 2009). De plus, d'après Sorenmo et al, les chiens castrés avant 2 ans seraient plus touchés par les tumeurs d'origine urothéliale ou canalaire, indépendantes des androgènes (Sorenmo et al 2003).

Les effets de la privation androgénique chez les chiens atteints de carcinome prostatique sont donc très peu connus, l'efficacité de l'ablation hormonale étant probablement limitée au vu de la prévalence du cancer prostatique chez les chiens castrés.

a) Prévalence du carcinome entre les chiens entiers et castrés

Plusieurs études ont montré une prévalence plus haute du carcinome prostate chez les chiens castrés par rapport aux chiens entiers :

- D'après une étude de Sorenmo et al, sur 70 prostates de chiens étudiées, 70 % des carcinomes prostatiques provenaient de chiens castrés (soit 49 chiens) contre 30 % provenant de chiens entiers (21 chiens) (Sorenmo et al 2003).
- D'après une étude de Johnston et al, le risque d'avoir un carcinome prostatique serait augmenté de 2,38 pour les chiens castrés (Johnston et al 2000).
- D'après une étude de Teske et al, sur 13 chiens atteints de carcinome prostatique, 61 % étaient castrés (Teske et al 2002).
- D'après Wilson et al (2011), les chiens castrés ont plus de probabilité de développer un carcinome prostatique (ratio de 3,9 :4,4) (Levy et al 2014).
- Obradovich et al ont, quant à eux, démontré aucune différence significative entre la prévalence du carcinome entre le groupe de chiens castrés et celui d'entiers sur 43 chiens (44,19 % de cancer chez les castrés contre 55,21 % chez les chiens entiers) (Obradovich et al 1987).
- D'après Bell et al, le risque est 2.38 fois plus grand chez les castrés (n=31) d'après Teske et al, 4.34 fois (n=54), d'après Sorenmo et al, 3.9 fois (n=70) (Morey 2008).

Bien que ces études aient été conduites pour la plupart aux Etats-Unis et qu'un possible biais sur la prévalence de chiens castrés (bien plus haute aux Etats Unis) puisse exister, il semblerait donc que la prévalence du carcinome prostatique soit plus grande chez les chiens castrés. Cependant, la fréquence statistiquement plus haute de ce cancer pourrait aussi être expliquée par le nombre de mâles castrés dans la population. De plus, l'influence de l'âge auquel le chien est castré sur la prévalence du carcinome prostatique mène à des résultats contradictoires : une étude a montré qu'il n'y avait pas d'effet protecteur si la castration a lieu à un an, une autre décrit qu'il existe un risque diminué si la castration a été fait avant la maturité vers 6 mois d'âge (Sorenmo et al 2003).

Néanmoins, le carcinome prostatique est la seule maladie prostatique diagnostiquée chez les chiens castrés, remettant en doute un possible rôle des androgènes dans son développement. La castration apparaîtrait donc comme un facteur de risque (Morey 2008).

b) Age au diagnostic entre les chiens entiers et castrés

L'âge de diagnostic du carcinome prostatique entre les chiens castrés ou non n'est pas significativement différent : âge moyen au diagnostic entre 9.8 ans et 10 ans selon les études (Obradovich et al 1987 ; Sorenmo et al 2003 ; Teske et al 2002).

Ce résultat suggère que la castration ne serait pas un facteur initiateur dans le développement tumoral mais favoriserait plutôt sa progression (Morey 2008). Cette

progression pourrait donc être similaire à celle s'effectuant lors du passage du cancer hormono-dépendant au cancer hormono-indépendant chez l'homme.

c) Conséquences physiopathologiques de la castration

La castration ne préviendrait pas le risque de développement du carcinome prostatique. Les mécanismes physiopathologiques précis dus à la castration pouvant expliquer la haute prévalence du carcinome prostatique chez les chiens castrés ne sont pas encore bien élucidés (Cornell et al 2000).

Il est supposé que l'exposition longue aux hormones testiculaires n'est pas essentielle au développement du carcinome. Il influencerait le degré d'hétérogénéité de la tumeur mais ni la fréquence ou le schéma métastatique. L'exposition pré pubère pourrait avoir un effet (Cornell et al 2000).

i. Pression de sélection

La castration peut faire une pression de sélection qui favorise la progression des tumeurs prostatiques vers un statut agressif et hormono-indépendant. En effet, la durée d'exposition des androgènes est reliée significativement au type histologique de la tumeur, l'adénocarcinome étant le cancer le plus fréquent chez les mâles entiers (Teske et al 2002). Le cancer se développerait donc plus au niveau des canaux (CK7 positif) qu'au niveau des acini après castration. Les chiens entiers auraient également un profil plus hétérogène avec plusieurs types cellulaires touchés par le cancer selon la progression (Cornell et al 2000).

Le temps d'exposition aux hormones pourrait expliquer cette pression de sélection. En effet, les chiens castrés plus jeunes développent généralement des tumeurs CK7 positives (soit une origine acinaire), les chiens castrés tardivement développant des tumeurs CK7 négatives (Cornell et al 2000).

De plus, les chiens CK7 positifs sont généralement plus enclins à métastaser, au niveau osseux principalement.

La castration pourrait donc entraîner l'émergence de clones hormono-indépendants, n'exprimant pas le récepteur androgénique comme le fait le traitement hormonal dans l'espèce humaine. Elle entraînerait l'involution du tissu prostatique non néoplasique sans affectant les cellules cancéreuses (Teske et al 2002). D'après Leav et al, un carcinome canin sur 19 exprime le récepteur aux androgènes (Leav et al 2001). Ces tumeurs ressemblent au stade tardif du carcinome prostatique humain, où les cellules sont réfractaires aux hormones mais expriment tout de même le récepteur (Teske et al 2002).

La castration pourrait également être associée à une déplétion des cellules épithéliales et à une augmentation des cellules basales hormono-indépendantes, qui prolifèrent activement et pouvant être le point de départ du développement du carcinome prostatique (Teske et al 2002).

ii. Étiologie non médiée par des hormones

Une autre hypothèse pouvant expliquer la forte prévalence du carcinome prostatique chez le chien castré serait que son développement ne dépende à aucun moment du taux d'hormones stéroïdiennes sexuelles et serait d'office androgéno-indépendant, se développant dans les tissus urothéliaux (Sorenmo et al 2003). La testostérone n'exercerait donc pas d'influence sur le développement des carcinomes prostatiques canins (Morey 2008).

Le carcinome prostatique canin et sa physiopathologie serait dans ce cas totalement différent de celui se développant chez l'homme (Morey 2008 ; Obradovich 1987).

iii. Des hormones non testiculaires influencent le développement du cancer

Le fait que le cancer de la prostate ait lieu chez les chiens castrés peut aussi faire penser à un possible rôle des androgènes non testiculaires tels que les androgènes adrénaliens dans le développement du cancer (Sorenmo et al 2003).

En effet, le traitement hormonal chez l'homme ne réduit le métabolite actif DHT que de 40 % à 50 %. Les glandes surrénales pourraient donc avoir aussi un rôle (Obradovich et al 1987).

Chez le chien castré, on a donc possiblement une source androgénique des glandes surrénales ayant un rôle dans le développement de la tumeur jusqu'à ce que celle-ci devienne hormono-indépendante. Une étude a en effet montré que la castration chez le chien entraîne une diminution du taux sanguin des stéroïdes hormis l'androstanediol et l'œstradiol, qui ont pour origine les glandes surrénales exclusivement. De plus, au niveau intra prostatique, la castration diminue la concentration de la plupart des stéroïdes, excepté au niveau du dehydroepiandrosterone et de l'estrone, retrouvés à des taux similaires que chez le chien entier (Obradovich et al 1987). Les œstrogènes pourraient donc avec un rôle, le ratio œstrogène/androgène ayant un impact sur le développement tumoral. Aucune donnée actuellement n'a été transmise et des études sont donc nécessaires (Bryan et al 2007 ; Obradovich et al 1987 ; Waters et al 2000).

Enfin, l'influence hormonale sur la croissance prostatique n'est pas limitée aux hormones sexuelles. La prolactine ou l'hormone de croissance GH sont impliquées les mécanismes ne sont absolument pas connus. L'hyperprolactinémie chez l'homme atteint de cancer prostatique

est accompagnée d'un pronostic plus sombre. Le taux de GH est également plus haut chez les hommes atteint d'un carcinome prostatique avancé (Obradovich et al 1987).

iv. La castration favorise seulement la progression

Enfin, la plus grande hypothèse de cette prévalence forte repose sur le fait que la castration favoriserait sûrement la progression du cancer et non son initiation. L'âge médian au diagnostic est le même entre les chiens castrés et entiers et aucun intervalle significatif entre la période de castration et l'âge au diagnostic n'a été clairement établi (Teske et al 2002).

Ainsi, l'origine histologique différente entre le carcinome prostatique humain et canin et la forte prévalence de carcinome prostatique chez les chiens castrés amènent à se demander si le modèle canin est un réel exemple du cancer prostatique humain androgéno-indépendant. Il y aurait effectivement chez le chien une maladie bien plus hétérogène où seulement quelques cancers sont sensibles aux hormones (Sorenmo et al 2003).

Cependant, le diagnostic est très tardif chez le chien, ne pouvant exclure un possible cancer hormono-dépendant au préalable et non dépisté. Le site de développement tumoral initial est effectivement bien plus difficile à déterminer.

De plus, la castration pourrait ne faciliter que la progression du carcinome, le chien restant alors un modèle parfait pour le cancer hormono-indépendant chez l'homme (Teske et al 2002).

Ainsi, il est toujours d'actualité de se demander si le cancer de la prostate canin se développe à partir d'un type cellulaire androgène indépendant ou si, comme chez l'humain, il se développe initialement avec dépendance aux hormones et devient indépendant après déplétion hormonale (Teske et al 2002).

Le carcinome prostatique canin serait également un modèle parfait pour le carcinome urothélial ou ductal humain qui est très rare et ne représente que 2 % à 4 % des cancers prostatiques humains totaux. Ces carcinomes sont généralement des tumeurs agressives, réfractaires à l'ablation endocrinienne et associées à un pronostic plus grave (Sorenmo et al 2003).

L'intérêt du modèle canin dans le cadre du cancer prostatique androgène-indépendant peut également être étudié via l'étude des effets physiopathologiques de la privation androgénique chez l'homme et son éventuelle comparaison à ceux dans l'espèce canine.

2) Effets de la privation androgénique

L'efficacité du traitement hormonal chez l'homme n'est que transitoire jusqu'à la survenue inéluctable de l'androgène-indépendance tumorale marquant alors l'entrée dans la phase terminale de la maladie (Dayon 2008).

Les cellules cancéreuses du carcinome prostatique dans l'espèce humaine ont une surexpression de gènes qui sont normalement exprimés dans les cellules basales. Ces gènes ont un rôle crucial dans l'auto renouvellement et la prolifération. La surexpression de ces gènes amène donc à des cellules transformées qui survivent et prolifèrent en l'absence d'androgènes (Teske et al 2002).

Le traitement hormonal induit l'arrêt de la croissance cellulaire et l'apoptose dans l'épithélium prostatique normal ainsi que dans les cellules tumorales prostatique hormono-dépendantes. Cependant, les effets bénéfiques ne sont que transitoires et les cellules tumorales mettent en place des mécanismes de résistance (Dayon 2008).

a) Effets et modifications du récepteur androgénique

Le récepteur androgénique est un facteur de transcription, appartenant à la famille des récepteurs cellulaires incluant vitamine D, androgènes et œstrogènes récepteurs (Alifrangis et al 2011).

Après s'être combiné à un androgène, ce récepteur s'associe à des cofacteurs, est transloqué dans le noyau, se lie à l'ADN et initie une série d'événements incluant transcription et division cellulaire (Alifrangis et al 2011 ; Jin et al 2011 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008).

Les anti-androgènes interfèrent avec ce processus, se mettant en compétition avec les stéroïdes androgéniques au niveau du site de liaison du récepteur androgénique et limitant l'activité transcriptionnelle, l'internalisation de l'AR étant un point clé pour son activité transcriptionnelle dans le noyau (Alifrangis et al 2011).

Le passage au cancer hormono-indépendant peut s'expliquer par une atteinte au niveau de l'AR et des mécanismes ci-dessus (Halvorsen 2008).

Plusieurs hypothèses ont été formulées afin d'expliquer les effets du traitement hormonal sur le récepteur androgénique : stabilité de l'AR augmentée, taux augmenté de DHT, sensitivité augmentée par surexpression, diminution de la spécificité par mutation de l'AR, augmentation de co facteurs ou de protéines adaptatrices, …

i. Surexpression et mutation

Le mécanisme proposé pour expliquer le développement du cancer réfractaire au traitement hormonal est la surexpression du RA (Bernard et al 2003 ; Jin et al 2011)(cf *Figure n°17*). Cette surexpression permet de rendre les cellules sensibles à des taux plus bas de DHT. La surexpression du RA se fait grâce à l'amplification génique : le gène codant pour RA est amplifié lors du traitement hormonal afin de faciliter la croissance tumorale à de faibles concentrations d'androgènes. 30 % des tumeurs ayant échappé au traitement hormonal présentent de forts niveaux d'amplification de ce gène. Cette amplification se retrouve généralement dans les tumeurs qui ont initialement bien répondu au traitement et dont la réponse a duré plus de 12 mois (Dayon 2008 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008). Cette surexpression peut aussi s'expliquer par l'augmentation de la demi-vie du récepteur : 3h pour les RA de cellules androgène dépendantes, 12h pour les androgène indépendantes (Dayon 2008). La surexpression du RA a une influence variable sur le pronostic (Halvorsen 2008).

L'échappement des cellules cancéreuses au traitement hormonal peut aussi être expliqué par une pression de sélection par le traitement amenant à la sélection de cellules comprenant des mutations du RA (Bernard et al 2003). Ces mutations permettraient à d'autres ligands d'activer le RA comme les glucocorticoïdes, les œstrogènes, la progestérone, les androgènes adrénaliens ou le flutamide ou d'induire la voie de signalisation du RA par d'autres récepteurs à tyrosine kinase comme Her/2neu d'une manière ligand-indépendant (Bernard et al 2003 ; Dayon 2008 ; Jin et al 2011).

La prévalence de mutations du RA est plus grande dans le cancer prostatique métastatique par rapport au cancer prostatique primaire, phénomène expliqué principalement par la sélection de croissance avantageuse pour les cellules ayant un RA muté (Halvorsen 2008). 50% des cancers métastatiques ont des mutations du RA, mutations peu retrouvées dans les cancers locaux (Bostwick et al 1996). Ces mutations sont également rares dans les cancers prostatiques non traités par le traitement hormonal (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

La modulation de l'expression du gène du RA peut être expliquée par la présence d'une région polymorphique sur l'exon 1 du gène avec des séquences microsatellites CAG répétées qui entraînent une activité de du RA différente (Tan et al 2014). Plus la longueur CAG répétée est petite, plus le RA est actif (Prezioso et al 2007 ; Tan et al 2014). Ces allèles sont d'ailleurs plus fréquents chez les Afro Américains (Prezioso et al 2007).

ii. Augmentation de cofacteurs et protéines adaptatrices

Les cellules tumorales arrivent également à contourner le bas taux d'androgènes en stimulant la production de facteurs de croissance pouvant activer le RA par les cellules

stromales ou en jouant sur les protéines co-facteurs ou les voies de signalisation (cf *Figure n°17*) (Kiviharju-af Hällström et al 2008). Elles induisent donc un signal positif de croissance indépendant du taux d'androgènes (Bernard et al 2003).

En effet, la production autocrine et paracrine d'androgènes et d'autres facteurs de croissance pouvant activer le RA comme IGF1 ou EGF est régulée positivement (Dayon 2008 ; Jin et al 2011 ; Nakai et al 2013). L'expression altérée des co-activateurs du RA peut faciliter la transactivation du RA à de bas taux d'androgènes. Les facteurs de croissance comme IGF1, KGF ou EGF se lient à leurs récepteurs tyrosine kinase et activent indirectement le RA par induction d'autres molécules de signalement (Kiviharju-af Hällström et al 2008).

Les cellules tumorales augmentent également les protéines co-activatrices du RA telles que la protéine HER-2. HER-2 est surexprimée dans le cancer prostatique hormono-indépendant. Elle se fixe sur son récepteur tyrosine kinase et sa fixation entraîne l'activation du RA et la croissance cellulaire en conditions de privation d'androgènes par induction des voies kinases MAPK et PI3K (Dayon 2008).

La privation androgénique entraîne donc une surexpression et une mutation du récepteur androgénique ainsi qu'une augmentation de ses protéines co-activatrices. Le terme « réfractaire aux hormones » est donc incorrect car la dépendance sur les voies de signalisation du RA est toujours nécessaire pour la progression de la carcinogenèse malgré le bas taux d'androgènes. Cela a des implications thérapeutiques car le RA reste donc le facteur clé – et donc la cible clé du traitement – même dans le cancer hormono-indépendant (Alifrangis et al 2011).

b) Effets sur des gènes impliqués dans des voies enzymatiques cellulaires

On trouve l'implication de mutations ponctuelles, d'insertions ou de délétions de nucléotides dans l'ADN amenant à une expression aberrante d'ARNm et donc de protéines impliquées dans la progression vers un stade hormono-indépendant (Prezioso et al 2007). Les régions des gènes touchées sont souvent impliquées dans le métabolisme cellulaire et les voies de signalisations dépendantes des androgènes et de l'œstrogène sont souvent délétées (Prezioso et al 2007).
Des mutations précises ont très peu été rapportées concernant les gènes impliqués dans la progression vers un stade hormono-indépendant. La preuve d'une régulation négative ou positive est souvent mise en évidence, sans que les mécanismes précis soient connus.

i. Gènes impliqués dans la prolifération cellulaire

La castration chez les chiens amène à une diminution de l'expression des cyclines D1 et C responsables de la transition G0/G1 et des cyclines E, A et CDK2 qui permettent la transition vers la phase S (Dayon 2008). Les mécanismes de cette diminution sont encore inconnus.

On a également une implication forte de la voie PI3K/Akt, une des principales voies de survie dans la cellule prostatique cancéreuse. Elle a un rôle important dans la progression du cancer de la prostate vers un statut hormono-réfractaire dans l'espèce humaine. L'augmentation de l'activation de la protéine Akt par phosphorylation est corrélée à une prolifération et une agressivité du carcinome. La PI3K est impliquée dans la survie et la prolifération des cellules en l'absence d'androgènes et dans la progression vers un stade hormono-indépendant de la tumeur. En effet, la voie PI3K/Akt peut stimuler l'activité du RA sans androgène, d'où son rôle important de cette voie dans la progression vers un stade réfractaire aux hormones. Le gène codant pour cette protéine est fréquemment muté dans les cellules cancéreuses sous traitement hormonal et conduit à une activation constitutive de la voie PI3K/Akt (Dayon 2008).

Le gène PTEN est également muté (Dayon 2008).

Les gènes permettant l'expression de facteurs de croissance et de leur récepteur comme EGF et EGFR sont surexprimés (Teske et al 2002).

Un autre gène fortement étudié et probablement impliqué dans le passage vers un stade réfractaire aux hormones est le gène c-MYC. c-MYC est un proto-oncogène qui stimule la prolifération cellulaire et se conduit comme un oncogène lorsqu'il est surexprimé ou muté. Il produit un facteur de transcription qui régule l'expression de 15 % des gènes en se liant aux séquences E-boxes (Enhancer Box) et en recrutant des enzymes capables d'acétyler les acides aminés lysine des histones. Grâce à des techniques d'hybridation comparative du génome, une courte région du chromosome 8q contenant le gène c-MYC a été identifiée comme une région fortement amplifiée lors de l'apparition du stade réfractaire aux hormones (près de 72 % des cancers hormono-indépendants ont cette amplification). Cette amplification a été observée comme une conséquence du traitement hormonal. Une étude a montré que la surexpression de c-MYC est suffisante pour induire un statut hormono-indépendant chez des cellules hormono-dépendantes. De plus, l'inactivation des inhibiteurs de c-MYC, BIN1 et MXI1 est observée. Les mécanismes de c-MYC ne dépendent pas d'une surexpression ou d'une augmentation de l'activité du RA (Bernard et al 2003).

La mutation du gène c-MYC est retrouvée dans l'espèce canine, comme cela a été détaillé dans la sous-partie 3 1)a).

Cette protéine aurait également un rôle dans la différenciation des cellules prostatiques en cellules neuro-endocriniennes, qui sera développé par la suite.

ii. Gènes impliqués dans l'apoptose

L'inactivation de l'apoptose dans le cancer réfractaire aux hormones implique principalement la protéine Bcl-2 (cf *Figure n°17*) (Dayon 2008 ; Teske et al 2002). L'expression de Bcl-2 dans les cellules épithéliales prostatiques est corrélée à une progression de la maladie. Il est fortement exprimé dans le cancer hormono-indépendant et le cancer métastatique. L'expression de Bcl-2 favorise la survie des cellules épithéliales prostatiques dans un environnement pauvre en androgènes, la castration conduit à une augmentation de l'expression de Bcl-2 dans les cellules tumorales (Dayon 2008).

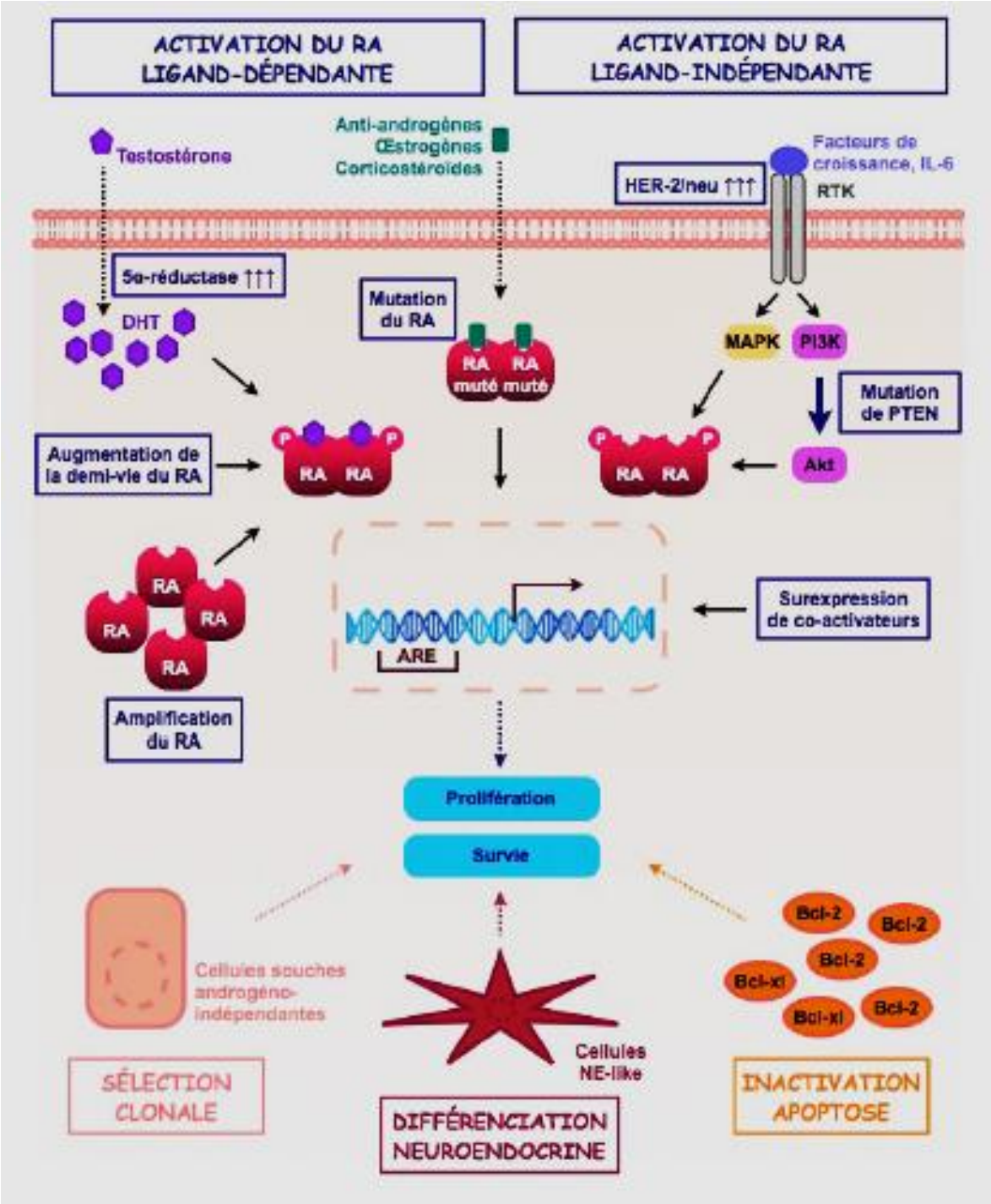


Figure n°17 : Les mécanismes impliqués dans l'hormono-indépendance tumorale (d'après Dayon A., 2008)

c) *Effets sur la cellule prostatique*

i. Différenciation cellulaire

En l'absence d'androgènes, on note une différenciation cellulaire des cellules prostatiques malignes. En effet, des études ont montré une transdifférenciation des lignées cellulaires du cancer prostatique telles que LNCaP en cellules neuroendocrines en 24h après la privation d'androgènes (Dayon 2008 ; Ismail et al 2002). Les cellules neuroendocrines sont des cellules minoritaires dans l'épithélium prostatique, présentant de nombreux granules de sécrétions dans le cytoplasme riches en neuropeptides pouvant induire la prolifération des cellules adjacentes par stimulation paracrine (Dayon 2008). Une augmentation du nombre de cellules neuroendocrines est observée lors de la progression du cancer de la prostate vers un stade hormono-indépendant. L'origine et le rôle précis de ces cellules ne sont pas encore clairement déterminés (Bernard et al 2003 ; Dayon 2008 ; Ismail et al 2002). Une des hypothèses serait donc cette transdifférenciation des cellules prostatiques malignes lors de la privation androgénique afin de poursuivre la prolifération cellulaire malgré un bas taux de testostérone. En effet, cette différenciation précède l'augmentation de la prolifération tumorale et la progression vers l'état hormono-indépendant, laissant penser que ces « nouvelles » cellules neuroendocrines favorisent la survie et la progression tumorale. Ces cellules ne présentent pas toutes les caractéristiques des cellules neuroendocrines physiologiques et sont appelées « cellules neuroendocrines like » (cf *Figure n°18*) (Dayon 2008).

Des expériences ont montré que les cellules neuroendocrines étaient nécessaires à la survie des cellules tumorales prostatiques après la privation androgénique. En effet, les neuropeptides sécrétés par ces cellules augmentent la prolifération de manière dose et temps dépendants ou sont anti apoptotiques (comme la survivine) (Dayon 2008). Ces cellules sécréteraient également le VEGF-A augmentant ainsi l'angiogenèse (Chevalier et al 2002).

Ces cellules sont présentes également chez le chien mais peu d'études ont encore été effectuées sur le modèle canin. Or, on manque de réel modèle pour comprendre l'origine et les effets de ces cellules neuroendocrines like au niveau de la progression vers un stade hormono-indépendant. Une étude a examiné des prostates de chiens castrés et des prostates de chiens entiers chez des animaux atteints de carcinome prostatique. Ils ont montré une augmentation de taux des cellules neuroendocrines chez les chiens castrés et un retour à des valeurs normales après administration d'androgènes. Cette différenciation semble donc être réversible, renversant l'idée de transdifférenciation (Ismail et al 2002).

Les mécanismes semblent donc similaires chez l'homme comme chez le chien.

Les effets et l'origine des cellules neuroendocrines like ne sont donc pas connus. La plus grande hypothèse serait une transdifférenciation des cellules prostatiques malignes. Ces cellules, via l'action de leurs produits, aurait une activité paracrine sur la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et faciliteraient la progression vers un statut hormono-indépendant (Ismail et al 2002). On note également une corrélation entre la différenciation neuroendocrine, l'agressivité tumorale et le pronostic (Dayon 2008 ; Ismail et al 2002).

ii. Sélection clonale

La baisse du taux de testostérone entraînerait une sélection clonale de cellules avec des récepteurs androgéniques surexprimés ou mutés, donc hormono-indépendantes et présentes dans l'épithélium prostatique avant le début du traitement hormonal (cf *Figure n°17*). Les cellules hormono-dépendantes sont éliminés par le bas taux de testostérone, alors que celles hormono-indépendantes survivent et prolifèrent (Dayon 2008).

iii. Implication des facteurs de croissance

Comme nous l'avons déjà vu dans la sous-partie III, le TGFβ est surexprimé dans le cancer de la prostate et stimule sa prolifération. Cependant, TGFβ joue également un rôle pro apoptotique lors de la castration ou de la privation androgénique. En effet, les taux d'ARNm de TGFβ sont augmentés après castration ou traitement hormonal ainsi que les taux d'ARNm de ses récepteurs (Wikström et al 2001).

Les cellules prostatiques cancéreuses perdent leur sensibilité aux effets inhibiteurs de la croissance de TGFβ lors de leur progression vers un statut réfractaire aux hormones. Le mécanisme de résistance exact n'est pas clairement établi. Une hypothèse serait qu'il y a un défaut dans la voie de signalisation de TGFβ : les récepteurs RI et RII seraient nécessaires et l'un des deux ne serait plus exprimé, menant à un échappement à l'effet inhibiteur de TGFβ. Cette perte est fréquemment retrouvée dans les lignées cellulaires, les modèles animaux et les cancers prostatiques humains. RII est suggéré comme suppresseur de tumeur dans la prostate, sa perte voire la perte également de RI se retrouve dans les stades tardifs de carcinome prostatique et est supposée comme ayant un rôle dans la progression au stade hormono-réfractaire (Wikström et al 2001).

Une autre hypothèse serait que ces récepteurs sont présents et fonctionnels mais que la transmission intra cellulaire ne s'effectue pas (Wikström et al 2001).

Certaines tumeurs prostatiques échappent donc aux effets pro apoptotiques de TGFβ par défaut dans la voie de signalisation.

D'autres facteurs de croissance locaux sécrétés doivent probablement influencer le comportement du cancer prostatique et l'aider dans sa progression vers un stade réfractaire aux hormones. Cependant, ces mécanismes paracrines ou autocrines qui augmentent la prolifération cellulaire et inhibent l'apoptose sont pour la plupart peu connus voire inconnus. EGF, bFGF, IGF et IL6 sont incriminés (Wikström et al 2001).

IL6 serait impliquée dans la progression du cancer résistant à la castration ou au traitement hormonal. En effet, IL6 est surexprimé lors de la progression du cancer prostatique du stade local au stade hormono-indépendant puis métastatique. Il activerait l'AR par la voie STAT3, menant à une prolifération cellulaire malgré de bas taux de testostérone (Jin et al 2011).

IGF, en se fixant à son récepteur, entraîne une prolifération de cellules épithéliales et stromales. Son taux est plus important entre le cancer local et le cancer réfractaire aux hormones (Presiozo et al 2007).

Ainsi, un statut réfractaire aux hormones arrive incontestablement chez l'homme, avec une issue parfois fatale. La compréhension des mécanismes moléculaires permettant la progression vers ce stade est critique pour développer des nouvelles cibles thérapeutiques pour ce type de cancer et pour la compréhension de la biologie du cancer de la prostate (Bernard et al 2003). Le chien est un candidat en tant que modèle de ce cancer réfractaire aux hormones. Des similitudes au niveau des modifications du récepteur androgénique (surexpression, mutation, …), de la population cellulaire au niveau du site tumoral (différenciation en cellules neuro-endocriniennes, sélection clonale, ….), de modifications génétiques partagées (c-MYC, TGFβ) ainsi que la haute prévalence de tumeurs prostatiques chez les chiens castrés appuient cette hypothèse.

Cependant, le débat reste toujours ouvert quant à sa pertinence en tant que modèle du cancer hormono-indépendant. En effet, il est toujours d'actualité de se demander si le cancer de la prostate canin se développe à partir d'un type cellulaire androgène indépendant ou si, comme chez l'humain, il se développe initialement avec dépendance aux hormones et devient indépendant après déplétion hormonale.

Enfin, très peu de mécanismes génétiques ont été étudiés chez le chien et de plus amples études sont nécessaires.

V Physiopathologie du phénomène métastatique

Les métastases sont des formations de foyers tumoraux secondaires croissant progressivement dans des sites distants des lésions primaires (Khamis et al 2011).

Le cancer prostatique évolue rarement vers un stade métastatique. Ces métastases sont à localisation osseuse vertébrale principalement (Morey 2008). Les métastases osseuses du carcinome prostatique sont très typiques (Thudi 2009). La plupart sont ostéoblastiques et caractérisées par une formation excessive d'os nouveau.

Le processus métastatique est un processus complexe, causant 90% de la mortalité du cancer prostatique (Khamis et al 2011).

Les modèles pertinents pour le cancer prostatique métastatique sont peu nombreux (Khamis et al 2011). Or, la pathogénie du processus métastatique osseux dans le cadre du cancer prostatique est peu connue (Thudi 2009). Le modèle canin est le plus intéressant. Des lignées cellulaires ont également été créées (comme PC3) mais elles sont généralement injectées en sous-cutané et ne prennent pas en compte l'environnement, primordial pour comprendre la pathogénie du processus métastatique (Khamis et al 2011).

Outre les gènes suppresseurs de tumeur et oncogènes, des gènes métastatiques ont été identifiés et seront développés dans la deuxième partie (Foster et al 1999).

Nous verrons dans la première partie le processus de dissémination de métastases et les conditions qu'il nécessite.

Cette dissémination se fait grâce aux sinus veineux vertébraux qui drainent la prostate et permettent également de transporter les cellules tumorales (Morey 2008).

1) Étapes nécessaires à la création de métastases

Lors du processus métastatique, les cellules tumorales se détachent de la tumeur primitive, se retrouvent dans le torrent circulatoire, se déplacent jusqu'à l'organe cible et le colonisent (Morey 2008). Il se fait donc en plusieurs étapes : dissémination, homing, extravasation et développement d'une masse secondaire (Khamis et al 2011). Ceci est permis par des altérations génétiques, morphologiques ou biochimiques ainsi qu'à l'interaction avec le microenvironnement (fibroblastes stromaux , vaisseaux, cellules inflammatoires et matrice extracellulaire), mécanismes développés dans cette partie (Halvorsen 2008). Ces mécanismes sont similaires chez l'homme comme chez le chien.

a) Dissémination

Pour échapper au site primaire, une cellule tumorale doit perdre son interaction intercellulaire via les cadhérines et les intégrines. On a également une protéolyse locale du microenvironnement tumoral et de la matrice extra cellulaire médiée par des protéines spécifiques et cruciales au processus métastatique (Khamis et al).

La diminution de l'adhésion cellulaire passe par une altération dans l'expression des E Cadhérines, des intégrines et des β caténines. Une fois détachée, des adhésions focales aident à la migration de la cellule tumorale. FAK (focal adhesion kinase) est une enzyme tyrosine kinase non récepteur centrale pour la régulation de l'adhésion focale. Cette enzyme permet à la cellule tumorale de migrer hors de la matrice extra cellulaire et est surexprimée lors de cancer prostatique de haut grade et métastatique. FAK s'associe aux intégrines et se phosphoryle. Cela entraîne la phosphorylation et l'activation de la protéine Src. Le cytosquelette se réarrange alors et permet la migration. L'activation de Src est également suffisante pour activer de nombreux signaux de prolifération, de survie, d'angiogénèse et de prolifération : PI3K (augmentation de la survie), Ras (augmentation prolifération, angiogenèse et migration). L'augmentation de l'activité de Src est associée à une survie diminuée chez les patients humains et à un stade métastatique. Son expression est plus importante dans les métastases osseuses par rapport à la tumeur primaire. Son inhibition affecte directement ce processus également avec une diminution de l'invasion et de la migration (Jin et al 2011)

Une fois détachée du site primaire et hors de la matrice extracellulaire, la cellule tumorale doit se disséminer par voie sanguine. L'angiogenèse est donc un pré requis pour pouvoir libérer les cellules dans la circulation (Khamis et al 2011). Elle implique la production de plusieurs facteurs angiogéniques qui permettent la croissance tumorale et la vascularisation comme VEGF (Khamis et al 2011 ; Morey 2008). Les cellules cancéreuses prostatiques métastatiques ont une production de VEGF augmentée par rapport aux cellules cancéreuses prostatiques non métastatiques (Nicholson et al 2004).

b) Homing

Une fois dans le torrent sanguin, les cellules tumorales doivent être dirigées vers un organe spécifique comme les vertèbres dans le cas des carcinomes prostatiques. 3 types majeurs de mécanismes pour ce « homing » ont été proposés (Khamis et al 2011) :

- <u>La croissance sélective</u> : les cellules tumorales sont dirigées vers tous les organes de manière ubiquitaire mais ne croissent de manière sélective que dans les organes qui ont les facteurs de croissance appropriés ou l'environnement et la matrice extra cellulaire appropriés.

- L'adhésion sélective à la surface endothéliale luminale des sites en action et au site voulu exclusivement
- Le chimiotactisme sélectif des cellules circulantes pour l'organe qui produit des facteurs solubles d'attraction. Des études ont montré que l'os exprime le SDF1 (stromal derived factor 1) qui permet la migration de cellules cancéreuses. Il doit sûrement y avoir beaucoup de facteurs d'attraction mais ils n'ont pas encore été identifiés.

c) Extravasation

Cette étape est la moins bien comprise (Khamis et al 2011). Les cellules cancéreuses prostatiques disséminées se lient à l'endothélium de moelle osseuse de manière plus affine bien que l'on ne connaisse pas le mécanisme exact.

La P-sélectine est exprimée par l'endothélium de la moelle osseuse et s'associe avec les cellules cancéreuses. Puis les intégrines « bloquent » les cellules. Les intégrines $\alpha v\beta 3$ et $\alpha 2\beta 1$ sont exprimées par les cellules cancéreuses et les ostéoclastes, ce qui facilite la dissémination de la tumeur dans l'os (Khamis et al 2011).

La cadhérine 11, ou cadhérine ostéoblaste, est hautement exprimée dans les métastases osseuses mais détectable également dans les métastases d'autres organes. Elle doit sûrement avoir un rôle dans la colonisation métastatique de l'os, rôle encore non exploré (Khamis etal 2011).

d) Développement d'une masse secondaire et lésions métastatiques

La dernière étape dans la cascade métastatique est la croissance des cellules néoplasiques dans un site distant (Khamis et al 2011).

Le microenvironnement de l'os est capital dans le développement des lésions métastatiques. La matrice extra cellulaire osseuse sécrète des molécules telles que l'ostéonectine, la sialoprotéine osseuse et l'ostéopontine, molécules clés pour l'attachement et la croissance des cellules prostatiques cancéreuses.

On a une interaction bidirectionnelle entre l'os et la cellule cancéreuse : les facteurs de croissance dérivés des cellules osseuses peuvent affecter les cellules cancéreuses et inversement (Jin et al 2011).

Les cellules tumorales sécrètent des facteurs de croissance qui entraînent la stimulation, la prolifération et la maturation des ostéoblastes et des ostéoclastes. Ceux-ci relarguent à leur

tour des facteurs de croissance qui stimulent la croissance métastatique, ce qui conduit à un véritable cercle vicieux (Jin et al 2011).

Cette interaction amène à des lésions métastatiques ostéoblastiques, ou plus rarement ostéoclastiques. L'os est généré donc par les cellules tumorales et est généralement d'aspect anormal, il manque de structure lamellaire (Jin et al 2011).

La tumeur sécrète donc des facteurs ostéoblastiques tels qu'ET1 (endothelin 1), BMPs et IGF (Jin et al 2011). L'ET1 est physiologiquement produit par l'endothelium vasculaire. Il promeut la formation de l'os en se liant à son récepteur de type A qui est couplé à une protéine G. Cela libère du calcium, stimule la protéine kinase C et le transport du phosphate, mécanisme important dans l'initiation de la calcification de la matrice osseuse. Il augmente aussi la prolifération des ostéoblastes, inhibe la formation et la motilité des ostéoclastes (Jin et al 2011 ; Morey 2008).

Les BMPs (bone morphogenic proteins) sont des membres de la famille TGFβ qui stimulent la migration des cellules cancéreuses. Le BMP2 active la voie Akt, ce qui induit la phosphorylation IKKα/β et l'activation de NFκB, l'activation des intégrines β1 et β3 et la migration des cellules cancéreuses. Les BMPs stimulent également la formation osseuse (Jin et al 2011).

IGF1 et IGF2 promeuvent la prolifération cellulaire, la survie et l'angiogenèse. Ils agissent donc sur les ostéoblastes et sont surexprimés dans les lésions métastatiques.

Les cellules cancéreuses prostatiques métastatiques produisent également des cytokines et des facteurs de croissance qui activent la différenciation des ostéoclastes et la résorption osseuse (Jin et al 2011).

RANKL est une molécule produite physiologiquement par les ostéoblastes qui active directement les ostéoclastes. Cette molécule, en se liant à son récepteur RANK, active la voie NFκB et cela mène à la transcription de gènes nécessaires à la maturation des ostéoclastes (Alifrangis et al 2011 ; Jin et al 2011).

La tumeur sécrète également la PTHrP (parathyroid hormone related protein, homologue de la PTH) qui partage le même récepteur que RANKL et a donc les mêmes effets (Jin et al 2011).

Le phénomène métastatique passe donc par plusieurs étapes, du détachement de la cellule du site primitif au développement d'une masse secondaire dans un autre organe, après être passé par le réseau vasculaire. Les mécanismes exacts sont encore mal connus mais nécessitent une interaction très complexe entre la cellule et le micro environnement tumoral

(perte d'adhésion cellulaire avec la matrice extra cellulaire, mécanismes pro angiogéniques permettant à la cellule de passer dans le torrent sanguin, ….), appelé niche métastatique. Ces interactions modifient l'environnement tissulaire et cellulaire et le préparent au futur développement d'une métastase. Ils nécessitent également des modifications génétiques et épigénétiques permettant aux cellules tumorales d'acquérir cette capacité à créer des métastases.

2) Modifications génétiques et épigénétiques impliquées

Les gènes suppresseurs de métastases sont des gènes dont la fonction bloque la formation de métastases sans avoir d'influence sur la croissance tumorale. Ils agissent sur les différentes étapes décrites ci-dessus (Khamis et al 2011).

L'intégralité de ce paragraphe est résumée dans l'*Annexe n°3*.

a) CD44

CD44 est une protéine impliquée dans l'adhésion intercellulaire cellule-cellule ou cellule-matrice extra cellulaire (Cook et al 2011). Elle est également impliquée dans le homing des lymphocytes, l'inflammation, la migration cellulaire et les métastases (Khamis et al 2011).

On retrouve une perte d'expression de CD44 de plus en plus croissante de la lésion de HGPIN aux lésions métastatiques. Sa perte d'expression se fait généralement par méthylation au niveau de son promoteur, sur le chromosome 11. Sa perte d'expression est corrélée à un haut potentiel métastatique (Khamis et al 2011). Cette perte est précoce au processus métastatique et facilite la migration des cellules cancéreuses hors du site primaire.

Une diminution de cette protéine est notée chez le chien dans le cadre des carcinomes mammaires (Madrazo et al 2009).

b) Drg-1

Drg-1 (differentiation related gene 1) est codé sur le chromosome 8 et normalement exprimé par les cellules épithéliales prostatiques (Khamis et al 2011). Il a un rôle dans la régulation cellulaire (Cook et al 2011).

Plusieurs stimuli activent son expression : dommages ADN, hypoxie, haut taux de testostérone, … (Khamis et al 2011).

Plus le cancer progresse, plus son expression est réduite. Son expression corrèle avec le grade de la tumeur et le potentiel métastatique : 70 % des cellules cancéreuses d'un

carcinome prostatique localisé l'expriment, plus que 25 % pour un cancer métastatique (Khamis et al 2011).

Son expression supprime la dissémination métastatique en jouant sur l'activité de ATF3 (activating transcription factor 3) qui joue un rôle dans la progression du cycle cellulaire et l'apoptose.

c) E Cadherine

Son expression est diminuée progressivement de la lésion de HGPIN (80 % d'expression) au cancer métastatique (76 % des cellules métastatiques prostatiques ont une expression anormale de E cadherine) (Bostwick et al 1996 ; Khamis et al 2011).

Dans le cancer métastatique prostatique, on assiste à une augmentation de l'expression de N cadherine et de cadherine 11 avec la perte d'expression de E cadherine (Khamis et al 2011).

Cette perte s'effectue généralement par mutation ou par perte d'hétérozygotie. D'autres études évoquent plutôt une activité épigénétique et un changement d'expression par méthylation de l'ADN ou sur la régulation de la transcription / post transcription (Khamis et al 2011). La perte d'expression de E cadherine facilite l'invasion du stroma et intervient donc dans les étapes précoces du processus métastatique (Khamis et al 2011).

Chez le chien, la perte d'expression de E cadherine par méthylation a également été mise en évidence. Ce processus permet l'invasion de la matrice extra cellulaire et le passage dans le torrent sanguin. Une fois dans le torrent sanguin, les cellules tumorales expriment à nouveau cette protéine afin de former les métastases (Fonseca-alves et al 2013).

d) KAI 1

KAI1 agit comme un suppresseur de métastases à spectre large, il n'est pas spécifique au cancer de la prostate (Cook et al 2011). Les cellules de HGPIN et de carcinome prostatique local ainsi que les cellules épithéliales normales l'expriment. La diminution de son expression est corrélée à la progression vers un stade métastatique. Des phénomènes de méthylation sont fortement probables (Khamis et al 2011).

e) Maspin

Maspin est un gène ayant un rôle dans un grand nombre de fonctions telles que l'adhésion cellulaire, l'apoptose, l'inhibition de la croissance tumorale, la mobilité ou encore

l'angiogenèse. Il est codé sur le chromosome 18 et est exprimé dans les cellules épithéliales et les cellules de la matrice extra cellulaire de nombreux tissus, dont le tissu prostatique.
Son expression disparaît graduellement lors du carcinome prostatique et est corrélée au score de Gleason, au stade histologique et au potentiel métastatique (Khamis et al 2011).

Il est inhibé par RANK/RANKL. Son inactivation peut aussi être due à la méthylation de l'ADN.

Cette diminution progressive du gène maspin, associée à un pronostic plus sombre, a également été mise en évidence chez le chien dans le cadre du carcinome mammaire (Zuccari et al 2009).

f) MKK4

MKK4 est une kinase ayant un rôle dans la plupart des voies de signalisation des processus biologiques. Elle est très exprimée dans les lésions de HGPIN et est sous exprimée dans le cancer prostatique. Au niveau des cellules cancéreuses métastatiques, la diminution de son expression est plus forte après l'arrivée des cellules aux sites secondaires, suggérant un rôle dans la colonisation métastatique. Aucune mutation n'a été détectée, la diminution de son expression serait plutôt due à des miARN.

Cependant, son rôle reste encore indéterminé et nécessite des études supplémentaires. En effet, une étude a démontré que l'expression ectopique de MKK4 induit la prolifération cellulaire et la dissémination (Khamis et al 2011).

g) Nm23

Nm23 est un gène suppresseur de métastases, régulant la transcription du proto oncogène c-myc (Cook et al 2011). Il est très dérégulé lors du processus métastatique. Cependant, son potentiel suppresseur de métastases est toujours controversé (Khamis et al 2011).

h) *PTEN*

PTEN est régulé négativement dans 63 % des cancers métastatiques (Khamis et al 2011).

i) TGFβ

TGFβ est surexprimé dans les cellules cancéreuses métastatiques. TGFβ intervient dans le passage des cellules cancéreuses du site primaire au torrent sanguin via son rôle pro-angiogénique. Son rôle reste complexe, une étude suggère en effet que TGFβ augmente

l'angiogenèse de la tumeur primaire et inhibe l'angiogenèse des métastases (Khamis et al 2011).

TGFβ est également produit sur le site secondaire par les ostéoblastes. Sa forme latente est stockée dans la matrice extra cellulaire osseuse et peut être activée par les protéases telles que la PSA, l'uPA (activator plasminogen urokinase) ou kallekrin-2 humaine, qui sont exprimées abondamment par les cellules prostatiques cancéreuses (Wikström et al 2001).

j) RKIP

RKIP (Raf kinase inhibitor protein) bloque la voie de signalisation Raf et est un checkpoint du cycle cellulaire (Cook et al 2011). On observe une diminution de ce taux de la cellule de HGPIN à la cellule prostatique métastatique. La diminution de l'expression de RKIP permet la désensibilisation de l'apoptose et promeut donc la prolifération cellulaire.

Le processus métastatique passe donc par différentes étapes, possibles grâce à des phénomènes de mutation et surtout des processus épigénétiques (méthylation de l'ADN et de miARN) sur les gènes suppresseurs de métastases. Les gènes ne sont donc pas mutés mais juste dérégulés. Des stratégies thérapeutiques utilisant ces connaissances sont actuellement en étude : administration directe du produit du gène, ré expression de locus endogènes, restauration de la fonction par thérapie génique.

Très peu de ces gènes ont été étudiés chez le chien. Or, cette espèce a une fréquence de métastases très élevée dans le cadre du cancer de la prostate, ce qui amène à un pronostic très sombre de cette maladie. L'étude de ces gènes identifiés chez l'homme dans l'espèce canine pourrait donc amener à de nouvelles stratégies thérapeutiques pour cette espèce et possiblement améliorer le pronostic. Certains gènes identifiés dans le cancer prostatique humain comme CD44 et Maspin ont été étudiés dans le carcinome mammaire canin. Il serait donc intéressant d'étudier les conditions d'expression de ces gènes dans le cancer prostatique canin.

La pathogénie du cancer prostatique est donc un processus très complexe. Des lésions précancéreuses, avec la PIN en premier rang, ont été proposées, peuvent être en lien avec certains facteurs environnementaux déjà identifiés comme à risque dans le cancer de prostate comme la PIA et l'inflammation chronique, et se retrouvent chez le modèle humain comme canin. Ces lésions se retrouvent cependant à un taux plus bas chez le chien que chez l'homme (seuls 55 % des chiens atteints de PIN basculent en cancer prostatique) (Teske et al 2002).
La progression cancéreuse est également très spécifique à la tumeur prostatique, ceci étant due à la dépendance hormonale. On passe en effet d'un cancer local hormono-dépendant à un cancer local hormono-indépendant puis à un cancer métastatique.

L’étude des tumeurs spontanées dans un modèle animal est capitale pour comprendre la pathogénie, le développement, l’angiogenèse et la progression du cancer de la prostate.
Le modèle canin a pour cela quelques caractéristiques communes avec l’homme : présence de lésions pré cancéreuses, certains gènes mutés communs, croissance tumorale en dehors de la prostate à localisation osseuse, hormono-indépendance au stade avancé (Teske et al 2002). Il peut donc être utilisé pour l’étude de l’initiation des mécanismes moléculaires du carcinome prostatique et peut servir de modèle animal naturel pour l’étude des thérapies potentielles (Fonseca-alves et al 2013). L'homme peut également servir de modèle pour l'espèce canin. En effet, le cancer de la prostate humain est beaucoup plus étudié au niveau moléculaire. Les gènes identifiés dans l'espèce humaine devraient donc être recherchés et étudiés dans le cancer prostatique canin.

Partie V : Immunopathologie du cancer de la prostate

Il existe une interaction complexe entre le système immunitaire, la prostate saine et le développement et la progression du cancer de la prostate (De Nunzio et al 2011 ; Rajarubendra et al 2010). Cette interaction est finement balancée (Rajarubendra et al 2010).

En effet, la cellule tumorale doit acquérir certaines caractéristiques afin de pouvoir se développer, déjà énumérées auparavant : auto-suffisance en facteurs de croissance, néo-angiogenèse, prolifération incontrôlée, capacité à métastaser, résistance à l'apoptose, résistance aux signaux d'anti-croissance. Depuis peu, une nouvelle caractéristique a émergé : sa capacité à s'évader passivement comme activement de l'attaque du système immunitaire (Bhutia et al 2003).

Ainsi, outre la capacité à muter afin d'activer des oncogènes et à désactiver des gènes suppresseurs de tumeurs, les cellules cancéreuses doivent échapper à l'immunosurveillance, qui a un rôle crucial dans le développement du cancer (Stagg et al 2007).

Le cancer de la prostate est un adénocarcinome épithélial typique de plusieurs façons. Étudier les mécanismes immunitaires et trouver de nouvelles immunothérapies pour ce cancer pourraient servir à d'autres cancers de même type histologique (Drake 2010). De plus, lorsque ce cancer arrive à un stade hormono-réfractaire, les seules thérapies envisageables se portent sur l'utilisation d'agents de chimiothérapie (Hammerstrom et al 2011). Le docetaxel associé à de la prednisone montre une amélioration significative de la survie chez les patients humains (survie moyenne de 18-20 mois) (Drake 2010 ; Hammerstrom et al 2011). Le cabazitaxel associé à la prednisone peut être utilisée chez les patients réfractaires au docetaxel et a été approuvée en 2010 (Hammerstrom et al 2011). Mais ces thérapies s'accompagnent de très nombreux effets secondaires et ont donc une forte morbidité. De plus, la chimiothérapie tend à être inefficace avec le temps car les cellules tumorales développent des mécanismes de résistance contre les voies biologiques ciblées par ces agents (Hammerstrom et al 2011). L'immunothérapie pourrait ouvrir de nouvelles options thérapeutiques, plus variées et moins morbides (Drake 2010).

Il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes immunitaires dans le cadre du développement d'un cancer et l'interaction entre le système immunitaire et la tumeur afin de développer des immunothérapies de plus en plus performantes (Drake 2010).

I La réponse immunitaire anti tumorale

Le cancer de la prostate est une maladie à croissance lente, ce qui permet au système immunitaire du patient de développer une réponse immunitaire importante (Hammerstrom et al 2011). En effet, la présence dans l'infiltrat péri-tumoral de lymphocytes T LT-CD_8^+ et LT-CD_4^+ et lymphocytes T Régulateurs a été mise en évidence dans des prostates cancéreuses humaines (Ebelt et al 2008 ; Hammerstrom et al 2011). D'autres mécanismes ont permis de mettre en évidence l'implication du système immunitaire de l'hôte contre le phénomène tumoral : la réactivation du gène suppresseur de tumeur p53 entraîne une régression de la tumeur chez les souris immunologiquement compétentes et mais pas chez les souris immunodéprimées (Stagg et al 2007), une haute fréquence de LT-CD_8^+ spécifiques d'épitopes de cellule cancéreuse prostatique a été mise en évidence dans les modèles murins, une récente analyse de patients avec un cancer de la prostate à un stade précoce a mis en évidence des anticorps spécifiques à la tumeur (Gajewski et al 2006).

La réponse immunitaire anti tumorale est donc réelle dans le cancer de la prostate et semble même être un événement précoce (Gajewski et al 2006).

Une réelle connaissance des cellules immunitaires présentes sur le site tumoral ou dans l'organisme ainsi que de la mécanistique de la réponse immunitaire anti tumorale pourrait nous aider à trouver d'autres cibles thérapeutiques et ainsi à progresser dans le traitement anti cancéreux (De Nunzio et al 2011).

Nous allons dans cette partie détailler comment réagit le système immunitaire contre un phénomène tumoral après avoir énoncé les effecteurs et les cibles de cette réponse. Nous développerons ensuite comment la tumeur réussit à échapper à ce contrôle.

1) Les effecteurs du système immunitaire

On distingue les effecteurs non spécifiques d'antigène, appartenant à l'immunité innée, et les cellules spécifiques d'antigène, appartenant à l'immunité acquise.

a) Immunité innée

Les effecteurs non spécifiques d'antigène comprennent les polynucléaires neutrophiles, les macrophages tels que les TAMs (tumor associated macrophage) (Nicholson et al 2004), les polynucléaires éosinophiles, les mastocytes et les cellules NK. Toutes ces cellules possèdent des molécules d'adhésion et des récepteurs aux chemokines qui leur permettent de passer du sang périphérique au site tumoral (Ellyard et al 2007).

Ces cellules sont présentes au sein du site tumoral prostatique : Guo et al ont objectivé une infiltration augmentée de macrophages dans le tissu de carcinome prostatique ainsi que dans celui de la BPH par rapport au tissu sain (Guo et al 2015). L'infiltration de polynucléaires neutrophiles et des cellules NK est également présente mais est en nombre réduit dans le cadre du cancer de la prostate (Fujii et al 2013 ; Silvestri et al 2015).

Le rôle des polynucléaires éosinophiles en tant qu'acteur de la réponse immunitaire anti tumorale reste incertain. L'infiltration de polynucléaires éosinophiles est associée à un pronostic positif dans le cancer de la prostate, suggérant qu'ils puissent jouer un rôle positif (Ellyard et al 2007).

Les mastocytes infiltrants les sites prostatiques tumoraux pourraient aider à la carcinogenèse par libération de cytokines pro inflammatoires ainsi qu'à la libération de cytokines pro angiogéniques telles que IL8, VEGF ou l'héparine qui stimulent également la lymphangiogenèse. Le rôle positif ou négatif des mastocytes infiltrants est donc toujours actuellement en débat (Taverna et al 2013).

Tous ces effecteurs participent donc à la réponse immunitaire anti tumorale dans le cadre du cancer de la prostate, les macrophages étant la population la plus abondante dans le micro environnement tumoral (Guo et al 2015).

b) Immunité spécifique

Les effecteurs spécifiques d'antigène sont les plasmocytes, les lymphocytes T cytotoxiques ou LT-CD_8^+ cytotoxiques et les lymphocytes T auxiliaires ou LT-CD_4^+ helper, cellules régulatrices de la réponse immunitaire anti-tumorale. Elles possèdent également des molécules d'adhésion et des récepteurs aux chemokines qui leur permettent de passer du sang périphérique au site tumoral (Ellyard et al 2007).

Ces lymphocytes sont présents dans le cancer prostatique tout comme dans la PIN, les lymphocytes B étant moins nombreux : on retrouve environ 70 % de lymphocytes T et 15 % de lymphocytes B. Fujii et al a également montré qu'il y avait légèrement moins de LT-CD_8^+ que de LT-CD_4^+ sans que cela soit significatif (Fujii et al 2013).

2) Les cibles de la réponse immunitaire : les antigènes tumoraux

Les avancées dans l'immunologie anti-tumorale ont permis d'identifier des gènes codant pour des protéines reconnues par les lymphocytes cytotoxiques, appelées antigènes tumoraux (Matsueda et al 2004 ; Miles et al 2011).

Ces cibles sont sous forme de protéines entières présentes à la surface des cellules cancéreuses et reconnues par les anticorps et sous forme de petits peptides de 8-10 acides aminés, apprêtées par les cellules tumorales via le CMHI, permettant ainsi aux LTCD8+ de les reconnaître (Matsueda et al 2004).

Ces antigènes tumoraux sont partagés en 5 catégories (Kirkwood et al 2012) :

- Antigènes cancer testis : présent chez des cellules tumorales de types histologiques variés, absents dans la plupart des cellules normales (à l'exception des cancer testis antigen que l'on retrouve dans les testicules et d'antigènes retrouvés chez les cellules placentaires).
  Exemples : T21 (Miles et al 2011), PAGE-4 (Forsber et al 2009), NY-ESO-1 (Kwek et al 2012)
- Antigènes de différenciation : associés à la différenciation des cellules en un type histologique particulier.
  Exemples : PSCA (Prostate stem cell antigen) (Gulley et al 2005 ; Matsueda et al 2004), MUC-1 (Gulley et al 2005)
- Antigènes résultant de mutations ponctuelles
  Exemples : TMPRSS2, DDCA3 (Miles et al 2011)
- Antigènes résultant d'une surexpression génique : les plus nombreux. Ils sont exprimés par les cellules normales et surexprimés par les cellules tumorales.
  Exemple : peptides PSA, PSMA ou PAP (Gulley et al 2005 ; Matsueda et al 2004)
- Antigènes viraux

Des lymphocytes T cytotoxiques circulants spécifiques du peptide, comme la présence de lymphocytes LT-CD_8^+ intratumoraux spécifiques de l'antigène PSA (Ardiani et al 2014), sont souvent trouvés dans le sang périphérique des patients atteints de cancer de la prostate localisé, avec une différence significative dans l'occurrence de ces lymphocytes, plus nombreux, en comparaison avec des individus sains du même âge (Forsberg et al 2009).

Les antigènes tumoraux stimulent donc la réponse cellulaire et/ou humorale chez les patients cancéreux et donnent naissance à une interaction entre la cellule cancéreuse via le

CMHI avec les LT-CD_8^+ ou avec les cellules présentatrices d'antigène via le CMHII et les LT-CD_4^+ (Kirkwood et al 2012).

Une particularité de la réponse immunitaire anti tumorale vient du fait que les épitopes ne se lient qu'à un CMH bien défini et n'ont donc d'intérêt que pour les patients exprimant cette molécule spécifique à laquelle le peptide se lie (Kirkwood et al 2012).

Ces antigènes initiant la réponse immune chez l'hôte et ayant tendance à être spécifiques des cellules cancéreuses prostatiques, ils peuvent agir comme cible immune et donc thérapeutique lorsqu'ils sont exprimés par la tumeur, rentrant dans le cadre de l'immunothérapie que nous développerons ultérieurement (Hammerstrom et al 2011 ; Miles et al 2011). En effet, la formulation de vaccins effectifs thérapeutiques repose sur la reconnaissance de ces antigènes.

L'antigène PSA est le plus connu et le plus utilisé. Il est exprimé presque entièrement que par les cellules prostatiques cancéreuses et le cas échéant, par les cellules épithéliales bénignes de la prostate. Il permet donc de ne cibler que la prostate (Drake 2010).

3) Mécanismes de la réponse immunitaire anti tumorale

a) *Les phases de l'immunité anti-tumorale*

Ce processus dynamique est composé de 3 phases : une phase d'élimination, une phase d'équilibre et une phase d'échappement (Bhutia et al 2010 ; Stagg et al 2007). Il part du principe que les cellules pré-malignes et malignes en stade précoce sont d'abord directement ou indirectement détruites par les cellules immunitaires (Stagg et al 2007). C'est la phase d'élimination ou d'immunosurveillance mettant en jeu les cellules de l'immunité innée, telles que les macrophages ou les lymphocytes NK, et de l'immunité adaptative, telles que les LT-CD_8^+ et LT-CD_4^+ (Rajarubendra et al 2010).

Il y a ensuite une phase d'équilibre où le système immunitaire élimine les cellules tumorales à forte immunogénicité et sélectionne passivement alors les cellules avec une immunogénicité réduite. Cette phase entraîne l'apparition de nouveaux variants comprenant plus de mutations qui leur permettent de résister aux attaques du système immunitaire. Cette interaction entre tumeur et immunité dans la phase d'équilibre produit donc de nouvelles populations de cellules tumorales faites pour survivre à un hôte immunocompétent. C'est la phase la plus longue (pouvant durer plusieurs années) et malheureusement antérieure à la détection de tumeurs cliniquement apparentes (Bhutia et al 2010).

Enfin, les cellules tumorales acquièrent des transformations génétiques et épigénétiques et arrivent à échapper au système immunitaire et à continuer à se multiplier, cela étant

partiellement dû à la sélection effectuée par le système immunitaire (Stagg et al 2007). Cette phase est appelée phase d'échappement ou immunosubversion et sera détaillée dans la partie II. Nous verrons d'abord les mécanismes d'attaque du système immunitaire puis les mécanismes d'échappement développés par la tumeur.

a) Chimiotactisme des cellules immunitaires sur le site tumoral

Des facteurs chimiotactiques sont sécrétés afin que les cellules immunitaires se retrouvent sur le site tumoral. Il n'y a cependant que peu d'informations sur les molécules critiques pour ce chimiotactisme.

Les cellules en apoptose expriment à leurs surfaces différents signaux qui permettent de recruter les phagocytes et le système du complément (calreticulin, thrombospodin 1, …). Les dommages tissulaires locaux et le remodelage tissulaire qui résultent de la croissance tumorale peuvent également alerter le système immunitaire via des signaux de danger ou DAMPs tels que l'acide urique, les produits de dégradation de la matrice extracellulaire et la présence de cytokines, chimiokines et protéases nécessaires au remodelage (Stagg et al 2007). Ils permettent l'activation de la réponse innée (Bhutia et al 2010).

Les cellules tumorales produisent également des signaux de danger : les voies intrinsèques de suppresseurs de tumeur induisent par exemple l'expression d'une classe spécifique de molécules membranaires stimulant l'immunité, les ligands NKG2D (MICA, MICB et acide rétinoïque). L'expression de ces ligands dépend des dommages de l'ADN. Ces ligands se lient aux récepteurs activateurs NKG2D des cellules NK et à certains LT-CD_8^+ et LT-CD_4^+, stimulant ainsi la réponse immunitaire anti tumorale (Stagg et al 2007).

Une cascade de cytokines permet ensuite le recrutement des cellules immunitaires, et est sécrétée par ces mêmes cellules, telles que les cytokines pro inflammatoires IFNy et IL12 (Bhutia et al 2010 ; Kirkwood et al 2012).

Quelques pistes supplémentaires ont été formulées telles que les chemokines CXCL9 et CXCL10 pour le chimiotactisme des LT-CD_8^+ effecteurs. Les chemokines TARC (thymus and activation-regulated chemokine), CCR4 et MDC (macrophage-derived chemoattractant) sont responsables de l'attraction des lymphocytes TReg (Gajewski et al 2006).

Avoir les chemokines adéquates est donc capital au niveau du microenvironnement tumoral pour attirer les LT effecteurs et non les lymphocytes TRegs et la modification de ce profil pourrait augmenter les effets de l'immunothérapie (Gajewski et al 2006).

b) Action des effecteurs de la réponse innée

Une fois sur le site, les cellules de l'immunité innée comme les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les cellules NK sont activées via les ligands des TLR (Kirkwood et al 2012).

Les macrophages et les polynucléaires neutrophiles phagocytent les cellules tumorales via différents mécanismes. Elles sécrètent tout d'abord des cytokines et des molécules inflammatoires causant une mort tumorale par effet anti-angiogénique et par recrutement de nouvelles cellules de l'immunité innée. Elles ont également des mécanismes cytotoxiques cellulaires propres : voie du TNFα et induction de l'apoptose, sécrétion de réactifs oxygénés entraînant la mort cellulaire, voie de la perforine, opsonisation, rôle du complément, …. (Rajarubendra et al 2010).

Les polynucléaires éosinophiles sont attirés par l'eotaxine et activés par la cytokine IL5 et différents médiateurs et sont cytotoxiques pour les cellules tumorales. Ils contiennent en effet des granules cytotoxiques contenant de la MBP, la peroxydase éosinophile, la protéine cationique éosinophile et la neurotoxine éosinophile dérivée. Ces granules entraînent la lyse tumorale et des dommages tissulaires (Ellyard et al 2007).

Les cellules NK ont quant à elles la capacité de tuer les cellules tumorales par deux voies communes aux lymphocytes LT-CD_8^+ : la voie perforine/granzyme et celle du Fas/FasL (Portela et al 2012). Le CMHI est reconnu par la cellule NK via le récepteur KIR. Ces récepteurs sont divisés en deux groupes : les récepteurs inhibiteurs qui préviennent la lyse cellulaire et les récepteurs activateurs qui incitent cette lyse. Lorsque l'expression en CMHI est déficiente/faible, comme lors de la transformation tumorale, le signal inhibiteur est faible et les NK sont alors activés. Ces cellules sont présentes en plus grand nombre chez les patients atteints de cancer de la prostate que chez les individus sains de même âge (Dall'Ara et al 2003 ; Portela et al 2012).

Les LT-CD_4^+ amplifient la réponse innée anti tumorale en recrutant directement des cellules de l'immunité innée tumoricides au niveau du site tumoral par le biais de sécrétion de cytokines (Ellyard et al 2007).

Elles permettent également la maturation des cellules présentatrices d'antigène telles que les cellules dendritiques et leur migration vers les nœuds lymphatiques drainant le site tumoral. Elles augmentent ainsi la présentation de l'antigène tumoral aux lymphocytes T naïfs et l'expansion clonale de lymphocytes T cytotoxiques et font le lien entre la réponse innée et la réponse adaptative (Bhutia et al 2010).

Le rôle positif de ces cellules de l'immunité innée reste encore controversé. En effet, une infiltration importante de cellules inflammatoires est associée à un risque augmenté de récurrence de cancer de la prostate (Silvestri et al 2015). Les cellules de l'immunité innée sécrètent des facteurs solubles telles que IL1, IL6 ou encore TNF qui peuvent aider à la carcinogenèse en promouvant l'inflammation (Bahig et al 2015). Le rôle des macrophages est également en débat. Il semble y avoir dans le cancer prostatique deux populations de macrophages infiltrants : les macrophages « classiquement activé » et les macrophages activés « alternativement ». Ce que l'on appelle les TAMs semblent avoir un phénotype de macrophages activés « alternativement » et sécrèteraient des cytokines telles que IL1β ou TNF qui aideraient à la progression de la tumeur à un stade métastatique et hormono-résistant. Guo et al ont objectivé une infiltration augmentée de TAMs dans le tissu de carcinome prostatique commme dans la BPH par rapport au tissu sain (Guo et al 2015). Les TAMs sont également présents dans les lésions de PIN (Fujii et al 2013). Cette infiltration est même associée pour certains à un pauvre pronostic et une inhibition de la réponse anti tumorale (Ellyard et al 2007 ; Fujii et al 2013).

Le rôle de la réponse innée dans la réponse immunitaire anti tumorale provient donc sûrement d'une balance équilibrée, cette réponse pouvant être anti tumorale mais également promouvoir la carcinogenèse en entretenant une inflammation sur ce site, en augmentant l'instabilité génétique et en promouvant l'angiogenèse (Minardi et al 2015).

c) Action des effecteurs de la réponse adaptative

L'induction d'une réponse immunitaire spécifique nécessite l'activation des LT-CD_4^+ helper par la cellule présentatrice d'antigène (ou CPA) exprimant les peptides d'antigènes tumoraux en association avec le CMHII.

Ces cellules présentatrices d'antigène peuvent être les cellules dendritiques ou les macrophages ayant migré du site tumoral jusqu'aux nœuds lymphatiques locaux (Rajarubendra et al 2010). La présence en grande nombre de cellules dendritiques chez les patients atteints du cancer de la prostate est corrélée avec une évolution lente et à bas risque de la tumeur. Un nombre faible de cellules dendritiques est corrélée significativement avec un haut score de Gleason (Silvestri et al 2015). La présence de cellules dendritiques immatures et non fonctionnelles au sein du site tumoral, dans les nœuds lymphatiques et dans le sang de patients atteints de cancer prostatique est également un facteur de mauvais pronostic (Santegoets et al 2014). Ces cellules sont donc un acteur majeur de l'immunité anti tumorale.

La cellule présentatrice d'antigène peut également être la cellule tumorale elle-même, stimulant les LT-CD_4^+ déjà présents sur le site. C'est une très mauvaise cellule présentatrice d'antigène qui induit généralement une tolérance et non une réponse immunitaire efficace. Les macrophages et les cellules dendritiques ont un rôle de présentation d'antigène bien plus

efficace. Une fois les LT-CD_4^+ activés, ils peuvent à leur tour activer les LT-CD_8^+ spécifiques de l'antigène en effecteurs. Ces LT-CD_4^+ ont également un rôle critique pour maintenir une immunité à long terme, induisant la persistance des LT-CD_8^+ mémoire (Dall'Ara et al 2003 ; Kirkwood et al 2012). Ils aident de plus au recrutement des LT-CD_8^+ sur le site tumoral et permettent l'activation de cellules de l'immunité innée comme les macrophages et les polynucléaires éosinophiles.

Les LT-CD_4^+ ont aussi un propre rôle cytotoxique par lyse indirecte des cellules tumorales par relargage de cytokines. (Ce rôle peut être intéressant car les cellules cancéreuses ne sous expriment pas le CMHII).

Pour que les LT-CD_4^+ helper puissent activer les LT-CD_8^+ spécifiques en effecteurs, il faut que ceux-ci aient préalablement rencontrés l'antigène et se soient différenciés en LT-CD_8^+ spécifiques. Cette activation nécessite la présentation de l'antigène en association au CMHI par la CPA ainsi que l'action des cytokines IL2, IL12 et IL4. Les CPA sont les mêmes que celles décrites pour les LT-CD_4^+ +. En effet, les lymphocytes naïfs sont activés par un processus à deux étapes :

1) Rencontre avec la cellule présentatrice d'antigène
2) Liaison avec des molécules co stimulatrices telles que B7-1/B7-2 et CD28 à la surface des cellules dendritiques et des lymphocytes T respectivement (Hammerstrom et al 2011). Cette interaction est un mécanisme critique de costimulation pour l'activation des lymphocytes T. Ces lymphocytes T peuvent devenir anergiques si l'un des deux signaux est faible ou absent (Ellyard et al 2007).

Une fois activés, les LT-CD_8^+ cytotoxiques peuvent lyser les cellules tumorales via différentes voies (Bhutia et al 2010, Sakib et al 2014) :

La voie Perforine/Granzyme (Symes et al 2009) : il s'agit d'un ensemble de molécules et d'une cascade d'événements conduisant à l'apoptose des cellules tumorales. La perforine crée des pores à la surface de la cellule ce qui permet la pénétration d'enzymes telles que le granzyme à l'intérieur de la cellule. Ces granzymes clivent les caspases ce qui conduit à l'apoptose de la cellule. (Il est à noter que l'apoptose de la cellule ne peut se faire par différence de pression osmotique via la création de pores car ces pores ne sont pas assez nombreux).

La voie Fas / Fas L : la liaison du FasL des lymphocytes au Fas de la cellule tumorale entraîne une cascade d'événements intra cellulaires conduisant à l'apoptose de la cellule. L'expression de FasL sur les lymphocytes T est nécessaire pour leur pleine cytotoxicité contre les cellules de carcinome prostatique in vitro (Symes et al 2009). Cette voie est également assez importante face aux antigènes prostatiques tumoraux, peu

immunogéniques. En effet, la voie perforine/granzyme est généralement activée lors de haute affinité dans les interactions antigène/TCR, ce qui est peu le cas dans le cadre du cancer prostatique (Symes et al 2009).

La libération de molécules à action cytotoxique lorsqu'elles sont libérées à proximité des cellules cibles : TNF (ou Tumor Necrosis Factor) et IFN gamma (Kwek et al 2012).

Les anticorps ont, quant à eux, une action cytotoxique via 4 mécanismes, un débat est toujours présent quant à l'importance de chacun de ces mécanismes dans la lyse tumorale. Une réponse humorale augmentée a été objectivée chez les patients avec un cancer prostatique métastatique (Kwek et al 2012). Des études ont montré que la présence d'anticorps contre des antigènes tumoraux était positivement corrélée à une survie plus longue dans le cadre du cancer du poumon et de l'estomac. D'autres études ont suggéré qu'ils favorisaient la croissance tumorale par production de facteurs de croissance et de différenciation de plusieurs types cellulaires tumoraux tels que IL10 et IL6 par les lymphocytes B, par inhibition de la sécrétion d'IFNy, par inhibition des lymphocytes cytotoxiques ou via les dépôts de complexe immuns augmentant le fardeau tumoral (Ellyard et al 2007). Ainsi, leur rôle précis est toujours à déterminer, et notamment dans le cancer de la prostate (Matsueda et al 2004). Les possibles mécanismes sont :

- L'ADCC (Antibody-dependant cell cytotoxicity) : le fragment Fab de l'anticorps reconnaît l'antigène et le fragment Fc de l'anticorps se lie à la cellule effectrice (NK, macrophage, cellule T avec RFc). Cela crée un pont entre la cellule tumorale et la cellule effectrice et mène à la lyse de la cellule tumorale (Annels et al 2014)
- Induction de la cascade du complément par les anticorps
- Fixation de l'anticorps sur la cellule tumorale menant à une cascade d'activation et à l'apoptose de la cellule tumorale
- L'opsonisation : la fixation de l'anticorps permet l'opsonisation de la cellule tumorale et ainsi l'action d'autres effecteurs (polynucléaires neutrophiles, macrophages, ….) menant alors à la lyse tumorale.

Une réponse immunitaire anti tumorale est donc présente dans le cancer de la prostate, les données histologiques nous montrant la présence de LT-CD_8^+, de LT-CD_4^+, de NK, de cellules de l'immunité innée et de cellules dendritiques au sein du site tumoral prostatique. Cette réponse semble être à médiation cellulaire principalement et avoir un rôle positif, l'infiltration dense de lymphocytes étant corrélée à une survie plus longue de patients atteints de cancer de la prostate. Les adénocarcinomes de haut grade ont également une infiltration plus faible de lymphocytes T par rapport aux adénocarcinomes de bas grade et à la BPH. Mais son rôle protecteur est également controversé, surtout en ce qui concerne l'action de la

réponse immunitaire innée, qui pourrait être plus délétère que protectrice (Silvestri et al 2015).

Cette défense immunitaire a d'autre part une dynamique particulière. La réaction immunitaire contre les cellules tumorales est tout d'abord efficace, ce que l'on appelle la phase d'élimination. Des cellules de l'immunité innée comme les macrophages, les neutrophiles ou les lymphocytes NK éliminent de manière non spécifique les cellules du site tumoral et permettent l'activation de la réponse immunitaire acquise spécifique d'antigènes tumoraux et mettant en œuvre les lymphocytes T LT-CD_4^+ et les lymphocytes T cytotoxiques LT-CD_8^+ ainsi que l'immunité humorale. Une phase d'équilibre et d'immunosélection entre le système immunitaire et les cellules tumorales vient ensuite. Enfin, les cellules tumorales parviennent inexorablement à échapper à cette réponse immunitaire, c'est la phase d'échappement.

II Les mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire

Comme nous l'avons vu dans la sous partie I, l'immunosélection permet l'émergence de cellules capables d'éviter, de résister ou de supprimer les mécanismes d'actions du système immunitaire (Bhutia et al 2010).

De nombreux facteurs peuvent expliquer l'échec du système immunitaire à reconnaître et à éliminer les cellules cancéreuses et ces facteurs changent durant la période de co-évolution entre la tumeur et la réponse immunitaire (Bhutia et al 2010 ; Miyahira et al 2014).

L'âge du patient est un facteur non négligeable : il entraîne en effet la présence moindre de lymphocytes T naïfs ou la capacité de réplication de ces lymphocytes réduite (Miyahira et al 2014).

Le changement de profil des LT-CD_4^+ de Th1 (promouvant la réponse anti tumorale) en Th2 (inhibant ce processus par induction de LT régulateurs et de cytokines immunosuppressives) est également incriminé (Bhutia et al 2010 ; Ozenci et al 2005).

Mais les mécanismes principaux qui seront détaillés ci-dessous expliquent comment la cellule tumorale peut se cacher des lymphocytes par perte et inhibition d'expression du CMHI, pertes, mutations ou inhibition d'expression des antigènes tumoraux, le manque d'expression de molécules co-stimulatrices ou résister à cette réponse par l'altération des fonctions des lymphocytes T (en jouant sur le TCR par exemple) et la présence en grand nombre des lymphocytes T régulateurs (Bhutia et al 2010 ; Ozenci et al 2005). La tumeur crée de plus son propre micro environnement par la sécrétion de cytokines, de facteurs de croissance et de signaux qui inhibent la réponse immunitaire (Hammerstrom et al 2011 ; Rajarubendra et al 2010). Les lymphocytes du carcinome sont alors activés mais ne sont pas

effecteurs : soit ils ne sont pas activés correctement, soit leur fonction est supprimée par le microenvironnement tumoral (Ebelt et al 2008).

1) Échappement

a) La présentation des antigènes tumoraux

La reconnaissance de la tumeur par le système immunitaire dépend de l'interaction ligand/récepteur (Bhutia et al 2010).

Les variants tumoraux sélectionnés par l'immunoediting ont donc joué sur la présence de ces ligands, soit les antigènes tumoraux, afin d'être tolérés ou ignorés par le système immunitaire (Bhutia et al 2010).

L'action sur les antigènes tumoraux met en œuvre plusieurs mécanismes :

- Perte de l'antigène en question (Bhutia et al 2010)
- Modification du peptide par mutation (Kirkwood et al 2012)
- Traitement défectif de l'antigène (Rajarubendra et al 2010)

Ces mécanismes ont été très peu étudiés dans le cadre du cancer de la prostate.

b) La régulation du CMH

L'ignorance des cellules tumorales par le système immunitaire est médiée par la régulation de l'expression du CMHI par ces cellules néoplasiques (Gajewski et al 2006). L'expression du CMHI est en effet généralement réduite au niveau des cellules prostatiques cancéreuses (Rajarubendra et al 2010). Ce mécanisme est un événement tardif, se trouvant principalement dans les stades avancés (Ellyard et al 2007 ; Gajewski et al 2006).

Cette perte d'expression permet d'une part de modifier la présentation des antigènes tumoraux aux lymphocytes T cytotoxiques et d'éviter la reconnaissance de ces cellules par les lymphocytes NK et d'échapper ainsi à la lyse tumorale (Gajewski et al 2006).

Les cellules prostatiques cancéreuses ont une expression diminuée de CMHI (Cavacini et al 2002). Blades et al ont étudié l'expression de CMHI dans des tissus de cancer prostatique malin et de BPH par immunohistochimie. Ils ont montré une perte complète de CMHI à la surface des cellules tumorale dans 34 % des cancers primaires de la prostate et dans 80 % des nœuds lymphatiques avec métastases (Blades et al 1995).

Cette diminution d'expression est associée à un pronostic plus sombre (Blades et al 1995).

c) *La résistance à l'activité cytotoxique des cellules effectrices*

La résistance à l'activité cytotoxique des cellules effectrices joue sur plusieurs mécanismes.

La cellule tumorale va tout d'abord jouer sur la présence ou non de molécules co stimulatrices ou co inhibitrices. En effet, la cellule tumorale manque de molécules co-stimulatrices telles que CD80 et CD86, rendant alors les lymphocytes T anergiques (Bhutia et al 2010).

Ces cellules vont au contraire surexprimer les molécules inhibitrices telles que CTLA4, PD1L et B7H1 (Bhutia et al 2010). Les cellules prostatiques tumorales surexpriment ces molécules (Kwek et al 2012). Cette surexpression a plusieurs conséquences.

CTLA4 est un inhibiteur de la signalisation par le TCR qui entre en compétition avec la molécule co stimulatrice CD28 permettant l'interaction avec CD80 et CD86. Il a une affinité plus grande que CD28. Sa liaison entraîne alors l'anergie des lymphocytes T et inhibe leur division cellulaire en causant un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 par inhibition d'une cascade de kinases et en diminuant la production d'IL2. Il peut également entraîner une augmentation de la force nécessaire du signal pour l'activation du TCR de lymphocytes T naïfs qui doit alors être très fortement stimulé (Bhutia et al 2010 ; Hammerstrom et al 2011).

PDL1 entraîne quant à lui directement l'apoptose des lymphocytes T. Il est présent à la surface des cellules tumorales et sa liaison aux lymphocytes T entraîne une diminution de la capacité de prolifération de ces lymphoytes et une fonction effectrice dysfonctionnelle, cela menant alors à un épuisement des lymphocytes T (Bhutia et al 2010 ; Gajewski et al 2006).

La liaison de CTLA4 et PDL1 à leurs ligands respectifs entraîne également la production d'IDO et la réduction de la production de tryptophane dans les cellules présentatrices d'antigène, stimulus essentiel pour les lymphocytes T effecteurs. Une apoptose de ces lymphocytes est alors engendrée suite à un environnement privé de tryptophane (Bhutia et al 2010 ; Stagg et al 2007).

Les cellules tumorales prostatiques vont également résister à l'activité cytotoxique des cellules effectrices par la sécrétion d'un panel de cytokines et autres facteurs immunosuppressifs, qui seront détaillés ultérieurement.

d) La résistance à l'apoptose

Différents mécanismes confèrent aux cellules tumorales prostatiques leur capacité à résister à l'induction de l'apoptose (Stagg et al 2007) :

- Diminution ou perte de l'expression du FAS à la surface des cellules tumorales d'où une diminution ou une perte de l'apoptose des cellules tumorales. Les lignées cellulaires issues de cancers prostatiques métastatiques ou hormono-résistants ont une perte du récepteur FAS à leur surface (Symes et al 2008). Cependant, les cellules de cancer primaire expriment le Fas et sont sensibles à la voie de FasL (Symes et al 2008).
- Expression du FasL entraînant l'apoptose des cellules exprimant Fas à leur surface. Cela concerne les lymphocytes T, B et NK et les phagocytes.

  Production de FasL soluble : induction de l'apoptose des cellules du voisinage exprimant Fas.

  L'importance de ces phénomènes est très réduite dans le cadre du cancer de la prostate (Symes et al 2008).
- Expression abondante d'inhibiteurs de l'apoptose comme la survivine ou cIAP1 et cIAP2. Cette expression confère aux cellules prostatiques une résistance à d'autres voies de l'apoptose comme la voie TRAIL (Symes et al 2008).
- Sécrétion de molécules inhibitrices telles que SPI (serin protease inhibitor) et cathepsin, qui leur permettent d'échapper à l'apoptose médiée par la voie Perforin/Granzyme B (Bhutia et al 2010)

2) Immunosubversion

L'immunosubversion représente la suppression active de la réponse immunitaire anti tumorale par la tumeur (Block et al 2009). En effet, la tumeur, au cours de sa croissance, va manipuler le micro environnement afin d'induire une immunotolérance locale via la production de différentes cytokines, chemokines et autres facteurs solubles (Bhutia et al 2010 ; Kirkwood et al 2012). Le développement de cette tolérance semble être un événement précoce dans la carcinogénèse, chez l'homme comme chez le chien. Les tumeurs rendent alors les cellules immunitaires effectrices non fonctionnelles ou anergiques par de multiples mécanismes (cf *Figure n°18*)(Drake 2010).

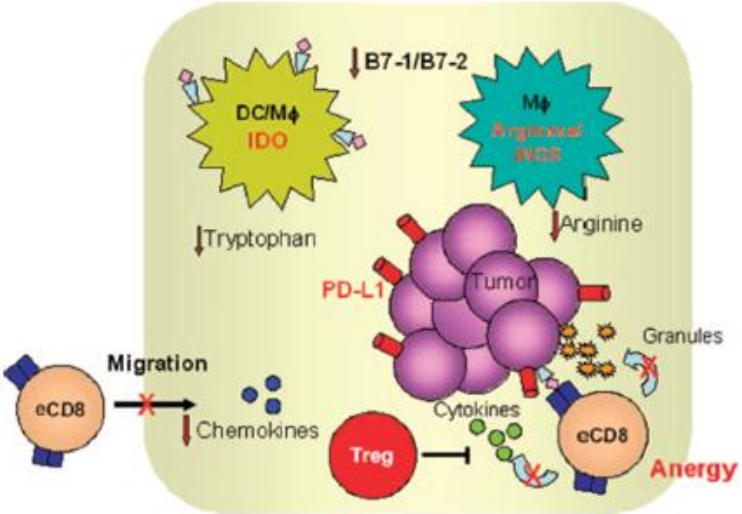


Figure n°18 : Stratégies immunosuppressives du micro environnement tumoral (D'après Gajewski et al, 2006)

Tout d'abord, les cellules tumorales prostatiques sécrètent en faible nombre les chemokines permettant le chimiotactisme des lymphocytes T, limitant ainsi le recrutement de lymphocytes T activés. Elles produisent cependant nombre de cytokines à rôle immunosuppressif telles que TGF-β1, IL-10, VEGF ou GM-CSF ayant plusieurs conséquences (Hammerstrom et al 2011 ; Kirkwood et al 2012 ; Silvestri et al 2015). Ce profil de sécrétions serait acquis grâce à l'activation de certains gènes comme le facteur de transcription STAT3 (Stagg et al 2007).

Ces cytokines vont tout d'abord permettre l'attraction et l'accumulation sanguine et dans la région tumorale de lymphocytes T régulateurs (ou LTRegs) LT-$CD_4^+CD_{25}^+FOXP_3^+$ et de cellules myéloïdes hétérogènes provenant de la moelle osseuse ou MDSC (Kirkwood et al 2012 ; Stagg et al 2007).

Les lymphocytes T Régulateurs peuvent être attirés sur le site ou induits de manière périphérique (Gajewslo et al 2006). En effet, les lymphocytes T Régulateurs sont normalement produits dans le thymus et sont responsables de la maintenance de la tolérance du soi via l'expression du facteur de transcription $FoxP_3$ et l'expression de la molécule co inhibitrice CTLA4 ainsi que la chaîne alpha du récepteur IL2. L'inflammation présente dans le cancer de la prostate entraîne alors, via des cytokines pro inflammatoires, le recrutement de LTRegs (Minardi et al 2015). Les LTRegs sont également inductibles en périphérie par faible stimulation antigénique, influence de TGF-β1 ou activation des lymphocytes T dans un environnement non inflammatoire, ils n'expriment alors pas le facteur de transcription mais sécrètent les cytokines immunosuppressives TGF-β1 et IL10 (Hammerstrom et al 2011 ; Stagg et al 2007).

La présence en quantité importante de ces lymphocytes dans le tissu prostatique cancéreux a été largement prouvée chez l'homme et les modèles murins (Minardi et al 2015 ; Poutahidis et al 2009 ; Rajarubendra et al 2010). Les LTRegs périphériques sont plus importants chez les patients atteints de cancer de la prostate par rapport à des donneurs. Le taux de LTRegs périphériques et intra tumoraux est également plus élevé chez les patients atteints de cancer hormono-résitant (Silvestri et al 2015).

Les LTRegs suppriment alors l'activation, la prolifération et la fonction effectrice des cellules immunitaires par contact (action de CTLA4), action sur les cellules présentatrices d'antigènes (qui expriment alors l'IDO supprimant l'activation des lymphocytes T par réduction de la production de tryptophane) ou via la sécrétion de TGFβ1 et IL10 qui diminue le nombre de LT-CD_4^+ et LT-CD_8^+ (Bhutia et al 2010).

Il est intéressant de noter que le rôle strictement immunosuppressif de ces lymphocytes T régulateurs est actuellement controversé. En effet, certaines études ont montré que la supplémentation en lymphocytes T régulateurs dans un modèle murin entraîne une inhibition du développement du processus néoplasique et la déplétion de ces cellules une fréquence augmentée de carcinome prostatique. Les lymphocytes T Régulateurs pourraient avoir une fonction protectrice dépendante de l'âge de l'animal (les jeunes immun compétents ayant des lymphocytes T Régulateurs protecteurs) et du microenvironnement (taux régulé de cytokines immunosuppressives) (Poutahidis et al 2009).

La présence de LTRegs périphériques n'est également pas un facteur de risque indépendant dans le cadre du cancer de la prostate, contrairement à d'autres tumeurs solides comme le cancer du poumon ou le cancer colorectal (Barth et al 2015).

Les MDSCs sont une population de cellules myéloïdes comprenant des macrophages immatures, des granulocytes et des cellules myéloïdes à stade précoce de différenciation (Bhutia et al 2010). Il y a une augmentation significative de MDSCs chez les patients atteints du cancer de la prostate par rapport à des donneurs au niveau périphérique (Idorn et al 2014) comme intraprostatique (Garcia et al 2014), avec une accumulation de plus en plus importante au fur et à mesure de la croissance tumorale (Sakib et al 2014). Après avoir été recrutées par le GM-CSF, elles activent à leur tour les LTRegs par production de TGF-β1, de VEGF, de GM-CSF , d'IL13, d'arginase I et d'iNOS (Bhutia et al 2010 ; Gajewski et al 2006 ; Garcia et al 2014 ; Stagg et al 2007). En effet, la fréquence des MDSCs est corrélée positivement avec la fréquence de LTRegs dans le cadre du cancer de la prostate (Idorn et al 2014).

Elles peuvent également conduire à l'apoptose des lymphocytes T via la sécrétion d'iNOS et d'arginase I (Bhutia et al 2010 ; Garcia et al 2014 ; Stagg et al 2007). Garcia et al ont en effet démontré que la présence de MDSCs au sein du site tumoral entraine une

suppression de la prolifération des cellules T par augmentation du haut taux d'Arginase, d'IL10 et d'iNOS (Garcia et al 2014).

Elles sécrètent donc différentes cytokines modulatrices de l'environnement et immunosuppressives qui inhibent la réponse anti tumorale en influençant la maturation des lymphocytes vers un phénotype immunosuppressif et par un propre effet apoptotique sur les cellules effectrices (Bhutia et al 2010). Elles entrainent également une maturation moindre des macrophages et un nombre diminué et une maturation moindre des cellules dendritiques (Garcia et al 2014 ; Santegoets et al 2014). Un haut taux de MDSCs est associé à une médiane de survie plus courte dans le cadre du cancer de la prostate. Les MDSCs jouent donc un rôle majeur dans l'immunosuppression tumorale chez les patients atteints du cancer de la prostate (Idorn et al 2014)

La libération d'IL10 par la tumeur ou par les cellules stromales va également entraîner la diminution de production de cytokines stimulatrices telles que TNFα et IFNy, l'inhibition des LT-CD_8^+ et est un facteur négatif dans le cancer de la prostate (Gajewski et al 2006 ; Hammerstrom et al 2011)(cf *Figure n°19*).

La tumeur ou les cellules environnantes (cellules stromales, TAMs, MDSCs) produisent également d'autres cytokines immunosuppressives comme l'IDO (inductible par l'IFNy ou l'IFNa) ou l'arginase (Gajewski et al 2006). L'IDO va induire une tolérance par suppression directe des lymphocytes T et l'amélioration de l'immunosuppression médiée par les lymphocytes T Régulateurs (Rajarubendra et al 2010).

IL6 est un facteur de faible pronostic dans le cancer de la prostate et a un effet direct sur la croissance tumorale et le dysfonctionnement des lymphocytes T (cf *Figure n°19*) (Poutahidis et al 2009 ; Rajarubendra et al 2010).

D'autres lymphocytes régulateurs pourraient être incriminés comme certaines cellules NK (par sécrétion d'IL13 et action sur les MDSCs) ou lymphocytes B mais cela reste encore controversé (Bhutia et al 2010 ; Gajewski et al 2006).

Les TAMs ont également été étudiés comme suppresseurs de la réponse anti tumorale par production de cytokines anti inflammatoires et immunosuppressives après dérégulation de leur comportement par les cellules tumorales mais cela reste à être éclairci (Stagg et al 2007).

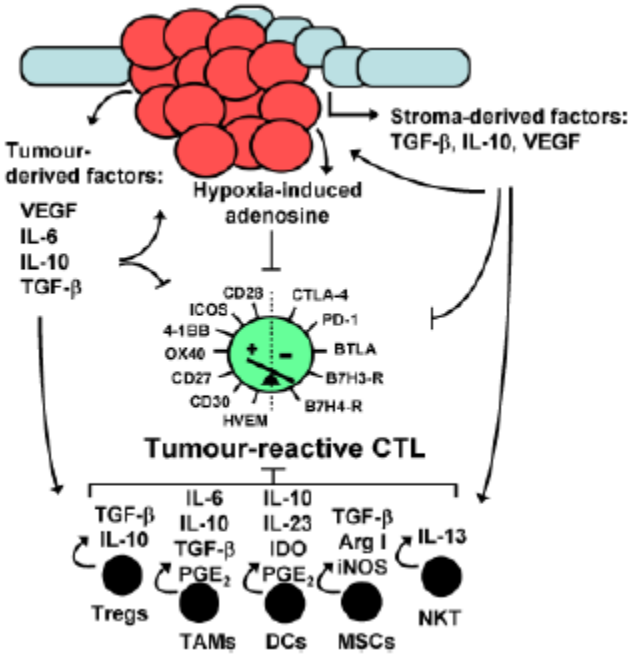


Figure n°19 : Cytokines immunosuppressives du micro environnement tumoral (D'après Stagg et al, 2007)

TGF-β1 est actuellement décrit comme l'immunosuppresseur le plus important, jouant directement sur l'inhibition des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques, des cellules NK et des lymphocytes B (cf *Figure n°19*) (Rajarubendra et al 2010 ; Wikström et al 2001). Il est surexprimé dans le cancer de la prostate humain et canin et confère à la tumeur un avantage de croissance *in vivo* (Wikström et al 2001). Sa surexpression semble être un évènement assez précoce (Stagg et al 2007 ; Wikström et al 2001).

Les cellules tumorales ont également un rôle immunosuppressif sur l'activité des cellules NK par production de MICA soluble. Ce facteur soluble se lie alors au récepteur KIR NKG2D des lymphocytes NK entraînant l'endocytose et la dégradation de cette molécule et l'inhibition de la mort médiée par les cellules NK (Bhutia et al 2010). L'expression de MICA est augmentée dans le carcinome prostatique (Groh et al 1999).

Enfin, le microenvironnement tumoral a une influence sur les cellules dendritiques et autres cellules présentatrices d'antigène. En effet, il a été démontré que les cellules dendritiques étaient en nombre réduit dans les tissus prostatiques cancéreux et peu activées. Les cellules dendritiques sanguines de ces mêmes patients étaient, elles, matures et complètement fonctionnelles, suggérant un rôle local (Rajarubendra et al 2010).
Les cellules tumorales produisent des facteurs tels que VEGF et IL10 qui inhibent le recrutement, la différenciation et la maturation des cellules dendritiques (cf *Figure n°19*). Il en résulte alors une réponse moindre ou une anergie des lymphocytes T effecteurs (Gajewski et al 2006 ; Hammerstrom et al 2011).

Ces cellules expriment également de faible taux de molécules co-stimulatrices telles que B7.1 et B7.2 et de haut taux de molécules co-inhibitrices telles que B7H1 et B7H4 augmentant ainsi l'anergie des lymphocytes T (Bhutia et al 2010).
Suite au panel de cytokines et facteurs de croissance sécrété par les cellules tumorales, ces cellules présentatrices d'antigène acquièrent donc un profil régulateur immunosuppresseur (Bhutia et al 2010 ; Hammerstrom et al 2011).

Le micro environnement tumoral entraîne donc une immunotolérance via un profil de cytokines particulier et l'interaction entre les cellules immunes, les cellules tumorales et les cellules stromales. Cela mène à un ratio déséquilibré entre les cellules T effectrices et les cellules T régulatrices, à une modification du profil des cellules immunes passant de «pro apoptotique » à immunosuppressif, et à une anergie ou une apoptose des cellules effectrices présentes dans la région tumorale (Bhutia et al 2010).

Cette immunotolérance est précoce et les lymphocytes T recrutés n'arrivent alors pas à maintenir leur fonction effectrice et ni à surmonter les mécanismes locaux d'immunosuppression (Neeley et al 2008). Cela permet d'expliquer pourquoi la croissance tumorale est possible malgré un système immunitaire activé et effecteur (Gajewslo et al 2006).

Les mécanismes permettant à la tumeur d'échapper ou de résister à la réponse anti tumorale sont donc très nombreux. Les cellules prostatiques tumorales utilisent certaines voies plus que d'autres. La perte d'expression du CMHI est par exemple un évènement très fréquent tout comme la résistance à l'activité cytotoxique des cellules immunitaires effectrices par expression de molécules co inhibitrices comme CTLA4 ou PD1L. La résistance à l'apoptose est un évènement acquis dans les étapes tardives de la carcinogenèse, au stade métastatique ou hormono-résistant.

Mais la cellule tumorale prostatique va surtout créer un microenvironnement tumoral fortement suppresseur par le biais de l'accumulation de MDSCs et de LTRegs au niveau intratumoral et périphérique et la sécrétion de cytokines immunosuppressives telles que IL10, TGF-β ou IDO, inhibant alors toute potentielle réaction immunitaire effectrice au sein du site tumoral.

Ces mécanismes sont le principal frein à l'efficacité des immunothérapies existantes et leur compréhension au niveau moléculaire et génétique permettrait de surpasser les faibles réponses obtenues actuellement.

III Le traitement par immunothérapie : résultats, limites et perspectives

L'immunothérapie dans le cadre du traitement contre le cancer est un traitement en évolution soutenue dans de nombreux cancers dont le cancer de la prostate. La présence d'une réaction immunitaire anti tumorale a été démontrée dans le cancer de la prostate bien qu'elle nécessite encore d'être explicitée dans les mécanismes moléculaires et dans les nombreuses interactions existantes (Alifrangis et al 2011). L'immunothérapie dans le cadre du cancer de la prostate pourrait être utilisée lors d'échec de traitement à la privation androgénique, soit dans le cadre de cancer de la prostate hormono résistant. En effet, ces patients ont des options thérapeutiques limitées et un pronostic sombre. Ce cas est généralement celui retrouvé systématiquement dans l'espèce canine (Gerritsen et al 2012). Le but est de contrôler le système immunitaire afin que l'hôte développe une réaction anti tumorale contre les cellules cancéreuses de la prostate. 4 grands mécanismes sont possibles afin d'aider ce système immunitaire (Alifrangis et al 2011) :

- Amorcer les réactions lorsqu'elles sont inexistantes
- Jouer sur le profil des cellules effectrices
- Améliorer l'efficacité de l'immunité adaptative
- Réduire l'immunosuppression

Actuellement, de très nombreux protocoles d'immunothérapie sont en essais cliniques, avec des résultats plus ou moins satisfaisants. Ils utilisent l'immunothérapie active, induisant une réponse immunitaire spécifique dans le cadre d'une vaccination chez un patient présentant déjà une néoplasie, ou l'immunothérapie passive, augmentant l'efficacité de la réponse immunitaire présente grâce à l'utilisation de cytokines, chimiokines ou autres effecteurs du système immunitaire. Ces thérapies n'existent actuellement que chez l'homme et il serait très intéressant de les transposer dans l'espèce canine.

1) Immunothérapie active

L'immunothérapie active a pour but de fabriquer des vaccins afin de créer une réponse immunitaire spécifique chez un patient atteint du cancer de la prostate.

Le développement de ces vaccins est tout d'abord basé sur l'identification des antigènes tumoraux (Kirkwood et al 2012). Les antigènes PSA, PSMA et PAP sont les plus utilisés (Drake 2010). L'antigène PSA est presque idéal : il est exprimé exclusivement par les cellules épithéliales saines et cancéreuses prostatique, permettant de ne cibler que la prostate. De plus, les patients traités avec ces vaccins sont généralement à un stade tardif de cancer de la prostate, où d'autres traitements effectués ont fait que seules les cellules cancéreuses expriment généralement le PSA (Kirkwood et al 2012).

Différents mécanismes vont ensuite permettre de créer une réponse immunitaire anti tumorale spécifique de cet antigène : cellule présentatrice d'antigène mise en contact avec l'antigène ex vivo, antigène incorporé dans un vecteur vaccinal (protéine, ADN, …) (Drake 2010). Le système de délivrance permet d'initier/d'améliorer la réponse immunitaire (Gerritsen 2012). Outre la présentation de peptides par des vecteurs, la vaccination à base de lignées cellulaires tumorales autologues ou entières sont en cours : ces vaccinations permettent l'exposition de plusieurs antigènes et ciblent les antigènes tumoraux présents chez le patient. Il est cependant sûrement nécessaire d'avoir une réponse anti tumorale pré existante pour l'efficacité de ces vaccinations (Hammerstrom et al 2011).

La grande limite à cette immunothérapie est le souci de l'immunotolérance pré existante au sein de l'environnement tumoral qu'il faut surpasser. Plusieurs combinaisons sont donc en essai afin de surpasser cette tolérance et d'améliorer les résultats actuellement décevants de l'immunothérapie active (Drake 2010 ; Gerritsen 2012 ; Kirkwood et al 2012). Des essais en combinaison avec des molécules pro inflammatoires telles que des agonistes de TLR (TLR3, 4, 7, 8, 9) activant les cellules présentatrices d'antigène et les lymphocytes NK ou la co-administration de GMCSF comme adjuvant sont en cours (Drake 2010 ; Kirkwood et al 2012). En effet, on espère que le GMCSF agisse sur le recrutement de cellules présentatrices d'antigène sur le site vaccinal, stimule les cellules dendritiques et augmente l'immunogénicité des antigènes délivrés (Alifrangis et al 2011 ; Drake 2010).

a) Sipuleucel T

Sipuleucel T (Provenge) est le premier vaccin ayant obtenu l'approbation de la FDA et est utilisé chez les patients atteints de cancer de la prostate hormono résistant métastatique depuis Avril 2010 (Alifrangis et al 2011 ; Hammerstrom et al 2011).

C'est une thérapie personnalisée fabriquée à partir de cellules autologues mononucléées sanguines périphériques collectées par leucaphérèse. Les érythrocytes, les plaquettes et les lymphocytes à faible densité ainsi que les monocytes sont alors retirés du volume de leucaphérèse (Hammerstrom et al 2011). Cela permet de ne laisser que les cellules dendritiques, les lymphocytes B, T et cellules NK. Après une incubation de 36 à 44 heures, ces cellules sont cultivées *ex vivo* avec une protéine fusion, la protéine PA2024. Cette protéine fusion est faite à partir d'une PAP humaine recombinante entière fusionnée avec un adjuvant, le GMCSF (Gerritsen 2012 ; Hammerstrom et al 2011). Il est alors postulé que lors de l'incubation, les cellules dendritiques internalisent la protéine de fusion et la présentent à leur surface via le CMH. Ces cellules sont ensuite réinjectées au patient, postulant que les cellules dendritiques ainsi activées induisent des lymphocytes T LT-CD_4^+ et LT-CD_8^+ contre l'antigène PAP pendant que le GMCSF augmente la maturation des cellules dendritiques (cf *Figure n°20)* (Hammerstrom et al 2011).

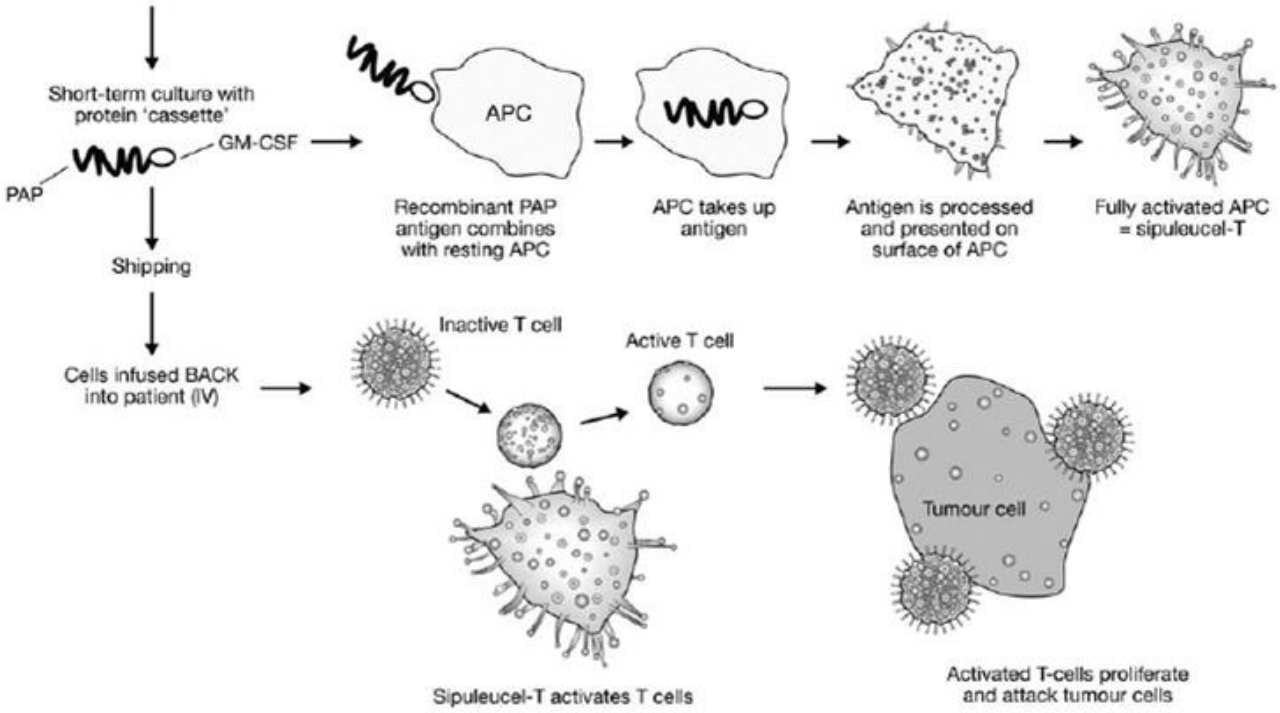


Figure n°20 : Stades de fabrication et possibles mécanismes du vaccin Sipuleucel T (d'après Kirkwood et al, 2012)

La phase I a permis de montrer l'existence d'une réaction immunitaire spécifique lors de l'injection de l'antigène PAP. La phase II a permis de déterminer la sécurité, l'efficacité et la capacité de Sipuleucel T à induire une réponse immunitaire spécifique contre la protéine de fusion. Après deux à trois injections, 100 % des patients montraient une réponse maximale contre cette protéine. Au niveau clinique, 50 % des patients ont montré une diminution de PSA de plus de 25 %, aucune amélioration radiographique n'a été détectée. Le temps médian de progression de la maladie a été de 29 semaines dans la phase II (Hammerstrom et al 2011).

La phase III fut une étude multicentrique, randomisée, en double aveugle avec contrôle placebo et a mesuré le temps avant la progression de la maladie et la survie totale médiane suite à l'utilisation de Sipuleucel T chez des patients atteints de cancer de la prostate hormono résistant (Hammerstrom et al 2011). 512 patients atteints de cancers hormono résistants de la prostate avec métastases asymptomatiques ont été inclus (Gerritsen 2012). Le temps de progression n'a pas différé de manière significative entre les patients traités et le groupe placebo (Hammerstrom et al 2011). La survie totale a eu quant à elle un résultat significativement différent entre les deux groupes : le groupe Sipuleucel avait un avantage de 4,1 mois par rapport au groupe placebo. Par la suite, d'autres études de phase III avec des critères d'inclusion plus forts (maladie peu symptomatique acceptée, …) ont été effectuées, montrant le même résultat. La survie globale était donc améliorée malgré une réponse remarquablement faible au niveau de la tumeur (Alifrangis et al 2011).

La sécurité du vaccin a été bonne lors des essais cliniques. Les effets secondaires les plus couramment rencontrés chez plus de 20 % des patients des différentes études ont été : réactions dues à l'injection, fatigue, frissons, douleur, nausées et arthralgies. La plupart des effets secondaires étaient classés de faibles à modérés. Parmi les effets secondaires graves, les AVC étaient plus fréquents chez le groupe traité (7.5 % contre 2.6 % pour le groupe placebo sur les études combinées). La FDA a donc demandé une étude post marketing afin d'étudier ces risques d'AVC chez les 1500 patients qui recevront le Sipuleucel T. L'étude sera finie en 2015 (Hammerstrom et al 2011).

Quelques limites à ces résultats sont cependant présentes. Les études n'ont pas permis d'assurer que les résultats provenaient d'une reconnaissance de l'antigène tumoral. Un placebo raisonnable aurait dû inclure le GMCSF afin de s'assurer que la seule différence entre le vaccin et le placebo soit l'antigène en question. Le fait que la progression de la maladie ne soit pas modifiée de manière significative contrairement à la survie globale est également perturbant et en contradiction avec les essais de chimiothérapie où l'augmentation de la survie globale est corrélée à une régression de la maladie (Hammerstrom et al 2011). La survie est le critère clinique le plus robuste et généralement utilisé par le RECIST pour voir la progression tumorale. Cependant, le RECIST base l'effet thérapeutique sur deux affirmations implicites : les thérapies effectrices détruisent la tumeur et la destruction tumorale est bénéfique (Drake 2010).

Une variable par laquelle l'immunothérapie interagit avec le cancer et amène à un bénéfice de survie n'est peut-être pas encore identifiée. Il est possible que le vaccin n'altère pas la taille de la tumeur mais réduise tout de même son taux de croissance après thérapie complète et/ou une stabilisation de la croissance (Hammerstrom et al 2011).

Une grande limite concerne les problèmes logistiques et économiques : coût de 93.000 dollars pour les 3 injections soit un coût de 23.000 dollars par mois de survie contre 1.800 dollars de coût par mois avec une thérapie standard. Le vaccin est également pour le moment très peu accessible : la thérapie Sipuleucel T est actuellement limitée à 2000 patients, due à la capacité de production de la compagnie. Bien que d'autres usines soient en construction, la logistique reste difficile : la leucaphérèse doit être envoyée à la compagnie qui réalise l'incubation avec la protéine de fusion et doit le renvoyer à temps à la clinique (Hammerstrom et al 2011). Ainsi, le fait que ce soit un vaccin individualisé pose beaucoup de problèmes pour un cancer très commun (Alifrangis et al 2011).

Sa place dans la thérapie contre le cancer de la prostate a été établie : Sipuleucel T est un traitement recommandé de catégorie 1 pour les patients avec preuve de métastases lors de la thérapie de privation androgénique dans le Current Guidelines Nation Comprehensive Cancer Network for Prostate Cancer. Ces guidelines précisent que Sipuleucel T est seulement

recommandé chez les patients en bon état général, avec une maladie peu symptomatique et une espérance de vie de plus de 6 mois (Hammerstrom et al 2011).

Des combinaisons sont actuellement effectuées chez des patients sans métastases (Hammerstrom et al 2011). Le vaccin a été étudié en combinaison avec la radiothérapie et la chimiothérapie dont les résultats seront développés ultérieurement.

b) ProstVac

ProstVac est un vaccin utilisant un vecteur poxvirus recombinant qui code pour un antigène prostatique : la PSA et 3 molécules costimulatrices immunes TRICOM : B7, ICAM-1, LFA-3 afin d'améliorer l'activation des lymphocytes T (Hammerstrom et al 2011). La vaccination est améliorée par la coadministration sous cutanée de GMCSF (Alifrangis et al 2011 ; Gerritsen 2012).

Les vecteurs viraux sont intéressants car ils miment l'infection naturelle et induisent une réponse immunitaire forte. Ils infectent probablement *in vivo* les cellules épithéliales entraînant leur mort. Les débris cellulaires sont alors captés par les cellules présentatrices d'antigènes immatures qui, après avoir été activées, peuvent présenter l'antigène aux lymphocytes T LT-CD_4^+ et LT-CD_8^+ dans un contexte pro inflammatoire (Drake 2010).

Plusieurs phases II chez des patients avec des cancers hormono résistants métastatiques peu symptomatique ont été effectuées. Une amélioration de la survie globale significative de 8,5 mois a été mise en évidence pour le groupe traité et une réduction de 44 % du taux de mort, avec une baisse de PSA chez 37,5 % des patients. 2 patients ont même montré des lésions en baisse. La présence de LT spécifiques de PSA a été démontrée. Le vaccin était bien toléré avec des effets secondaires faibles à modérées : réaction au site d'injection, fatigue, fièvre, nausées. L'action immunosuppressive des LT régulateurs a été démontrée comme décroissante chez les patients vaccinés survivant plus longtemps que prévu, suggérant que la présence de LT spécifiques et d'une moindre proportion de LT Régulateurs peuvent être des marqueurs pronostics d'efficacité (Gerritsen 2012).

Un essai de phase III est actuellement en attente (Gerritsen 2021).
Ce vaccin est également étudié en combinaison avec d'autres thérapies (Hammerstrom et al 2011).

L'inconvénient de ce vaccin vient de sa force : il entraîne une réponse immunologique très forte, entraînant la production d'anticorps neutralisants contre les protéines virales plutôt que contre les antigènes codés (Drake et al 2010).

c) GVAX

GVAX est un vaccin combinant deux lignées cellulaires de cancer de la prostate (PC3 et LNCaP) créées afin de sécréter du GM-CSF (Alifrangis et al 2011 ; Hammerstrom et al 2011 ; Kirkwood et al 2012). Le vaccin est injecté dans le derme, le GM-CSF permet alors l'attraction et l'activation des cellules présentatrices d'antigènes et des lymphocytes T et la création d'une réponse immune contre les antigènes tumoraux des lignées cellulaires (Kirkwood et al 2012).

La phase II a montré une réponse clinique et immunologique modérée avec une toxicité limitée. La phase III n'a pas montré de bénéfice au niveau de la survie globale (Alifrangis et al 2011 ; Kirkwood et al 2012). Une analyse a même montré une mort plus importante chez les patients traités, conduisant à un arrêt de la phase III (Drake 2010).

D'autres vaccins que Sipuleucel T, ProstVac et GVAX sont en étude actuellement comme le DCVax Prostate vaccin, vaccin à base de cellules dendritiques autologues obtenues par leucaphérèse et chargées avec le peptide PSMA dont les phases I et II ont montré l'induction d'une réponse immune ou les vaccins basés sur une thérapie génique, le virus étant généralement utilisé comme véhicule (large génome pour l'insertion du gène, habilité à initier une réponse inflammatoire au site d'injection, coût plus bas par rapport à d'autres vaccins) (Hammerstrom et al 2011).

L'immunothérapie active permet donc une réponse immunitaire très spécifique et durable avec l'établissement d'une réponse mémoire et une toxicité faible. Elle cible la cellule cancéreuse quel que soit son cycle cellulaire contrairement à la chimiothérapie. Sipuleucel T a même été approuvé par la FDA pour le cancer hormono-indépendant métastatique en Avril 2010.

Un phénomène d'épitope spreading est également suspecté lors de ces vaccinations. En effet, Arlen et al ont vaccinés des patients atteints de cancer de la prostate avec un vaccin ciblant la PSA. 3 patients vaccinés ont eu des lymphocytes T spécifiques à un ou plusieurs autres antigènes spécifiques comme MUC-1, PAP ou PSMA, ce qui signe un phénomène d'épitope spreading fortement suspecté (Arlen et al 2006).

Cependant, les résultats sont pour la plupart décevants malgré l'approbation par la FDA de Sipuleucel T et les résultats encourageants de ProstVac VG (Gerritsen 2012).

Une des grandes limites est leur inconstance à stimuler une réponse effectrice et ce malgré l'utilisation d'adjuvants immunologiques permettant la libération lente d'antigène et l'augmentation de la présentation des antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes

(sels d'aluminium, émulsion huile dans eau, ….) (Gerritsen 2012). Cela est imputé au micro environnement tumoral fortement immunosuppresseur et a mené à la recherche de thérapies plus ciblées, permettant d'améliorer la réponse immunitaire anti tumorale déjà existante ou créée grâce à la vaccination en ciblant des molécules clés dans les mécanismes d'immunosuppression existants au niveau du site tumoral.

2) Thérapies ciblées

La connaissance des voies biologiques impliquées dans la propagation et la survie du cancer de la prostate est de plus en plus grande. Le nombre d'options pour cibler une voie cellulaire aberrante en particulier a donc augmenté (Alifrangis et al 2011). Les thérapies ciblées ont pour but la création d'anticorps permettant l'inhibition ou l'activation d'une voie métabolique inhabituelle et développée par la cellule tumorale ou d'améliorer la réponse immunitaire anti tumorale en inhibant les molécules clés des mécanismes d'immunosuppression du microenvironnement tumoral.

a) *Inhibiteurs de l'angiogénèse*

L'utilisation d'une thérapie anti-angiogénique permettrait de stopper la croissance de la tumeur, d'entraîner sa régression voire de bloquer sa capacité à métastaser (Nicholson et al 2004).
Une étude a utilisé l'angiostatine , molécule anti-angiogénique qui inhibe la réponse des cellules endothéliales, et a montré une régression de la tumeur chez 3 patients atteint de carcinomes prostatiques primaires et dans 3 modèles murins sans toxicité apparente (Nicholson et al 2004).

Plusieurs études sont donc en cours sur des stratégies anti-angiogéniques (Nicholson et al 2004) :

- Inhiber la libération de molécules pro angiogéniques par les cellules tumorales ou les cellules autour de la tumeur
- Inhiber l'action stimulatrice de l'angiogenèse de ces molécules
- Inhiber la réponse des cellules endothéliales pour ces molécules
- Délivrer ou induire des molécules anti-angiogéniques

Un anticorps neutralisant anti VEGF a été évalué pour ses effets sur la croissance du carcinome prostatique dans un modèle murin. Il a montré une inhibition complète de l'angiogénèse ainsi que de la croissance de la tumeur après la phase de croissance initiale pré vasculaire indépendante de l'angiogenèse chez les souris traitées (Bhutia et al 2010 ; Nicholson et al 2004). Une autre étude a montré un effet sur la dissémination de métastases qui se retrouve inhibée même à des stades tardifs (Nicholson et al 2004).

De nombreuses autres stratégies ciblant la cytokine IL6 ou les cellules endothéliales de l'hôte sont actuellement à l'essai (Nicholson et al 2004).

b) *Inhibition du potentiel métastatique*

Les thérapies ciblées ont également essayé de cibler les mécanismes engagés dans les métastases osseuses. RANK ligand a émergé comme élément clé dans le développement de métastases ostéoclastiques du cancer de la prostate. Un anticorps contre RANKL a donc été étudié. Dans le modèle murin, son utilisation a été corrélée avec une survie augmentée. Denosumab a alors été étudié chez l'homme afin de voir son effet sur les événements métastatiques osseux. La phase III effectuée chez 1900 patients atteints de cancers de la prostate hormono résistants métastatiques a montré une baisse significative du nombre de métastases osseuses sans différence sur la survie globale. (Alifrangis et al 2011).

c) *Anticorps Anti CTLA4*

Ipilimumab est un anticorps dirigé contre la molécule CTLA4, inhibitrice de l'activation de lymphocytes T (Gerritsen 2012). Cet anticorps monoclonal bloque le signal négatif et améliore donc potentiellement l'activation, la prolifération et l'infiltration tumorale des lymphocytes T et donc la mort tumorale (Gerritsen 2012 ; Kirkwood et al 2012).
Ipilimumab a été étudié comme monothérapie ou en combinaison avec la chimiothérapie ou la radiothérapie dans le cadre du cancer de la prostate hormono résistant (Gerritsen 2012).

Les essais précliniques ont été effectués sur des souris TRAMP. L'injection d'Ipilimumab a été corrélée à une rejection complète de la tumeur pour 42 % des souris et une diminution significative de la taille de la tumeur pour les 58 % restants (Kwek et al 2012).

Les phases I et II ont montré une baisse de la PSA chez les patients traités, sans réduction tumorale (Drake 2010 ; Gerritsen 2012). La phase III est en cours, avec deux essais cliniques comprenant des patients atteints de cancer prostatique hormono-résistant, montrant une tendance à l'amélioration de la survie globale (Drake 2010 ; Kwek et al 2012 ; Miyahira et al 2014).

Le traitement est bien toléré avec la majorité d'effets secondaires faibles : diarrhées ou colites (Hammerstrom et al 2011).

Les résultats décevants de cette immunothérapie proviennent des mécanismes encore peu explicités concernant l'inhibition par CTLA4 dans le cadre du cancer de la prostate. Ipilimumab augmente par exemple les lymphocytes T de faible affinité dans le cancer de la prostate (contrairement à son utilisation dans le cadre du mélanome où il entraîne une augmentation des lymphocytes T de haute affinité et une diminution des lymphocytes T

régulateurs). Une fois ces mécanismes élucidés, la combinaison adéquate, le timing optimal et la sélection appropriée de la population basée sur des paramètres biologiques pourraient mener à des résultats satisfaisants. Il est par exemple important de savoir si la réactivation de lymphocytes T préexistants ou la génération *de novo* de lymphocytes T est plus efficace dans le cadre du cancer de la prostate (Miyahira et al 2014).

Des combinaisons sont donc à l'étude afin de comprendre les mécanismes immunitaires dans le cadre du cancer de la prostate et de surmonter l'immunosuppression et l'évasion tumorale induite (Kirkwood et al 2012) :

- Combinaison avec le vaccin GVAX. La phase I a démontré une diminution partielle chez 23 % des patients de la charge tumorale et une stabilisation de maladie chez 15 patients (Drake 2010 ; Gerritsen 2012). Les données suggèrent fortement un effet dose avec des réponses pour l'ipilimumab administré à plus de 3 mg/kg (Drake 2010).
- Combinaison avec un agent de chimiothérapie, le melphalan. Les essais précliniques ont montré une survie globale de 73 % chez les souris ayant eu la combinaison Ipilimumab + melphalan, contre une survie globale de 44 % chez les souris n'ayant eu que le melphalan (Kwek et al 2012).
- Combinaison avec le traitement hormonal. 55 % des patients traités en combinaison ont atteints des taux indétectables de PSA contre 38 % traités seulement avec la thérapie hormonale. Quelques patients traités à base d'ipilimumab et de la thérapie hormonale ont également eu une réponse clinique avec une diminution de la charge tumorale (Hammerstrom et al 2011).
- Effet additif de l'IFNα avec l'ipilimumab dans un essai clinique de phase II (Kirkwood et al 2012)
- Combinaison de l'ipilimumab avec un anticorps agoniste de la molécule OX40 bloque la croissance tumorale dans le modèle murin (Miyahira et al 2014)

Les combinaisons permettraient donc de surmonter le micro environnement tumoral très immunosuppresseur et de potentialiser la réponse anti tumorale immunitaire. Une synergie entre molécules activant le système immunitaire et molécules bloquant les mécanismes d'immunosuppression est une stratégie récemment employée (Miyahira et al 2014).

d) *Anticorps anti - PD1L*

PD1 est un récepteur inhibiteur exprimé par les lymphocytes T activés, les lymphocytes B et les monocytes (cf *Figure n°21*). Il est surexprimé dans les lymphocytes non fonctionnels présents lors d'infections virales chroniques et de cancers. Les ligands de PD1 sont généralement exprimés par les lymphocytes, les macrophages et les cellules dendritiques induisant ainsi l'anergie ou l'apoptose des lymphocytes T exprimant PD1 afin de réduire les réactions d'auto-immunité (Kirkwood et al 2012).

Les cellules tumorales expriment en grand nombre des ligands PD1 afin d'échapper au système immunitaire par induction de l'anergie ou de l'apoptose des lymphocytes T et génération de lymphocytes régulateurs. La sécrétion de ce ligand entraîne donc la suppression de la fonction effectrice des LT-CD_8^+ (Kirkwood et al 2012).

Le blocage du récepteur PD1 par un anticorps monoclonal a montré une augmentation du nombre des lymphocytes T cytotoxiques fonctionnels spécifiques dans le mélanome humain (Kirkwood et al 2012).

Son utilisation n'a pas encore été étudiée dans le cancer de la prostate bien que les LT-CD_8^+ qui infiltrent le site tumoral semblent exprimés PD1 (Drake 2010).

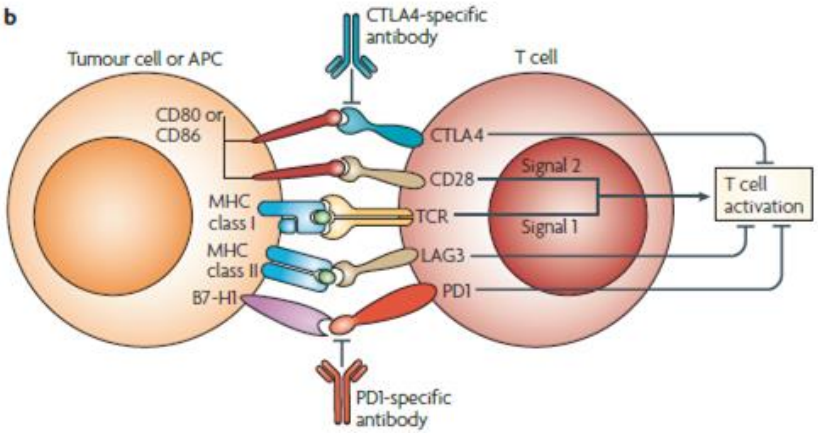


Figure n °21 : les molécules co stimulatrices et co inhibitrices lors de l'interaction CPA-Lymphocyte T

e) *Anticorps anti-CD40*

CD40 est une molécule costimulatrice très exprimée par les cellules immunitaires et différentes cellules cancéreuses. Son expression par les cellules immunitaires entraîne une régulation de l'immunité humorale et cellulaire alors que son expression par les cellules tumorales entraîne une activité pro apoptotique et anti proliférative. CD40 est très exprimé par les cellules dendritiques et son activation par CD40L trouvé sur les lymphocytes T permet l'activation de ces lymphocytes suite à la présentation de l'antigène (Kirkwood et al 2012).

La stimulation de CD40 permet l'induction d'une immunité systémique forte en lymphocytes T cytotoxiques et peut donc avoir des effets antitumoraux à la fois par l'activation des cellules immunitaires et en provoquant directement l'apoptose et l'inhibition de la croissance des cellules tumorales (Kirkwood et al 2012).

CP870.893, un anticorps ciblant CD40, a été utilisé dans des phases I chez des patients atteints de mélanome, de lymphome ou de myélome. Quelques réponses objectives cliniques ont été observées dans le cadre du mélanome. Cependant, les effets secondaires, trop

importants (fièvre, frissons, syndrôme de libération de cytokines), ont menés à l'arrêt des essais cliniques actuellement. (Kirkwood et al 2012).

f) *Agoniste de OX40*

OX40 et OX40L sont des membres de la famille des TNF qui augmentent l'expansion des lymphocytes T, la production de cytokines et la survie des cellules immunitaires (Bhutia et al 2010). OX40 est décrit comme molécule costimulatrice exprimée à la surface des LT-CD_4^+ et des LT-CD_8^+ après activation. Elle permet également de supprimer la fonction immunosuppressive des lymphocytes T régulateurs. Un agoniste de OX40L a été créé et son activité anti tumorale est actuellement mesurée dans le cadre du mélanome (Bhutia et al 2010).

g) *Stratégie épigénétique*

La méthylation de l'ADN, un mécanisme épigénétique, entraîne la répression de l'expression d'antigènes tumoraux prostatiques. La réactivation de l'expression de ces antigènes par thérapie épigénétique pourrait permettre de recréer des cibles tumorales pour des lymphocytes T pré existants ou générés de novo. L'expression de PD1 et PD1L est également régulée par des mécanismes épigénétiques. Les effets d'une thérapie épigénétique pourraient donc être synergiques (Miyahira et al 2014).

Des essais cliniques sont en planification afin de tester une combinaison de modificateurs épigénétiques avec l'ipilimumab ou le nivolumab (Miyahira et al 2014).

Les stratégies génétiques proposent quant à elles d'injecter directement des tumeurs avec un génome modifié comprenant un plasmide ADN codant pour des cytokines et des CMH allogéniques afin de promouvoir la réponse immunitaire contre la tumeur. Ces stratégies sont pour le moment peu efficaces avec un impact immunologique pauvre (Kirkwood et al 2012).

Des stratégies afin d'améliorer la capacité de l'ADN nu à générer une réponse immunitaire ont été testées : coinjection de GMCSF pour augmenter l'attraction de cellules présentatrices d'antigène endogènes, coadministration de molécules costimulatrices, coinjection de plasmides portant des molécules immunostimulatrices (CD40L, IL2, IL12) (Kirkwood et al 2012).

La combinaison de ces stratégies avec l'immunothérapie pourrait être une nouvelle cible thérapeutique. En effet, des études précliniques ont montré une efficacité thérapeutique supérieure de la combinaison (Bhutia et al 2010).

Cependant, beaucoup d'agents se sont avérés non concluants lors des phases II. Cela peut être dû à plusieurs mécanismes : aucune mutation spécifique n'a été identifiée dans le cancer de la prostate, redondance des voies cellulaires… Une des limites repose également sur l'évaluation du bénéfice. En effet, on mesure jusqu'à présent la survie globale et la réponse tumorale. Or, ces drogues mènent plutôt à une cytostasie qu'à une cytotoxicité, le bénéfice devient donc dur à mesurer (Alifrangis et al 2011).

Des combinaisons de thérapies ciblées vont également être essayées, avec jusqu'à 5 drogues ou plus. Ces études doivent trouver les bonnes combinaisons au bon moment chez les bons patients, donner des indications sur les périodes où le traitement peut être initié ou stoppé, afin de conserver un traitement standardisé (Alifrangis et al 2011).

3) IFNα

L'IFNα permet une modulation de la régulation immune, active les lymphocytes T, les NK et les macrophages, affecte l'angiogenèse du carcinome prostatique, inhibe l'expression des oncogènes et contrôle la croissance cellulaire. Il a donc été utilisé dans le cadre du cancer de la prostate métastatique et a montré une inhibition de croissance tumorale et de potentiel métastatique chez des souris traitées avec l'IFNα2β et un agent de chimiothérapie, le docetaxel (Nicholson et al 2004).

Il a également été utilisé en combinaison avec l'ipilimumab et montre des résultats prometteurs (Nicholson et al 2004).

4) Action sur les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques seraient potentiellement inefficaces chez les patients atteints de cancer de la prostate (Garcia et al 2014). En effet, la présentation des antigènes par les cellules dendritiques est défectueuse (Kirkwood et al 2012).

La culture *in vitro* des cellules dendritiques a donc été envisagée afin de les rendre plus efficaces. Cette culture peut les rendre plus affines avec certaines populations et jouer sur le profil des cellules dendritiques, jouant ainsi sur le profil des lymphocytes postérieurement activés. Les cellules dendritiques polarisées de type 1 ont par exemple une capacité forte à induire des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes NK antitumoraux durables. Les cellules dendritiques matures cultivées *ex vivo* acquièrent également une résistance aux facteurs inhibiteurs, pouvant être une option thérapeutique potentielle contre le microenvironnement tumoral, les lymphocytes T régulateurs et les MDSC (Kirkwood et al 2012).

Les cellules dendritiques sont donc à l'étude dans le cancer de la prostate dans des essais cliniques mais montrent actuellement peu de réponse clinique mise à part la vaccination

Sipuleucel T. La question de classification RECIST permettant d'évaluer l'effet des thérapies anti-cancéreuse se pose alors, les vaccins et autres immunothérapies jouant sur le système immunitaire en le rééduquant et ayant donc un effet à long terme ce qui pourrait expliquer le manque de réponse rapide de réjection tumorale malgré une preuve plus tardive de progression tumorale réduite et d'amélioration de la survie globale du patient (Kirkwood et al 2012).

Chez le chien, des protocoles d'immunothérapie comme la vaccination avec des vecteurs viraux ou non viraux, la co-administration de GMCSF ou l'utilisation de cytokines comme IL2 sur des processus néoplasiques métastatiques (Killick et al 2015) ont été effectués sur des mélanomes canins. Les résultats étaient plutôt satisfaisants. Quelques études ont également été réalisées sur d'autres processus néoplasiques tels que les sarcomes ou les lymphomes (Glikin et al 2014). Cependant, aucun protocole n'a été initié concernant le cancer de la prostate canin.

5) Combinaison radiothérapie, chimiothérapie ou traitement hormonal et immunothérapie

a) Immunothérapie et radiothérapie/chimiothérapie

La combinaison de l'immunothérapie avec la radiothérapie ou la chimiothérapie vient de la mise en évidence de l'effet abscopal lors de l'utilisation de la radiothérapie. En effet, il a été observé qu'après radiothérapie, on pouvait mettre en évidence une régression de la maladie à distance du site primaire. Cet effet a été imputé à l'activation du système immunitaire suite à la libération de PAMPs et de DAMPs par la radiothérapie. Ces signaux de danger stimulent fortement les TLR des cellules immunitaires, menant à la production de cytokines et de chimiokines et à l'attraction de cellules dendritiques et autres cellules présentatrices d'antigènes, à la présentation des antigènes aux lymphocytes et donc à l'activation de ces lymphocytes (Miyahira et al 2014). La radiothérapie induit également une augmentation d'expression de Fas, CMH et PSA à la surface des cellules tumorales (Gulley et al 2005). La radiothérapie module donc l'environnement tumoral et peut induire une immunosurveillance tumorale locale et systémique (Bhutia et al 2010 ; Miyahira et al 2014).

Des combinaisons ont donc été testées :

- L'addition d'ipilimumab ou anti PD1L aux protocoles de radiothérapie a montré une régression de la tumeur plus importante localement et à distance chez la souris (Miyahira et al 2014)
- Des essais cliniques récents sur la combinaison de la radiothérapie avec le vaccin ProstVac ont été effectués dont la phase I a montré la genèse d'une réponse immune spécifique adaptative (Bhutia et al 2010). La phase II a montré que 76 % des

patients ayant été traités avec la combinaison avaient un taux trois fois plus grand de lymphocytes T spécifiques par rapport au groupe placebo (Hammerstrom et al 2011)

- Une étude de la combinaison de la radiothérapie avec le vaccin PSA TRICOM et un anticorps monoclonal est en cours (Bhutia et al 2010)

Cependant, la radiothérapie peut avoir des effets controversés également : l'effet abscopal semble plus apparent chez les tumeurs de petite taille, un effet immunosuppressif par induction de l'expression de PD1 et PD1L dans le microenvironnement est possible, … Il est donc nécessaire de comprendre entièrement les interactions entre la radiothérapie et le système immunitaire (dose, timing, …) avant de lancer des essais cliniques (Miyahira et al 2014).

La chimiothérapie, par induction de la mort cellulaire, présentation au système immunitaire de cellules tumorales stressées et/ou mourantes, diminution de la sécrétion de cytokines inhibitrices par les cellules tumorales et la libération d'autres antigènes tumoraux, aurait un effet bénéfique sur la réponse immunitaire anti tumorale (Bhutia et al 2010 ; Hammerstrom et al 2011). Les agents de chimiothérapie ont également une influence sur le micro environnement tumoral : 5-FU entraîne la surexpression de molécules de CMHI par les cellules tumorales, la doxorubicine active les macrophages, le docetaxel augmente les cytokines pro inflammatoires, … Ces mécanismes offrent de nombreuses opportunités pour une synergie thérapeutique avec l'immunothérapie. Il a été reporté récemment que les chimio-immunothérapies pourraient briser de manière efficace l'immunotolérance induite et conduire à une éradication effectrice de la tumeur. Ces mécanismes ont été démontrés dans des modèles murins (Bhutia et al 2010).

Des combinaisons d'agents d'immunothérapie avec des agents de chimiothérapie ont donc été essayées :

- Nouvelle stratégie de vaccination contenant des transgènes PSA et B7.1 en combinaison avec le docetaxel. La phase I a démontré la genèse d'une réponse immune adaptative spécifique (Bhutia et al 2010)
- Phase II portant sur l'utilisation d'un Poxvirus PSA seul ou en combinaison avec de faibles doses de docetaxel chez des patients atteints de cancer de la prostate hormono-résistant. Le groupe traité avec la combinaison avait une durée de survie sans progression de la maladie plus grande (6.1mois contre 3.7 mois pour le groupe traité seulement avec le vaccin) (Hammerstrom et al 2011).
- Une étude a été effectuée sur l'administration de docetaxel seule ou en combinaison avec le vaccin Sipuleucel T chez 51 patients atteint de cancer de la prostate hormono indépendant. Le groupe traité avec le vaccin et l'agent de chimiothérapie ont eu une survie globale plus importante (34.5 mois contre 25.4 mois pour ceux n'ayant reçu que la chimiothérapie et le placebo) (Hammerstrom et al 2011).

De nombreuses études précliniques supportent donc la notion que combiner l'irradiation ou la chimiothérapie avec l'immunothérapie peut être soit additif soit synergique pour la réponse anti tumorale. Cependant, les mécanismes exacts sont complexes et peu élucidés, le phénomène d'épitope spreading n'ayant pas été mis en évidence dans ces combinaisons. Les questions de dose et de calendrier sont cruciales (Drake 2010). De nombreux essais cliniques sont donc nécessaires afin de trouver la bonne combinaison (Drake 2010). Les agents de chimiothérapie ont en effet une capacité différente d'induire la mort cellulaire immunogénique, le choix de l'agent est donc important. Une étude est par exemple en cours actuellement afin d'étudier les effets des vaccins injectés avant le traitement de chimiothérapie et inversement (Hammerstrom et al 2011).

Chez le chien, la chimiothérapie et la radiothérapie sont très peu utilisées, il existe donc peu d'études disponibles afin d'affirmer que la chimiothérapie permet de prolonger ou non l'espérance de vie des animaux atteints de tumeurs prostatiques (Morey 2008). La combinaison avec l'immunothérapie est donc actuellement illusoire.

b) Immunothérapie et traitement hormonal

Les effets de la privation androgénique sur le système immunitaire sont surprenants car le thymus n'est pas connu comme un organe sensible aux androgènes (Drake 2010). Chez les souris âgées, l'ablation d'androgènes semble régénérer le thymus involué et donner de nouveaux lymphocytes T et des effets similaires sont observés chez l'humain (Drake 2010 ; Hammerstrom et al 2011). La régénération thymique mène à l'émigration croissante de lymphocytes T qui restaurent les défauts de fonction des lymphocytes T périphériques observés chez les souris âgées (Koh et al 2009).

Le traitement hormonal induit également l'infiltration de LT-CD_4^+ activés, de macrophages et de cellules dendritiques dans la prostate et l'induction de nouveaux anticorps spécifiques chez les patients traités (Drake 2010 ; Hammerstrom et al 2011 ; Koh et al 2009). Le traitement hormonal mène en effet à l'apoptose massive de cellules androgènes dépendantes, libérant de nouveaux antigènes et induisant l'infiltration immune dans la prostate. Il augmente donc la réponse immune contre l'antigène prostatique. Il diminue également la tolérance des LT-CD_4^+ envers les antigènes tumoraux (Koh et al 2009).

L'effet bénéfique du traitement hormonal a été étudié dans plusieurs essais cliniques :

- Un essai clinique de phase III étudie la combinaison de Prost Vac avec le traitement hormonal (Drake 2010). 41 patients ont reçu soit le vaccin ou le traitement hormonal seul puis reçoivent les deux dès progression de la maladie. La survie médiane des patients qui ont reçu le vaccin en premier a tendance à être plus

importante que ceux qui ont eu le traitement hormonal en premier. Chez les 20 qui ont la combinaison, ceux qui ont reçu le vaccin en premier avait une médiane de survie de 6,2 ans contre 3,7 ans (p= 0,045) (Hammerstrom et al 2011).

- Un essai clinique mené par Arlen et al a comparé la vaccination PSA et le traitement hormonal chez des patients atteints de cancers hormono résistants non métastatiques. Les patients ont eu la possibilité de prendre l'autre traitement si le taux de PSA augmentait lors de l'essai. Le groupe cross over qui a reçu la vaccination avant le traitement hormonal a été comparé au groupe cross over ayant reçu le traitement hormonal puis la vaccination : le temps médian de traitement avant échec étaient de 25.9 mois et 15.9 mois respectivement (Koh et al 2009).
- Sipuleucel T a également été testé en combinaison avec le traitement hormonal où le vaccin a été administré après traitement hormonal. Les résultats n'ont pas encore été publiés (Drake 2010).

La combinaison de l'immunothérapie et de la thérapie hormonale peut être intéressante cliniquement et nécessite de plus amples investigations (Drake 2010). Cette combinaison pourrait en effet améliorer le processus immunitaire déjà présent. La notion de calendrier est importante. En effet, des résultats contradictoires ont été évoqués quant à une combinaison efficace lorsque la vaccination est effectuée en premier ou non (Hammerstrome et al 2011 ; Koh et al 2009). La vaccination thérapeutique peut être idéale pour les patients atteints de cancer de la prostate à stade précoce mis sous simple surveillance avant la mise en place d'un traitement (Koh et al 2009). En effet, la vaccination pourrait alors être effectuée lors de cette période de surveillance avant la mise en place d'un traitement hormonal permettant ainsi un effet primaire du vaccin sur le stade précoce de la tumeur et un effet secondaire améliorant l'efficacité et le bénéfice ultérieurs du traitement hormonal (Koh et al 2009).

La testostérone régule également une variété de gènes impliqués dans la réponse immunitaire de façon complexe. Il est important de savoir quels sont les mécanismes exacts de la testostérone et donc de sa privation afin de prédire son action sur l'efficacité des vaccins. Par exemple, la testostérone augmente la production de la cytokine IL10 immunosuppressive par les lymphocytes T régulateurs mais la voie IFN est également activée par la testostérone (Koh et al 2009).

De nombreux essais cliniques et études pré-cliniques sont en cours en thérapie ciblée dans le cadre du cancer de la prostate métastatique résistant au traitement hormonal. Les stratégies anti angiogéniques telles que l'utilisation de l'angiostatine ou d'un anticorps anti-VEGF ont des résultats prometteurs mais nécessitent d'autres études avant de passer à des essais cliniques. L'ipilimumab est actuellement en phase III d'essai clinique et il semblerait y avoir une amélioration de la survie globale mais les mécanismes exacts de CTLA4 dans le cancer de la prostate nécessitent d'être étudiés avant de lancer d'autres essais. Un anticorps de

CD137 est testé dans des phases I et II d'essais cliniques et les résultats sont en attente. L'utilisation de l'IFNα a montré une inhibition de la croissance tumorale et du potentiel métastatique dans un modèle murin et pourrait être utilisé dans le modèle humain.

L'anticorps anti PD1-Let un agoniste d'OX40L, ayant des résultats très satisfaisants dans le cadre du mélanome, n'ont pas encore été évalués dans le cancer de la prostate et pourraient être une autre piste thérapeutique.

Des combinaisons de protocoles d'immunothérapie avec des protocoles de radiothérapie ou de chimiothérapie sont en cours d'essais avec des résultats prometteurs, probablement synergiques. L'effet abscopal est suspecté dans cette synergie. La combinaison de l'immunothérapie avec le traitement hormonal semble également synergique, la testostérone aurait un effet inhibiteur sur le système immunitaire. Il est cependant primordial de connaître les bonnes doses et le bon calendrier avant de lancer des essais cliniques. La vaccination serait par exemple plus efficace si elle était effectuée avant le traitement hormonal, protocole qui pourrait alors servir pour les patients atteints d'un cancer de la prostate en surveillance active avant qu'ils soient traités.

Une réponse immunitaire anti-tumorale se met donc en place lors du développement d'un phénomène néoplasique. La tumeur parvient néanmoins à échapper à cette tumeur en sélectionnant les clones les moins immunogènes et en créant un micro environnement tumoral immunosuppressif. Les traitements d'immunothérapie actuels arrivent à créer ou à améliorer la réponse immunitaire anti-tumorale mais restent freinés par ce micro environnement. De plus, l'immunothérapie est actuellement proposée pour des cancers avancés, ce qui réduit potentiellement son bénéfice. La clé de la réussite de ces traitements repose donc actuellement sur des combinaisons, visant une amélioration de la réponse anti tumorale ainsi que différentes voies métaboliques du processus néoplasique, et un traitement plus précoce. Il faut comprendre quelle intervention à quel stade de la pathologie serait le plus bénéfique. Les stratégies thérapeutiques devraient intégrer trois éléments : une mort cellulaire cancéreuse immunogénique optimale (en jouant par exemple sur les molécules co-activatrices), une présentation augmentée de l'antigène tumoral (en jouant par exemple sur les cellules dendritiques) et un blocage des checkpoints immunorégulateurs (action des anticorps monoclonaux anti CTLA4 par exemple). Il serait également intéressant de passer à de la médecine personnalisée. Il est pour cela nécessaire actuellement de trouver des biomarqueurs sériques fiables permettant dans l'avenir de traiter les patients de manière individuelle. Cela pourrait par exemple permettre de créer des vaccins personnalisés contre des protéines mutées spécifiques de la tumeur. Il faut cependant étudier en amont l'immunogénicité de ces différentes mutations, études pré cliniques qui sont actuellement en cours. Le cancer de la prostate est un bon modèle pour essayer cette alternative, étant un cancer peu mutagène. La

médecine personnalisée reste néanmoins très peu développée actuellement, par manque de moyens de dépistage ou d'étude rapide et peu coûteuse des biomarqueurs.

Les traitements d'immunothérapie chez l'espèce canine n'en sont actuellement qu'au balbutiement et effectuées principalement sur le mélanome. Aucune étude pré clinique ou clinique n'a encore été effectuée sur le cancer de la prostate canin.

CONCLUSION

Le cancer de la prostate est donc un problème de santé majeure dans l'espèce humaine, nécessitant un modèle pertinent pour l'étude de sa pathogénie, la perfection de son diagnostic ou la création de nouveaux traitements. Le chien, en tant que modèle spontané, est depuis longtemps proposé. Le cancer prostatique canin présente en effet la même présentation clinique, avec un schéma métastatique prioritairement osseux, des similarités anatomiques et histologiques (présence de lésions précancéreuses de HGPIN avec une forte prévalence, présence de lésions fréquentes de PIA), ainsi que des similarités physiopathologiques (anomalies génétiques partagées, rôle de l'inflammation primordial).

Cependant, sa très faible incidence (0.6 % des cancers canins), l'origine histologique distincte entre le cancer prostatique humain (origine acinaire) et canin (origine ductale), la probable androgèno-indépendance du cancer prostatique canin (bien qu'il soit toujours d'actualité de se demander si ce cancer se développe initialement avec une dépendance aux hormones et que sa progression vers un statut réfractaire aux hormones est très rapide ou s'il est dès le départ androgèno-indépendant) ou encore le débat actuel quant aux similarités histologiques des cancers prostatiques canins et humains (les caractéristiques histologiques de la HGPIN telles que la couche basale rompue et les atypies nucléaires sont également retrouvées dans des épithéliums prostatiques canins bénins) nous amènent à nous questionner quant à sa pertinence en tant que modèle du cancer prostatique humain. Les gènes retrouvés à la fois dans l'espèce canine et humaine correspondent à des modifications que l'on retrouve dans des cancers humains à haut score de Gleason, signant des pathologies agressives, évoluant vite vers un stade androgèno-indépendant. Cela conforte donc l'hypothèse que le chien serait un bon modèle pour le cancer de la prostate mais à un stade avancé, androgéno-indépendant. Ces gènes sont néanmoins trouvés à des étapes précoces de la carcinogenèse dans l'espèce canine et à des étapes tardives de la carcinogenèse dans l'espèce humaine, ce qui peut nous faire penser que la carcinogenèse est possiblement différente entre l'espèce humaine et canine.

Le chien serait donc probablement un bon modèle pour les cancers prostatiques de stade avancé androgéno indépendant et souvent métastatique chez l'homme. Le statut réfractaire aux hormones arrive en effet incontestablement chez l'homme, avec une issue parfois fatale. La compréhension des mécanismes moléculaires permettant la progression vers ce stade est critique pour développer des nouvelles cibles thérapeutiques et le chien peut être un candidat en tant que modèle de ce cancer réfractaire aux hormones.

Le modèle humain a, quant à lui, beaucoup à apporter à l'espèce canine. En effet, de meilleures méthodes pour la détection précoce et des thérapies plus efficaces sont nécessaires pour le cancer prostatique canin, le diagnostic de cette pathologie étant trop tardif et menant à un pronostic très réservé. Les similarités génétiques trouvés chez l'homme comme chez le chien suggèrent des mécanises génétiques communs, menant à penser que les anomalies génétiques trouvés chez l'homme devraient être étudiées chez le chien que ça soit lors des étapes précoces ou tardives (stade métastatique) de la carcinogenèse. Quelques-uns de ces gènes cibles ont par ailleurs été étudiés, et retrouvés, dans d'autres cancers canins. Les mécanismes immunopathologiques (immunosélection, immunosubversion) du cancer prostatique humain ainsi que l'avancée de l'immunothérapie dans l'espèce humaine (approbation du vaccin Sipuleucel T par la FDA) devraient être pris en modèle afin de l'appliquer dans l'espèce canine, où les traitements d'immunothérapie n'en sont actuellement qu'au balbutiement et effectués principalement sur le mélanome.

Thèse de Mme FANT Cécile

Le Docteur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

Le Directeur général
VetAgro Sup

Par Délégation
Dr. L. FREYBURGER
Directeur de l'Enseignement
et de la Vie Etudiante
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

Le Président de la thèse

36 GROUPEMENT HOSPITALIER SUD 730
CENTRE HOSPITALIER LYON SUD
69495 PIERRE BENITE Cedex
Unité d'Immunologie Clinique et Allergologie
CONSULTATIONS
Professeur F. BERARD

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 24 NOV. 2015

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Le Président de l'Université,
Professeur F.N GILLY

Bibliographie

Institut National du cancer. Site de l'Institut National du Cancer [en ligne], URL = http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/1-types-cancer/10-cancer-prostate/19-epidemiologie-nationale-cancer-prostate-donnees-essentielles.html/ [consulté le 18 Novembre 2014]

Alcaraz A., Hammerer P., Tubaro A. et al (2009), Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer ? Findings of a literature review, *European Urology*, 55:864 – 875.

Alifrangis C., Hanlon-Brown C., Tuthill M. et al (2011), New drugs for prostate cancer, *BJU International*, 109:1801-1806.

Annels N.E., Simpson G.R., Denyer M. et al (2014), Spontaneous antibodies against Engrailed-2 (EN2) protein in patients with prostate cancer, *Clinical and Experimental Immunology*, 177:428 – 438.

Aquilina J.W., McKinney L., Pacelli A. et al (1998), High grade prostatic intraepithelial neoplasia in military working dogs with and without prostate cancer, *The Prostate*, 36:189 – 193.

Ardiani A., Gameiro S., Kwilas A. et al (2014), Androgen deprivation therapy sensitizes prostate cancer cells to T-cell killing through androgen receptor dependent modulation of the apoptotic pathway, *Oncotarget*, 5(19):9335 – 948.

Arlen P.M., Gulley J.L., Parker C. et al (2006), A randomized phase II study of concurrent docetaxel plus vaccine versus vaccine alone in metastatic androgen-independent prostate cancer, *Clinical Cancer Research*, 12:1260 – 1269.

Axiak S.M. and Bigio A. (2012), Canine prostatic carcinoma, *Vetlearn.com*, Compendium October 2012.

Bahig H., Taussky D., Delouya G. et al (2015), Neutrophil count is associated with survival in localized prostate cancer, BMC Cancer, 15:594.

Bakulski K.M., Fallin M.D. (2014), Epigenetic epidemiology : Promises for Public Health research, *Environ. Mol. Mutagen*. 55:171–183.

Barayan G.A., Brimo F., Bégin L.R. et al. (2014), Factors influencing disease of prostate cancer under active surveillance : a McGill University Health Centre cohort, *BJU International* doi:10.1111/bju.12754.

Barth S.D., Schulze J.J., Kühn T. et al (2015), TReg-Mediated immune tolerance and the risk of solid cancers : findings from EPIC-Heidelberg, *J Natl Cancer Inst*, 11:107 – 114.

Bell F. W., Klausner J.S., Hayden D. W., Feeney D.A. and Johnston S. D. (1991). "Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs : 31 cases (1970-1987).", *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 199(11):1623-1630.

Berger N.A. (2014), Obesity and cancer pathogenesis, *Cancer and obesity*, DOI:10.1111/nyas.12416.

Bernard D., Pourtier-Manzanedo A., Gil J. et al (2003), Myc confers androgen-independent prostate cancer cell growth, *The Journal of Clinical Investigation*, 112:1724 – 1731.

Bhutia S.K., Sanjaya K.M. and Maiti T.K. (2010), Tumour escape mechanisms and their therapeutic implications in combination tumour therapy, *Cell Biology International*, 34:553 – 563.

Blacking T.M., Waterfall M. and Argyle D.J. (2011), CD44 is associated with proliferation rather than a specific cancer stem cell population in cultured canine cancer cells, Veterinary Immunology and Immunopathology, 141:46 – 57.

Blades R., Keating P., McWilliam L., et al (1995), Loss of HLA class I expression in prostate cancer: implications for immunotherapy, *Urology*, 46(5):681 – 686.

Block M.S. and Markovic S. (2009), The Tumor/Immune interface : Clinical evidence of cancer immunosurveillance, immunoediting and immunosubversion, *American Journal of Immunology*, 5:29 – 49.

Bostwick D.G. (1994), High grade prostatic intraepithelial neoplasia, *CANCER Supplement*, Volume 75 n°7.

Bostwick D.G., Pacelli A. and Lopez-Beltran A. (1996), Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia, *The Prostate*, 29:117 – 134.

Bostwick D., Ramnani D. and Qian J. (2000), Prostatic intraepithelial neoplasia : Animal models 2000, *The Prostate*, 43:286-294.

Bostwick D.G., Burke H.B., Djakiew D. et al. (2004), Human prostate cancer risk factors, *Cancer* 101(10 Suppl):2371– 490.

Bronden L.B., Flagstad A. and Kristensen A.T. (2007), Veterinary cancer registries in companion animal cancer : a review, *Veterinary and Comparative Oncology*, 3:133-144.

Bryan J.N., Keeler M.R., Henry C.J. et al (2007), A population study of neutering status as a risk factor for canine prostate cancer, *The Prostate*, 67:1174-1181.

Cannon-Albright L., Farnham J., Bailey M. et al. (2014), Identification of specific Y chromosomes associated with increased prostate cancer risk, *The Prostate*, 74:991-998.

Cheng L., Montironi R., Bostwick D.G. et al (2012), Staging of prostate cancer, *Histopathology*, 60:87 – 117.

Chevalier S., Defoy I., Lacoste J. et al (2002), Vascular endothelial growth factor and signaling in the prostate : more than angiogenesis, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 189:169 – 179.

Cook L.M., Hurst D.R. and Welch D.R. (2011), Metastasis suppressors and the tumor microenvironment, *Seminars in Cancer Biology*, 21:113 – 122.

Cornell K.K, Bostwick D.G., Cooley D.M. et al (2000), Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma : A retrospective analysis of 76 cases, *The Prostate*, 45:173 – 183.

Dall'Ara P. (2003), Immune system and ageing in the dog : possible consequences and control strategies, *Veterinary Research Communications*, 27(Suppl 1):535 – 542.

Daniels N.A., Chen Y-H and Bent S. (2009), Antibiotic and anti-inflammatory use and the risk of prostate cancer, *BioMed Central Research Notes*, 2:57.

Das S., Roth C.P., Wasson L.M. et al (2007), Signal transducer and activator of transcription-6 (STAT6) is a constitutively expressed survival factor in human prostate cancer, *The Prostate*, 67:1550 – 1564.

Davis B.W. and Ostrander E.A. (), Domestic dogs and cancer research : a breed – based genomics approach, *ILAR Journal*, 55:1:59 – 68.

Dayon A. (2008), Rôle de la sphingosine kinase – 1 dans la survie et la progression des cellules tumorales prostatiques LNCaP vers l'androgéno – indépendance, Thèse de doctorat de l'université de Toulouse III – Paul Sabatier.

De Marzo A.M., Coffey D.S. and Nelson W.G. (1999), New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic hyperplasia, *Urology*, 53(Supplement 3A):29 – 40.

De Nunzio C., Kramer G., Marberger M. et al (2011), The controversial relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer : the role of inflammation, *European Urology*, 60:106 – 117.

Delahunt B., Miller R.J., Srigley J.R. et al (2012), Gleason grading : past, present and future, *Histopathology*, 60:75 – 86.

Dennis L.K., Lynch C.F. and Torner J.C. (2002), Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer, *Urology*, 60:78 – 83.

DeSantis C.E., Chieh Lin C., Mariotto A.B. et al. (2014), Cancer treatment and survivorship statistics, *Cancer J Clin* 64:252-271.

Deschamps A. (2006), Le dépistage du cancer de la prostate en médecine générale, Thèse pour le doctorat en médecine, Université Paris XI, Faculté de Médecine Paris Sud.

Dobson J.M., Samuel S., Milstein H. et al (2002), Canine neoplasia in the UK : estimates of incidence rates from a population of insured dogs, *Journal of Small Animal Practice*, 43:240-246.

Doll J.A., Reiher F.K., Crawford S.E. et al (2001), Thrombospondin-I vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor-2 are key functional regulators of angiogenesis in the prostate, *The Prostate*, 49:293 – 305.

Drake C.G. (2010), Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy, *Nature*, August 2010.

Ebelt K., Babaryka G., Figel A.M. et al (2008), Dominance of CD4+ lymphocytic infiltrates with disturbed effector cell characteristics in the tumor microenvironment of prostate carcinoma, *The Prostate*, 68:1-10.

Ellyard J.I., Simson L. and Parish C.R. (2007), Th2-mediated anti-tumour immunity : friend or foe ?, *Tissue Antigens*, DOI : 10.1111/j.1399-0039.2007.00869.x.

Fonseca-alves C.E., Rodrigues M.M.P., De Moura V. et al (2013), Alterations of c-Myc NKX3.1 and E-Cadherin expression in canine prostate carcinogenesis, *Microscopy research and technique*, 76:1250 – 1256.

Forsberg O., Carlsson B., Malmström P-U et al (2009), High frequency of prostate antigen-directed T cells in cancer patients compared to healthy age-matched individuals, *The Prostate*, 69:70 – 81.

Foster C.S., Cornford P., Forsyth L. et al (1999), The cellular and molecular basis of prostate cancer, *British Journal of Urology*, 83:171 – 194.

Fujii T., Shimada K., Asai O. et al (2013), Immunohistochemical analysis of inflammatory cells in benign and precancerous lesions and carcinoma of the prostate, *Pathobiology*, 80:119 – 126.

Gajewski T.F., Meng Y., Blank C. et al (2006), Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment, *Immunological Reviews*, 213:131 – 145.

Garcia A., Ruscetti M., Arenzana T. et al (2014), Pten Null prostate epithelium promotes localized myeloid-derived suppressor cell expansion and immune suppression during tumor initiation and progression, *Molecular and Cellular Biology*, 34(11):2017 – 2028.

Gerritsen W.R. (2012), The evolving role of immunotherapy in prostate cancer, *Annals of Oncology*, 23(Supplement 8):22-27.

Giovannucci E. (1995), Epidemiologic characteristics of prostate cancer, *Cancer* 75:1766-77.

Glikin G.C. and Finocchiaro L.M. (2014), Clinical trials of immunogene therapy for spontaneous tumors in companion animals, *The Scientific World Journal*, ID 718520.

Groh V., Rhinehart R., Secrist H. et al (1999), Broad tumor-associated expression and recognition by tumor-derived γδT cells of MICA and MICB, *Immunology*, 96:6879 – 6884.

Gulley J.L., Arlen P.M., Bastian A. et al (2005), Combining a recombinant cancer vaccine with standard definitive radiotherapy in patients with localized prostate cancer, *Clinical Cancer Research*, 11:3353 – 3362.

Guo Z., Xing Z., Cheng X. et al (2015), Somatostatin derivate (smsDX) attenuates the TAM-stimulated proliferation, migration and invasion of prostate cancer via NFkB regulation, *PLOS ONE*, doi:10.1371/journal.pone.0124292.

Haggman M.J., Macoska J.A., Wojno K.J. et al (1997), The relationship between prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer : critical issues, The Journal of Urology, 158:12 – 22.

Halvorsen O.J. (2008), Molecular and prognostic markers in prostate cancer, *APMIS*, Supplément n°123, Volume n°116.

Hammerstrom A.E., Pharm D., Cauley D.H. et al (2011), Cancer immunotherapy : Sipuleucel-T and beyond, *Pharmacotherapy*, 31:813-828.

Humphrey P.A. (2012), Histological variants of prostatic carcinoma and their significance, *Histopathology*, 60:59 – 74.

Idorn M., Kollgaard T., Kongsted P. et al (2014), Correlation between frequencies of blood monocytic myeloid-derived suppressor cells, regulatory T cells and negative prognostic markers in patients with castration-resistance metastatic prostate cancer, *Cancer Immunology Immunotherapy*, 63:1177 – 1187.

Ismail A H.R., Landry F., Aprikian A.G. et al (2002), Androgen ablation promotes neuroendocrine cell differentiation in dog and human prostate, The Prostate 51:117 – 125.

Ito K. (2009), Prostate-specific antigen-based screening for prostate cancer : Evidence, controversies and future perspectives, *International Journal of Urology*, 16:458-464.

Jin J-K., Dayyani F. and Gallick G.E. (2011), Steps in prostate cancer progression that lead to bone metastasis, *International Journal of Cancer*, 128:2545 – 2561.

Johnston S.D., Kamolpatana K. Root-Kustritz M.V. et al (2000), Prostatic disorders in the dog, *Animal reproduction science*, 60:405 – 415.

Keller J.M., Schade G.R., Ives K. et al (2013), A novel canine model for prostate cancer, *The Prostate*, 73:952 – 959.

Kelsey J.L., Moore A.S. And Glickman L.T. (1998), Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pet dogs, *Epidemiologic Reviews,* 20:204-217.

Khamis Z.I., Iczkowski K.A. and Amy Sang Q-X (2011), Metastasis suppressors in human benign prostate, intraepithelial neoplasia, and invasive cancer : their prospects as therapeutic agents, Medicinal Research Reviews, 32:1026 – 1077.

Killick D.R., Stell A.J. and Catchpole B. (2015), Immunotherapy for canine cancer : is it time to go bac to the future ?, *Journal of Small Animal Practice*, 56:229 – 241.

Kimura T., Onozawa M., Miyazaki J. et al. (2014),Prognostic impact of young age on stage IV prostate cancer treated with primary androgen deprivation therapy, *International Journal of Urology*, 21:578-583.

Kirkwood J.M., Butterfield L.H., Tarhini A.A. et al (2012), Immunotherapy of Cancer in 2012, *A Cancer Journal for Clinicians*, 62:309-335.

Kiviharju-af Hällström T.M. and Laiho M. (2008), Genetic changes and DNA damage responses in the prostate, *The Prostate*, 68:902 – 918.

Koenig A., Bianco S.R., Fosmire S. et al (2002), Expression and significance of p53, Rb, p21/waf-1, p16/ink-4a and PTEN tumor suppressors in canine melanoma, *Veterinary Pathology*, 39:458 – 472.

Koh Y.T., Gray A., Higgins S.A. et al (2009), Androgen ablation augments prostate cancer vaccine immunogenicity only when applied after immunization, *The Prostate*, 69:571 – 584.

Koochekpour S., Zhang Y., Beroukhim R., et al (2005), Amplification and overexpression of prosaposin in prostate cancer, *Genes, Chromosomes and Cancer*, 44:351 – 364.

Kristiansen G. (2012), Diagnostic and prognostic molecular biomarkers for prostate cancer, *Histopathology*, 60:125 – 141.

Kwek S.S., Cha E. and Fong L. (2012), Unmasking the immune recognition of prostate cancer with CLTA4 blockade, *Nat Rev Cancer*, 12(4):289 – 297.

L'Eplattenier H.F., Li Lai C., Van Den Ham R. et al (2007), Regulation of COX-2 expression in canine prostate carcinoma : increased COX-2 expression is not related to inflammation, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21:776 – 782.

Leal J., Hamdy F., Wolstenholme J. (2014), Estimating age and ethnic variation in the histological prevalence of prostate cancer to informe the impact of screening policies, *International Journal of Urology* 21:786–79.

Lean F.Z.X., Kontos S. and Palmieri C. (2014), Expression of –catenin and mesenchymal markers in canine prostatic hyperplasia and carcinoma, *Journal of Comparative Pathology*, 150:373 – 381.

Leav I., Schelling K.H., Adams J.Y. et al (2001), Role of canine basal cells in prostatic post natal development, induction of hyperplasia, sex hormone-stimulated growth; and the ductal origin of carcinoma, *The Prostate*, 47:149 – 163.

Leroy B.E. and Northrup N. (2009), Prostate cancer in dogs : comparative and clinical aspects, *The Veterinary Journal*, 180:149 – 162.

Levine R.A., Forest T. and Smith C. (2002), Tumor suppressor PTEN is mutated in canine osteosarcoma cell lines and tumors, *Veterinary Pathology*, 39:372 – 378.

Lévy X., Nizanski W., Von Heimendahl A. et al (2014), Diagnosis of common prostatic conditions in dogs : an update, *Reproduction in domestic animals*, 49 (Suppl. 2):50 – 57.

Lin A-C., Liao C-W., Lin S-W. et al (2015), Canine heat shock protein 27 promotes proliferation, migration and doxorubicin resistance in the canine cell line DTK-F, *The Veterinary Journal*, DOI 10.1016/j.tvjl.2015.02.023.

Madewell B.R., Gandour-Edwards R. and DeVere White R.W. (2004), Canine prostatic intraepithelial neoplasia : Is the comparative model relevant ?, *The Prostate*, 58:314-317.

Madrazo J., Garcia-Fernandez R.A., Garcia-Iglesias M.J. et al (2009), The role of CD44 adhesion factor in canine mammary carcinomas, *The Veterinary Journal*, 180:371 – 376.

Markt S.C., Rider J.R., Penney K.L. et al. (2014), Genetic variation across C-reactive protein and risk of prostate cancer, *The Prostate*, 74:1034-1042.

Matsueda S., Yao A., Ishihara Y. et al (2004), A prostate stem cell antigen-derived peptide immunogenic in HLA-A24 prostate cancer patients, The Prostate, 60:205-213.

Miles A.K., Rogers A., McCulloch T. et al (2011), Expression of the tumour antigen T21 is up-regulated in prostate cancer and is associated with tumour stage, *BJU International*, 109:796-805.

Minardi D., Scartozzi M., Montesi L. et al (2015), Neutrophil-to-lymphocyte ratio may be associated with the outcome in patients with prostate cancer, *SpringerPlus*, 4:255.

Miyahira A.K., Kissick H.T., Bishop J.L. et al (2014), Beyond immune checkpoint blockade : new approaches to targeting host-tumor interactions in prostate cancer : report from the 2014 Coffey-Holden Prostate Cancer Academy Meeting, *The Prostate*, DOI 10.1002/pros.22920.

Morey E. (2008), Démarches diagnostique et thérapeutique des affections prostatiques chez le chien, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Moulay M., Liu W., Willenbrock S. et al (2013), Evaluation of stem cell marker gene expression in canine prostate carcinoma – and prostate cyst – derived cell lines, *Anticancer Research*, 33:5421 – 5432.

Nakai Y. and Nonomura N. (2013), Inflammation and prostate carcinogenesis, *International Journal of Urology*, 20:150-160.

Neeley Y.C., Arredouani M.S., Hollenbeck B. et al (2008), Partially circumventing peripheral tolerance for oncogene-specific prostate cancer immunotherapy, *The Prostate*, 68:715 – 727.

Nicholson B. and Theodorescu D. (2004), Angiogenesis and prostate cancer tumor growth, *Journal of Cellular Biochemistry*, 91:125 – 150.

Obradovich J. and Goullaud E. (1987), The influence of castration on the development of prostatic carcinoma in the dog, *Journal of veterinary internal medicine*, 1:83 – 187.

Onukwugha E., Osteen P., Jayasekera J. et al. (2014), Racial disparities in urologist visits among elderly men with prostate cancer : A Cohort analysis of patient-related and county of residence-related factors, *Cancer* 000:000-000.

Ozenci V., Miller A.M., Palmborg A. et al (2005), Presence and specificity of tumor associated lymphocytes from ascites fluid in prostate cancer, *The Prostate*, 65:20 – 26.

Palmieri C. (a), Mancini M., Benazzi C. et al (2014), Heat shock protein 90 is associated with hyperplasia and neoplastic transformation of canine prostatic epithelial cells, *Journal of Comparative Pathology*, 150:393 – 398.

Palmieri C. (b), Lean F.Z., Akter S.H. et al (2014), A retrospective analysis of 111 canine prostatic samples : histopathological findings and classification, *Veterinary Science*, 97:568 – 573.

Portela P., Jobim L.F., Salim P.H. et al (2012) Analysis of KIR gene frequencies and HLA class I genotypes in prostate cancer and control groupe, *International journal of immunogenetics*, 39:423-428.

Poutahidis T., Rao V.P., Olipitz W. et al (2009), CD4+ lymphocytes modulate prostate cancer progression in mice, *International Union Against Cancer*, 125:868-878.

Prezioso D., Denis L.J., Klocker H. et al. (2007), Estrogens and aspects of prostate disease, *International Journal of Urolog*y, 14:1-16.

Qiu C.W., Lin D.G., Wang J.Q. et al (2008), Expression and significance of PTEN and VEGF in canine mammary gland tumours, *Veterinary Research Communications*, 32:463 – 472.

Rajarubendra N., Lawrentschuk N., Bolton D.M. et al (2010), Prostate cancer immunology – an update for urologists, *BJU International*, 107:1046-1051.

Ressel L., Millanta F., Caleri E. et (2009), Reduced PTEN protein expression and its prognostic implications in canine and feline mammary tumors, *Veterinary Pathology*, 46:860 – 868.

Rodrigues M., Di Santis G.W., De Moura V. et al (2010), COX-2 and TGF-β expression in proliferative disorders of canine prostate, *Veterinary Pathology*, 3:31 – 36.

Rodrigues M.M.P., Rema A., Gartner M.F. et al (2013), Role of adhesion molecules and proliferation hyperplasic, pre neoplastic and neoplastic lesions in canine prostate, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16:1324 – 1329.

Romanucci M., Frattone L., Ciccarelli A. et al (2014), Immunohistochemical expression of heat shock proteins, p63 and androgen receptor in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma in the dog, *Veterinary and Comparative Oncology*, DOI 10.1111/vco.12113.

Ronca R., Alessi P., Coltrini D. et al (2013), Long pentraxin-3 as an epithelial – stromal fibroblast growth factor-targeting inhibitor in prostate cancer, *Journal of Pathology*, 230:228 – 238.

Rossignol A., Villers A., Molinié V. et al (2004), Histologie et immunohistochimie de la prostate du chien. Validité du modèle animal pour l'étude des lésions précancéreuses, *Revue Méd. Vét.*, 155:1: 21 – 26.

Sakib Hossain D., Moreira D., Zhang D. et al (2014), Targeted TLR9-activation/STAT3-blocking abrogates immunosuppressive functions of myeloid-derived suppressor cells from late-stage prostate cancer patients, *Society for Immunotherapy of Cancer*, 29th Annual Meeting, Poster presentation.

Santegoets S., Stam A. Lougheed S. et al (2014), Myeloid derived suppressor and dendritic cell subsets are related to clinical outcome in prostate cancer patients treated with prostate GVAX ad ipilimumab, *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2:31.

Schottenfeld D. (1981), The epidemiology of cancer : An overview, *Cancer* 47:1095-1108.

Sfanos K.S. And De Marzo A.M. (2012), Prostate cancer and inflammation : the evidence, *Histopathology*, 60:199-215.

Silvestri I., Cattarino S., Agliano A. et al (2015), Beyond the immune suppression : the immunotherapy in prostate cancer, *Biomed Research International*, ID 794968.

Smith J. (2008), Canine prostatic disease : A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment, *Theriogenology*, 70:375 – 383.

Sorenmo K.U., Goldschmidt M., Shofer F. et al (2003), Immunohistochemical characterization of canine prostatic carcinoma and correlation with castration status and castration time, *Veterinary and Comparative Oncology*, 1:48-56.

Sorenmo K.U., Goldschmidt M.H., Shofer F.S. et al (2004), Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 and the effect of cyclooxygenase inhibitors in canine prostatic carcinoma, *Veterinary and Comparative Oncology*, 2:13 – 23.

Spee B., Jonkers M., Arends B. et al (2006), Specific down-regulation of XIAP with RNA interference enhances the sensitivity of canine tumor cell-lines to TRAIL and doxorubicin, *Molecular Cancer*, 5:34.

Stagg J., Johnstone R.W. and Smyth M.J. (2007), From cancer immunosurveillance to cancer immunotherapy, *Immunological Reviews*, 220:82 – 101.

Swinney G.R. (1998), Prostatic neoplasia in five dogs, *Aust Vet I*, Vol 76 n° 10.

Symes J., Kurin M., Fleshner N. et al (2008), Fas-mediated killing of primary prostate cancer cells is increased by mitoxantrone and docetaxel, *Molecular Cancer Therapy*, 7(9):3018 – 3028.

Symes J., Siatskas C., Fowler D. et al (2009), Retrovirally transduced murine T lymphocytes expressing FasL mediate effective killing of prostate cancer cells, *Cancer Gene Therapy*, 16(5):439 – 452.

Tamura M., Gu J., Tran H. et (1999), PTEN gene and integrin signaling in cancer, Journal of the National Cancer Institute, 91:1820 – 1828.

Tan R.B.W., Silberstein J.L., and Hellstrom W.J.G. (2014), Testosterone and the Prostate, *Sex Med Rev*, DOI 10. 1002/smrj.29.

Taverna G., Giusti G., Seveso M. et al (2013), Mast Cells as a potential prognostic marker in prostate cancer, *Disease Markers*, 35:711 – 720.

Tenuta A., Klotz L. and Parker J.L. (2013), Clinical trial risk in castration-resistant prostate cancer : immunotherapies show promise, *BJU International* 133:82 – 89.

Teske E., Naan E.C., Van Dijk E.M et al. (2002), Canine prostate carcinoma : epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197:251-255.

Thorpe A. and Neal D. (2003), Benign prostatic hyperplasia, *The Lancet*, 361:1359 – 1367.

Thudi N. (2009), Pathogenesis of osteoblastic metastasis in prostate cancer : role of animal models, Thèse d'université – Université d'Ohio.

Wang M-H, Helzlsouer K.J., Smith M.W. et al (2009), Association of IL10 and other immune response- and obesity-related genes with prostate cancer in CLUE II, *The Prostate*, 69:874 – 885.

Waters D.J. (a), Hayden D.W., Bell F.W. et al (1997), Prostatic intraepithelial neoplasia in dogs with spontaneous prostate cancer, *The Prostate*, 30:92 – 97.

Waters D.J. (b) and Bostwick D.G. (1997), Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in the canine prostate, *The Journal of Urology,* 157:713 – 716.

Waters D.J., Shen S. and Glickman L.T. (2000), Life expectancy, antagonistic pleiotropy and the testis of dogs and men, *The Prostate*, 43:272-277.

Wikström P., Damber J-E and Bergh A. (2001), Role of transforming growth factor-β1 in prostate cancer, *Microscopy research and technique*, 52:411 – 419.

Wikström P., Lissbrant I.F., Stattin P. et al (2002), Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer, *The Prostate*, 51:268 – 275.

Zuccari D., Castro A., Gavioli A.F. et al (2009), The maspin expression in canine mammary tumors : an immunohistochemical and molecular study, *Pesquisa Veterinaria Brasileira* , 29:167 – 173.

Annexes

Annexe n°1 : Classification TNM clinique pour les tumeurs prostatiques d'après l'AJCC (American Joint Committee on Cancer 2010)

Stade			**Classification clinique**
T comme Tumeur			
	T0		Pas de preuve de tumeur primaire
	T1		Tumeur cliniquement inapparente, non palpable et non visible à l'imagerie
		T1a	Incidence histologique de la tumeur ⩽ 5% du tissu reséqué
		T1b	Incidence histologique de la tumeur > 5% du tissu reséqué
		T1c	Tumeur identifiée par biopsies à l'aiguille fine
	T2		Tumeur confinée dans la prostate
		T2a	Tumeur présente dans moins de la moitié d'un lobe
		T2b	Tumeur présente dans plus de la moitié d'un lobe
		T2c	Tumeur présente dans les deux lobes
	T3		Tumeur s'étend au-delà de la capsule prostatique
		T3a	Extension extracapsulaire (unilatérale ou bilatérale)
		T3b	Tumeur envahit les vésicules séminales
	T4		Tumeur envahit des structures adjacentes autres que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, vessie, muscle levator, mur pelvien…)
N comme Nœud Lymphatique			
	N0		Pas de métastase dans les nœuds lymphatiques régionaux
	N1		Métastases dans les nœuds lymphatiques régionaux
M comme Métastases			
	M0		Pas de métastase à distance
	M1		Métastases à distance
		M1a	Métastases dans nœuds lymphatiques non régionaux
		M1b	Métastases osseuses
		M1c	Métastases à d'autres sites avec ou sans métastases osseuses

Annexe n°1 bis : Etablissement d'un stade global prenant en compte la classification TNM, le taux de PSA (ng/mL) et le score de Gleason d'après l'AJCC (American Joint Committee on Cancer, 2010)

Stade	T	N	M	PSA (ng/mL)	Score de Gleason
I	T1a-c	N0	M0	< 10	⩽ 6
	T2a	N0	M0	< 10	⩽ 6
	T1-2a	N0	M0	X	X
IIA	T1a-c	N0	M0	< 20	7
	T1a-c	N0	M0	⩾ 10 et < 20	⩽ 6
	T2a	N0	M0	< 20	7
	T2b	N0	M0	< 20	⩽ 7
	T2b	N0	M0	X	X
IIB	T2c	N0	M0	N'importe quelle valeur de PSA	N'importe quel score de Gleason
	T1-2	N0	M0	⩾ 20	N'importe quel score de Gleason
	T1-2	N0	M0	N'importe quelle valeur de PSA	⩾ 8
III	T3a-b	N0	M0	N'importe quelle valeur de PSA	N'importe quel score de Gleason
IV	T4	N0	M0	N'importe quelle valeur de PSA	N'importe quel score de Gleason
	N'importe quel stade T	N1	M0	N'importe quelle valeur de PSA	N'importe quel score de Gleason
	N'importe quel stade T	N'importe quel stade N	M1	N'importe quelle valeur de PSA	N'importe quel score de Gleason

Annexe n°2 : Gènes cibles incriminés dans la carcinogenèse du cancer de la prostate humain et canin

Régulation du cycle cellulaire et de la prolifération cellulaire					
	Gène Cible	**Rôle**	**Homme**	**Chien**	**Commentaires**
	« checkpoints » du cycle cellulaire Gènes mutés/inhibés/ supprimés ou oncogènes Concernent principalement les « checkpoints » entre les phases G1 et S et les phases G2 et M	Cascades biochimiques permettant de stopper ou supprimer la progression du cycle cellulaire en réponse à un dommage ADN. Intégrité information génétique.	***p16*** et perte d'hétérozygotie dans 20 % des cancers de la prostate primaire. Gène altéré lors de HGPIN. (Halvorsen 2008) ***p27*** et expression diminuée dans la PIN, le carcinome prostatique précoce, invasif et métastatique. (Halvorsen 2008)	Aucune étude à ce jour dans le carcinome prostatique canin *(*) Sous partie 2)a)ii.*	Evènements se déroulant à un stade précoce de la carcinogenèse. (Halvorsen 2008)
	PTEN	Régulation du cycle cellulaire Adhésion cellulaire Migration cellulaire	Délétion & perte d'hétérozygotie dans 40 % des cancers de la prostate (Halvorsen 2008 ; Kiviharju-af Hällström et al 2008) Mutations ponctuelles non héréditaires dans 16 % des carcinomes locaux, la fréquence augmente au stade métastatique (Halvorsen 2008) Hyperméthylation de l'ADN	Pas d'étude à ce jour sur l'expression de PTEN dans le cancer prostatique canin. *(*) Sous partie 2)a)iii.*	Evènement tardif de la carcinogenèse : mutations fréquentes dans les cancers prostatiques de haut grade. (Tamura et al 1999)
	TGFβ	Régulation de la croissance cellulaire,	Acquisition d'une résistance à l'inhibition de la croissance de	Acquisition d'une résistance à l'inhibition de la croissance de	Evènement précoce, corrélé avec la progression

		angiogenèse, modulation de la MEC	TGFβ1 par perte ou dysfonctionnement des récepteurs à TGFβ1 (Wikström et al 2002)	TGFβ1 par perte ou dysfonctionnement des récepteurs à TGFβ1 (Wikström et al 2002)	du cancer. (Wikström et al 2002)
	Récepteur androgénique	Prolifération des cellules prostatiques	Altérations *(cf sous-partie 4))*	Altérations (cf sous-partie 4))	
Gènes impliqués dans l'échappement à la mort cellulaire					
	Bcl-2 et Bax/Bak	Blc2 & anti apoptotique Bax/Bak & pro-apoptotique Balance lors croissance physiologique	Renforcement de l'expression de Blc-2 et diminution de l'expression de Bax (Bhutia et al 2010 ; Stagg et al 207) Anomalies retrouvées dans la HGPIN (Haggman et al 1997)	Aucune étude à ce jour	Evènements précoces (Haggman et al 1997) Rôle capital lors du passage du cancer androgéno-dépendant au cancer androgéno-indépendant (Bostwick et al 1996 ; Halvorsen 2008)
	TRAIL et NFκB	TRAIL & pro-apoptotique NFκB & anti-apoptotique	Aucune étude à ce jour	Aucune étude à ce jour dans le carcinome prostatique canin *(*) sous partie 2)b)ii.*	
	HSPs	Propriétés anti-apoptotiques	Surexpression des HSPs dans les lésions de HGPIN et de carcinome prostatique (Romanucci et al 2014)	Surexpression des HSPs dans les lésions de HGPIN et carcinome prostatique (Romanucci et al 2014)	Liée, chez l'homme, à un carcinome de haut score de Gleason et un développement précoce d'une maladie réfractaire aux hormones (Romanucci et al 2014)
Gènes impliqués dans l'autosuffisance en signaux de croissance					

	EGF	Facteur de croissance	Expression possiblement augmentée dans le cancer prostatique. (Bostwick et al 1996 ; Haggman et al 1997) Surexpression de son récepteur dans 40 % à 80 % des cellules cancéreuses prostatiques. (Alifrangis et al 2011)	Aucune étude à ce jour	Récepteur peu exprimé dans les lésions HGPIN : surexpression d'EGFR peut avoir un rôle crucial dans le passage de la HGPIN au carcinome prostatique (Prezioso et al 2007)
	FGF	Facteur de croissance	Expression par les cellules cancéreuses prostatiques FGF6 que les cellules saines n'expriment pas. (Nicholson et al 2004) Son expression augmente de la lésion HGPIN au cancer prostatique (Nicholson et al 2004)	Aucune étude à ce jour	
	IGF	Facteur de croissance	Méthylations de la région ICR du gène maternel augmentant l'expression d'IGF2 (Bhutia et al 2010)		
	PTEN	Contrôle des mécanismes d'action d'EGF et IGF	Inhibition de PTEN & augmentation de la sensibilité des cellules prostatiques aux facteurs de croissance (Halvorsen 2008)	Aucune étude à ce jour	
Gènes impliqués dans l'angiogenèse soutenue					
	TGFβ1	Prolifération des cellules endothéliales et formation de nouveaux	Surexpression dans les cellules prostatiques cancéreuses. (Wikström et al 2002)	Surexpression dans les cellules de l'adénocarcinome prostatique. (Rodrigues et al 2010)	Surexpression corrélée à une densité vasculaire augmentée, un stade tumoral plus grand et un score de Gleason augmenté (Wikström et al 2002)

		vaisseaux			
	VEGF	Facteur pro angiogénique	Surexpression de VEGF (Wikström et al 2002) Présence accrue de récepteurs à VEGF au niveau des cellules prostatiques malignes (et particulièrement des cellules neuro-endocriniennes) (Chevalier et al 2002)	Présence accrue de récepteurs à VEGF au niveau des cellules prostatiques malignes (et particulièrement des cellules neuro-endocriniennes) (Chevalier et al 2002)	Surexpression corrélée à une densité vasculaire augmentée, un stade tumoral plus grand et un score de Gleason augmenté (Chevalier et al 2002) Possible rôle dans la progression du cancer prostatique vers un stade androgène indépendant (Chevalier et al 2002)
	bFGF	Facteur pro-angiogénique	Surexpression de bFGF et de son récepteur (Nicholson et al 2004)	Aucune étude à ce jour	Rôle lors du passage d'un cancer androgène dépendant à un cancer androgène indépendant (Ronca et al 2013)
	IL8	Facteur pro-angiogénique	Surexpression (Nicholson et al 2004)	Aucune étude à ce jour	
	TSP1	Inhibiteur de l'angiogenèse	Diminution de son expression variable (Doll et al 2001)	Aucune étude à ce jour	
Gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et la communication intercellulaire					
	E, N et P cadhérines	Adhésion cellulaire	« cadherin switch » : Expression réduite de la E cadhérine et augmentation de l'expression de N et P cadhérines (Halvorsen 2008)	E cadhérine sous exprimée dans les carcinomes prostatiques (Rodrigues et al 2013) Lésions précancéreuses &	Perte d'expression de E cadhérine corrélée avec un pronostic plus faible chez l'homme (Rodrigues et al 2013)

				réduction de l'expression de E Cadhérine de plus de 50 % dans 30 % des cas (Rodrigues et al 2013)	
	Caténines	Régulation de l'adhésion cellulaire des cadhérines	Mutation du gène APC et altération de l'expression de la β-caténine (Halvorsen 2008)	Altération de l'expression de la β-caténine (Rodrigues et al 2013)	15 % des facteurs génétiques contribuant au cancer de la prostate (facteurs familiaux) ont été liés à une inactivation du gène APC (Halvorsen 2008)

(*) A été étudié chez le chien dans d'autres tumeurs telles que les tumeurs mammaires ou l'ostéosarcome

Annexe n°3 : Gènes cibles incriminés dans le processus métastatique chez le cancer prostatique humain et canin

Gène	Rôle	Homme	Chien	Commentaires
CD44	Adhésion intercellulaire ou avec la matrice extra cellulaire Migration cellulaire	Perte d'expression de CD44 de plus en plus croissante de la lésion de HGPIN aux lésions métastatiques. (Khamis et al 2011) Perte d'expression par méthylation au niveau de son promoteur sur le chromosome 11. (Khamis et al 2011)	Aucune étude à ce jour dans le carcinome prostatique *(*) Sous partie 2)a)*	Perte d'expression précoce au processus métastatique et facilite la migration des cellules cancéreuses hors du site primaire. (Khamis et al 2011)
Drg-1	Régulation cellulaire Suppression de la dissémination métastatique	Perte d'expression croissante : 70 % des cellules cancéreuses d'un carcinome prostatique localisé l'expriment, plus que 25 % pour un cancer métastatique (Khamis et al 2011)	Aucune étude à ce jour	
E Cadhérine	Communication et adhésion inter cellulaires	76 % des cellules métastatiques prostatiques ont une expression anormale de E Cadhérine (Bostwick et al 1996 ; Khamis et al 2011) Perte d'expression par mutation ou perte d'hétérozygotie Activité épigénétique également mise en cause (méthylation de l'ADN, régulation de la transcription/post transcription) (Khamis et al 2011)	Perte d'expression de E Cadhérine par méthylation (Fonseca-Alves et al 2013)	Etape précoce du processus métastatique. (Khamis et al 2011) Permet invasion du stroma et le passage dans le torrent sanguin. (Khamis et al 2011)
KAI 1	Suppresseur de métastases	Diminution de son expression corrélée à la progression vers un stade métastatique. (Khamis et al 2011) Phénomènes de méthylations fortement probables. (Khamis et al 2011)	Aucune étude à ce jour	
Maspin	Ubiquitaire (adhésion cellulaire, inhibition croissance tumorale,	Diminution de son expression progressive lors du carcinome prostatique, corrélée au potentiel	Aucune étude à ce jour dans le carcinome	Diminution de l'expression de Maspin associée à un pronostic plus sombre (Zuccari et al 2009).

	mobilité, apoptose, …)	métastatique (Khamis et al 2011)	prostatique canin *(*) Sous partie 2)e)*	
MKK4	Ubiquitaire	Diminution de son expression progressive du carcinome prostatique local au carcinome prostatique métastatique. (Khamis et al 2011) Diminution de son expression plus forte après l'arrivée des cellules aux sites secondaires. (Khamis et al 2011)	Aucune étude à ce jour	
Nm23	Suppresseur de métastases	Dérégulation forte lors du processus métastatique (Cook et al 2011)	Aucune étude à ce jour	
PTEN	Régulation du cycle cellulaire, adhésion cellulaire, migration cellulaire	Régulé négativement dans 63 % des cancers prostatiques métastatiques (Khamis et al 2011)	Aucune étude à ce jour	
TGFβ	Régulation de la croissance cellulaire, angiogenèse, modulation de la MEC	Surexpression dans les cellules cancéreuses métastatiques (Wikström et al 2001)	Aucune étude à ce jour	Rôle encore controversé (Khamis et al 2011)
RKIP	Checkpoint du cycle cellulaire	Diminution du taux de RKIP de la cellule de HGPIN à la cellule prostatique métastatique (Cook et al 2011)	Aucune étude à ce jour	

(*) A été étudié chez le chien dans d'autres tumeurs telles que les tumeurs mammaires ou l'ostéosarcome

NOM Prénom : Fant Cécile

TITRE : Etude comparée de la pathogénie du cancer de la prostate dans les modèles humain et canin

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 11 Décembre 2015

RESUME : Le cancer de la prostate est un problème de santé majeure dans l'espèce humaine, nécessitant un modèle pertinent pour l'étude de sa pathogénie, la perfection de son diagnostic ou la création de nouveaux traitements. Le chien, en tant que modèle spontané, est depuis longtemps proposé. Le cancer prostatique canin présente en effet des similitudes au niveau clinique, anatomique, histologique et physiopathologique. Cependant, sa très faible incidence, l'origine histologique distincte entre le cancer prostatique canin et humain ou encore la probable androgèno-indépendance du cancer prostatique canin nous amènent à nous questionner quant à sa pertinence en tant que modèle du cancer prostatique humain. Le chien serait donc probablement un bon modèlse pour les cancers prostatiques de stade avancé androgéno-indépendant et souvent métastatique chez l'homme. Le modèle humain a, quant à lui, beaucoup à apporter à l'espèce canine au niveau du diagnostic précoce, des possibilités thérapeutiques ou de la compréhension de la carcinogenèse.

MOTS CLES :

- Prostate -- cancer
- Chien
- Homme
- Pathologie comparée
- Maladies -- Modèles animaux

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Frédéric Berard

1er Assesseur : Monsieur le Maitre de Conférence Ludovic Freyburger

2ème Assesseur : Monsieur le Professeur Thierry Marchal

DATE DE SOUTENANCE : 11 Décembre 2015

ADRESSE DE L'AUTEUR : 36 rue Amiral Courbet
69003 LYON