



**Caravaggio (1573-1610)** *The Sacrifice of Isaac*



# Modèles animaux d'étude du Cancer

Denis Corpet, ENVT & INRA  
Cours 2013 « non lissé » mais disponible online sur

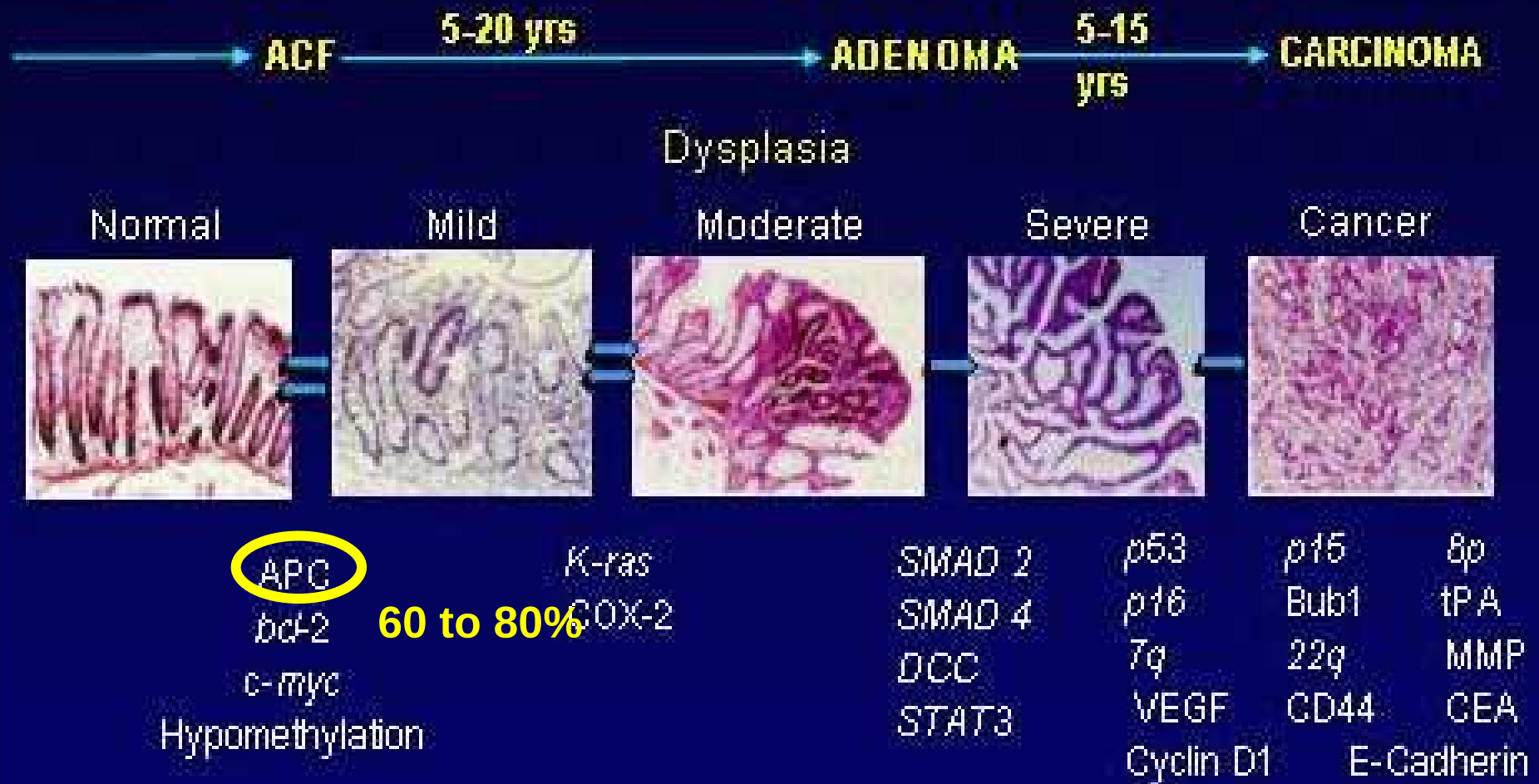
<http://Corpet.net/Denis>

Trois grandes problématiques de recherche :

- **Guérir** le cancer
- **Prévenir** le cancer
- **Comprendre** le cancer



# Colorectal Carcinogenesis: Adenoma–Carcinoma Sequence



Adapted from Kelloff et al. *Oncology* 10: 1471–1484, 1996 and Ilyas et al. *Eur. J. Cancer* 35: 335–351, 1999

- Polypose Adénomateuse Familiale PAF, mutation Apc (Wnt/ $\beta$ -catenin/Tcf pathway)
- HNPCC ou syndrome de Lynch: mutation MMR / Microsatellite instabilité
- => Maladie multiphasique et multigénique, difficile à modéliser





# Modèles animaux d'étude du Cancer

Trois grands types de modèles animaux :

- Tumeur humaine **greffée**  
(chez souris *Nude*)
- Tumeur **spontanée**  
(chez souris mutées ou transgéniques)
- Tumeur **induite** chimiquement ou  
physiquement (chez tout animal)





# Modèles animaux d'étude du Cancer

Trois grands types de modèles animaux :

- Tumeur humaine **greffée**  
(chez souris *Nude*)
  - Tumeur **spontanée**  
(chez souris mutées ou transgéniques)
- Tumeur **induite** chimiquement ou  
physiquement (chez tout animal)







Tumeur humaine **greffée** (chez souris *Nude*),  
=> tester in vivo l'effet des anticancéreux cytotoxiques



"It's an award for a cancer cure, but it only works on mice."





# Modèles animaux d'étude du Cancer

Trois grands types de modèles animaux :

- Tumeur humaine **greffée**  
(chez souris *Nude*)
- Tumeur **spontanée**  
(chez souris mutées ou transgéniques)
- Tumeur **induite** chimiquement ou physiquement  
(chez tout animal)



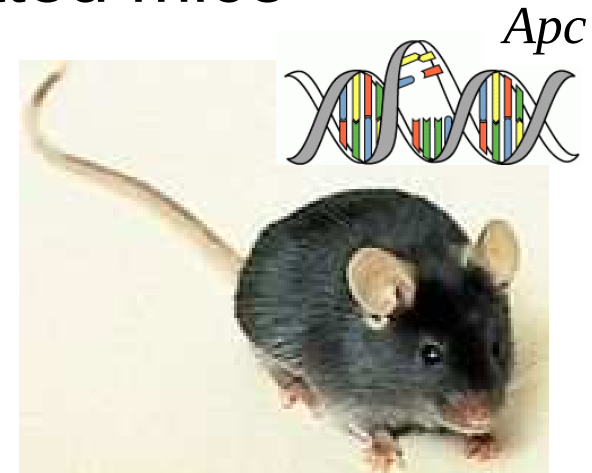
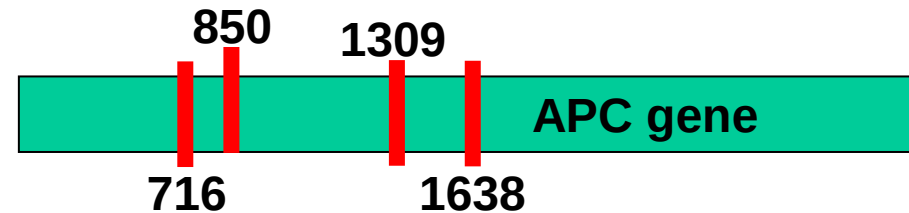


# Min mice & *Apc* mutated mice

Mutation in the same *Apc* gene  
(*adenomatous polyposis coli*)  
that is mutated in FAP patients  
& 60-80% human colon tumors

## Polyp number in mice (50 d)

|                        |              |
|------------------------|--------------|
| Min Mice               | : 40 polyps  |
| <i>Apc</i> Δ 716 Mice  | : 250 polyps |
| <i>Apc</i> Δ 1309 Mice | : 30 polyps  |
| <i>Apc</i> Δ 1638 Mice | : 3 polyps   |



Mice similar to humans: different mutations lead to different phenotypes

**BUT in contrast with humans (no small intestinal tumor),  
most mouse polyps are in the small intestine**

## Recent Models

***Apc* mutated mice:** shift of tumors in the colon and rectum,  
but still majority stands in the small intestine (*Colnot 2004, Cooper 2005*)  
***Apc* mutated rats:** **Pirc** polyp. in rat colon (*Amos-Landgraf PNAS 2007*)

Prolifération / CIN

MMR / MIN

Inflammation

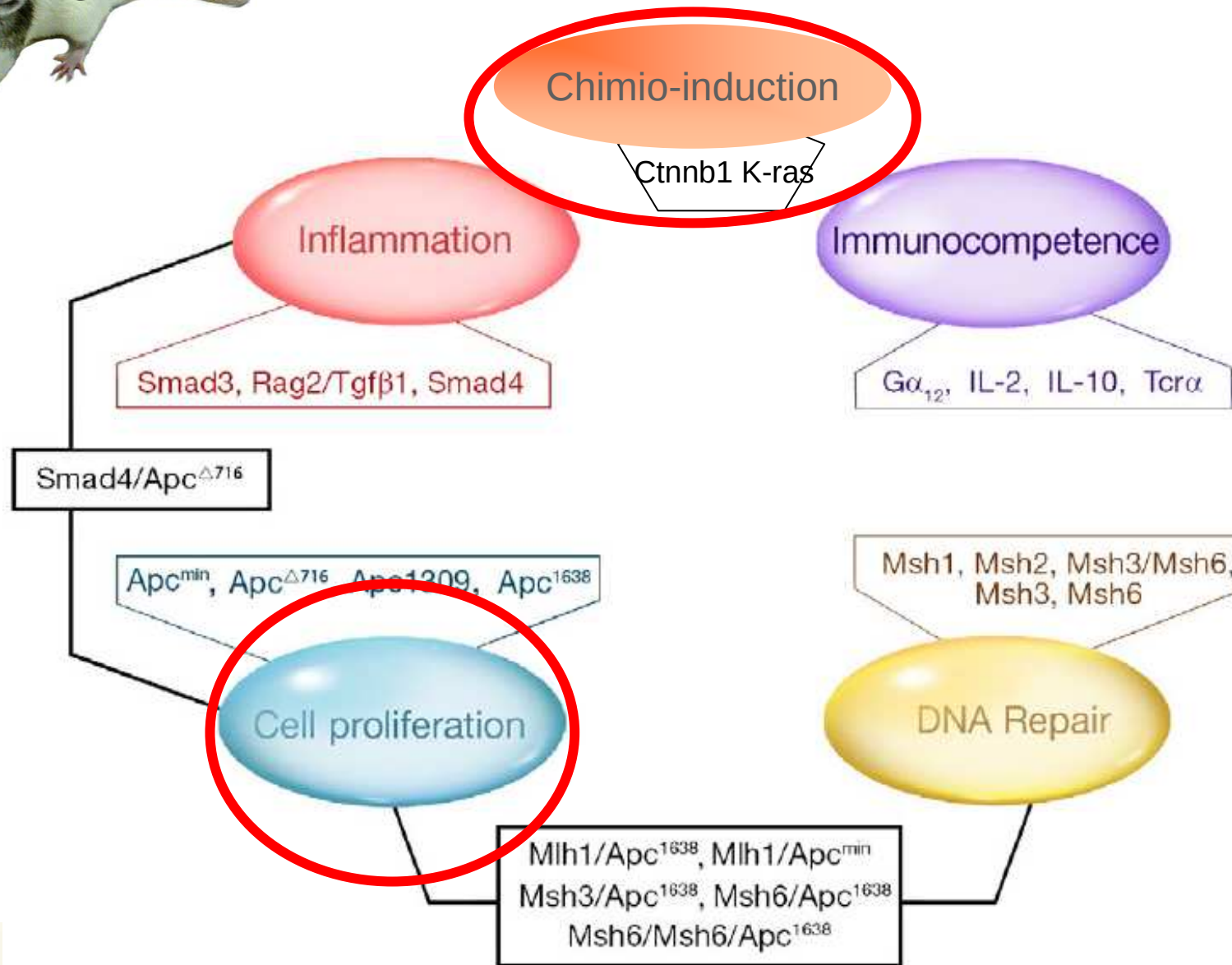
Immunodéficience

Chimio-induction

**Table 3.** Mouse Models of Intestinal Cancer

| Name of model                                                                      | Background strain             | Predominant location   | Predominant neoplasm               | Average no. of tumors/mouse | Age when analyzed (mo) | Other lesions                | Metastasis          | Reference                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------|
| WNT pathway                                                                        |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| <i>Apc</i> <sup>Min/+</sup>                                                        | C57BL/6                       | Small intestine        | Adenoma                            | 30                          | 4                      | Carcinoma                    | No                  | Moser et al. <sup>7</sup>                               |
| <i>Apc</i> <sup>1638N/+</sup>                                                      | C57BL/6                       | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 4                           | 12                     | Desmoid tumors               | Yes<br>(1 reported) | Fodde et al. <sup>13</sup> ; Smits et al. <sup>15</sup> |
| <i>Apc</i> <sup>Δ716/+</sup>                                                       | C57BL/6                       | Small intestine        | Adenoma                            | 300                         | 4                      |                              | No                  | Oshima et al. <sup>11</sup>                             |
| <i>Apc</i> <sup>1309/+</sup>                                                       | NR                            | Small intestine        | Adenoma                            | 34                          | 3                      |                              | No                  | Quesada et al. <sup>16</sup>                            |
| ΔN131 β-catenin                                                                    | C57BL/6 × DBA                 | Small intestine        | Adenoma                            | 1                           | 1                      | Polycystic renal disease     | No                  | Romagnolo et al. <sup>20</sup>                          |
| Activated β-catenin                                                                | C57BL/6 × NR                  | Small intestine        | Adenoma                            | 3000                        | 1                      |                              | No                  | Harada et al. <sup>22</sup>                             |
| MMR genes                                                                          |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| <i>Msh3</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6 × 129/<br>Sv × SJL/J  | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | <1                          | 24                     | Lymphomas, skin tumors       | No                  | Edelmann et al. <sup>29</sup>                           |
| <i>Msh3</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>1638/+</sup>                            | C57BL/6                       | Small/large intestine  | Adenoma/<br>carcinoma              | 5                           | 9                      | Skin tumor                   | No                  | Kuraguchi et al. <sup>91</sup>                          |
| <i>Msh6</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6 × 129/<br>SvJ × SJL/J | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | <1                          | 11                     | Lymphomas, skin tumors       | No                  | Edelmann et al. <sup>30</sup>                           |
| <i>Msh6</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>1638/+</sup>                            | C57BL/6                       | Small/large intestine  | Adenoma/<br>carcinoma              | 26                          | 5                      | Skin tumor                   | No                  | Kuraguchi et al. <sup>91</sup>                          |
| <i>Msh3</i> <sup>-/-</sup> <i>Msh6</i> <sup>-/-</sup>                              | 129/Ola × FVB/<br>N           | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 1                           | 6                      | Skin tumor                   | No                  | Edelmann et al. <sup>29</sup>                           |
| <i>Msh3</i> <sup>-/-</sup> <i>Msh6</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>1638/+</sup> | C57BL/6                       | Small/large intestine  | Adenoma/<br>carcinoma              | 40                          | <3                     |                              | No                  | Kuraguchi et al. <sup>91</sup>                          |
| <i>Mlh1</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6 × 129/<br>Ola         | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 2                           | 6                      | Lymphomas, skin tumors       | No                  | Edelmann et al. <sup>48</sup>                           |
| <i>Mlh1</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>1638/+</sup>                            | C57BL/6                       | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 2                           | 6                      | Skin tumor                   | No                  | Edelmann et al. <sup>48</sup>                           |
| <i>Mlh1</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>1638/+</sup>                            | C57BL/6 × 129/<br>Ola         | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 45                          | 3                      |                              | No                  | Edelmann et al. <sup>48</sup>                           |
| <i>Mlh1</i> <sup>-/-</sup> <i>Apc</i> <sup>Min/+</sup>                             | C57BL/6                       | Small intestine        | Adenoma                            | 139                         | 2                      |                              | No                  | Shoemaker et al. <sup>9</sup>                           |
| <i>Msh2</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6 × 129/<br>Ola         | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | <1                          | 6                      | Lymphoma                     | No                  | Reitmair et al. <sup>28</sup>                           |
| TGF-β models                                                                       |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| <i>Rag2</i> <sup>-/-</sup> <i>Tgfb1</i> <sup>-/-</sup>                             | 129S6 × CF1                   | Cecum/colon            | Mucinous carcinoma                 | 2                           | 2–6                    |                              | No                  | Engle et al. <sup>40</sup>                              |
| <i>Rag2</i> <sup>-/-</sup> <i>Tgfb1</i> <sup>+/-</sup>                             | 129S6 × CF1                   | Cecum/colon            | Adenoma                            | 2                           | 2–6                    |                              | No                  | Engle et al. <sup>40</sup>                              |
| <i>Smad4</i> <sup>+/-</sup>                                                        | C57BL/6                       | Stomach/<br>duodenum   | Hamartomatous polyp                | 2                           | 24                     |                              | No                  | Taketo et al. <sup>44</sup>                             |
| <i>Smad4</i> <sup>+/-</sup> <i>Apc</i> <sup>Δ716/+</sup>                           | C57BL/6                       | Small intestine        | Carcinoma                          | 300                         | 4                      | Signet-ring cell carcinoma   |                     | Taketo et al. <sup>46</sup>                             |
| <i>Smad3</i> <sup>-/-</sup>                                                        | 129/Sv                        | Colon                  | Mucinous carcinoma                 | NR                          | 6                      | Rectal prolapse              | Yes                 | Zhu et al. <sup>42</sup>                                |
| <i>Smad3</i> <sup>-/-</sup>                                                        | 129 × C57BL/6                 | Cecum/colon            | Mucinous carcinoma                 | NR                          | NR                     | Rectal prolapse              | NR                  | Zhu et al. <sup>42</sup>                                |
| Immunodeficient                                                                    |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| <i>IL-10</i> <sup>-/-</sup>                                                        | C57BL/6 × 129                 | Colon/rectum           | Colitis/carcinoma                  | NR                          | 2–6                    |                              | No                  | Berg et al. <sup>56</sup>                               |
| <i>IL-2</i> β2-microglobulin <sup>-/-</sup>                                        | C57BL/6 × 129                 | Rectum/colon           | Carcinoma                          | NR                          | 6–12                   |                              | No                  | Shah et al. <sup>57</sup>                               |
| <i>Tcrα</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6                       | Rectum/colon           | Colitis                            | NR                          | 3–12                   |                              |                     | Mizoguchi et al. <sup>49</sup>                          |
| <i>Gα12</i> <sup>-/-</sup>                                                         | 129Sv × C57BL/6J              | Colon                  | Colitis/carcinoma                  | 1                           | 3–9                    | Altered thymocyte maturation | No                  | Rudolph et al. <sup>52</sup>                            |
| Carcinogen-treated                                                                 |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| AOM                                                                                | A/J                           | Colon                  | Adenoma/<br>carcinoma              | 36                          | 6                      |                              | NR                  | Papanikolaou et al. <sup>92</sup>                       |
| AOM                                                                                | SWR/J                         | Colon                  | Adenoma/<br>carcinoma              | 16                          | 6                      |                              | NR                  | Papanikolaou et al. <sup>92</sup>                       |
| AOM                                                                                | AKR/J                         | Colon                  | Adenoma/<br>carcinoma              | <1                          | 6                      |                              | NR                  | Papanikolaou et al. <sup>92</sup>                       |
| MNU                                                                                | NR                            | Small intestine        | Adenoma/<br>carcinoma              | 1.5                         | 3–12                   |                              | NR                  | Qin et al. <sup>27</sup>                                |
| MNG                                                                                | C3H                           | Colon/small intestine  | Adenoma/<br>carcinoma              | <1                          | 11–20                  | Stomach SCC                  | NR                  | Schoental et al. <sup>74</sup>                          |
| Other models                                                                       |                               |                        |                                    |                             |                        |                              |                     |                                                         |
| <i>Cdx2</i> <sup>+/-</sup>                                                         | 129/Sv × C57BL/6              | Colon                  | Gastric and intestinal heterotopia | 10                          | 3                      |                              | No                  | Tamai et al. <sup>62</sup>                              |
| <i>Muc2</i> <sup>-/-</sup>                                                         | C57BL/6 × 129/<br>SvOla       | Small/ large intestine | Adenoma/<br>carcinoma              | 1                           | 6–12                   |                              | No                  | Velcich et al. <sup>67</sup>                            |
| PI(3)kinase <sup>γ</sup> <sup>-/-</sup>                                            | C57BL/6                       | Rectum/colon           | Carcinoma                          | 1+                          | 3–6                    |                              | Peritoneal          | Sasaki et al. <sup>90</sup>                             |
| N-cadherin <sup>-/-</sup>                                                          | C57BL/6 × 129/<br>Sv          | Small intestine        | Colitis/adenoma                    | NR                          | 2–19                   |                              | No                  | Hermiston et al. <sup>63</sup>                          |

# Qu'en est-il de la relation Nutrition – Cancer ?





# Modèles animaux d'étude du Cancer

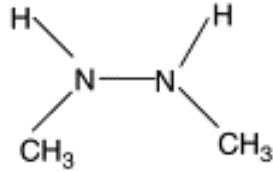
Trois grands types de modèles animaux :

- Tumeur humaine **greffée**  
(chez souris *Nude*)
- Tumeur **spontanée**  
(chez souris mutées ou transgéniques)
- Tumeur **induite** chimiquement  
ou physiquement (chez tout animal)

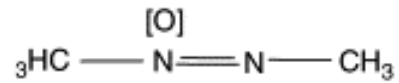


# Rats given a colon **carcinogen**

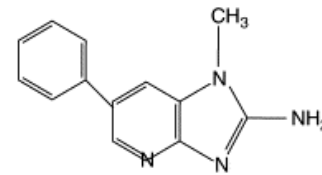
**AOM, DMH, PhIP, MNU, MNNG...**



Dimethylhydrazine - DMH

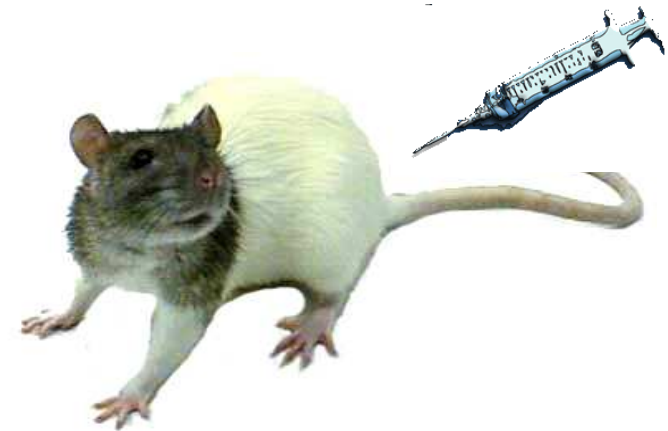


Azoxymethane - AOM



2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol  
[4,5-b]pyridin - PhIP

No spontaneous colon cancer but  
**easy to induce cancers**





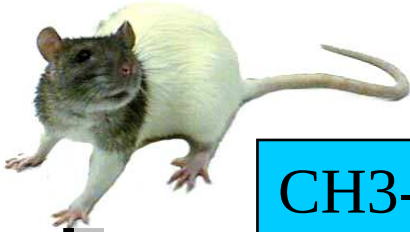
# Cancérogènes du Côlon

- **Hydrazines** (noix de cycas, champignons)  
DMH (DiMéthylHydrazine), AOM, MAM
- **Nitrosamines** (charcuteries, bières, endogène)  
MNU (MéthylNitrosoUrée), MNNG, ...
- **Amines hétérocycliques** (viande grillée)  
PhIP, IQ, MeIQ
- **Ulcérissants non génotoxiques** (carraghénanes ?)  
DSS (dextran sulfate sodium)





# DMH metabolism to AOM & MAM, To Methylcarbonium



CH3-NH-NH-CH3  
dimethylhydrazine

CH3-N=N-CH3  
azoxymethane

CH3-NO=N-CH2OH  
methylazoxymethanol

CH3-N\equiv N^{+} OH^{-}  
methyldiazonium

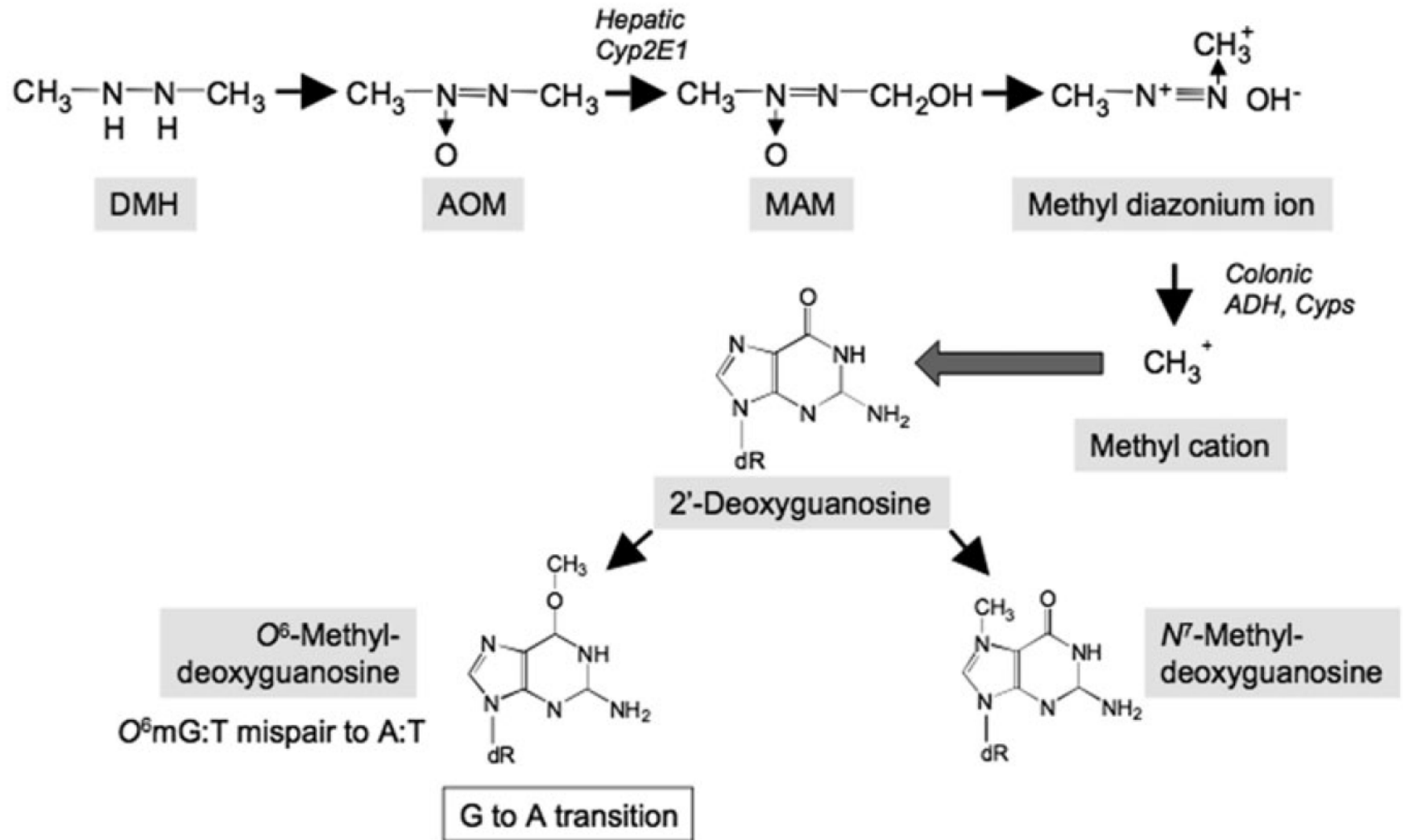
CH3^{+}  
methylcarbonium

 **DNA mutation**





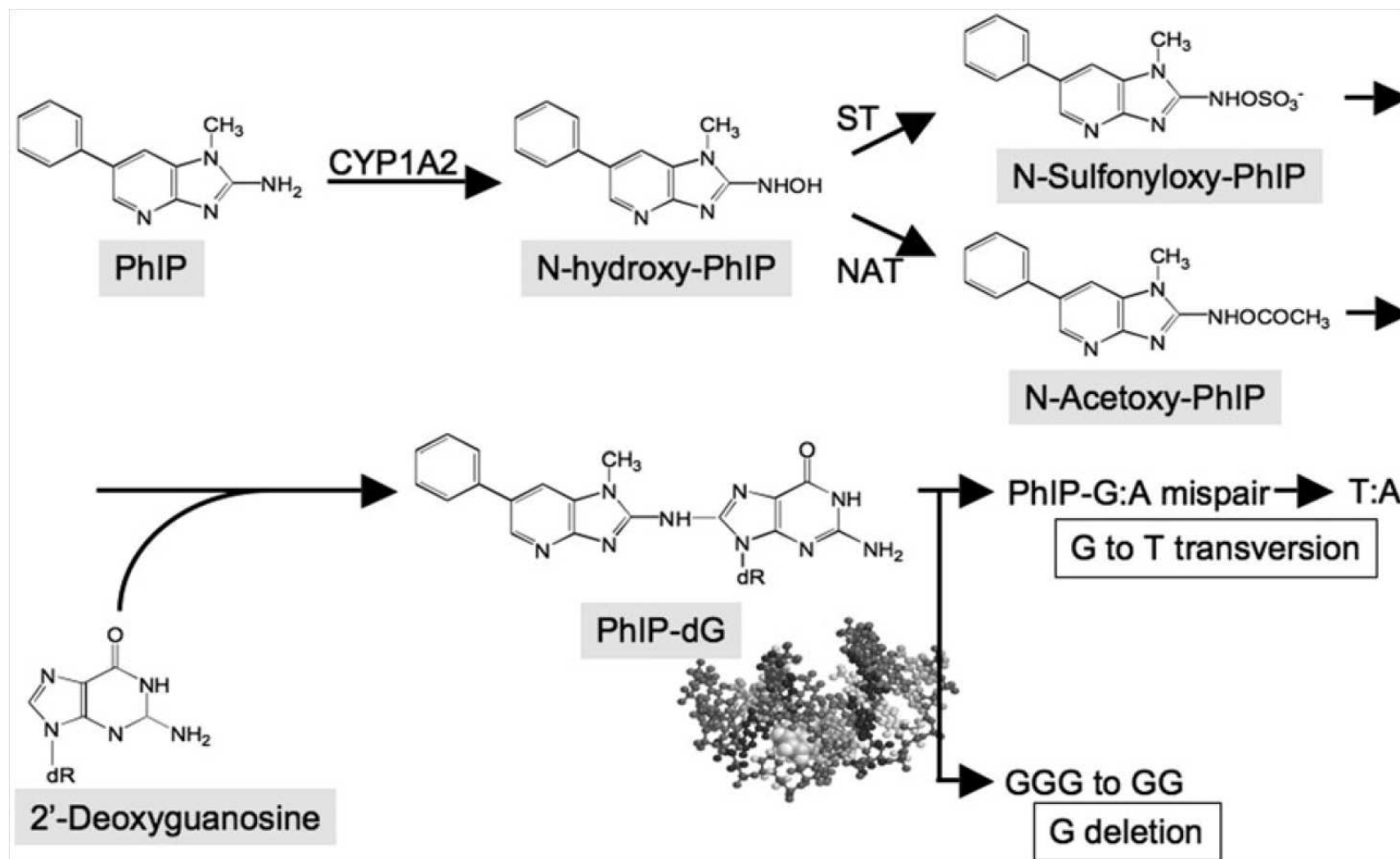
# DMH to mutation: G to A transition



Rosenberg, Carcino. 2009



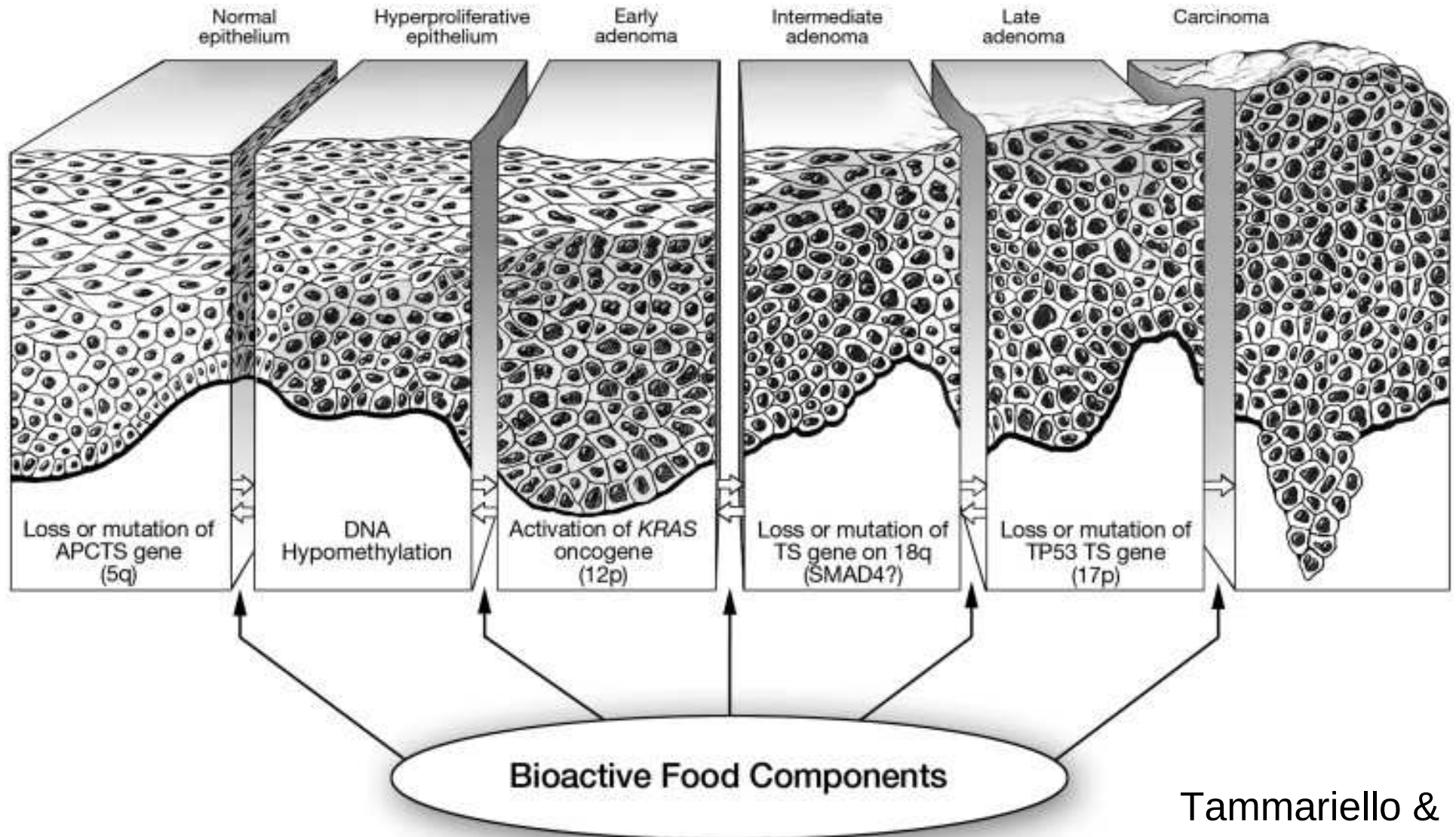
# PhIP to Mutation: G to T transversion



Rosenberg, Carcino. 2009

# Vogelstein's model: mutations driving colon carcinogenesis

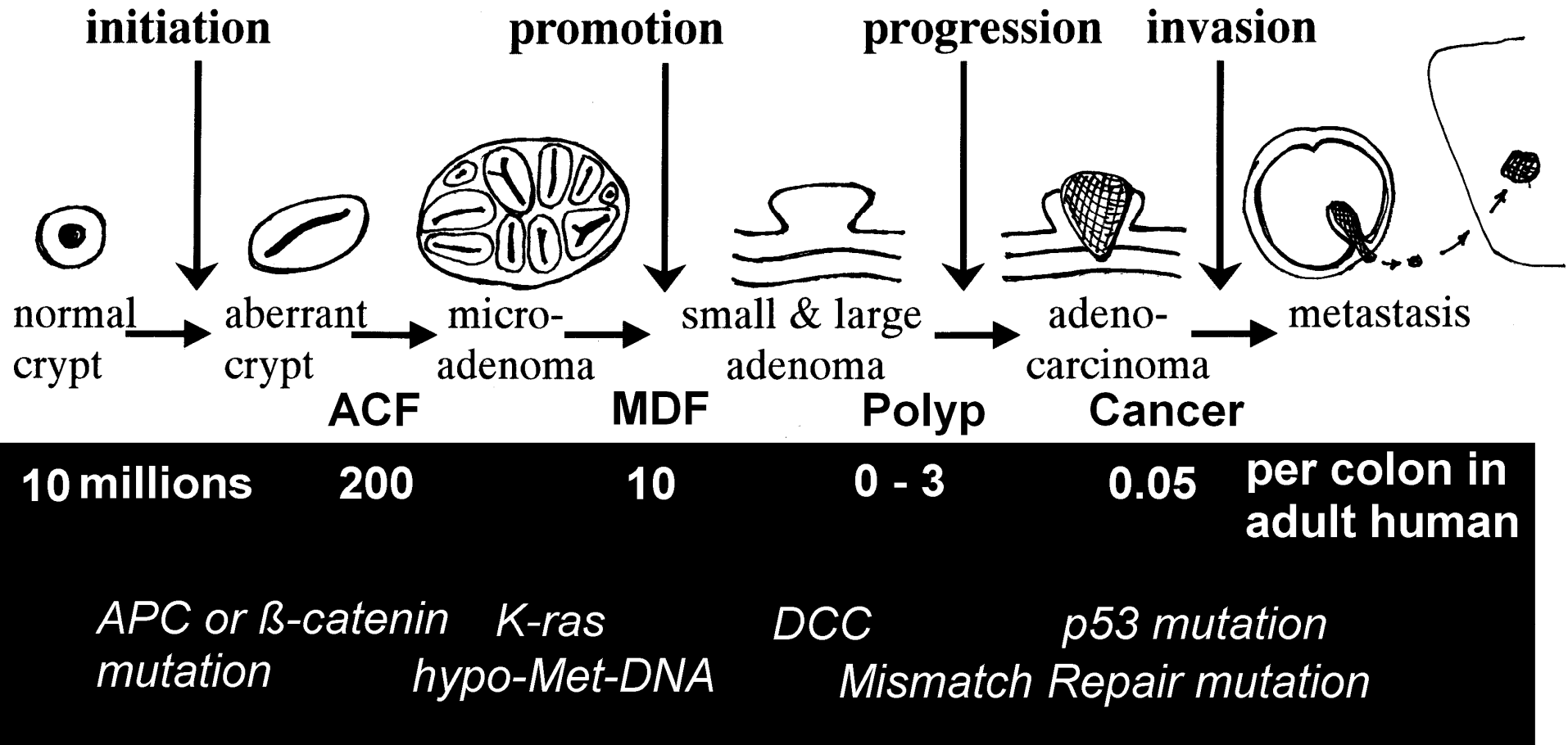
## Bioactive food components may influence multiple steps ...



Tammariello &  
Milner, 2010

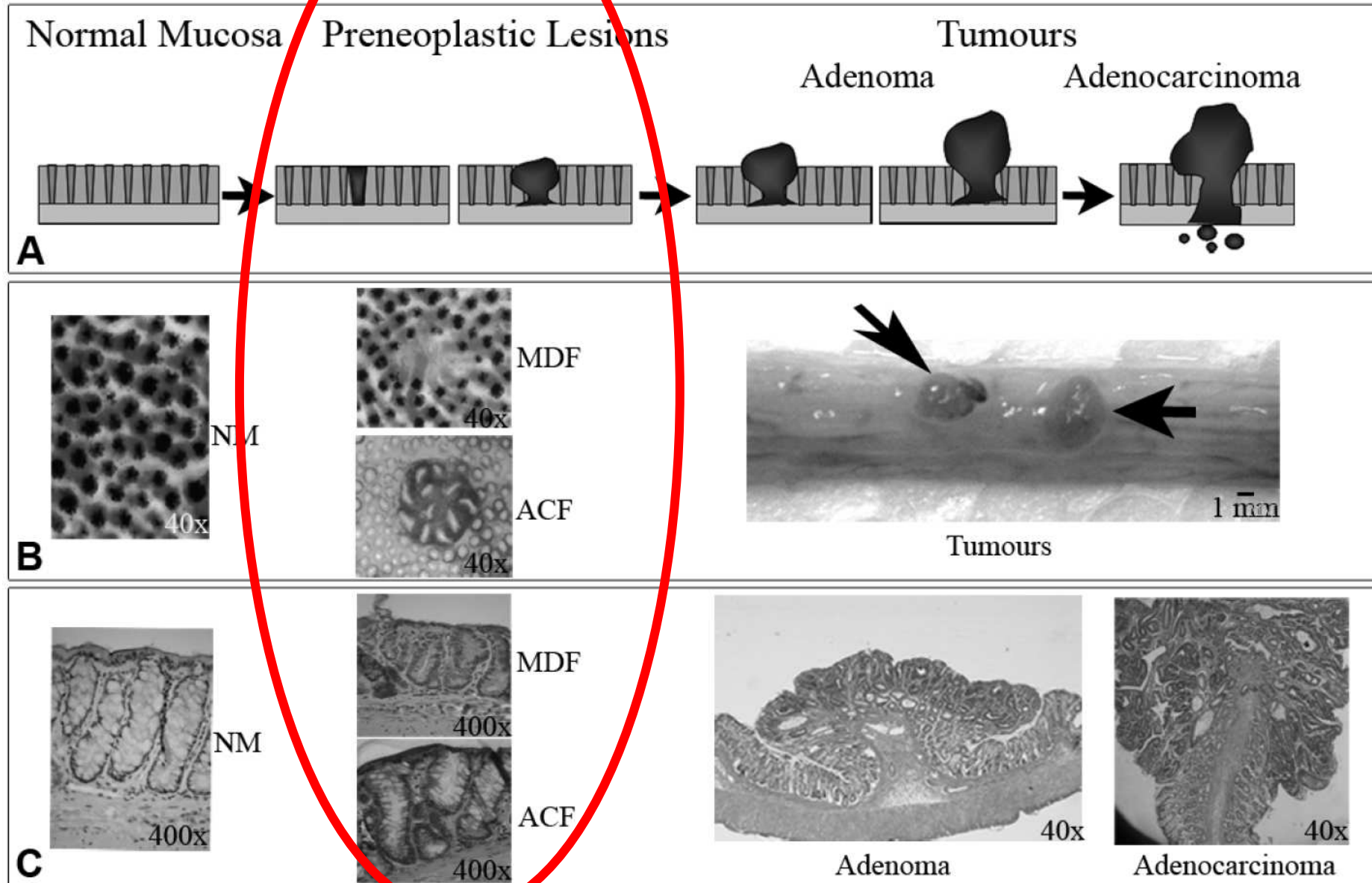


# Same model with number of (pre)neoplastic lesions





# One year from normal mucosa to true cancer



# Marqueurs pré-néoplasiques colon

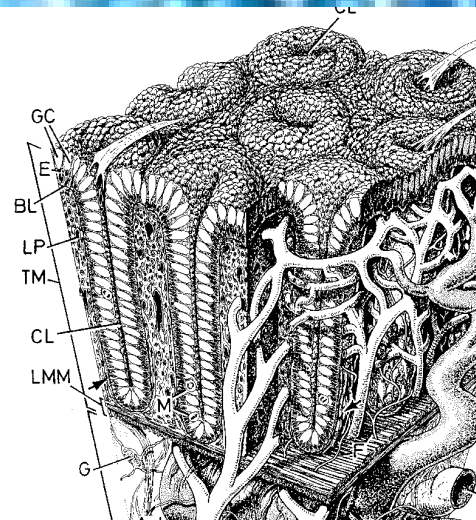
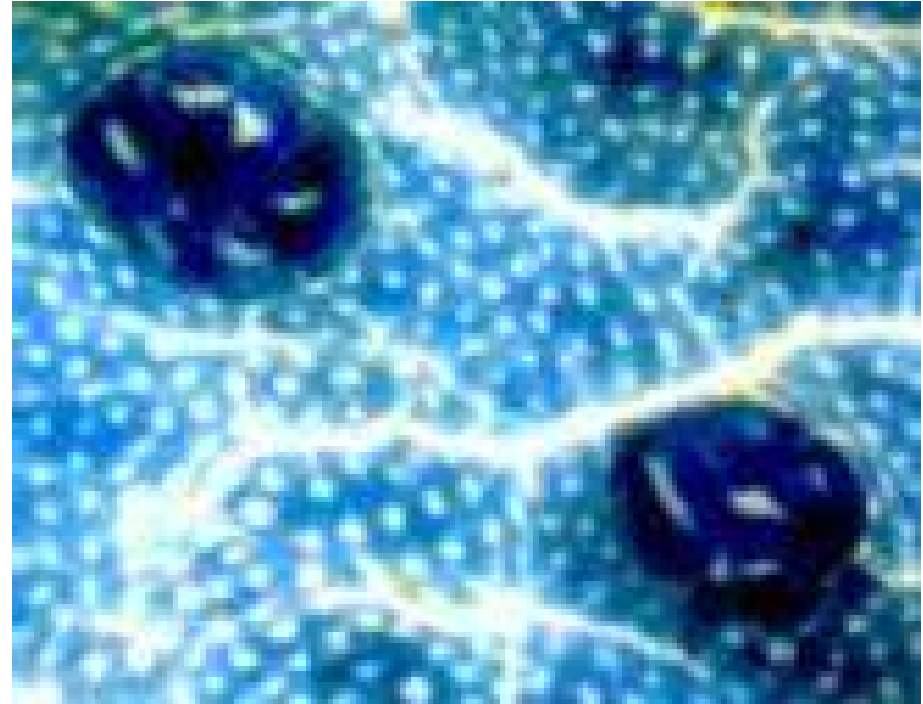
## Aberrant Crypt Foci (ACF)

Visibles x40, sans coupe  
histo, 15j après initiation

ACF très utilisés, depuis  
*Bird 1987* (rats, souris)  
1256 articles dans PubMed

Bonne corrélation avec  
tumeurs mais pas parfait !

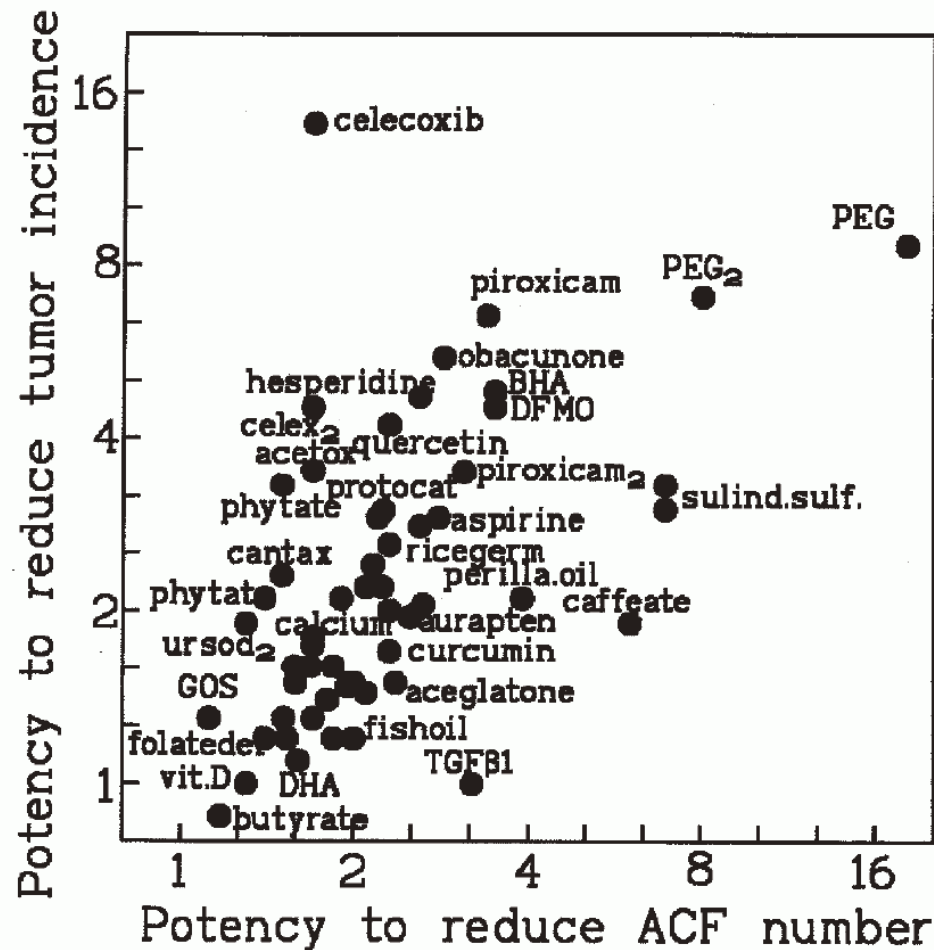
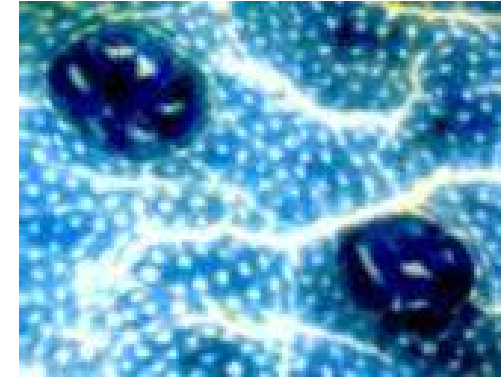
Visibles chez l'Homme /  
chromo-endoscopie  
*magnifying colonoscopy*





# Marqueurs pré-néoplasiques colon

## Aberrant Crypt Foci (ACF)



**Corrélation entre  
l'incidence ACF et  
l'incidence tumorale  
chez rats et souris**

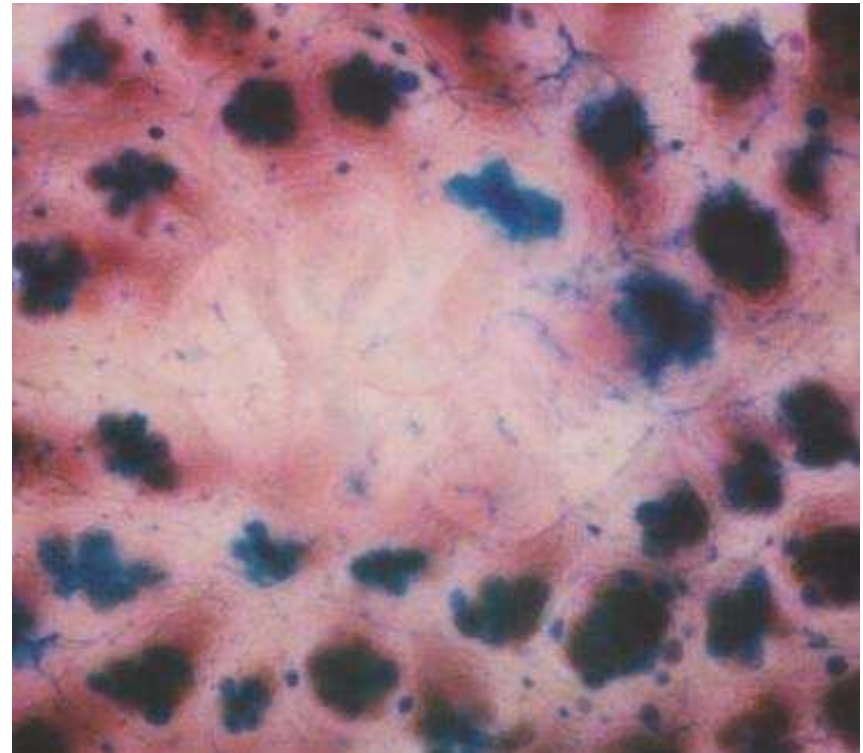
**Rares discordances  
(acide cholique,  
symbiotique)**

# Marqueurs pré-néoplasiques colon : Mucin Depleted Foci (MDF)

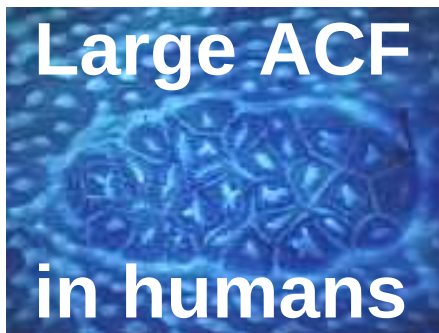
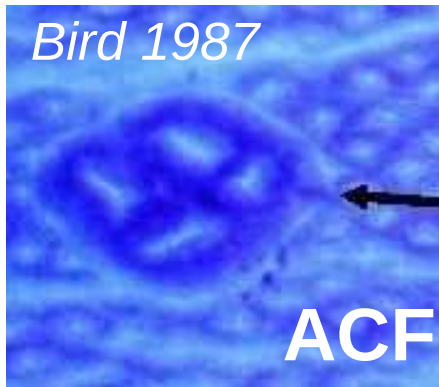
Inventés / Giovanna Caderni en 2002

**Corrélation excellente**  
entre **MDF** et **Tumeurs**

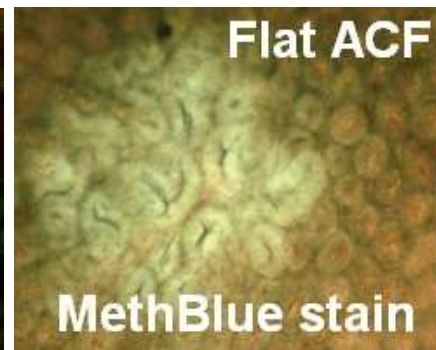
⇒ **Mutation Apc chez rats induits**  
**par la DMH /PCR** (*Femia, 2007*)  
Même pattern de mutation  
⇒ **Mais que 47 articles dans la**  
**base PubMed !**



# Many types of precancer lesions



$\beta$ -catenin accumulated crypts



It is likely that MDF, BCAC, and Flat-ACF are three views of the same group of lesions

# Rodent models: Pros & Cons



**Min mice**

**vs.**

**AOM rats**



- + *Apc* mutations
- +  $\beta$ -catenin accumulation
- - **Small intestinal tumors**
- + **50 days to get tumors**

- All body cells are mutated
- No *K-ras* mutations
- + No use of carcinogen
- **Expensive and fastidious**

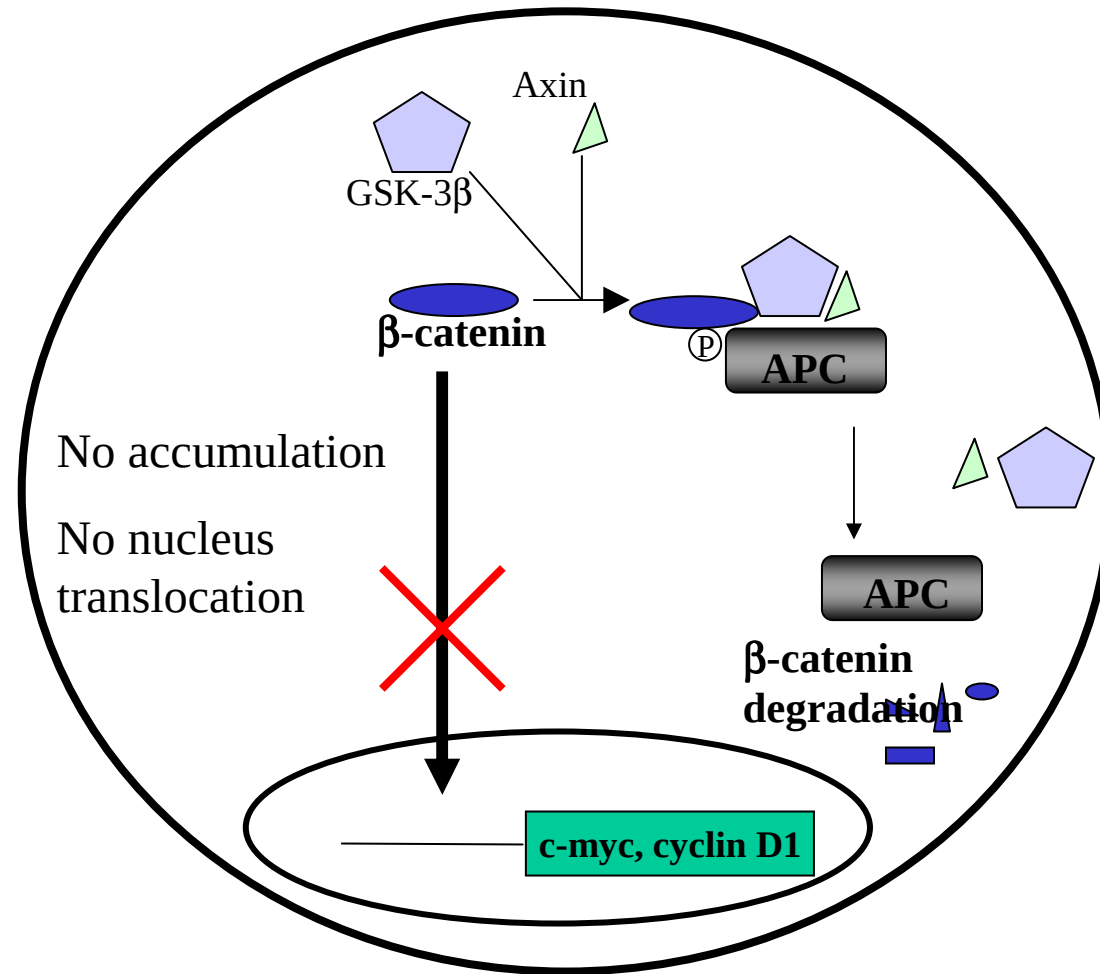
- - **Rare *Apc* mutations, but**
- +  $\beta$ -catenin accumulation
- + **Colorectal tumors**
- - **300 days to get tumors**

- + Starts from normal cells
- + *K-ras* mutations
- **High dose of carcinogen**
- + Cheap and convenient

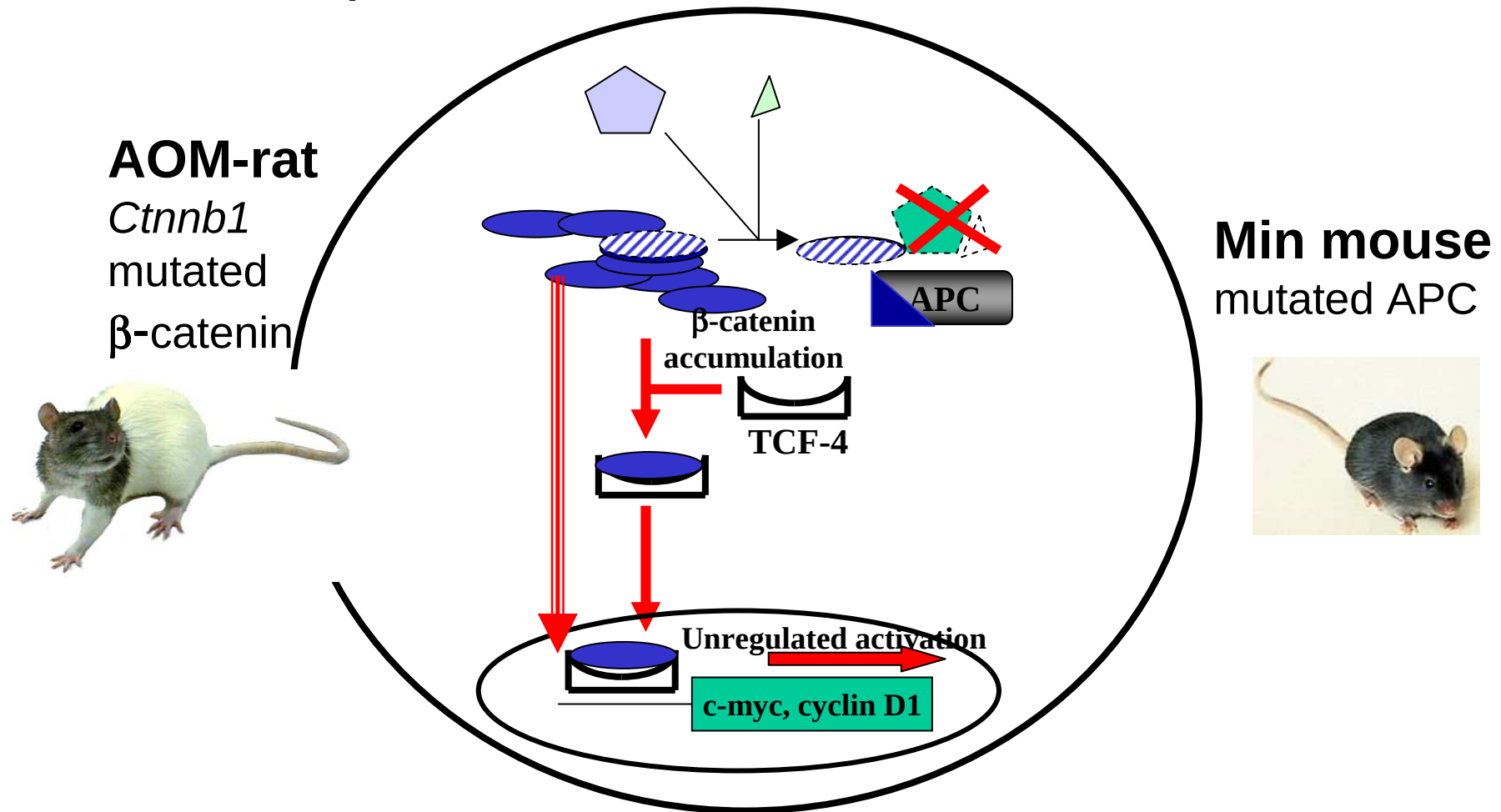
It seems better to associate both models: identification of risk factors and of chemopreventive agents.



# APC & $\beta$ -catenin in normal cell

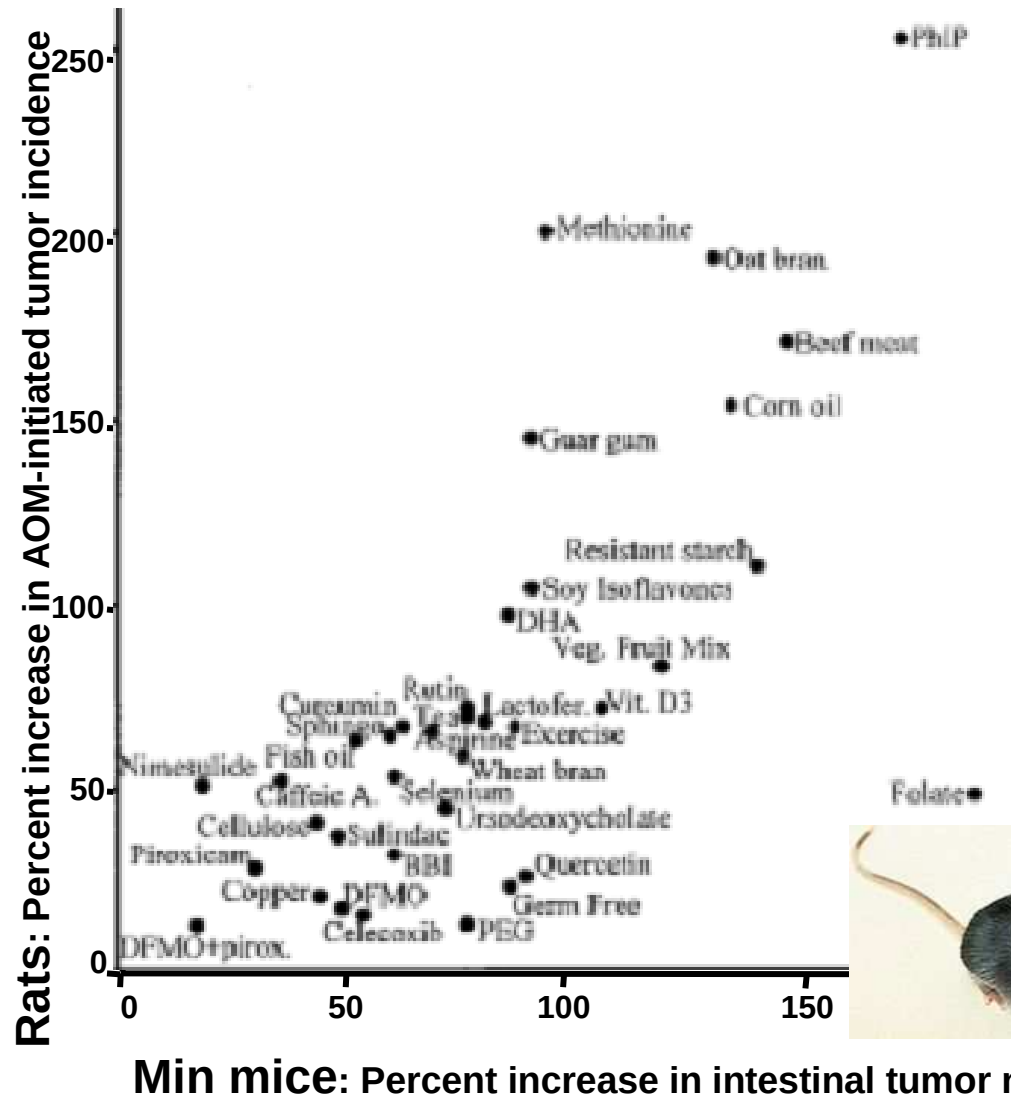


# APC & $\beta$ -catenin in Min mice & AOM-rats



***Apc* mutation (in Min mice) and  
*Ctnnb1*  $\beta$ -catenin mutation (in AOM-rats)  
have similar consequences**





**Dietary  
agents,  
effect on  
tumors**

**AOM-rats  
& Min mice  
results  
correlate**

**R= 0.82 (p<0.001)**

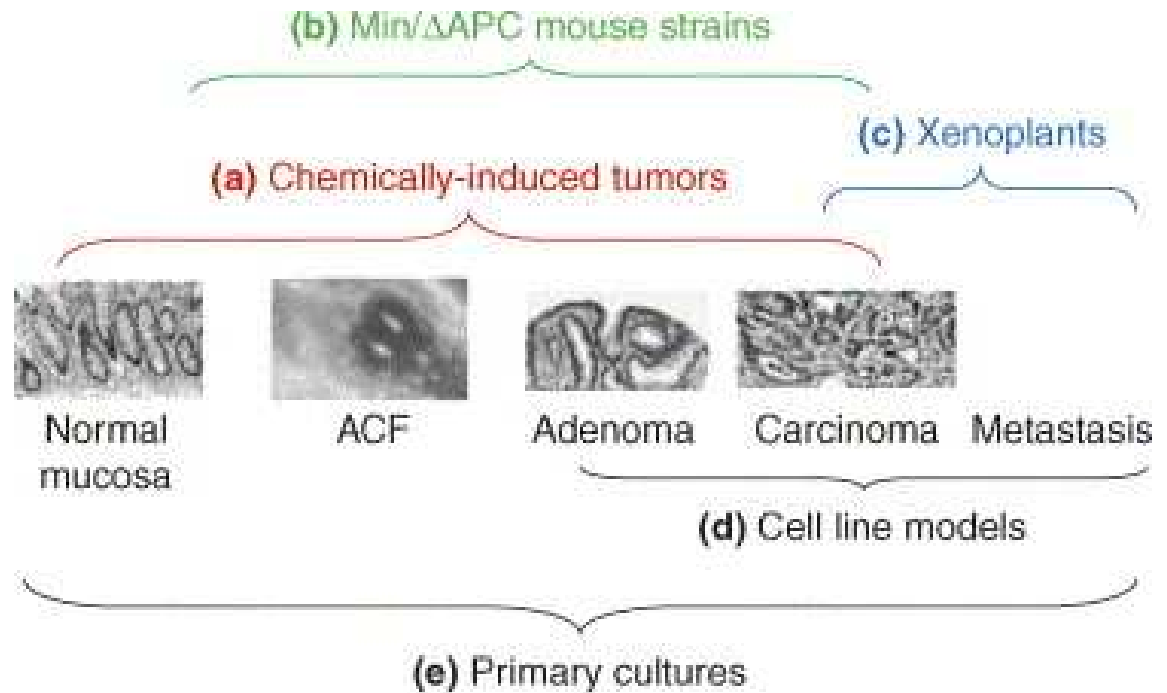
Corpet & Pierre,  
Cancer Epidemiol.  
Biomark. Prev. 2003





# Colorectal cancer development and its models

(B. Marian, *Drug Disc.Today*, 2004)



*In vivo* animal models = distinct stages of CRC development

(a) chemically induced tumors (AOM-rats)

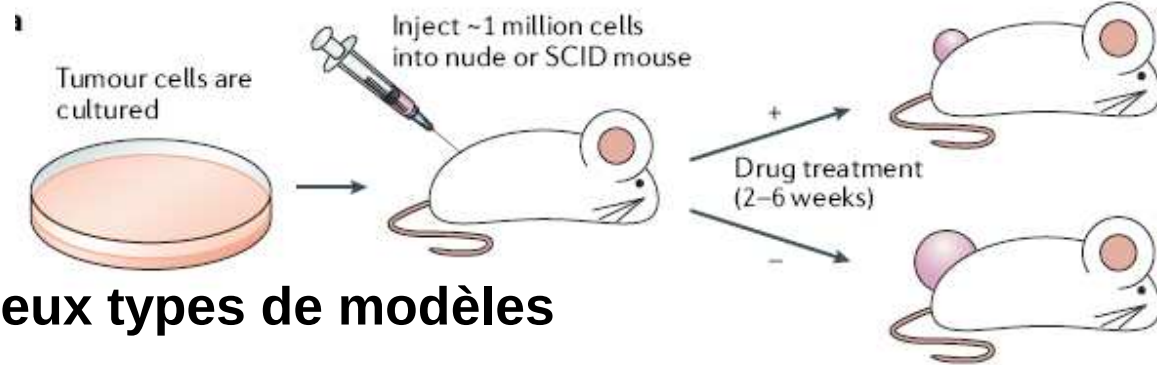
(b) Min mouse strains

(c) **xenograft models** reflect tumor growth and **metastasis** (surgical implantation of human tumor in nude mice).





## • Métastase?:



Très peu dans les deux types de modèles

Xénogreffes chez la souris Nude: implantation de cellules tumorales en sous-cutané

Suivi de croissance tumorale et métastase

Très peu utilisé en nutrition / cancer colorectal

Mais quelques travaux prostate

Inhibition of Spontaneous Metastasis in a Rat Prostate Cancer Model by Oral Administration Of Modified Citrus Pectin

*Kenneth J. Pienta, Harmesh Naik, Adil Aktar, Kosule Yamazaki Tracy S. Replogle, Jeffrey Lehr, Terry L. Donat, Larry Tait, Victor Hogan, Araham Raz*

Journal of the National Cancer Institute, Vol. 87, No. , March1, 1995





## Autres sites que le côlon

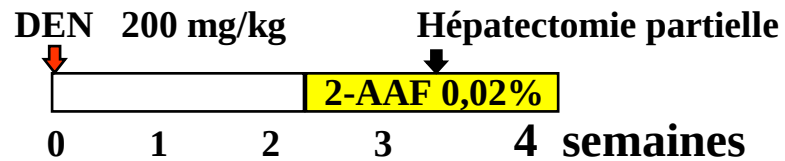
- **Prostate:** initiation / N-methyl-N-nitroso-urée et promotion / testosterone (12 mois), Rat Lobund-Wistar : 90% des animaux un adécarcinome prostatique à 11 mois. Modifications prénéoplasiques (type de PIN), visibles avant la détection clinique des tumeurs. +récent création Souris TRAMP: Transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate
- **Sein:** Rates initiation: NMU ou DMBA à 49-50 j puis suivi de croissance par palpation des tumeurs.
- **Œsophage:** initiation: N-nitrosoMethylBenzylAmine (NMBA)
- **Foie :** initiation: DiEthylNitrosamine (DEN), sélection AAF, promotion Hépatectomie Partielle





# Cancérogenèse Hépatique : protocoles

## Solt et Farber (1976)

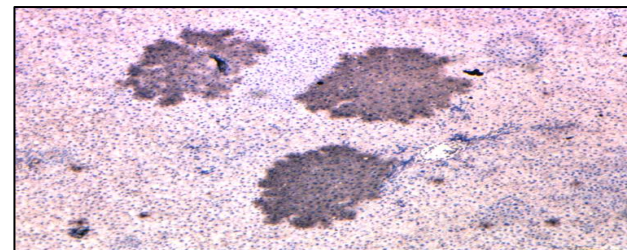


Initiation par le DEN  
Di-Ethyl-Nitrosamine

Sélection par l'AAF  
Acétyl-Amino-Fluorène

Promotion par l'  
Hépatectomie partielle

Foyers prénéoplasiques GST-P  
Glutathion S-Transférase Placentaire  
positifs sur coupe de foie de rat





# En prévention, à quoi servent les modèles animaux ?

- Pourquoi faire la cuisine pour des rongeurs?  
Pourquoi tuer des rats, des souris, des singes?  
Pourquoi explorer enzymes et gènes murins?
- confirmer les hypothèses de l'épidémiologie
- valider *in vivo* ce qu'on trouve *in vitro*
- tester beaucoup de produits & de régimes
- explorer des marqueurs pour l'Homme
- comprendre les mécanismes biologiques
- limite évidente : la distance à l'Homme







# *Modèle animal sert à* **confirmer les hypothèses de l'épidémiologie**

- L'épidémiologie ne peut **prouver** de relation causale: elle observe un lien entre une exposition et une maladie
- Expérimenter chez l'Homme c'est l'idéal, mais très peu "pratique".
- L'expérimentation animale est "faisable".





## *Viande & Cancer du Côlon*

**Viande rouge promotrice? Pourquoi ?**

**Peut-on empêcher cet effet? Comment?**

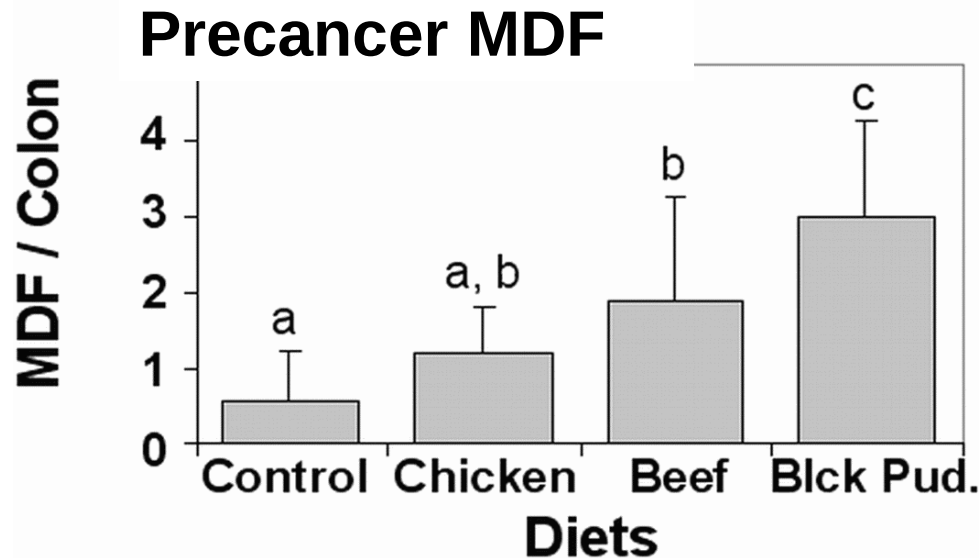
**Etudes des mécanismes in vivo et in vitro**

**Fabrice Pierre & Denis Corpet**





# Rat Model → First evidence of red meat & heme promotion of colon carcinogenesis:



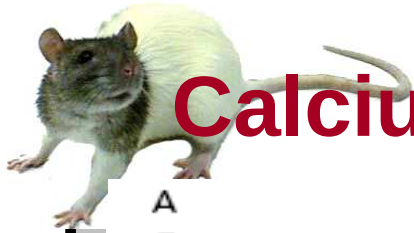
In a **calcium-depleted diet**,  
Beef meat & Black pudding  
(blood sausage) promote  
Mucin Depleted Foci (& ACF)

**More heme = more MDF**

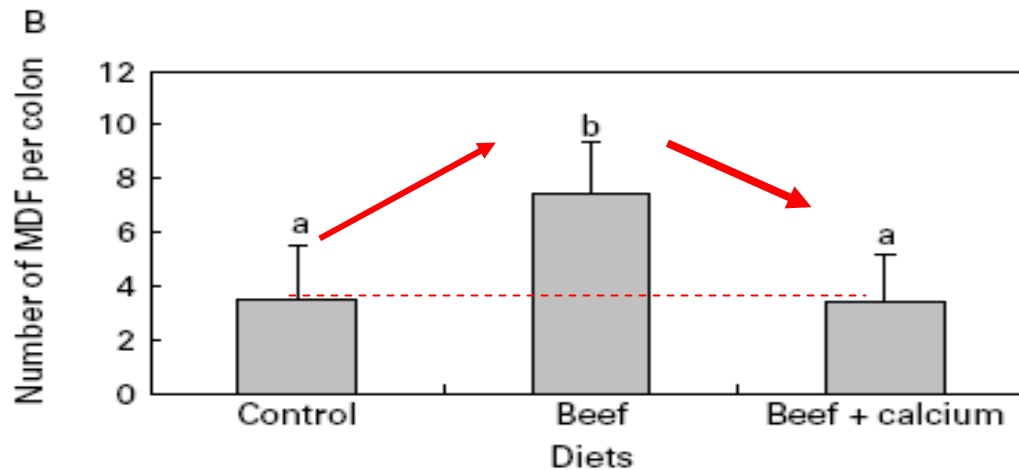
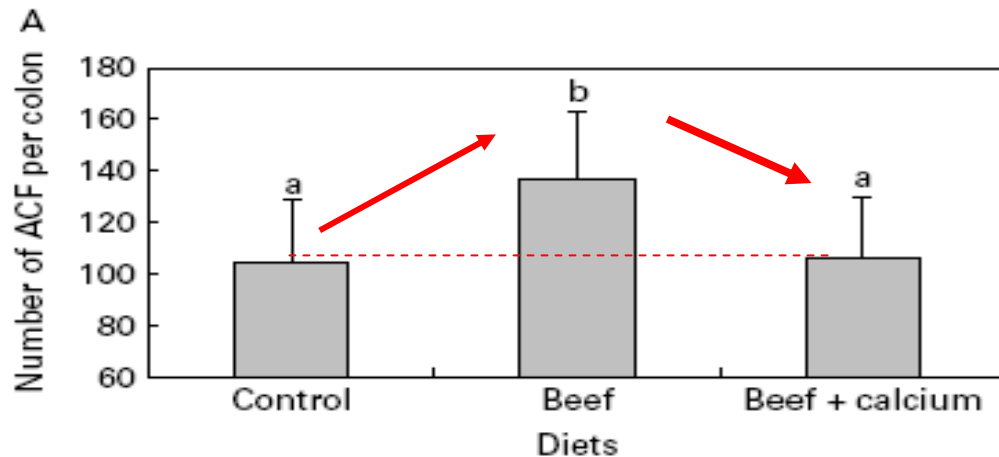


*Pierre et al., J.Nutr. 2004*





# Calcium normalizes beef meat effects

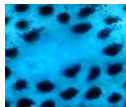
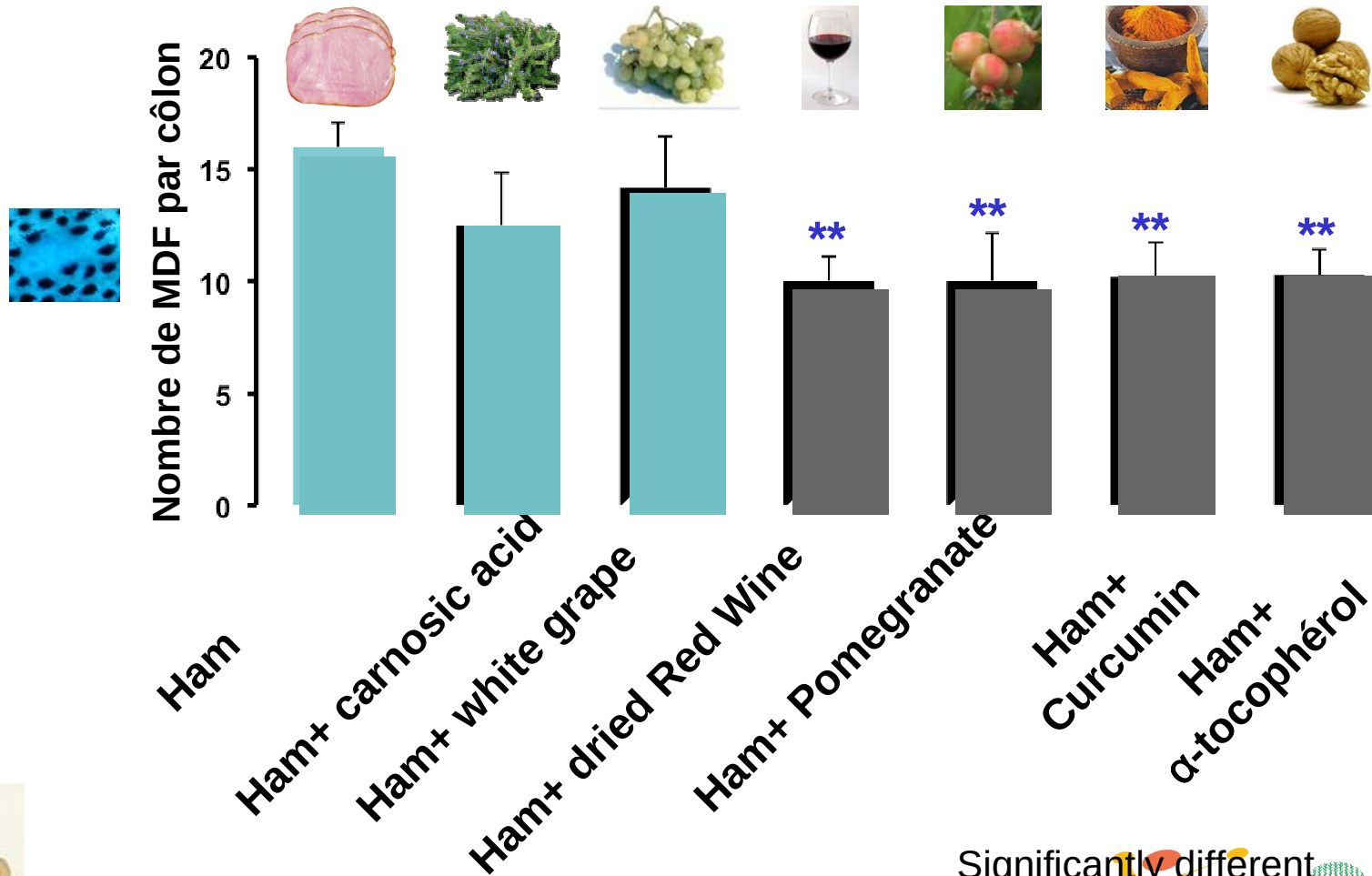


**Dietary calcium  
fully suppresses  
beef-induced  
promotion of  
ACF and MDF  
in rats**



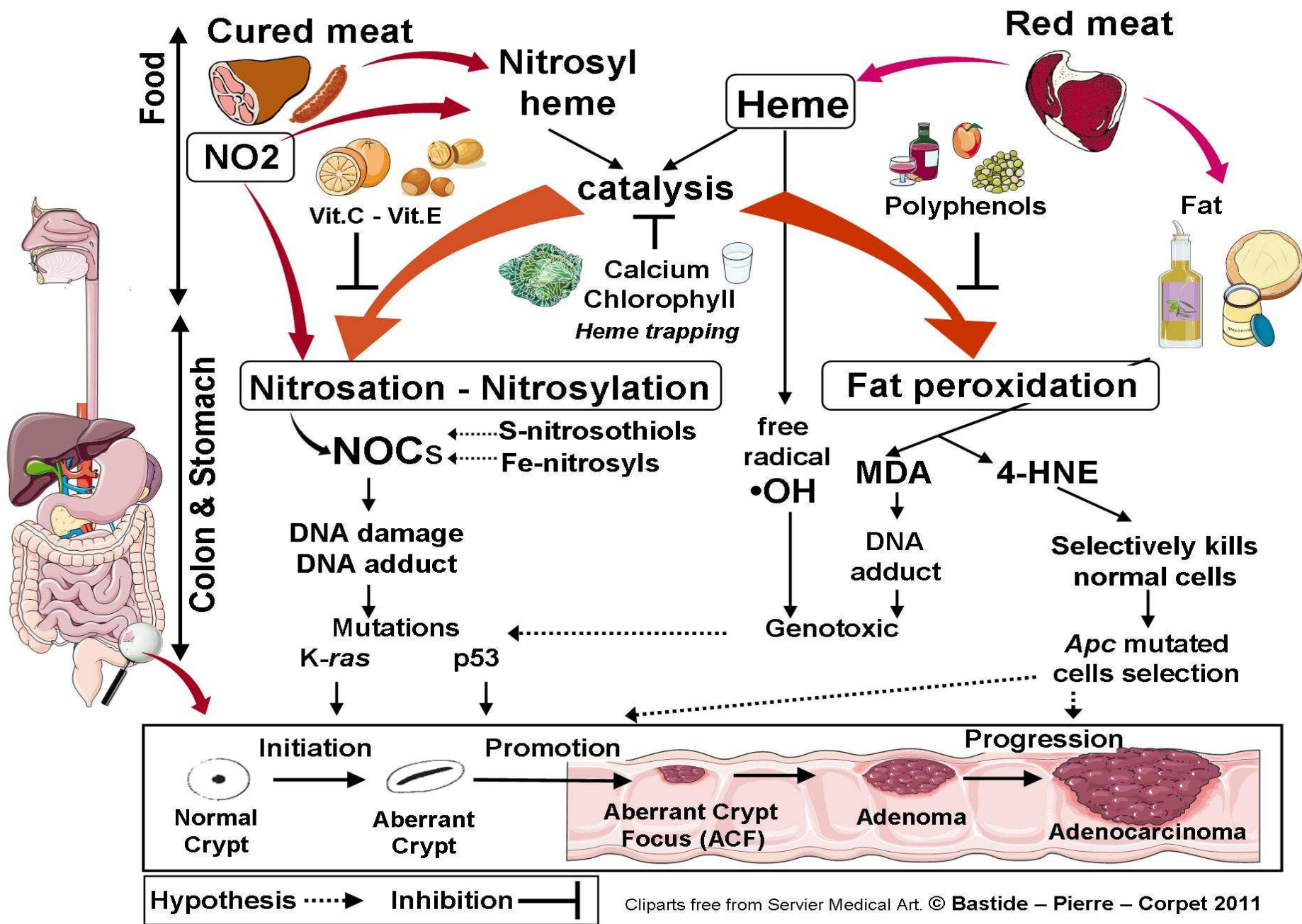


# Polyphenol prevention of Ham-induced promotion



Basdide et al , MS under review 2013

Significantly different from model ham (\*\* p<0,01)







# ***Modèle animal sert à valider *in vivo* ce qu'on trouve *in vitro****

- Mutagène/Cancérogène: ex. IQ & PhIP
  - griller des sardines produit des amines hétérocycliques très mutagènes (test de Ames sur Salmonella).
  - On vérifie que ces amines sont cancérogènes (rat, singe)
- Apoptose: ex. sulforaphane & butyrate.
  - Sulforaphane des brocolis, Butyrate des fibres, induisent l'apoptose dans lignées cellules «cancéreuses» en culture.
  - Sulforaphane & butyrate ne diminuent pas croissance des tumeurs
- Du simple /cellules → complexe /animaux
  - molécule→aliment, jour →année, cellule →organisme
  - Ex.: régimes pauvre en graisses, riche en fibres; exercice physique





## *Modèle animal sert à faire du* **"screening" : vite & plein**

- identifier des cancérigènes  
(utilité la mieux établie des modèles)





## Potentiel Cancérigène des Aliments (extrait)

Bruce Ames & Lois Gold (Science 1992, La Recherche 1999)

HE/RP: Human Exposure/Rodent Potency, TD<sub>50</sub>: Tumor Dose 50%

| Risque relatif | Aliment                        | Cancérigène                     | TD <sub>50</sub> mg/kg/j |
|----------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| HE/RP          | consommé /jour                 | dose/jour                       | rat ou souris            |
| 4,7            | Vin (250ml)                    | Alcool 30ml                     | 9000                     |
| 0,1            | Champignon (15g)               | Hydrazines 10mg                 | 20000                    |
| 0,1            | Pomme (230g)                   | acide caféique 25mg             | 300                      |
| 0,07           | Moutarde (5g)                  | Isothiocyanate 4,6mg            | 100                      |
| 0,03           | Epices                         | Safrole 1.2mg                   | 60                       |
| 0,03           | Beurre d'arachide(32g)         | <b>Aflatoxine</b> 64ng          | <b>0,003</b>             |
| 0,006          | Lard grillé (85g)              | diethyl <b>Nitrosamine</b> 85ng | <b>0,02</b>              |
| 0,005          | Café (4g sec)                  | Furfural 630µg                  | 200                      |
| 0,002          | AntiOxydant ( <i>additif</i> ) | BHA 700 µg                      | 600                      |
| 0,001          | Eau du robinet (1l)            | Chloroforme 83µg                | 90                       |
| 0,0003         | Carbaryl ( <i>pesticide</i> )  | Carbaryl 2,6µg                  | 14                       |
| 0,0001         | Saumon grillé (85g)            | MeIQx 111ng                     | 2                        |
| 0,00008        | DDE/DDT ( <i>pesticide</i> )   | DDE 659ng                       | 12                       |
| 0,00006        | Hamburger frit (85g)           | <b>PhIP</b> 176ng               | <b>4</b>                 |
| 0,000001       | Lindane ( <i>pesticide</i> )   | Lindane 32ng                    | 31                       |



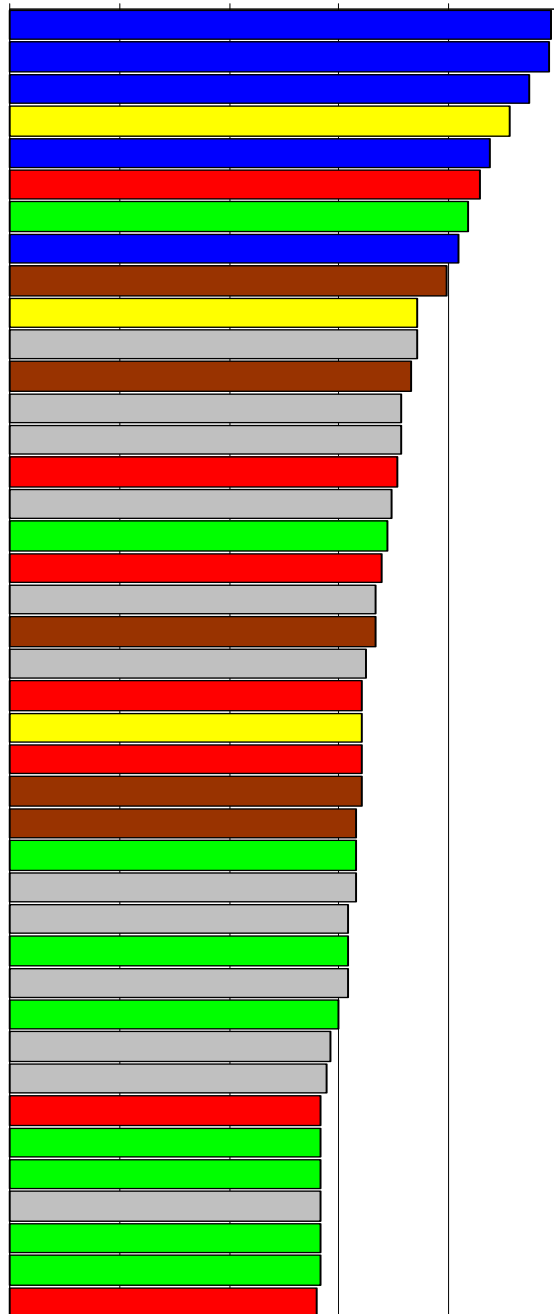
## *Modèle animal sert à* **"screener" vite & beaucoup**

- identifier des cancérigènes  
(utilité la mieux établie des modèles: cf. Ames & Gold)
- tester procédés & aliments nouveaux  
(protecteurs ou promoteurs)
- explorer variants de molécules connues  
(ex: nouveaux AINS qui relarguent du NO: NO-Aspirine)
- tester protocoles et mixtures variés  
dans modèles précliniques (ex.: chimiothérapie, sur  
tumeurs humaines greffées à des souris Nudes)



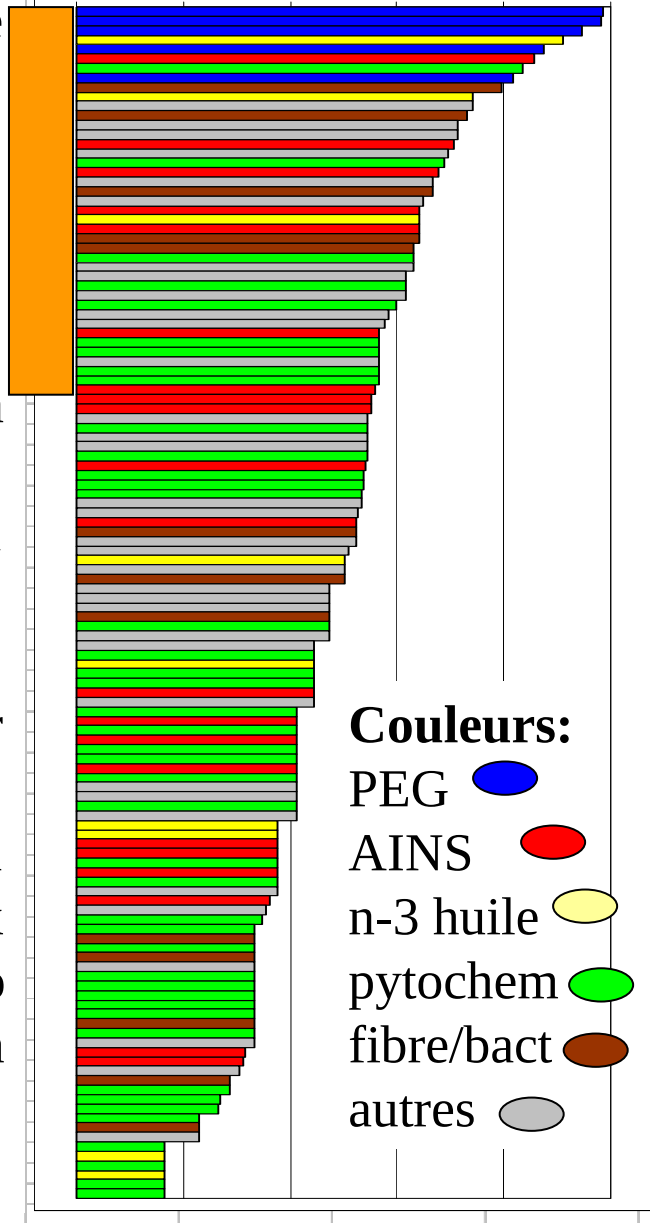
## Efficacité des Agents de Chimio-prévention contre les ACF Chimio-Induits dans le Côlon du Rat

0 20 40 60 80 100



PEG-pluronic // PEG 8000  
 PEG // perilla oil + carotene  
 PEG // sulindac sulfide  
 caffeate PEMC // PEG  
 w.bran+carot. // perilla oil  
 "Cg.salt" // *Bifidob.*+inuline  
 antiox.BHA // DFMO  
 piroxicam // sphingomyelin  
 rutin // piroxicam  
 retinoic acid // wheat bran  
 DFMO // piroxicam  
 n-3 DHA/Phip // aspirin  
 tetracycline // beet fiber  
 red ginseng // taurine  
 selen.BSeSG // hesperidin  
 Ceramide // tea + milk  
 WR151327 // C.A.Imidazo  
 NOS inhib PBIT // curcumin  
 quercetin // 2-CPRetinamide  
 auraptene// rice-germ// sulin

0 20 40 60 80 100



### Couleurs:

- PEG ●
- AINS ●
- n-3 huile ●
- pytochem ●
- fibre/bact ●
- autres ●



# Modèle animal sert à explorer des marqueurs

- identifier & valider marqueurs biologiques utilisables ensuite chez l'homme.
- ex.: foyers de cryptes aberrantes, **ACF**
  - découverts chez rats, et « validés » dans situations variées
  - puis trouvés sur muqueuse colon humain (*post mortem*),
  - et enfin chez l'homme anesthésié: effet « effaceur » du sulindac
- ex. (futur): biopuces à ADN : «signature», empreinte biologique due à un régime ou une molécule (du Rat à l'Homme ?).







# Modèle animal sert à comprendre les mécanismes

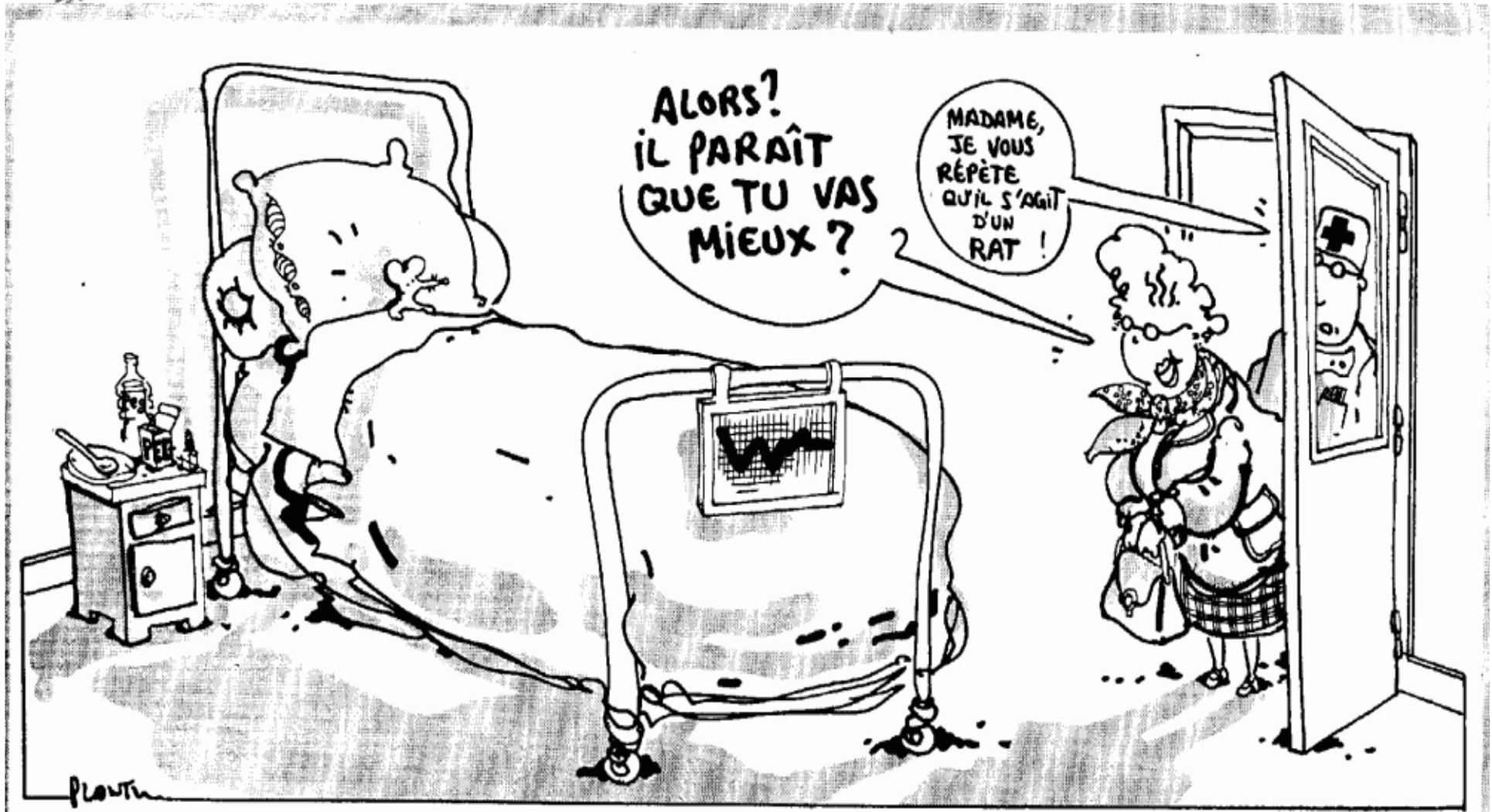
- Ex. souris KO pour un gène,
  - souris COX2 -/- et AINS (*Oshima 96*)
- Ex. rongeur hébergeant une flore spéciale
  - rats axéniques et cycasine (*Laqueur 81*)
- Ex. modulation des EMX, les enzymes de métabolisation des xénobiotiques
  - sulforaphane inhibe CYP450, induit GST & QR
- Ex. mutations spécifiques (taux mutations au site cII chez le rat Big Blue, augmente en fonction du taux de sucre du régime)





# Une limite évidente...

Plantu, le Monde, 7 mai 1998





# Une limite évidente : la distance à l'Homme.

- ? (Animal = Homme) ? mêmes effets ? mêmes mécanismes ?  
Tentatives de modèles "humanisés": génétique, aliments, flore, mais ?
- ex. son de blé
  - protecteur contre cancer colon induit chez le rat, mécanismes+
  - mais essais cliniques : aucun effet du son /polypes humains
  - Rat: anatomie, microflore, mâcher, coprophagie, ou niveau cellulaire ?
- ex. acide folique, anti-inflammatoires, PEG
  - protecteurs chez rat /AOM, mais promoteur dans **côlon** souris Min:
  - qu'en est-il chez l'homme ? (interventions en cours: folate, AINS)
- ex. carotène & poumon /ATBC: **aucune étude animale**





# Valeur prédictive des modèles animaux pour la prévention du cancer du côlon chez l'Homme

**Denis Corpet & Fabrice Pierre**

UMR Xénobiotiques ENVIT-INRA  
Institut National Recherche Agronomique,  
**Ecole Nationale Vétérinaire TOULOUSE**





## **Min mouse and AOM-rat models: They seem close to human pathology. Can they predict efficacy in humans?**

- Only one way to prove it: to compare
  - efficacy in human volunteers trials  
(double-blinded placebo-controlled randomized trials)
  - with efficacy in rodent models.
- Do they fit or do they disagree?

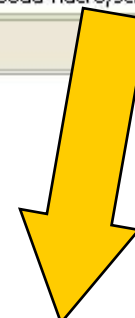




Databases: [[Tumor](#)]-[[ACF](#)]-[[Min](#)]-[[Man](#)]-[[MetaAnalysis](#)]



## --- Chemoprevention of Colorectal Cancer --- Database of agents & diets ranked by efficacy A systematic review of experimental studies (men, rats, mice)



**Google: chemoprevention database**

**Chemoprevention DATABASE contains seven tables.** Each can be searched & sorted. See [[Site Map](#)] for other pages.

- [[Meta-Analysis](#)] tables gather all studies of **aspirin, beta-carotene, calcium and wheat bran** in rodents.
- [[Tumor](#)] table shows the potency of **235 agents** to reduce the incidence of colonic **tumors and cancers** in rats.
- [[ACF](#)] table shows the potency of **290 agents** to suppress **aberrant crypt foci**, a surrogate end-point for cancer.
- [[Min](#)] mice table shows the potency of **238 agents** to reduce the number of **polyps** in the gut of **Min mice**.
- [[Man](#)] shows **all prevention trials in humans** (29 diets/agents). [[MenRatsMice](#)] compares rodents with men.
- [[PromAcf](#)] & [[PromTum](#)] tables (in construction) show how 43 & 47 **promoting diets** enhance ACF & tumors in rats.

[[Tumor](#)] [Search](#)  
[[ACF](#)] [Search](#)  
[[Min](#)] [Search](#)  
[[Man](#)] [Search](#)



### INTRODUCTION: Cancer prevention is possible!

All dietary agents which suppress colon cancer in humans, in rats and in mice were systematically collected from scientific publications. Data were gathered from the 20 clinical studies in volunteers, and more than 800 preclinical studies in rodents. Endpoints are **tumor and cancer** (colorectal adenoma and adenocarcinoma), **aberrant crypt foci (ACF)** (a preneoplastic lesion), and **Min mice polyp** (adenomas in Apc+/- mutant mice). The chemopreventive agents are ranked by efficacy (potency against carcinogenesis).

### No direct extrapolation can be made to humans:

Except [[Man](#)] table, this databank shows experimental data from rats and mice studies. The data should be compared with epidemiological observations, and confirmed in [volunteers](#) trials.

- **Quick explanations** on [Tumor](#), [ACF](#), [Min](#), [Man](#), [Huge](#)
- **Full Explanations** with more details on the tables.
- All 845 agents are gathered in a [[Huge](#)] table (with no data).
- Search [[Huge](#)] table for:

### To quote the site, please cite REFERENCES

- **Corpet D.E. & Tache S., 2002, *Nutrition and Cancer*, 43, 1-21.** Most effective colon cancer chemopreventive agents **in rats**: a systematic review of aberrant crypt foci and tumor data, ranked by potency [[Nutr. & Cancer](#)] - [[PubMed](#)]

- **Corpet D.E. & Pierre F., 2003, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 12, 391-400.** From animal models to prevention of colon cancer: Systematic review of chemoprevention **in Min mice**, and choice of the model system [[CEBP](#)]



# Randomised Double-blind Placebo-controlled Clinical Trials in Human Volunteers

| Agent<br>or Diet      | Reference<br>(click name<br>for abstract) | Relative Risk<br>(95% conf.int.) | size:<br>treated<br>no. | Length,<br>months | Daily<br>dose | Colon<br>endpoi |
|-----------------------|-------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------|---------------|-----------------|
| Selenium (?)          | <a href="#">Clark 96</a>                  | 0.42 (0.18-0.95)                 | 653                     | 54                | 200 µg        | Cancer inc      |
| vitC,vitE,Bcar,Se,Zn  | <a href="#">Hercberg 04</a>               | 0.71 (0.39-1.31)                 | 2520                    | 90                | 176 mg        | Cancer inc      |
| Celecoxib (?)         | <a href="#">Steinbach 00</a>              | 0.72 polyp/patient               | 30FAP                   | 6                 | 800 mg        | Polyp no.       |
| Calcium               | <a href="#">Bonithon 00</a>               | 0.66 (0.38-1.17)                 | 176                     | 36                | 2 g           | Polyp rec.      |
| Calcium               | <a href="#">Baron 99</a>                  | 0.85 (0.74-0.98)                 | 464                     | 18                | 1.2 g         | Polyp rec.      |
| Calcium +Mix          | <a href="#">Hofstad 98</a>                | 0.71 (0.5-1.0)                   | 42                      | 36                | 1.6 g         | Polyp rec.      |
| Sulindac (?)          | <a href="#">Giardiello 02</a>             | 0.78 (0.4-1.5)                   | 21FAP                   | 48                | 300 mg        | Polyp no.       |
| Aspirin               | <a href="#">Benamouzig 03</a>             | 0.61 (0.37-0.99)                 | 60                      | 12                | 300 mg        | Polyp rec.      |
| Aspirin               | <a href="#">Sandler 03</a>                | 0.65 (0.46-0.91)                 | 317                     | 31                | 325 mg        | Polyp rec.      |
| Aspirin               | <a href="#">Baron 03</a>                  | 0.81 (0.69-0.96)                 | 377                     | 33                | 81 mg         | Polyp rec.      |
| Aspirin               | <a href="#">Benamouzig 03</a>             | 0.85 (0.57-1.26)                 | 66                      | 12                | 160 mg        | Polyp rec.      |
| Aspirin               | <a href="#">Gann 93</a>                   | 0.86 (0.68-1.10)                 | 11035                   | 60                | 162 mg        | Polyp inc.      |
| Aspirin               | <a href="#">Baron 03</a>                  | 0.96 (0.81-1.13)                 | 372                     | 33                | 325 mg        | Polyp rec.      |
| Ursodeoxycholic       | <a href="#">Alberts 05</a>                | 0.88 (0.73-1.05)                 | 661                     | 32                | 750 mg /BW    | Adeno. rec      |
| Wheat bran            | <a href="#">Alberts 00</a>                | 0.88 (0.7-1.1)                   | 719                     | 35                | +11 g         | Polyp rec.      |
| Wheat bran            | <a href="#">McKeown 94</a>                | 1.2 (0.6-2.2)                    | 99                      | 24                | +15 g         | Polyp rec.      |
| Wheat bran            | <a href="#">MacLennan 95</a>              | 1.2 (0.8-2.0)                    | 150                     | 48                | +25 g         | Polyp rec.      |
| Caloric reduction (?) | <a href="#">MacLennan 95</a>              | 0.9 (0.6-1.5)                    | 151                     | 48                | -9%           | Polyp rec.      |
| Caloric reduction (?) | <a href="#">Schatzkin 00</a>              | 1.00 (0.90-1.12)                 | 958                     | 36                | -5%           | Polyp rec.      |
| Caloric reduction (?) | <a href="#">McKeown 94</a>                | 1.2 (0.6-2.2)                    | 99                      | 25                | -17%          | Polyp rec.      |
| Low fat               | <a href="#">MacLennan 95</a>              | 0.9 (0.6-1.5)                    | 151                     | 48                | -7%           | Polyp rec.      |
| Low fat               | <a href="#">Schatzkin 00</a>              | 1.00 (0.90-1.12)                 | 958                     | 36                | -10%          | Polyp rec.      |
| Low fat               | <a href="#">McKeown 94</a>                | 1.2 (0.6-2.2)                    | 99                      | 24                | -9%           | Polyp rec.      |
| Beta-carotene         | <a href="#">Greenberg 94</a>              | 1.01 (0.85-1.20)                 | 359                     | 48                | 25 mg         | Polyp rec.      |
| Beta-carotene         | <a href="#">MacLennan 95</a>              | 1.5 (0.9-2.5)                    | 156                     | 48                | 20 mg         | Polyp rec.      |
| Beta-carotene (?)     | <a href="#">Malila 99</a>                 | 0.98 (0.71-1.35)                 | 7761                    | 78                | 20 mg         | Polyp inc.      |
| Beta-carotene (?)     | <a href="#">Hennekens 96</a>              | 1 NS                             | 11035                   | 144               | 25 mg         | All cancers     |
| Fruits & veg.         | <a href="#">Schatzkin 00</a>              | 1.00 (0.90-1.12)                 | 958                     | 36                | +2serv        | Polyp rec.      |
| Vit. C + vit. E       | <a href="#">McKeown 88</a>                | 0.86 (0.51-1.45)                 | 70                      | 24                | 0.4+0.4 g     | Polyp rec.      |
| Vit. C + vit. E       | <a href="#">Greenberg 94</a>              | 1.08 (0.91-1.29)                 | 380                     | 48                | 1+0.4 g       | Polyp rec.      |
| Vit. E (?)            | <a href="#">Malila 99</a>                 | 1.66 (1.19-2.32)                 | 7768                    | 78                | 50 mg         | Polyp inc.      |
| Psyllium (?)          | <a href="#">Bonithon 00</a>               | 1.67 (1.01-2.76)                 | 198                     | 36                | 3.5 g         | Polyp rec.      |



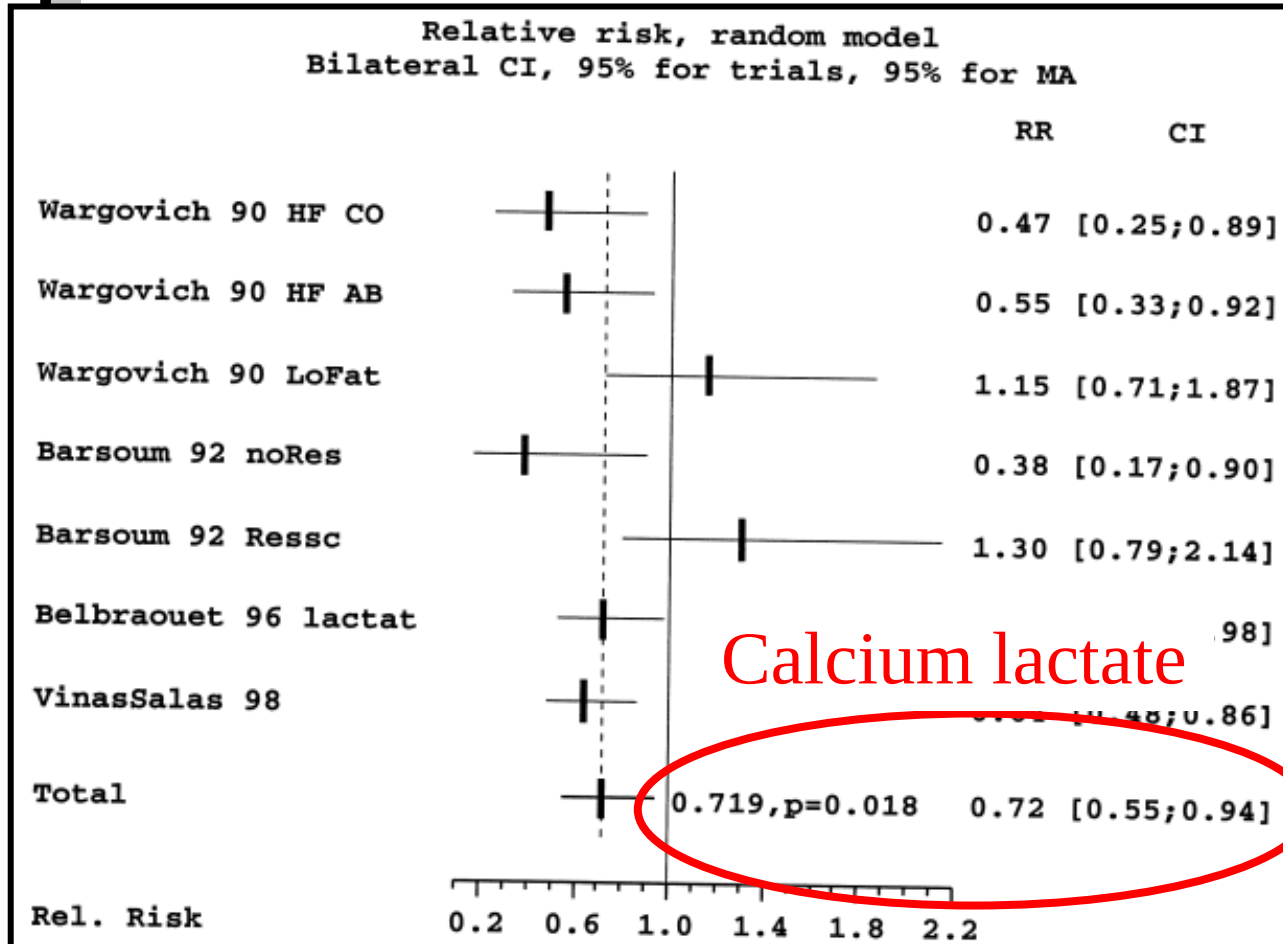
# Meta-analyses of aspirin, calcium wheat bran and beta-carotene, studies in men, mice and rats

- 6714 volunteers (polyp recurrence)
- 3911 carcinogen-induced rats
- 458 Min mice (or other *Apc* mutation)
- Published: ***European Journal of Cancer***, 2005.
- Full data in the Chemoprevention Database





# Calcium in DMH-induced rats: Are all calcium salts the same?



Calcium  
phosphate,  
carbonate,  
gluconate

| RR    | [ bi ; bs ]      |
|-------|------------------|
| 1.000 | [ 0.936; 1.068 ] |
| 1.022 | [ 0.867; 1.204 ] |
| 0.931 | [ 0.636; 1.363 ] |
| 1.294 | [ 0.885; 1.893 ] |
| 1.236 | [ 0.796; 1.919 ] |
| 0.900 | [ 0.693; 1.169 ] |
| 1.184 | [ 0.579; 2.424 ] |
|       | [ 2.340; 1.854 ] |
|       | [ 1.008; 1.714 ] |
|       | [ 1.518; 1.345 ] |
|       | [ 1.039; 1.280 ] |
|       | [ 1.475; 1.617 ] |
|       | [ 1.174; 1.082 ] |
|       | [ 0.867; 1.737 ] |
| 0.833 | [ 0.473; 1.468 ] |
| 1.053 | [ 0.411; 2.699 ] |
| 1.500 | [ 0.697; 3.228 ] |
| 0.356 | [ 0.084; 1.497 ] |
| 0.992 | [ 0.947; 1.039 ] |

Moik 02 .5 vs.25

Total

Cochran Q het. p=0.23

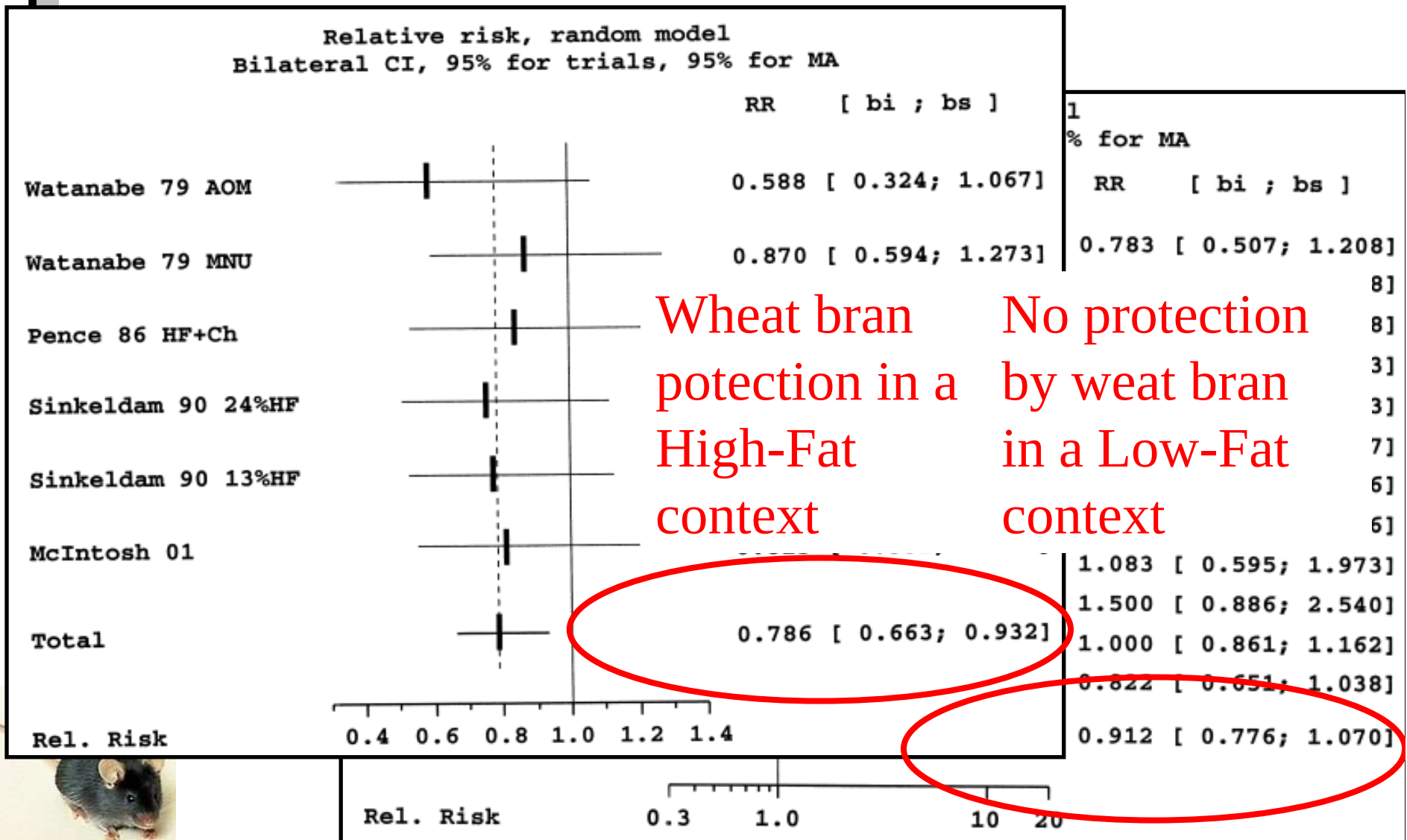
Rel. Risk

0 1 2 3 4





# Wheat bran in DMH-induced rats: Low-fat vs. High-fat diet





# Humans & Rodents Comparison

Results from the meta-analysis approach

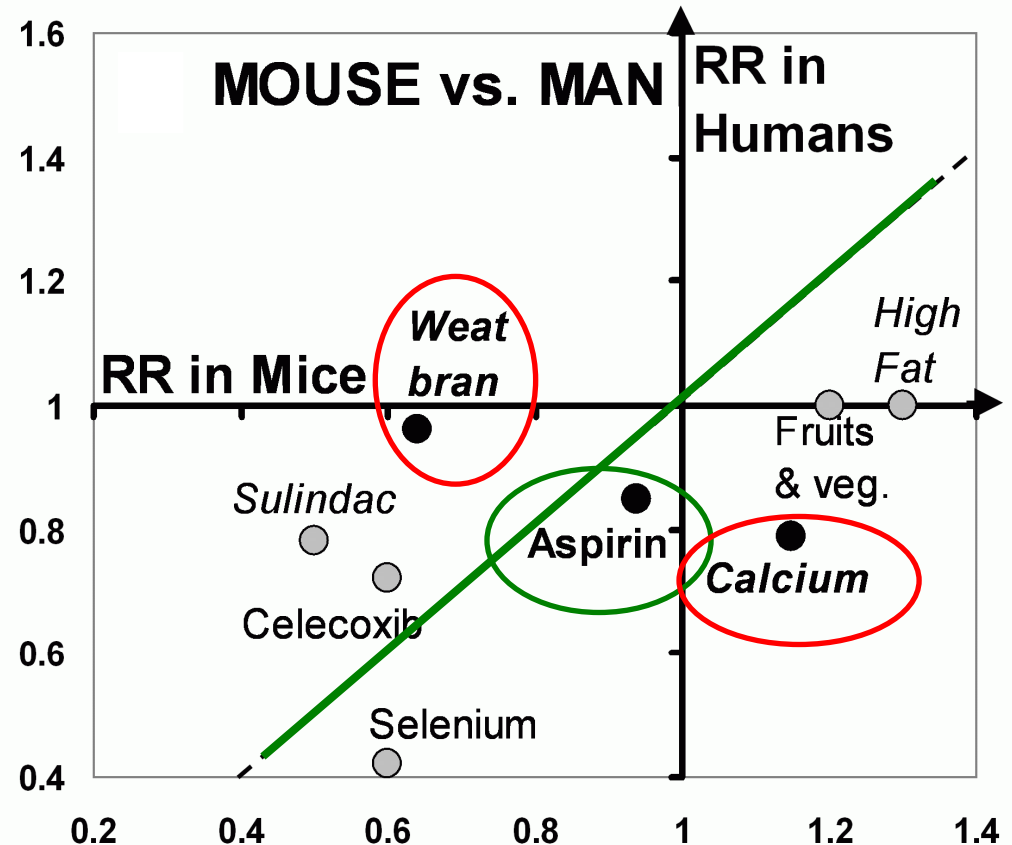




# Prevention in Mice and Men

## Results from the meta-analysis approach

- RR, risk ratio. PR, polyp ratio
- Black points, ● meta-analysis data
- Grey points, ○ tentative values from previous review (not solid data)
- ***Italics***, RR discordant in humans and rodents:
- Calcium and wheat bran RR in humans was outside of mice PI 95% confidence intervals



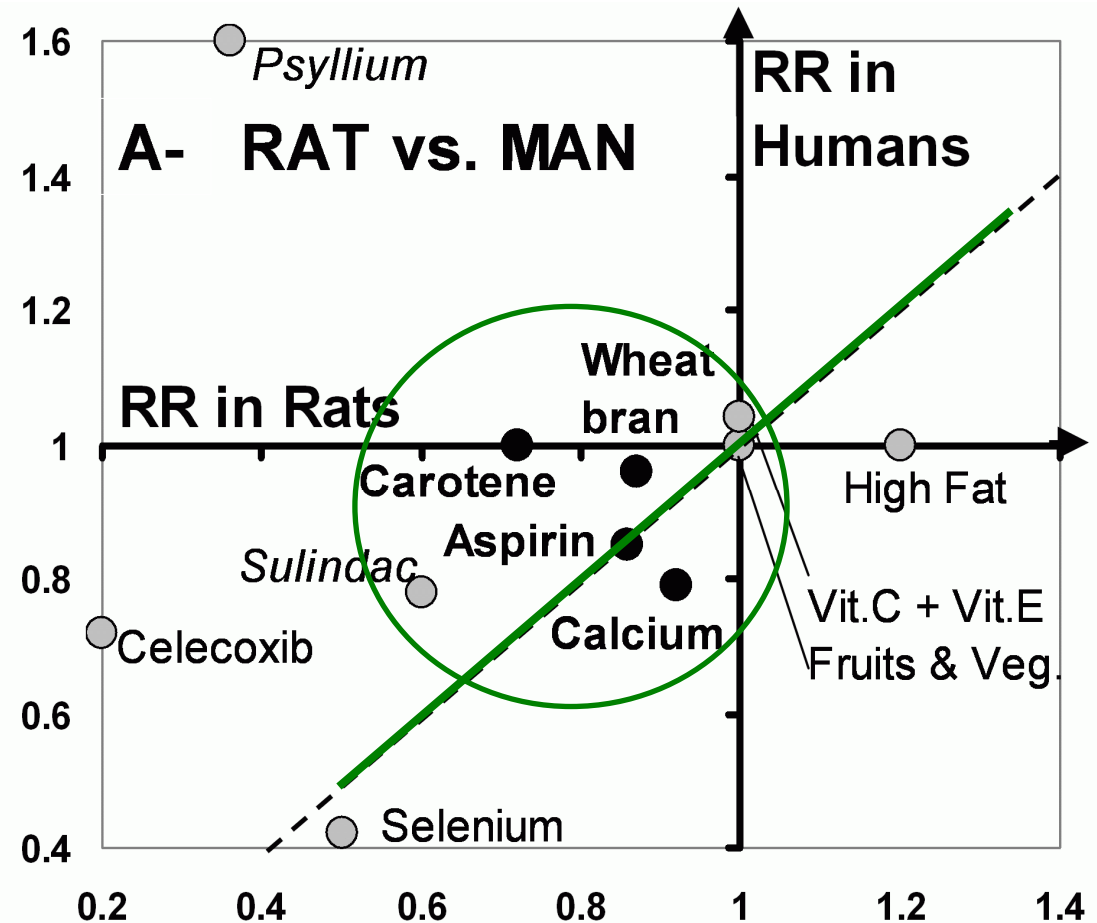




# Prevention in Rats and Men

## Results from the meta-analysis approach

- RR, risk ratio.
- Black points, ● meta-analysis data
- Grey points, ○ tentative values from prev. review (not solid data)
- *Italics*, RR discordant in humans and rodents
- Carotene, wheat bran, aspirin and calcium RR in humans inside rats 95% conf. intervals



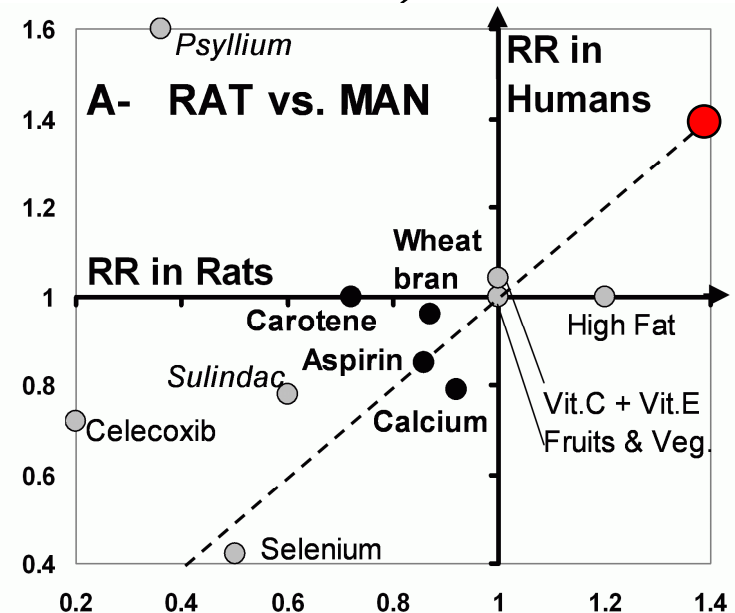


# Conclusion 1, Modèles Rongeurs

- Les modèles rongeurs sont bien « en théorie ». Mais ... Permettent-ils de prédire ce qui se passe chez l'Homme ?
- Pour prédire l'efficacité des agents de prévention du cancer Les rongeurs ne sont "pas si mal", mais "pas parfaits"
- Les rats chimio-induits (AOM) semblent « mieux » que les souris Min mutées /Apc (OK 4/4 contre 1/3, mais 4000 rats contre 450 souris)
- Pour démontrer la corrélation, il faudrait tester un **agent promoteur**

On ne le fera jamais chez l'Homme:

- c'est très heureux !
- c'est un peu dommage !





# Conclusion 2

## "politiquement incorrecte"

- Hursting => (NCI, 2005):

"Un des but majeur de la recherche en prévention du cancer c'est le développement de stratégies basées sur **les mécanismes**"
- Mais les meilleurs produits connus à ce jour ont été trouvés **par chance** ou en faisant du **screening** systématique:  
*Chance*: aspirine, ursodiol, R-flubiprofen, PEG... .souris Min  
*Screening*: resvératrol, curcumine, ...
- Nbx mécanismes expliquent comment le **son de blé** inhibe le cancer => En fait, le son n'a **aucun** effet protecteur /Homme
- Plein d'explications sur la protection par **β-carotène** => Mais carotène à forte dose = plus de cancer du poumon /fumeurs !
- Alors, à quoi servent toutes les études mécanistiques ?  
Mieux vaut des essais de prévention chez l'homme. Oui mais





## Que nous disent les rats et les souris, finalement ?

- Continuez les recherches: chez nous, les rats et les souris, on arrive à empêcher 100% des cancers. La prévention doit être possible aussi pour vous!
- Certains agents sont très efficaces chez nous: Faut les tester dans des **essais d'intervention**
- Mais comme nous ne sommes pas des modèles "parfaits", c'est sage de continuer à chercher d'autres agents, à les tester dans plusieurs modèles ... et même à **comprendre les mécanismes !**





## Niveaux d'expérimentation classés par le WCRF pour l'établissement des recommandations alimentaires

- (i) *In vivo* studies in human volunteers.
- (ii) *In vivo* data in transgenic animal models highly germane to human cancer (e.g. knockout mouse models).
- (iii) *In vivo* data in rodent cancer models to study modifiers of the cancer process.
- (iv) *In vitro* data in human cells validated with an *in vivo* model e.g. transgenic model.
- (v) *In vitro* data in primary human cells.
- (vi) *In vitro* data in human cell lines.
- (vii) *In vitro* data in animal cells.
- (viii) Data from mechanistic test systems e.g. isolated enzymes, isolated gene.
- (ix) Studies using bacterial systems

**Mais...**

**Class 1 evidence (i – iii) More weight should be given to human mechanistic studies, when considering both primary data and reviews.**

**Class 2 evidence (iv – vi) A second class of evidence looking at studies in categories (iv – vi). Class 2 evidence should not be reviewed.**

**Class 3 evidence (vii – ix) A third class looking at studies in categories (vii – ix). Class 3 evidence should not be reviewed.**



*Adapté des recommandations du WCRF*