

Modèles *in vitro* et *in vivo* développés à partir de cancers prostatiques humains

Franck BLADOU (1, 2), Martin E. GLEAVE (3), Frédérique PENAULT-LLORCA (2), Gérard SERMENT (1), Paul H. LANGE (4), Robert L. VESSELLA (4)

(1) Service d'Urologie, Hôpital Salvator; (2) Unité Fonctionnelle d'Uro-Pathologie, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

(3) Division of Urology, University of British Columbia, BC, Vancouver, Canada

(4) Department of Urology, University of Washington Medical Center, WA, Seattle, USA

RESUME

La possibilité de maintenir et d'étudier des cancers de prostate d'origine humaine dans un environnement *in vitro* et *in vivo* a permis d'obtenir des outils rares mais indispensables pour étudier de nombreux aspects de la biologie de ces cancers. Bien qu'aucun modèle disponible ne soit parfait, la somme des travaux qu'ils ont permis depuis plus de 20 ans sont à l'origine des progrès majeurs réalisés dans la compréhension de cette maladie.

Les lignées cellulaires (cultivées *in vitro*) les plus utilisées sont PC-3, DU-145 et LNCaP. Leurs limites viennent de ce que ce sont des lignées essentiellement androgéno-indépendantes, dérivées de sites métastatiques. Du fait de la croissance lente des cancers de prostate, il est très difficile d'obtenir des lignées tumorales transplantables chez des animaux immunodéficients (comme les souris athymiques) et seules quelques xénogreffes sont actuellement disponibles, dont certaines comme PC-82, LuCaP 23, CWR-22 sont androgéno-dépendantes ou sensibles. Ces modèles permettent d'étudier les interactions hôte-tumeur comme les interactions endocrinologiques, les interactions stroma-cellules tumorales, d'analyser les phénomènes moléculaires liés aux stades d'hormono-dépendance et d'hormono-résistance. Des modèles métastatiques de cancer prostatique sont également développés *in vitro* et *in vivo* dont l'impact sur la compréhension des mécanismes métastatiques et l'approche de nouvelles thérapies semble crucial.

Ce travail décrit les principaux modèles d'étude développés à partir de cancers de prostate humains, leurs principales caractéristiques, leur intérêt par rapport aux cancers cliniques et certains travaux marquants qu'ils ont permis. Du fait des progrès exponentiels des techniques de biologie moléculaire et d'oncogénétique, il apparaît indispensable d'augmenter le nombre et la diversité des modèles expérimentaux de cancer de prostate pour

alimenter la recherche sur l'étude des phénomènes cruciaux dans l'évolution de cette maladie, de l'oncogénèse aux stades métastatiques actuellement incurables.

Mots clés: modèles expérimentaux, cancer de prostate, cultures cellulaires, souris athymiques.

Progrès en Urologie (1997), 7, 384-396.

Le cancer de la prostate (CAP) est l'un des cancers les plus fréquents chez l'homme et pourtant beaucoup de progrès restent à réaliser pour la compréhension des mécanismes biologiques et moléculaires, l'histoire naturelle et le traitement de cette maladie. Le CAP n'est curable que dans les formes localisées à la glande prostatique, mais dans environ 40% des cas, le diagnostic est porté à un stade localement avancé et/ou métastatique. Pour le groupe de patients porteurs d'un CAP avancé, il n'y a pas eu de progrès thérapeutique majeur réalisé depuis la découverte il y a plus de 50 ans de l'efficacité temporaire de la déprivation androgénique sur le CAP [34, 35]. Comme la majorité des tissus obtenus lors d'un acte chirurgical est nécessaire pour apprécier le stade pathologique et le grade, peu de tissu tumoral reste disponible pour la recherche et notamment pour les études de biologie moléculaire. De ce fait, l'état d'avancement de nos connaissances sur cette maladie est directement lié aux extrapolations déduites de concepts établis à partir de modèles d'étude appropriés.

Un modèle d'étude idéal de CAP chez l'animal n'existe pas. Ce modèle idéal devrait simuler le plus exactement possible les situations cliniques rencontrées chez l'homme: la tumeur devrait être d'origine humaine, avoir un temps de doublement relativement lent mais suffisamment rapide pour permettre des études dans des délais raisonnables, être androgéno-dépendante (AD) ou androgéno-sensible, produire de l'antigène prostatique spécifique (PSA), créer des métastases

Manuscrit reçu : octobre 1996, accepté : février 1997.

Adresse pour correspondance : Dr. F. Bladou, Service d'Urologie, Hôpital Salvator, 249, Bd. Sainte-Marguerite, 13009 Marseille.

ganglionnaires et osseuses, et progresser vers un état androgéno-indépendant (AI) après castration [12]. Cependant, le CAP chez l'homme varie notablement en terme d'agressivité biologique, de sensibilité aux androgènes, et d'aspect histologique d'une tumeur à l'autre. Il n'est donc pas réaliste de créer un modèle d'étude chez l'animal qui puisse représenter les différentes formes de CAP rencontrées chez l'homme.

Bien qu'il soit fréquent chez l'homme, le cancer de la prostate apparaît rarement de manière spontanée chez l'animal. Il existe néanmoins plusieurs modèles de cancer de la prostate chez le rongeur qui ont tous des avantages et des inconvénients. On distingue: des modèles d'adénocarcinomes prostatiques transplantables à partir de tumeurs spontanées chez l'animal, tels que les modèles Dunning R-3327 (CAP chez le rat), le modèle Pollard (CAP chez le rat Lobund-Wistar), la tumeur de Fortner chez le hamster, et des modèles de CAP induits tels que le modèle de CAP chez le rat Noble (voir pour complément l'article de revue par ISAACS et COFFEY, 1983 [37]). Ces modèles ont été très utiles pour développer certains concepts sur la biologie du CAP, tels que l'hétérogénéité cellulaire tumorale, les mécanismes d'hormono-résistance et le pouvoir métastatique [37]. Néanmoins, tout principe oncologique découvert sur une tumeur chez l'animal doit être étendu et validé sur des tumeurs humaines.

Le but de ce travail est de décrire les principaux modèles d'étude issus de CAP d'origine humaine in vitro et in vivo disponibles à l'heure actuelle. Du fait du développement très important des techniques de recherche, en particulier de biologie moléculaire et d'oncogénétique qui nécessitent beaucoup de matériel tumoral, l'utilisation de modèles d'étude fiables, reproductibles et cohérents a déjà et doit, à l'avenir, permettre de réaliser des progrès majeurs dans la compréhension de cette maladie.

MODELES IN VITRO : LIGNEES CELLULAIRES DE CAP HUMAINS

Lignées cellulaires androgéno-indépendantes

PC-3 et DU-145 représentent les deux lignées cellulaires de CAP humains androgéno-indépendantes régulièrement utilisées en recherche. Des lignées cellulaires moins utilisées et moins bien caractérisées telles que EB-33 [61], PC-93 [11], TSU-PR1 [36], JCA-1 [55], ND-1 [59], PPC1 [7], et DuPro-1 [21] sont également disponibles (Tableau 1). Ces lignées cellulaires sont maintenues facilement in vitro et peuvent produire des carcinomes peu différenciés après inoculation sous cutanée chez la souris immunodéficiente (souris athymique et souris SCID ou "severe combined immune

deficiency"). Aucune de ces lignées cellulaires ne répond aux manipulations androgéniques et aucune ne présente de récepteurs androgéniques (à part PC-93), d'activité 5 α réductase, et de production de PSA. PAP est produit en petite quantité par DU-145 [64] et TSU-PR1 [36]. Différentes voies d'administration de cellules prostatiques tumorales ont permis de créer des sous-lignées cellulaires à pouvoir métastatique vers des organes sélectifs chez la souris immunodéficiente [1, 19, 43]. Ces sous-lignées représentent des modèles d'étude privilégiés pour étudier les mécanismes moléculaires liés au pouvoir métastatique des cellules de cancer de la prostate et permettre de tester et de développer de nouvelles approches thérapeutiques des cancers de prostate métastasés [43].

La lignée PC-3

La lignée PC-3 a été établie à partir d'une métastase vertébrale prélevée au cours d'une autopsie dans les heures suivant le décès d'un patient de 62 ans porteur d'un cancer AI [40] (Figure 1a). Les cellules de PC-3 sont aneuploïdes et contiennent 60 chromosomes, les chromosomes 2, 3, 5, 15 et Y étant toujours absents. Il n'existe pas de récepteurs aux androgènes (RA) détectables dans cette lignée AI. Pourtant l'introduction d'ADNc des RA dans ces cellules semble indiquer que la perte de sensibilité aux androgènes serait due à une déficience de fonctionnement plutôt qu'à une absence de RA [96].

Parmi les facteurs de croissance détectés dans les cellules PC-3, il faut noter le TGF- α , les récepteurs à l'EGF [9], l'IGF-1 (insulin-like growth factor 1) [63], le Platelet Derived Growth Factor 1 et 2 (PDGF) [75], le bFGF [57].

Plusieurs modèles ont été établis pour étudier le pouvoir métastatique des cellules PC-3 [85, 73, 78]. Des métastases osseuses peuvent apparaître après injection intraveineuse dans la veine caudale avec occlusion simultanée de la veine cave [73, 60], ce qui supporte l'hypothèse de Batson sur la diffusion sélective des cellules tumorales prostatiques vers le squelette axial par la voie des plexus veineux paravertébraux [4]. De plus, plusieurs sous-lignées de PC-3 ont été établies, avec des pouvoirs métastatiques vers des organes sélectifs chez la souris SCID après inoculation intraveineuse [85, 86]. Après sélection de plusieurs sous-lignées cellulaires PC-3 en fonction de leur capacité à traverser une membrane basale reconstituée à base de Matrigel®, WANG et coll. ont obtenus de nombreuses métastases polyviscérales après injection de ces sous-lignées dans la veine caudale de souris SCID [85]. A partir des localisations métastatiques, ils ont isolé 4 sous-lignées cellulaires qui possèdent un pouvoir métastatique sélectif avec apparition de métastases dans 80% des animaux injectés au niveau des vertèbres lombaires (lignée PC-3 ML), de la mandibule (PC-3 MC),

du cartilage costal (PC-3 MR) et du membre inférieur droit (PC-3 MK).

Des cellules de la lignée PC-3 injectées sous la capsule splénique de souris athymiques peuvent entraîner l'apparition de nombreuses métastases viscérales (hépatiques, ganglionnaires, pulmonaires [41, 74].

La lignée DU-145

La lignée DU-145 a été établie à partir d'une métastase cérébrale prélevée chez un homme de 60 ans, 3 semaines après le début d'un traitement oestrogénique [79] (Figure 1b). Le caryotype de cette lignée retrouve des cellules aneuploïdes à 64 chromosomes. Il n'a pas été retrouvé de RA détectables par les techniques classiques (immunoblot, northern blot et nucléase S1) [82]. Les facteurs de croissance détectés dans les cellules DU-145 sont l'EGF et le TGF- α ainsi que de nombreux récepteur à l'EGF [20, 52], le bFGF [57] et du PDGF-like [75].

L'injection intrasplénique de cellules de la lignée DU-145 a permis l'obtention de métastases ganglionnaires mésentériques, hépatiques et une ascite carcinomateuse [41]. La lignée métastatique a été dérivée et appelée DU-145M. Elle présente un taux d'implantation très élevé (90%) avec formation de métastases viscérales dans 90% des cas après injection intrasplénique.

Lignées cellulaires androgéno-dépendantes ou sensibles

Les rares lignées cellulaires de CAP androgéno-sensibles disponibles à l'heure actuelle sont les lignées ALVA-31 [46], ALVA-41 [58] et LNCaP qui est de loin la plus répandue (Tableau 1).

Le modèle tumoral LNCaP

La lignée cellulaire LNCaP est le modèle d'étude le plus communément utilisé, ayant représenté longtemps la seule lignée qui présentait des récepteurs androgéniques fonctionnels et qui produisait du PSA. La lignée a été établie à partir d'une métastase ganglionnaire prélevée chez un homme de 50 ans sous oestrogènes 6 mois et sous methyl CCNU et estramustine 1 mois avant le décès [32]. HOROSZEWICZ et coll. ont rapporté initialement que l'inoculation sous cutanée de 1×10^7 cellules LNCaP chez la souris athymique produisait un adénocarcinome non métastatique qui entraînait la mort de l'hôte en 4 mois [32]. Cependant, d'autres laboratoires utilisant des lignées de passages ultérieurs n'ont pas pu reproduire la croissance de cellules LNCaP en sous cutanée. Par contre, l'utilisation de produits supports à base de protéines de la matrice extracellulaire (Matrigel®, Collaborative Research, Bedford, MA, USA) co-inoculés avec des cellules tumorales LNCaP permet d'obtenir chez la souris immunodéfi-

Tableau 1. Lignées cellulaires de cancers de prostate humains.

Nom [Ref.]	Origine	Sensibilité androgénique de la lignée	Marqueurs sériques et histologiques	Année de découverte
PC-3 [40]	méta. os	AI, RA-	Aucun	1976
DU-145 [79]	méta. cerveau	AI, RA-	PAP	1977
LNCaP [32]	métastase ganglionnaire	AS AR+, 5 α R	PSA, PAP	1980
EB-33 [61]	ADK prostate	AI AR?	\pm PAP	1974
PC-93 [11]	ADK prostate	AI/AD AR+	Aucun	1983
TSU-PRI [36]	métastase ganglionnaire	AI AR-	PAP	1987
PPC-1 [7]	ADK prostate stade D2	AI, AR?	Aucun	1989
JCA-1 [55]	ADK prostate	AI	Aucun	1990
ND-1 [58]	ADK prostate	AI	traces	1991
DUPRO-1 [21]	métastase ganglionnaire	AI	Aucun	1991
ALVA-31 [46]	ADK prostate stade B2	AD, RA+	PSA-PAP	1993
ALVA-41 [58]	méta. os.	AD, RA+	PAP	1994

Légende : AI : androgéno-indépendant; AD : androgéno-dépendant; AR : récepteur androgénique; 5 α R : 5 α -réductase; ADK : adénocarcinome.

ciente des xéno greffes sous-cutanées de manière reproductible [44, 65]. Les composants de ce matériel support (laminine, collagène IV, protéoglycans...) permettent un ancrage et une polarisation des cellules épithéliales tumorales, ce qui augmente considérablement le taux d'obtention des xéno greffes après injection de cellules tumorales comme LNCaP [62, 81].

Des métastases ganglionnaires peuvent être obtenues fréquemment après injection orthotopique (intraprostatique) de cellules PC-3M et LNCaP [78]. La prostate murine paraît être un milieu favorable à la croissance de ces cellules et à l'expression de leur potentiel métastatique. Ces observations illustrent l'importance des interactions épithélium-stroma dans la croissance des tumeurs prostatiques et suggèrent que la matrice extracellulaire et les facteurs de croissance d'origine paracrine jouent un rôle dans la croissance de telles tumeurs et sur les sites préférentiels métastatiques [10].

La lignée LNCaP contient des cellules aneuploïdes qui possèdent l'ensemble des chromosomes humains, y

compris le chromosome Y. Les cellules LNCaP contiennent des RA anormaux, du fait d'une mutation ou d'effets post-transcriptionnels [83, 72].

La lignée tumorale LNCaP a permis d'étudier notamment les interactions stroma-épithélium, la pharmacocinétique et l'expression génique androgéno-dépendante du PSA, ainsi que les mécanismes de la progression AI.

Interactions cellulaires stroma-épithélium dans le modèle LNCaP

En utilisant une technique de recombinaison cellulaire, GLEAVE et coll. ont observé que la co-inoculation de 1×10^6 cellules LNCaP avec différents types de fibroblastes spécifiques d'organes comme les cellules stromales d'origine prostatique et osseuse entraînaient une stimulation de la croissance des cellules LNCaP in vivo, alors que les cellules stromales d'origine pulmonaire ou rénale n'avaient pas cette capacité [23]. Les tumeurs LNCaP induites sont des adénocarcinomes peu différenciés qui produisent du PSA. Par ailleurs, le rôle des cellules du stroma sur la régulation de la croissance des cellules prostatiques a été confortée par l'observation suivante: les cellules LNCaP forment des tumeurs prostatiques sécrétant du PSA quand elles sont injectées directement dans la prostate dorsale de la souris hôte mais pas quand elles sont injectées sous la capsule rénale ou en sous cutanée, même avec des concentrations cellulaires plus élevées [24]. Ces résultats suggèrent que les cellules stromales prostatiques normales sont capables de stimuler la croissance des tumeurs LNCaP [78].

La croissance in vitro des cellules LNCaP est stimulée par des taux faibles de testostérone et par différents facteurs de croissance paracrines et autocrines tels que bFGF, EGF et TGF- α [23, 24, 71, 92]. Les cellules stromales osseuses produisent du bFGF, et il est possible que bFGF ainsi que d'autres facteurs de croissance agissent sur un mode paracrine pour stimuler la croissance de cellules tumorales métastatiques au niveau des organes cibles caractéristiques du cancer de la prostate [23, 10].

Le PSA dans le modèle LNCaP

Du fait de sa capacité à produire du PSA in vivo et in vitro, la lignée LNCaP a servi de modèle d'étude de la régulation du PSA. Il existe dans ce modèle une corrélation importante entre le volume tumoral et le taux sérique de PSA in vivo mesuré dans le sérum murin après prélèvement dans la veine caudale [22]. Le taux sérique de PSA augmente de 0.24 ng/ml par millimètre cube de tumeur, ce qui est approximativement 5 fois moins que la valeur estimée en clinique humaine. Cette densité faible du PSA est probablement liée à une clairance du PSA 7 fois plus rapide dans le modèle murin par rapport à l'homme. Mise à part cette demi-vie plus

courte, l'élimination du PSA semble identique chez la souris et chez l'homme, avec une première phase d'élimination rapide suivie d'une phase d'élimination plus lente (modèle bi-compartmental) [22]. Les études en immuno-histo-chimie retrouvent une expression intense du PSA dans le cytoplasme des cellules épithéliales tumorales qui est corrélée au taux sérique de PSA [44, 26].

Immédiatement après castration, le taux sérique de PSA chute rapidement de 80% et augmente jusqu'à 20 fois après supplémentation androgénique. Ces variations du taux sérique de PSA surviennent sans apparition de mort cellulaire programmée (ou apoptose) induite par la castration ni modification significative du volume tumoral, ce qui suggère des changements dans l'expression génique du PSA régulée par les androgènes. Malgré une chute de 80% du taux sérique de PSA après castration, l'expression de l'ARNm du PSA dans les cellules LNCaP retourne progressivement aux valeurs pré-castration en l'absence d'androgènes testiculaires, en moins de 4 semaines, annonçant le début de la régulation génique AI du PSA [22].

Si la production du PSA par les cellules LNCaP est régulée par les androgènes (la région promotrice du gène du PSA contient un élément fonctionnel de réponse aux androgènes [67]), elle est régulée aussi par différents autres facteurs de croissance, ce qui explique la sécrétion de PSA par les tumeurs au stade AI [95, 24]. La synthèse de PSA peut être stimulée par la vitamine D [50] alors que les esters phorbol inhibent la stimulation androgénique du PSA [3]. EGF et FGF semblent diminuer la production de PSA, et EGF et TGF- α semblent perturber la régulation androgénique du PSA [24, 29].

Progression androgéno-indépendante

L'augmentation du taux de PSA sérique à partir d'un PSA nadir après déprivation androgénique est le premier signe de la progression du CAP vers un stade AI, associée avec une survie réduite [51]. Le modèle LNCaP a été utilisé pour déterminer si les variations du PSA après castration pouvaient prédire la durée d'involution tumorale avant la progression AI. Bien que dans le modèle cette durée soit variable, allant de 14 à plus de 100 jours (moyenne 28 jours), la progression apparaît invariablement. Ni le taux sérique de PSA avant castration, ni le volume tumoral pré-castration, ni la valeur du PSA nadir ne prédisent la durée d'involution tumorale, des taux sériques bas de PSA avant castration pouvant atteindre des PSA nadir bas sans que la durée d'involution avant progression ne soit allongée. La «fraction» du PSA nadir, définie comme le pourcentage de diminution du PSA après castration, est le seul facteur qui soit directement corrélé avec la durée d'involution avant progression dans le modèle: la durée d'involution tumorale après castration varie de 14 jours

pour une fraction du PSA nadir de 1,2 à 90 jours pour une fraction du PSA nadir de 19,8. Ces observations suggèrent que la fraction du PSA nadir peut être utile pour identifier les bons des mauvais répondeurs après déprivation androgénique [25], ce qui a été confirmé en partie par une étude semblable effectuée sur le modèle de xéno greffe LuCaP 23 [16]. Dans cette étude, les deux paramètres prédictifs de la durée de la réponse tumorale à la castration étaient la fraction du PSA nadir ainsi que le délai d'apparition du PSA nadir.

Le modèle LNCaP a permis d'étudier les mécanismes moléculaires qui initient ou participent à la transition apparente du stade AS à AI après castration et d'évaluer des traitements à même d'allonger ou d'interdire cette transition. Au cours du stade d'échappement hormonal AI, la production de PSA existe et les cellules LNCaP doivent s'adapter à un environnement déplété en androgènes en stimulant des mécanismes de transduction de signaux annexes non androgéno-dépendants [25, 94]. Afin d'étudier ces mécanismes, des tumeurs LNCaP cultivées sur des souris castrées et ayant progressé vers un état AI ont été sélectionnées pour créer de nouvelles sous-lignées cellulaires [33]. Une lignée cellulaire, appelée la lignée C-4 LNCaP, a été obtenue à partir d'une tumeur portée par un animal qui avait été castré 4 semaines auparavant. L'apparition spontanée de la synthèse de PSA dans cette lignée AI semble être un phénotype acquis stable, la lignée C4-LNCaP surexprimant PSA en l'absence de stimulation androgénique chez des souris filles castrées. De plus, si le milieu de conditionnement de la lignée C4-LNCaP est incubé avec la lignée parentale LNCaP, la production de PSA de la lignée parentale est stimulée par un facteur 4. Ces observations suggèrent que la lignée AI C4-LNCaP produit un facteur soluble, non androgénique qui stimule la production de PSA sur un mode autocrine, et serait probablement en partie responsable de l'augmentation de PSA au cours de l'évolution AI de ces tumeurs. La production de ce facteur représente une réponse adaptative aux changements hormonaux du milieu de survie des cellules tumorales. Des études complémentaires sur les lignées LNCaP AI ont permis de produire une autre sous-lignée (C4-2) qui produit des métastases ganglionnaires et osseuses après implantation sous-cutanée ou orthotopique [94, 80]. L'incidence des métastases osseuses semble plus élevée chez les souris castrées que chez les souris mâles non castrées, ce qui suggère que dans ce modèle la déprivation androgénique continue pourrait faciliter le développement de métastases osseuses [94].

La production de PSA au cours du stade AI survient sans qu'il existe de mort cellulaire induite par la castration, ce qui suggère que des sous-populations de cellules LNCaP s'adaptent à un environnement déplété en androgènes en stimulant plusieurs gènes inhibés par la présence d'androgènes. Des études dans les modèles

LNCaP et Shionogi (xéno greffe de carcinome mammaire hormonosensible d'origine humaine) suggèrent que la récurrence tumorale AI représente un stade altéré de différenciation, mieux adapté pour la survie cellulaire en milieu hostile (sans androgènes) [8]. La progression AI pourrait faire intervenir un phénotype nouveau et résistant issu de quelques cellules souches disséminées dans la tumeur et qui se développeraient pour former une tumeur AI. Ce mécanisme adaptatif serait disséminé et constitutif et a été décrit dans des tissus bénins d'autres organes (appelé adaptation clonale constitutive par Farber à partir d'un modèle de régénération hépatocytaire induite par une toxine) [17]. Un tel mécanisme suggère que la résistance aux androgènes pourrait être une propriété primitive et quiescente de quelques cellules prostatiques qui serait activé en réponse à la déprivation androgénique. Une réexposition intermittente aux androgènes pourrait augmenter ou supprimer l'activation de ce processus moléculaire qui permet le développement du phénotype tumoral AI [2] et métastatique [80]. Cette hypothèse est la base du concept de traitement hormonal intermittent prôné par l'équipe de Vancouver [8, 26]

UTILISATION DE LA SOURIS IMMUNODEFICIENTE POUR L'ETUDE DU CANCER PROSTATIQUE HUMAIN

La découverte de la lignée de souris athymique présentant un déficit en lymphocytes T a permis de réaliser les premières études d'hétérotransplantation de tissus (ou xéno greffes) et d'utiliser ce nouvel outil pour évaluer quelques aspects de tumeurs humaines in vivo [69]. Les modèles de xéno greffes reposent sur l'établissement et la croissance continue d'hétérotransplants de tissu néoplasique humain chez la souris immunodéficente. La croissance progressive de tumeurs xéno génétiques chez la souris athymique dépend de propriétés tumorales (comme l'origine et le type de la tumeur transplantée) et du site d'implantation de la tumeur chez la souris hôte [18]. Ainsi, les mélanomes, les tumeurs des tissus mous peuvent être transplantés facilement chez la souris athymique alors que les cancers du sein, de l'estomac, de la prostate sont plus difficiles à transplanter. Il existe, de plus, certains facteurs liés à la souris hôte qui peuvent retentir sur les résultats d'hétérotransplantation tumorale, comme l'âge, le sexe, l'état de santé de l'animal. Enfin, il persiste chez la souris athymique certaines fonctions de lymphocytes T, ainsi que des taux élevés d'anticorps naturels et surtout de cellules NK qui peuvent interagir avec les cellules tumorales transplantées. La persistance d'une activité NK chez la souris athymique pourrait être un facteur limitatif de la dissémination métastatique des tumeurs transplantées par destruction des cellules tumorales circulantes.

Une mutation dans la lignée de souris C.B-17 a produit une nouvelle lignée de souris immunodéficientes, les souris SCID [6]. Ces animaux qui présentent un déficit fonctionnel des cellules T et B sont utilisés depuis quelques années et permettent d'améliorer les taux de succès de transplantation de tumeurs difficilement implantables chez la souris athymique, et l'obtention de métastases spontanées [54]. Un autre avantage de ce modèle est lié à la possibilité de reconstituer le tissu lymphoïde des souris SCID avec du tissu hématopoïétique et des cellules immunes d'origine humaine [48, 53]. Ces souris, appelées SCID/hu, permettent d'étudier in vivo les interactions entre les cellules du système immunitaire et les cellules tumorales humaines sur le même animal hôte.

Les modèles de xénogreffes de CAP humains

Une des raisons pour utiliser la souris athymique comme modèle d'étude des tumeurs humaines in vivo est qu'il n'existe pas de modifications majeures des caractéristiques cellulaires des tumeurs transplantées. La plupart des tumeurs humaines cultivées chez la souris athymiques conservent le caryotype, la morphologie et les caractéristiques histologiques des tumeurs primitives, ainsi que la production d'enzymes spécifiques, d'antigènes et d'hormones [18]. Ceci est particulièrement important pour l'étude du cancer de la prostate pour lequel les modèles d'étude préférentiels sont ceux qui produisent du PSA et qui sont androgéno-sensibles. La plupart des xénogreffes de CAP disponibles ont été obtenues à partir de prélèvements tumoraux métastatiques au cours d'autopsies (Tableau 2).

La xénogrefe PC-82

Le modèle PC-82 a été la première xénogrefe de CAP humain transplantable décrite. Elle a été cultivée dès 1977, à partir d'une tumeur prostatique primitive prélevée après prostatectomie radicale chez un homme de 58 ans porteur d'un adénocarcinome prostatique moyennement différencié de stade T3cN0M0 [30]. Les tumeurs PC-82 sont des carcinomes moyennement différenciés avec des aspects cribiformes identiques à ceux de la tumeur primitive initiale. Les xénogreffes sous-cutanées poussent relativement lentement (temps de doublement > 10 jours), sont dépendantes de la présence d'androgènes testiculaires, et produisent du PAP et du PSA [15, 77, 93]. Après castration, les cellules tumorales meurent par apoptose et la xénogrefe involue progressivement. Une progression tumorale vers un stade AI après castration n'apparaît pas dans ce modèle. Cependant, les taux de croissance tumorale peuvent être stimulés par l'administration d'androgènes exogènes. Le modèle PC-82 a été très utile pour l'étude des mécanismes de la croissance tumorale régulés par les androgènes [76], l'apoptose [42, 90] et la régulation des récepteurs androgéniques [68]. Une deuxième xénogrefe AD, appelée PC-

Tableau 2. Xénogreffes de cancers de prostate humains.

Nom [Ref.]	Origine	Sensibilité androgénique de la xénogrefe	Marqueurs sériques et histologiques	Année de découverte
PC-82 [30]	ADK prostate	AD AR+	PSA, PAP	1977
HONDA [38]	métastase testiculaire	AD AR-	PAP	1977
9479 [27]	métastase osseuse	AI	Aucun	1981
PC-EW [31]	métastase ganglionnaire	AI AR?	PSA, PAP	1981
PC-133 [77]	métastase osseuse	AI	Aucun	1981
PC-135 [77]	ADK prostate	AI	Aucun	1982
PC-EG [15]	ADK prostate	AD	PSA, PAP	1984
TEN/12 [28]	ADK prostate	AD	Aucun	1985
DU5683 [21]	métastase ganglionnaire	AD	PSA, PAP	1982
LuCaP 23.1 [16]	métastase ganglionnaire	AD AR+, 5 α R 1	PSA, PAP	1991
LuCaP 23.8 [16]	métastase ganglionnaire	AD AR+, 5 α R 1	PSA, PAP	1991
LuCaP 23.12 [16]	métastase hépatique	AD AR+, 5 α R 1	PSA, PAP	1991
CWR22 [66]	ADK prostate	AD	PSA	1992
PC310, PC329, PC346 [91]	ADK prostate	AD, RA+	PSA, PAP	1996
PC295, PC374	métastases	AD, RA+	PSA, PAP	1996

Légende : AI : androgéno-indépendant; AD : androgéno-dépendant; AR : récepteur androgénique; 5 α R : 5 α -reductase; ADK : adénocarcinome.

EW, a été cultivée par la même équipe, et présente quelques caractéristiques identiques à PC-82 [31]. Quelques autres xénogreffes AD (PC-EG) et aussi AI (PC-133, PC-135) ont été établies par cette équipe et sont en cours d'évaluation pour des travaux spécifiques sur l'apoptose et la progression AI [77].

Afin de tester si le blocage androgénique complet est plus efficace que la castration seule, van Weerden et coll. ont étudié les effets de différents taux d'androgènes sur la croissance du modèle PC-82 et déterminé que des taux faibles résiduels d'androgènes après castration n'étaient pas capables de stimuler la croissance tumorale [87, 89]. A l'inverse de chez l'homme, les

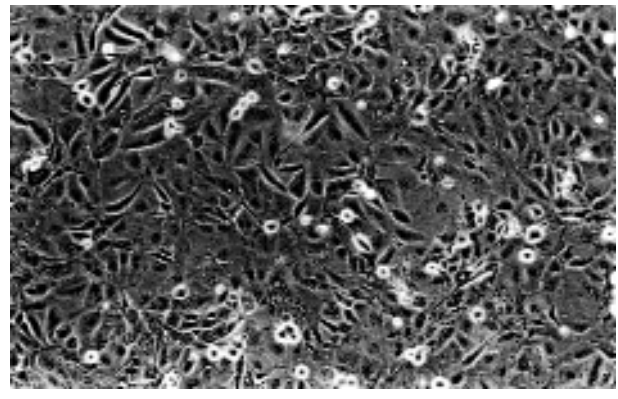
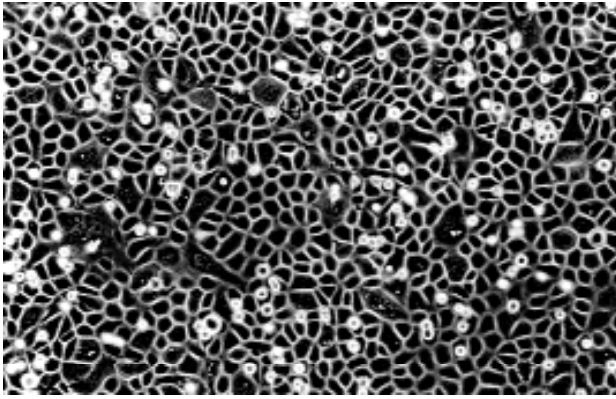


Figure 1. Lignées cellulaires de cancers prostatiques humains en culture dans leur milieu de base contenant 10% de sérum bovin foetal (FBS), au grossissement 1/1000*.

1a. Lignée cellulaire PC3. (Documents réalisés par Sylvie Delos, Laboratoire de Cancérologie Expérimentale du Pr. P.M. Martin, Marseille).

1b. Lignée cellulaire DU-145.

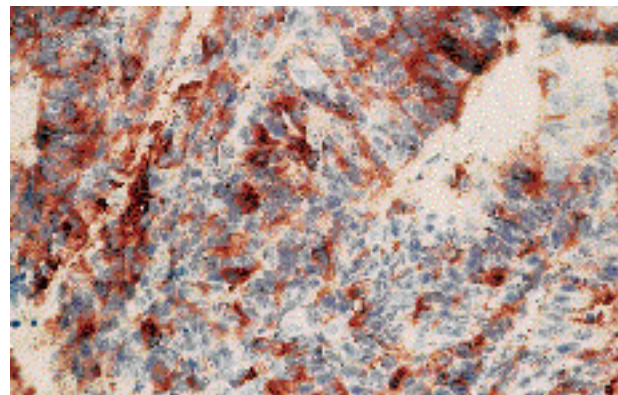
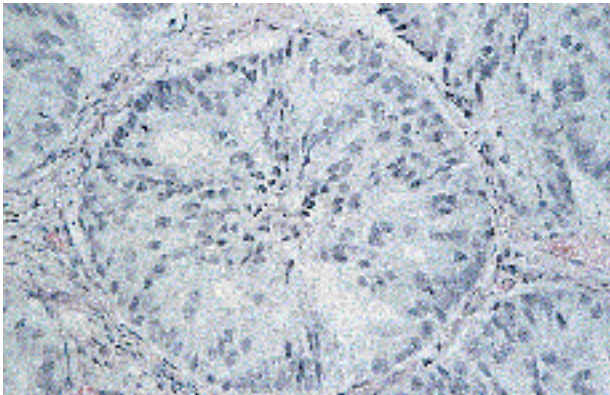


Figure 2. Aspects histologiques de la xénogreffe de cancer prostatique humain LuCaP 23.1 cultivée après implantation sous-cutanée chez la souris athymique.

2a. Coloration H&E standard. La morphologie globale de la xénogreffe représente un adénocarcinome prostatique peu différencié, avec existence de pseudo-glandes. Le tissu de soutien (stroma, vaisseaux) est d'origine murine.

2b. Immunodétection du PSA par l'anticorps 5/26 (Immunotech, France) montrant une expression importante de PSA dans le cytoplasme des cellules tumorales LuCaP 23.1.

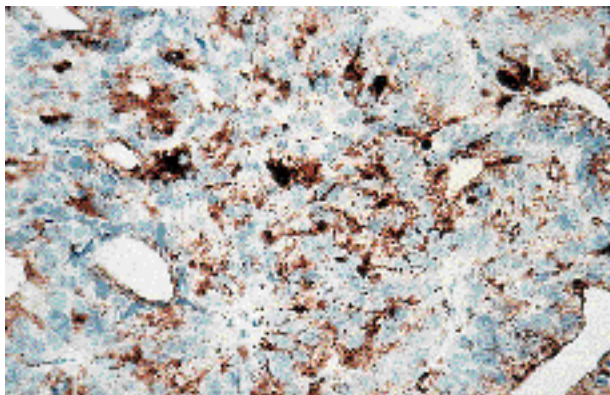


Figure 2c. Immunodétection du PAP par l'anticorps PAP-29 (Immunotech, France) montrant une expression cytoplasmique plus faible que celle du PSA dans les mêmes cellules LuCaP 23.1.

glandes surrénales murines ne sécrètent pas d'androgènes et la castration chez la souris correspond donc à un blocage androgénique complet [88]. Cette équipe a montré que pour les tumeurs PC-82 et PC-EW, les niveaux limites d'androgènes pour stimuler la croissance tumorale étaient 2 à 3 fois supérieurs au niveau produit après castration, ce qui suggère qu'un blocage androgénique complet n'est pas nécessaire pour induire une régression maximale de ces tumeurs. Les tumeurs PC-82 n'étaient pas stimulées par des taux physiologiques de dehydroépiandrostérone, mais l'administration d'androstènedione prévenait la régression maximale de PC-82 après castration, du fait essentiellement de la conversion périphérique de l'androstènedione en testostérone [89]. Les auteurs concluaient que des taux normaux d'androgènes surrénaux n'induisent pas la croissance des tumeurs PC-82 après castration, résultats en contradiction avec ceux de SCHILLER et coll. sur le modèle Dunning R-3327 chez le rat [70]. Comme chez l'homme, l'importance des androgènes surrénaux sur la croissance des tumeurs prostatiques reste débattue et contradictoire chez les modèles animaux.

La xéno greffe Honda

La xéno greffe Honda a été établie à Gunma, au Japon, à partir d'une métastase testiculaire obtenue après orchidectomie chez un homme de 46 ans traité par des oestrogènes depuis 2 ans pour un CAP avancé [38]. Ces tumeurs sont des carcinomes mal différenciés qui poussent en sous-cutané chez la souris athymique. Une lignée cellulaire n'a pas pu être immortalisée in vitro à partir de ce modèle. Les tumeurs sont AD, involuent après castration, produisent du PSA et du PAP et contiennent des récepteurs androgéniques [39]. Une progression AI n'a pas été rapportée avec ce modèle, ce qui en limite l'intérêt pour l'étude de ce phénomène important.

La xéno greffe CWR22

La xéno greffe CWR22 a été établie récemment à Cleveland à partir d'une tumeur prostatique primitive prélevée après prostatectomie radicale [66]. Les tumeurs produites par injection de suspensions de cellules tumorales et de matrigel sont androgéno-sensibles et produisent du PSA qui peut être mesuré dans le sérum murin. Plusieurs membres de la famille du récepteur du facteur de croissance épidermique sont exprimés dans ces tumeurs (erbB1/EGFR, erbB2/neu, erbB3) [84]. Après castration, la xéno greffe CWR22 régresse de manière significative et le taux sérique de PSA chute d'un facteur x3000. Certaines tumeurs vont progresser vers un état AI avec une remontée progressive du PSA en 2 à 7 mois et une croissance tumorale qui repart entre 3 et 10 mois après castration [56].

La série de xéno greffes LuCaP 23

Depuis 1991, une nouvelle série de xéno greffes de

CAP humain est cultivée chez la souris athymique à Seattle. Cette série de xéno greffes a l'avantage par rapport aux autres xéno greffes existantes de présenter plusieurs caractéristiques fondamentales du CAP observées en clinique humaine, notamment un certain degré de sensibilité aux androgènes, une production importante de PSA, une période d'involution tumorale après castration de l'hôte mâle suivie par une croissance tumorale sur un mode AI [16].

Trois xéno greffes ont pu être établies à partir de prélèvements métastatiques réalisés au cours d'une autopsie précoce chez un patient porteur d'un adénocarcinome prostatique de stade D3 avec un taux de PSA sérique proche de 8000 ng/ml. Elles sont transplantables en série et maintenues dans le laboratoire depuis 1991. LuCaP 23.1 et LuCaP 23.8 sont dérivées de 2 métastases ganglionnaires distinctes et LuCaP 23.12 est dérivée d'une métastase hépatique. Les tumeurs sous-cutanées établies à partir de greffes tumorales de 20 à 25 mm³ sont visibles entre le 30 et 45^{ème} jour après implantation (Figure 2a). Le temps de doublement tumoral pour les 3 xéno greffes varie entre 11 et 29 jours, LuCaP 23.12 ayant le plus long temps de doublement tumoral.

Pour les 3 xéno greffes, la croissance tumorale et le taux d'implantation sont limités chez la souris mâle castrée, et nuls chez la souris femelle.

Production de PSA et de PAP dans la xéno greffe LuCaP 23

Le PSA est détecté dans le sérum de l'hôte entre 20 et 30 jours après l'implantation, soit 20 à 30 jours avant la détection clinique de la tumeur. Il existe une corrélation entre le taux sérique de PSA et le volume tumoral pour chaque xéno greffe, avec un index de PSA moyen de 1,27, 1,63 et 1,98 ng/ml/mm³ pour LuCaP 23.1, 23.8 et 23.12 respectivement. Le dosage sérique de PAP retrouve un rapport de concentration par rapport au PSA de 1:10.

Après excision de la xéno greffe et dosage répété du taux sérique de PSA toutes les heures, on retrouve une demi-vie du PSA de 12,9 heures (+/- 0,9), ce qui correspond à la demi-vie du PSA décrite pour le modèle LNCaP [22].

Les études immunohistochimiques retrouvent une forte expression du PSA dans le cytoplasme des cellules tumorales et une expression plus modérée de PAP (figure 2b, 2c).

Effets de la castration de l'hôte sur la xéno greffe LuCaP 23

Les effets de la castration chirurgicale de la souris mâle porteuse d'une xéno greffe LuCaP 23 permettent de classer les tumeurs en 2 groupes (Figure 3).

Dans le premier groupe, qui correspond à 60-75% des

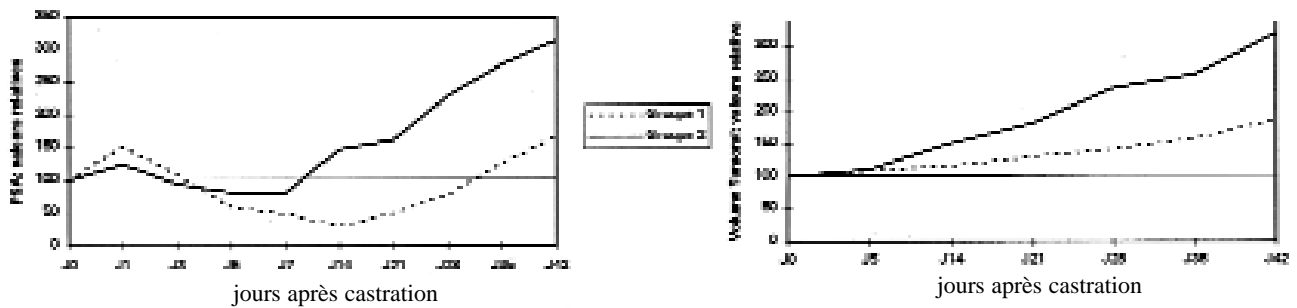


Figure 3. Evolution des taux sériques de PSA (Figure 3a) et des volumes tumoraux (Figure 3b) chez des souris athymiques mâles porteuses de la xénogreffe LuCaP 23.1 après castration. Deux groupes de souris ont été individualisés en fonction de la réponse de la xénogreffe à la castration :

Le groupe 1 (n=16) représente les souris porteuses de tumeurs androgéno-sensibles dont le PSA nadir est inférieur à 50% du PSA initial avant castration.

Le groupe 2 (n=8) correspond aux tumeurs moins androgéno-sensibles dont le PSA nadir est supérieur à 50% du PSA initial.

xénogreffes, la castration entraîne une diminution rapide et prolongée du taux sérique de PSA (>50% du PSA initial) et du taux de croissance tumorale. La croissance tumorale androgéno-indépendante se traduit par une réascension du taux sérique de PSA à partir d'un PSA nadir de la 2^{ème} à la 10^{ème} semaine après castration suivant la lignée étudiée (LuCaP 23.12 étant la lignée la plus androgéno-sensible). Il s'agit du groupe de tumeurs androgéno-sensibles.

Dans le deuxième groupe, qui correspond à 25-40% des xénogreffes, la diminution du taux de PSA est moins prononcée (<50% du taux de PSA initial) et d'une durée de 1 à 4 semaines avant une réascension du taux sérique de PSA. Il s'agit du groupe de tumeurs modérément androgéno-sensibles voire androgéno-indépendantes (25%) pour lesquelles la diminution du taux de PSA est faible (<75%) et de courte durée, voire nulle.

Les variations du volume tumoral sont généralement moins importantes que celles du PSA, après castration (figure 3a, 3b) mais le calcul des variations du taux de croissance tumoral montre des variations qui sont corrélées aux variations du PSA [5].

La variabilité des réponses à la castration sont indépendantes du type de xénogreffe. En effet, les tumeurs dérivées d'une même xénogreffe mère ont des réponses hétérogènes à la castration. Les réponses hétérogènes de ces tumeurs après castration ressemblent aux situations cliniques des patients porteurs d'un CAP avancé mis sous traitement hormonal.

Sur le plan moléculaire, la castration entraîne des modifications de la balance prolifération/apoptose cellulaires dans les tumeurs AS [5]. En effet, durant les 15 premiers jours après castration qui correspondent à la période d'involution tumorale, on note une diminution du taux de prolifération parallèle à une augmentation significative du taux de cellules apoptotiques (x3) dans le modèle LuCaP 23.1. Au cours de la croissance tumorale sur un mode AI, on note une diminution progressive du taux de cellules apoptotiques sans augmentation

de l'index de prolifération. Dans le modèle PC-82 androgéno-dépendant, le nombre de cellules apoptotiques est multiplié par 9 durant la première semaine suivant la castration [42]. La déprivation androgénique entraîne une régression tumorale probablement liée en partie à une mort cellulaire programmée des cellules AD qui sont les plus nombreuses. A l'inverse, certaines tumeurs régressent de manière moins importante (ou pas du tout) après castration car seulement une minorité de cellules AD meurent par apoptose.

Au cours de travaux ultérieurs sur le modèle LuCaP 23.1, l'expression de gènes informatifs a été étudiée au cours des périodes AD, d'involution après castration et du stade AI [45]. Ces travaux ont permis d'établir un modèle d'évolution cellulaire dans cette xénogreffe où il existerait au moins 2 populations cellulaires qui représenteraient 2 phénotypes tumoraux différents. Le premier phénotype est NSE positif (neuron-specific enolase: marqueur neuroendocrine) et l'autre NSE négatif. Le mauvais pronostic associé aux tumeurs NSE + est dû à leur résistance à la castration. Dans le modèle, les cellules NSE - sont éliminées (par apoptose) après castration, alors que les cellules NSE + peuvent progresser vers un état AI, en exprimant bcl-2, une oncoprotéine produite par un gène connu pour inhiber l'apoptose. Les tumeurs en période d'involution deux semaines après castration n'expriment pas bcl-2 alors que les tumeurs en voie de croissance AI, au moment du rebond du taux de PSA, expriment bcl-2. Il semble donc que dans le modèle LuCaP 23.1, l'acquisition de la croissance AI soit liée à l'expression de bcl-2, comme cela a été démontré par des études en immunohisto-chimie sur des cancers prostatiques de patients [49, 14]. L'apparition de l'expression de bcl-2 est précédée par une augmentation de p53 dans ce modèle, comme cela a déjà été montré [13]. Il a été proposé que p53 inhibe le cycle cellulaire et initie la mort cellulaire programmée quand la stimulation hormonale est interrompue. Les effets de p53 peuvent être cependant contrecarrés par bcl-2 [47].

Une nouvelle série de xénogreffes a été récemment décrite par l'équipe de l'Université d'Erasmus qui avait déjà découvert la première xénogreffe de CAP humain chez la souris athymique décrite (PC 82). Cette équipe présente 7 nouvelles lignées tumorales dérivées de CAP primitifs et métastatiques humains, avec des caractéristiques variées en terme d'hormonosensibilité, d'expression de PSA et de RA en fonction de chaque sous-lignée [91]. Ces nouvelles lignées en cours de caractérisation vont augmenter l'éventail de modèles in vivo de CAP humains disponibles.

CONCLUSION

Le cancer de la prostate humaine pousse difficilement in vivo et in vitro. Le faible nombre de lignées cellulaires et de xénogreffes de CAP humains disponibles est directement lié à ce phénomène et non pas à un manque d'intérêts ou d'efforts. En effet, depuis 25 ans de nombreux laboratoires ont essayé d'établir des modèles de CAP avec des succès mitigés. Un regain d'intérêt pour ces modèles est lié aux progrès réalisés dans la maintenance des souris immunodéficientes (athymiques et SCID) et des techniques et du matériel de culture tissulaire. Dans la nouvelle ère de la biologie moléculaire, il est indispensable de pouvoir utiliser des modèles d'études fiables et reproductibles. En effet, si il est possible d'analyser des phénomènes moléculaires à partir de prélèvements de tissus frais de CAP, certains événements ne peuvent être étudiés que dans des modèles de laboratoire. De plus, les succès des techniques de biologie moléculaire vont permettre de proposer de nouvelles thérapies qui devront être étudiées en priorité sur des modèles expérimentaux. Plus ces modèles seront pertinents et nombreux, plus nous progresserons dans la compréhension et le traitement du CAP notamment dans ses formes métastatiques actuellement incurables.

REFERENCES

1. ALBINI A., IWAMOTO Y., KLEINMAN H.K., et al. A rapid in vitro assay for quantitating the invasive potential of tumor cells. *Cancer Res.*, 1987, 47, 3239-3245.
2. AKAKURA K., BRUCHOVSKY N., GOLDENBERG S.L., RENNIE P.S., BUCKLEY A.R., SULLIVAN L.D. Effects of intermittent androgen suppression on androgen-dependent tumors: apoptosis and serum prostate specific antigen. *Cancer*, 1993, 71, 2782-2790.
3. ANDREWS P.E., YOUNG C.Y.F., MONTGOMERY B.T., TINDALL D.J. Tumor-promoting phorbol ester down-regulates the androgen induction of prostate-specific antigen in a human prostatic adenocarcinoma cell line. *Cancer Res.*, 1992, 52, 1525-1529.
4. BATSON O.V. The function of the vertebral veins and their role in the spread of metastasis. *Ann. Surg.*, 1940, 112, 138-149.
5. BLADOU F., VESSELLA R.L., BUHLER K.R., ELLIS W.J., TRUE L.D., LANGE P.H. Cell proliferation and apoptosis during prostatic

- tumor xenograft involution and regrowth after castration. *Int. J. Cancer*, 1996, 67, 785-790.
6. BOSMA G.C., CUSTER R.P., BOSMA M.J. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature*, 1983, 301, 527-530.
7. BROTHMAN A.R., LESH O.L., SOMERS K.D., WRIGHT G.L., MERCHANT D.J. Phenotypic and cytogenetic characterization of a cell line derived from primary prostate carcinoma. *Int. J. Cancer*, 1989, 44, 898-903.
8. BRUCHOVSKY N., RENNIE P.S., COLDMAN A.J., GOLDENBERG S.L., TO M., LAWSON D. Effects of androgen withdrawal on the stem cell composition of the Shionogi carcinoma. *Cancer Res.*, 1990, 50, 2275-2282.
9. CHING K.Z., RAMSEY E., PETTIGREW N., D'CUNHA R., JASON M., DODD J.G. Expression of mRNA for epidermal growth factor, transforming growth factor- α and their receptor in human prostate tissue and cell line. *Mol. Cell. Biol.*, 1993, 126, 151-158.
10. CHUNG L.W.K., GLEAVE M.E., HSIEH J.T., HONG S.J., ZHAU H.E. Reciprocal mesenchymal-epithelial interaction affecting prostate cancer growth and hormonal responsiveness. *Cancer Surveys*, 1991, 11, 91-121.
11. CLAAS F.H.J., van STEENBURG G.J. Expression of HLA-like structures on a permanent human tumor line PC-93. *Tissue Antigens*, 1983, 21, 227-232.
12. COFFEY D.S., ISAACS J.T. Requirements for an idealized animal model of prostatic cancer. In: *Models of prostate cancer*. Edited by G.P. Murphy. New-York: Alan R. Liss, Inc., pp 379-391, 1980.
13. COLOMBEL M., OLSSON C.A., NG P.Y., BUTTYAN R. Hormone-regulated apoptosis results from reentry of differentiated prostate cells into a defective cell cycle. *Cancer Res.*, 1992, 52, 4313-4319.
14. COLOMBEL M., SYMMANS F., GIL S., O'TOOLE K.M., CHOPIN D., BENSON M., OLSSON C.A., KORSMEYER S., BUTTYAN R. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone-refractory human prostate cancers. *Amer. J. Pathol.*, 1993, 143, 390-400.
15. CSAPO Z., BRAND K., WALTHER R., FOKAS K. Comparative experimental study of the serum prostate specific antigen and prostatic acid phosphatase in serially transplantable human prostatic carcinoma lines in nude mice. *J. Urol.*, 1988, 140, 1032-1038.
16. ELLIS W.J., VESSELLA R.L., BUHLER K.R., BLADOU F., TRUE L.D., BIGLER S.A., CURTIS D., LANGE P.H. Characterization of a novel androgen-sensitive, prostate-specific antigen-producing prostatic carcinoma xenograft: LuCaP 23. *Clin. Cancer Res.*, 1996, 2, 1039-1048.
17. FARBER E. Clonal adaptation during carcinogenesis. *Biochem. Pharmacol.*, 1990, 39, 1837-1846.
18. FIDLER I.J. Rationale and methods for the use of nude mice to study the biology and therapy of human cancer metastasis. *Cancer and Metastasis Rev.*, 1986, 5, 29-49.
19. FONG C.J., SUTKOWSKI D.M., KOZLOWSKI J.M., LEE C. Utilization of the Boyden chamber to further characterize in vitro migration and invasion of benign and malignant human prostatic epithelial cells. *Invasion and Metastasis*, 1992, 12, 264-274.
20. FONG C.J., SHERWOOD E.R., MENDELSON J., LEE C., KOZLOWSKI J.M. Epidermal growth factor receptor monoclonal antibody inhibits constitutive receptor phosphorylation, reduces autonomous growth, and sensitizes androgen-independent prostatic carcinoma cells to tumor necrosis factor alpha. *Cancer Res.*, 1992, 52, 5887-5892.

21. GINGRICH J.R., TUCKER J.A., WALTHER P.J., DAY J.W., POULTON S.H., WEBB K.S. Establishment and characterization of a new human prostatic carcinoma cell line (DuPro-1). *J. Urol.*, 1991, 146, 915-919.
22. GLEAVE M.E., HSIEH J.T., WU H.C., von ESCHENBACH A.C., CHUNG L.W.K. Serum prostate specific antigen levels in mice bearing human prostate LNCaP tumors are determined by tumor volume and endocrine and growth factors. *Cancer Res.*, 1992, 52, 1598-1605.
23. GLEAVE M.E., HSIEH J.T., GAO C.A., von ESCHENBACH A.C., CHUNG L.W.K. Acceleration of human prostate cancer growth in vivo by factors produced by prostate and bone fibroblasts. *Cancer Res.*, 1991, 51, 3753-3761.
24. GLEAVE M.E., HSIEH J.T., Von ESCHENBACH A.C., CHUNG L.W.K. Prostate and bone fibroblasts induce human prostate cancer growth in vivo: implications for bidirectional stromal-epithelial interaction in prostate carcinoma growth and metastasis. *J. Urol.*, 1992, 147, 1151-1159.
25. GLEAVE M.E., BOWDEN M., BRUCHOVSKY N., GOLDBERG S.L., SULLIVAN L.D. Predictors of time to androgen-independent progression in the LNCaP prostate tumor model. *J. Urol.*, 1994, 151, 458A. Abstract.
26. GLEAVE M.E., SANTO N., RENNIE P.S., GOLDBERG S.L., BRUCHOVSKY N., SULLIVAN L.D. Echappement hormonal et hormonothérapie intermittente dans le modèle LNCaP de cancer prostatique humain. *Prog. Urol.*, 1996, 6, 375-385.
27. GRAHAM S.D., POULTON S.H., LINDER J., WOODARD B.H., LYLES K.W., PAULSON D.F. Establishment of a long-term adenocarcinoma of the prostate cell line in the nude mouse. *Prostate*, 1985, 7, 369-376.
28. HARPER M., SIBLEY P., ROWLANDS A., BUTTIFANT L., BEACOCK C., GRIFFITHS K. Hormonal manipulation of the growth of a new transplantable prostatic cell line in athymic mice. *Urol. Res.*, 1986, 14, 156A.
29. HENTTU P., LIAO S., VIHKO P. Androgens up-regulate the human prostate-specific antigen messenger ribonucleic acid (mRNA), but down-regulate the prostatic acid phosphatase mRNA in the LNCaP cell line. *Endocrinology*, 1992, 130, 766-772.
30. HOEHN W., SCHROEDER F., RIEMANN J., JOEBSIS A., HERMANEK P. Human prostatic adenocarcinoma: some characteristics of a serially transplantable line in nude mice (PC-82). *Prostate*, 1980, 1, 95-104.
31. HOEHN W., WAGNER M., RIEMANN J.F., HERMANEK P., WILLIAMS E., WALTHER R., SCHRUEFFER R. Prostatic adenocarcinoma PC EW, a new human tumor line transplantable in nude mice. *Prostate*, 1984, 5, 445-452.
32. HOROSZEWICZ J, LEONG S., CHU T., WAJSMAN Z. et al. The LNCaP cell line: a new model for studies on human prostatic carcinoma. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1980, 37, 115-132.
33. HSIEH J.T., WU H.C., GLEAVE M.E., et al. Autocrine regulation of prostate-specific antigen gene expression in a human prostatic cancer (LNCaP) subline. *Cancer Res.*, 1993, 53, 2852-2857.
34. HUGGINS C., HODGES C.V. Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.*, 1941, 1, 293-297.
35. HUGGINS C., STEVENS R.E., HODGES C.V. Studies on prostatic cancer: II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch. Surg.*, 1941, 43, 209-223.
36. IIZUMI T., YAZAKI T., KANO H., KONDO I., KOISO K. Establishment of a new prostatic carcinoma cell (TSU-PR1). *J. Urol.*, 1987, 137, 1304-1306.
37. ISAACS J.T., COFFEY D.S. Model systems for the study of prostatic cancer. *Clinics in Oncology*, 1983, 2, 479-498.
38. ITO Y., NAKAZATO Y. A new serially transplantable human prostatic cancer (Honda) in nude mice. *J. Urol.*, 1984, 132, 384-387.
39. ITO Y., MASHIMO S., NATAZATO Y., TAKIKAWA H. Hormone dependency of a serially transplantable human prostatic cancer (Honda) in nude mice. *Cancer Res.*, 1985, 45, 5058-5063.
40. KAIGHN M., NARAYAN S.K., OHNUKI Y., LECHNER J.F., JONES L. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest. Urol.*, 1979, 17, 16-23.
41. KOZLOWSKI J.M., McEWAN R., KEER H., SENSIBAR J., ET AL. Prostate cancer and the invasive phenotype: Application of the in vivo and in vitro approaches. In: Fidler IJ, Nicholson G (eds) *Tumor Progression and Metastasis*. Alan R. Liss Inc., New York, 1988, pp 189-231.
42. KYPRIANOU N., ENGLISH H.F., ISAACS J.T. Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer following androgen ablation. *Cancer Res.*, 1990, 50, 3748-3753.
43. LEE C., SHEVRIN D.H., KOZLOWSKI J.M. In vivo and in vitro approaches to study metastasis in human prostatic cancer. *Cancer Metastasis Rev.*, 1993, 12, 21-28.
44. LIM D.J., LIU X.L., SUTKOWSKI D.M., BRAUN E.J., LEE C., KOZLOWSKI J.M. Growth of an androgen-sensitive human prostate cancer cell line, LNCaP, in nude mice. *Prostate*, 1993, 22, 109-118.
45. LIU A.Y., COREY E., BLADOU F., LANGE P.H., VESSELLA R.L. Prostatic cell lineage markers: emergence of bcl2+ cells of human prostate cancer xenograft LuCaP 23 following castration. *Int. J. Cancer*, 1996, 65, 85-89.
46. LOOP S.M., ROZANSKI T.A., OSTENSON R.C. Human primary prostate tumor cell line ALVA 31 a new model for studying the hormonal regulation of prostate tumor cell growth. *Prostate*, 1993, 22, 93-108.
47. MARIN M.C., HSU B., MEYN R.E., DONEHOWER L.A., ELNAGGAR A.K., McDONNELL T.J. Evidence that p53 and bcl-2 are regulators of a common cell death pathway important for in vivo lymphomagenesis. *Oncogene*, 1994, 9, 3107-3112.
48. McCUNE J.M., NAMIKAWA R., KANESHIMA H., SHULTZ L.D., LIEBERMAN M., WEISSMAN I.L. The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function. *Science*, 1988, 241, 1632-1639.
49. McDONNELL T.J., TRONCOSO P., BRISBAY S.M., LOGOTHE-TIS C., CHUNG L.W.K., HSIEH J.T., TU S.M., CAMPBELL M.L. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.*, 1992, 52, 6940-6944.
50. MILLER G.J., STAPLETON G.E., FERRARA J.A., LUCIA M.S., PFISTER S., HEDLUND T.E., UPADHYA P. The human prostatic carcinoma cell line LNCaP expresses biologically active, specific receptors for 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3. *Cancer Res.*, 1992, 52, 515-520.
51. MILLER J.I., AHMANN F.R., DRACH G.W., EMERSON S.S., BOTTACCINI M.R.. The clinical usefulness of serum prostate specific antigen after hormonal therapy of metastatic prostate cancer. *J.Urol.*, 1992, 147, 956-961.
52. MORRIS G.L., DODD J.G. Epidermal growth factor receptor mRNA levels in human prostatic tumors and cell lines. *J. Urol.*, 1990, 143, 1272-1274.

53. MOSIER D.E., GULIZIA R.J., BAIRD S.M., WILSON D.B. Transfer of a functional humane immune system to mice with severe combined immunodeficiency. *Nature*, 1988, 335, 256-259.
54. MUELLER B.M., REISFELD R.A. Potential of the scid mouse as a host for human tumors. *Cancer and Metastasis Rev.*, 1991, 10, 193-200.
55. MURAKI J., ADDONIZIO J., CHOUDHURY M., FISCHER J., ESHGHI M., DAVIDIAN M., SHARPIRO L., WILMOT P., NAGAMATSU G., CHIAO J. Establishment of new human prostatic cancer cell (JCA-1). *Invest. Urol.*, 1990, 36, 79-84.
56. NAGABHUSHAN M., MILLER C.M., PRETLOW T.P., et al. CWR22: the first human prostate cancer xenograft with strongly androgen-dependent and relapsed strains both in vivo and in soft agar. *Cancer Res.*, 1996, 56, 3042-3046.
57. NAKAMOTO T., CHANG C.S., LI A.K., CHODAK G.W. Basic fibroblast growth factor in human prostate cancer cells. *Cancer Res.*, 1992, 52, 571-577.
58. NAKHLA A.M., ROSNER W. Characterization of ALVA 41 cells, a new human prostatic cancer cell line. *Steroids*, 1994, 59, 586-589.
59. NARAYAN P., DAHIYA R. Establishment and characterization of a human primary prostatic adenocarcinoma line (ND-1). *J. Urol.*, 1992, 148, 1600-1604.
60. NISHIJIMA Y., UCHIDA K., KOISO K., NEMOTO R. Clinical significance of the vertebral vein in prostate cancer metastasis. In: *Prostate cancer and bone metastasis*. Edited by J.P. Karr and H. Yamanaka. New York: Plenum Press, 1992, 93-100.
61. OKADA K., SCHOEDER F.H. Human prostatic carcinoma in cell culture: preliminary report on the development and characterization of an epithelial cell line (EB-33). *Urol. Res.*, 1974, 2, 111-121.
62. PASSANITI A., ISAACS J.T., HANEY J.A., ADLER S.W., CUJDIK T.J., LONG P.V., KLEINMAN H.K. Stimulation of human prostatic carcinoma tumor growth in athymic mice and control of migration in culture by extracellular matrix. *Int. J. Cancer*, 1992, 51, 318-324.
63. PIETRZKOWSKI Z., MULHOLLAND G., GOMELLA L., JAMESON B.A., WERNICKE D., BASERGA R. Inhibition of growth of prostatic cancer cell lines by peptide analogues of insulin-like growth factor 1. *Cancer Res.*, 1993, 53, 1102-1106.
64. PONTES J.E., CHOE B., ROSE N., PIERCE J.M. Immunochemical identification of prostatic epithelial cells in culture. *Invest. Urol.*, 1979, 16, 483-485.
65. PRETLOW T.G., DELMORO C.M., DILLEY G.G., SPADAFORA C.G., PRETLOW T.P. Transplantation of human prostatic carcinoma into nude mice in Matrigel. *Cancer Res.*, 1991, 51, 3814-3817.
66. PRETLOW T.G., WOLMAN S.R., MICALE M.A., et al.: Xenografts of primary human prostatic carcinoma. *JNCI*, 1993, 85, 394-398.
67. RIEGMAN P.H.J., VLIETSTRA R.J., van der KORPUT J.A.G.M., BRINKMANN A.O., TRAPMAN J. The promoter of the prostate-specific antigen gene contains a functional androgen responsive element. *Mol. Endocrinol.*, 1991, 5, 1921-1930.
68. RUIZVELD de WINTER J.A., van WEERDEN W.M., FABER P.W., van STEENBRUGGE G.J., TRAPMAN J., BRINKMANN A.O., van der KWAST T.H. Regulation of androgen receptor expression in the human heterotransplantable prostate carcinoma PC-82. *Endocrinology*, 1992, 131, 3045-3050.
69. RYGAARD J., POVLSEN C.O. Heterotransplantation of human malignant tumor to nude mouse. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1969, 77, 758-760.
70. SCHILLER C.D., SCHNEIDER M.R., HARTMANN H., GRAF A.H., KLOCKER H., BARTSCH G. Growth-stimulating effect of adrenal androgens on the R3327 Dunning prostatic carcinoma. *Urol. Res.*, 1991, 19, 7-13.
71. SCHUURMANS A.L., BOLT J., MULDER E. Androgens stimulate both growth rate and epidermal growth factor receptor activity of the human prostate tumor cell LNCaP. *Prostate*, 1988, 12, 55-63.
72. SCHUURMANS A.L., BOLT J., VELDSCHOLTE J., MULDER E. Regulation of growth of LNCaP human prostate tumor cells by growth factors and steroid hormones. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1991, 40, 193-197.
73. SHEVRIN D.H., KUKREJA S.C., GHOSH L., LAD T.E. Development of skeletal metastasis by human prostate cancer in athymic nude mice. *Clin. Exp. Metastasis*, 1988, 6, 401-409.
74. SHEVRIN D.H., GORNY K.I., KUKREJA S.C. Patterns of metastasis by the human prostate cancer cell line PC-3 in athymic nude mice. *Prostate*, 1989, 15, 187-194.
75. SITARAS N.M., SARIBAN E., BRAVO M., PANTAZIS P., ANTONIADES H.N. Constitutive production of platelet growth factor-like proteins by human prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res.*, 1988, 48, 1930-1935.
76. Van STEENBRUGGE G.J., GROEN M., ROMIJN J.C., SCHROEDER F.H. Biological effects of hormonal treatment regimens on a transplantable human prostatic tumor line (PC-82). *J. Urol.*, 1984, 131, 812-817.
77. Van STEENBRUGGE G., GROEN M., BOLT-de VRIES J., ROMIJN J., SCHROEDER F. Human prostate cancer (PC-82) in nude mice: a model to study androgen regulated tumor growth. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1985, 185A, 23-50.
78. STEPHENSON R.A., DINNEY C.P.N., GOHJI K., ORDONEZ N.G., KILLION J.J., FIDLER I.J. Metastatic model for human prostate cancer using orthotopic implantation in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1992, 84, 951-957.
79. STONE K.R., MICKEY D.D., WUNDERLI H., MICKEY G.H., PAULSON D. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU-145). *Int. J. cancer*, 1978, 21, 274-281.
80. THALMANN G.N., ANEZIMIS P.E., CHANG S.H., et al. Androgen-independent cancer progression and bone metastasis in the LNCaP model of human prostate cancer. *Cancer Res.*, 1994, 54, 2577-2581.
81. THIEDE K., MOMBURG F., ZANGEMEISTER U., SCHLAG P., SCHIRRMACHER V. Growth and metastasis of human tumors in nude mice following tumor-cell inoculation into a vascularized polyurethane sponge matrix. *Int. J. Cancer*, 1988, 42, 939-945.
82. TILLEY W.D., WILSON C.M., MARCELLI M. McPHAUL M.J. Androgen receptor gene expression in human prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res.*, 1990, 50, 5382-5386.
83. VELDSCHOLTE J., VOORHORST-OGINK M.M., BOLT-de VRIES J., van-ROOIJ H.C. TRAPMAN J., MULDER E. Unusual specificity of the androgen receptor in the human prostate tumor cell line LNCaP: high affinity for progestagenic and estrogenic steroids. *Biochem. Biophys. Acta*, 1990, 1052, 187-194.
84. WAINSTEIN M.A., HE F., ROBINSON D., et al.: CWR22: androgen-dependent xenograft model derived from a primary human prostatic carcinoma. *Cancer Res.*, 1994, 54, 6049-6052.
85. WANG M. STEARNS M.M. Isolation and characterization of PC-3 human prostatic tumor sublines which preferentially metastasize to select organs in SCID mice. *Differentiation*, 1991, 48, 115-125.
86. WARE J.L., PAULSON D.F., MICKEY G.H., WEBB K.S. Spontaneous metastasis of cells of the human prostate carcinoma cell line PC-3 in athymic nude mice. *J. Urol.*, 1982, 128, 1064-1067.

87. Van WEERDEN W.M., van STEENBRUGGE G.J., van KREUNINGEN A., MOERINGS E.P., deJONG F.H., SCHRODER F.H. Assessment of the critical level of androgen for growth response of transplantable human prostatic carcinoma (PC-82) in nude mice. *J. Urol.*, 1991, 145, 631-634.
88. Van WEERDEN W.M., BIERINGS G.J., van STEENBRUGGE G.J., de JONG F.H., SCHRODER F.H. Adrenal glands of mouse and rat do not synthesize androgens. *Life Sci.*, 1992, 50, 857-861.
89. van WEERDEN W.M., van KREUNINGEN A., ELISSEN N.M.J., deJONG F.H., van STEENBRUGGE G.J., SCHRODER F.H. Effects of adrenal androgens on the transplantable human prostate tumor PC-82. *Endocrinology*, 1992, 131, 2909-2913.
90. van WEERDEN W.M., van KREUNINGEN A., ELISSEN N.M.J., VERMEIJ M., deJONG F.H., van STEENBRUGGE G.J., SCHRODER F.H. Castration induced changes in morphology, androgen levels, and proliferation activity of human prostate tissue grown in athymic mice. *Prostate*, 1993, 23, 149-164.
91. van WEERDEN W.M., de RIDDER C.M.A., VERDAASDONK C.L., ROMIJN J.C., van der KWAST T.H., SCHRODER F.H., van STEENBRUGGE G.J. Development of seven new human prostate tumor xenograft models and their histopathological characterization. *Am. J. Pathology*, 1996, 149, 1055-1062.
92. WILDING G., VALVERIUS E., KNABBE C., GELMANN E.P. Role of transforming growth factor-alpha in human prostate cancer cell growth. *Prostate*, 1989, 15, 1-12.
93. WRIGHT G.L., HALEY C.L., CSAPO Z., van STEENBRUGGE G.J. Immunohistochemical evaluation of the expression of prostate tumor-association markers in the nude mouse human prostate carcinoma heterotransplant lines PC-82, PC-EW, and PC-EG. *Prostate*, 1990, 17, 301-316.
94. WU H.C., HSIEH J.T., GLEAVE M.E., et al. Derivation of androgen-independent human LNCaP prostate cancer sublines: role of bone stromal cells. *Int. J. Cancer*, 1994, 57, 406-410.
95. YOUNG C.Y.F., ANDREWS P.E., MONTGOMERY B.T., TINDALL D.J. Tissue-specific and hormonal regulation of human prostate-specific glandular kallikrein. *Biochemistry*, 1992, 31, 818-824.
96. YUAN S., TRACHTENBERG J., MILLS G.B., BROWN T.J., XU F., KEATING A. Androgen-induced inhibition of cell proliferation in an androgen-insensitive prostate cancer cell line (PC3) transfected with a human androgen receptor complementary DNA. *Cancer Res.*, 1993, 53, 1304-1311.

LuCaP 23, CWR-22, are androgen-dependent or sensitive. These models can be used to study host-tumour interactions as well as endocrinological interactions, stroma-tumour cell interactions, and to analyse molecular phenomena related to stages of hormone dependence and hormone resistance. In vitro and in vivo models of metastatic prostatic cancer have also been developed and appear to have a crucial impact on the understanding of metastatic mechanisms and new therapeutic approaches.

This paper describes the main experimental models developed from human prostatic cancers, their main characteristics, their value compared to clinical cancers and some of the major studies conducted with these models. Due to the exponential progress in molecular biology techniques and oncogenetics, it appears essential to increase the number and diversity of experimental models of prostatic cancer in order to advance research concerning the crucial phenomena occurring during the course of this disease, from oncogenesis to currently incurable metastatic stages.

Key-words : Experimental models, prostatic cancer, cell cultures, athymic mice.

SUMMARY

In vitro and in vivo models developed from human prostatic cancers.

The possibility of maintaining and studying human prostatic cancers in an in vitro and in vivo environment has allowed the development of rare but essential tools to study many aspects of the biology of these cancers. Although none of the available models is perfect, the sum of the studies conducted with these models over more than 20 years constitutes the basis for major progress in our understanding of this disease.

The most widely used cell lines (cultured in vitro) are PC-3, DU-145 and LNCaP. They are limited by the fact that they are essentially androgen-independent cell lines, derived from metastatic sites. Due to the slow growth of prostatic cancers, it is very difficult to obtain cancer cell lines which can be transplanted in immunodeficient animals (such as athymic mice) and only a few xenografts are currently available, some of which, like PCV-82,