

University of Groningen

Preclinical PET imaging of antibody therapies for cancer

Broer, Linda

DOI:
[10.33612/diss.729057513](https://doi.org/10.33612/diss.729057513)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2023

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
Broer, L. (2023). *Preclinical PET imaging of antibody therapies for cancer*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.729057513>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 8

Nederlandse samenvatting (Dutch summary)

NEDERLANDS SAMENVATTING

Monoclonale antilichamen zijn belangrijke geneesmiddelen voor de systemische behandeling van patiënten met kanker en worden bij meerdere tumorsoorten toegepast. Een belangrijke groep vormen antilichamen die functioneren als immuuncheckpoint blokkers en het immuunsysteem activeren tegen kankercellen. Daarnaast nemen de antilichaam-geneesmiddel conjugaten een steeds grotere rol in. Het antilichaam, gericht op de tumor, is hierbij gekoppeld aan een cytotoxische stof. Daarnaast kunnen antilichamen ook gekoppeld worden aan een beta-stralend radionuclide, bv. lutetium-177, of een alfa-stralend radionuclide, bv. thorium-227 (^{227}Th) of actinium-225 (^{225}Ac). Zoals bij elke systemische therapie, reageren niet alle patiënten op behandeling met een monoclaal antilichaam. Daarom is er vraag naar methoden die helpen antilichaamgedrag in het lichaam beter te begrijpen. Antilichamen hebben een unieke verdeling gestuurd door de tumoreigenschap waar ze op aangrijpen en de mate van tumoropname is vaak heterogeen. Met Positron Emmissie Tomografie (PET) kan de verdeling in het lichaam van zirconium-89 (^{89}Zr) gekoppelde antilichamen noninvasief in beeld gebracht worden. Wereldwijd is de beschikbaarheid van monoclonale antilichamen beperkt door hun hoge prijzen. Nadat marktsexclusiviteit van een monoclaal antilichaam opgeheven is, kunnen biosimilars, zeer gelijkende kopieën van al goedgekeurde originelen, de markt betreden en de hoge prijzen helpen terugdringen. Zo zouden deze kankerbehandelingen toegankelijker kunnen worden voor alle patiënten die daar baat bij hebben. Het onderzoek in dit proefschrift is gericht op monoclonale antilichamen in de oncologie. Het doel is het bestuderen van antilichaamgedrag zoals verdeling, tumoropname en interacties met het lichaam, door middel van preklinische ^{89}Zr PET beeldvorming. Daarnaast is gekeken naar het identificeren van aspecten die de beschikbaarheid van biosimilars bepalen.

Hoofdstuk 1 geeft achtergrond informatie en een overzicht van het proefschrift.

Door de complexiteit van monoclonale antilichamen is de ontwikkeling van een antilichaam kostbaar. Het toenemende gebruik van monoclonale antilichamen is daarom zeer belastend voor kosten van de gezondheidszorg. Beschikbaarheid en gebruik van biosimilars zouden een uitkomst kunnen bieden. Het review beschreven in **hoofdstuk 2** had als doel de redenen achter het nog bescheiden arsenaal en gebruik van monoclaal antilichaam biosimilars voor kanker te identificeren. De kwaliteitskenmerken van antilichamen die essentieel zijn voor het behoud van farmacokinetiek, klinische veiligheid en effectiviteit zijn samengevat, namelijk primaire- en secundaire structuur, suikergroepen, Fab- en Fc-functies, als ook zuiverheid en lading. Aan de hand hiervan hebben we gezocht naar bronnen van variatie en potentiële verschillen tussen biosimilars en originator. Op basis van de beoordeling van de analytische karakterisatie van biosimilars van het vascular endothelial growth factor gerichte antilichaam bevacizumab komen de meeste variaties voor in de suikergroepen

en lading van antilichamen. Dit is inherent aan de complexe productie in levende cellen met onvoorspelbare posttranslationale modificaties. Deze onvermijdelijke variatie wordt echter goed verdragen door patiënten. De laatste 3 decenia zijn er slechts 2 drift casus gerapporteerd, die geen impact hebben gehad op veiligheid en effectiviteit. Met het verlopen van patenten is het te verwachten dat er meer biosimilars aan zullen komen in de nabije toekomst. Echter hiervoor zal een aantal ontwikkelingen nodig zijn. Klinische effectiviteitsstudies zijn nog steeds de routine voor de goedkeuring van biosimilars, terwijl hiermee kleine verschillen tussen biosimilar en origineel niet kunnen worden opgespoord. Daarbij worden in sommige landen extra gegevens gevraagd over uitwisselbaarheid van biosimilar en origineel. Recentelijk wordt onderzocht, o.a. door de European Medicines Agency, of biosimilars goedgekeurd kunnen worden op basis van alleen de analytische karakterisatie en een farmacokinetiek studie in patiënten. De lange duur van patenten van monoclonale antilichamen vormt ook een barrière. Hier wordt aan gewerkt door the United Nations met Medicines Patent Pool, die nieuwe en bestaande levensreddende geneesmiddelen laten licenseren in landen met laag- en middel inkomen. Uiteindelijk zullen biosimilars op grotere schaal meer kosteneffectieve kankerbehandelingen kunnen geven, en ook landen met laag- en middelinkomen gemakkelijker kunnen bereiken. Om biosimilars volledig te benutten als kankerbehandeling is daarnaast ook goede informatievoorziening aan en financiële bewustwording bij alle betrokkenen nodig. Hier omtrent lopen al meerdere initiatieven door American Society Clinical Oncology, European Society for Medical Oncology, and World Health Organization.

Programmed death-ligand 1 (PD-L1) is een immuuncheckpoint, dat hoog tot expressie komt in verscheidene tumoren en de afweerreactie tegen tumorcellen remt. Door PD-L1 blokkade met een antilichaam kan het immuunsysteem weer aangezet worden om tumorcellen aan te vallen. Een dergelijke therapie kan helaas ook immuun-gerelateerde toxiciteit teweeg brengen in gezonde weefsels met PD-L1 expressie. De proboddy CX-072 is in ontwikkeling als een antilichaam gericht tegen PD-L1 voorzien van maskerende peptiden om het bindingsdomein. Tumor specifieke proteasen kunnen de maskerende peptiden verwijderen en zo de proboddy activeren. Dit heeft als doel bijwerkingen te reduceren. In **hoofdstuk 3** hebben we CX-072 gekoppeld aan ^{89}Zr om met PET het gedrag te bestuderen van $^{89}\text{Zr-CX072}$ in muizen met óf humane tumoren óf muizen tumoren die PD-L1 tot expressie brengen. In vergelijking met een niet-specifiek controle proboddy, liet $^{89}\text{Zr-CX-072}$ in muizen met een humane tumor 6 dagen na injectie een 2.1 keer zo hoge tumor:bloed ratio zien met PET. Dit was even hoog als de tumoropname van het niet-afgeschermd anti-PD-L1 antilichaam. $^{89}\text{Zr-CX-072}$ opname in lymfeweefsels van muizen met een muizentumor was lager dan opname van het ^{89}Zr -precursor antilichaam zonder de maskerende peptiden. PD-L1 specificiteit in de tumoren werd bevestigd met autoradiografie en immunohistochemie. Ook werd geactiveerde $^{89}\text{Zr-CX-072}$ gevonden in de tumor, terwijl dit in de milt 5.3 keer lager was. Deze bevindingen bevestigen het

probody design van CX-072, namelijk, PD-L1 specifieke tumoropname en minimale opname in lymfeweefsels.

Brentuximab-vedotin is een antilichaam-geneesmiddel conjugaat, gericht tegen CD30 dat voorkomt op T- en B-cellen. Brentuximab-vedotin is geregistreerd voor behandeling van de ziekte van Hodgkin, het cutane T cellymfoom, en het anaplastisch grootcelling T cellymfoom. We hebben het antilichaam brentuximab zonder het toxine, gekoppeld aan ^{89}Zr om in een klinische studie te kunnen evalueren hoe brentuximab zich in het lichaam verdeelt in patiënten met CD30 positieve lymfomen, die met brentuximab-vedotin behandeld gaan worden. Dit met het idee dat tumoropname van ^{89}Zr -brentuximab mogelijk voorspellend zou kunnen zijn voor een tumorreponse op de therapie. Het indienen bij de toetsende instanties van een investigational medicinal product dossier (IMPD) met daarin de onderbouwing voor de kwaliteit en veiligheid van het nieuwe radiofarmacon, is een vereiste om de patiëntenstudie uit te kunnen voeren. **Hoofdstuk 4** laat het ontwikkeltraject zien dat ^{89}Zr -brentuximab heeft doorlopen voordat het in patiënten toegepast kan worden. Het IMPD als eindproduct in hoofdstuk 4 beschrijft de onderbouwing van de kwaliteit, stabiliteit, en veiligheid van ^{89}Zr -brentuximab. Samenvattend, is het radiofarmacon ^{89}Zr -brentuximab een heldere, kleurloze, steriele oplossing, vrij van endotoxines, met een pH van 5,0-8,0 en een houdbaarheid van 96 uur. Een standaard dosis van 37 MBq ^{89}Zr -brentuximab bevat een eiwitdosis van 0,5 mg en is geformuleerd in 10 mL NaCl 0,9%. De radiochemische zuiverheid is > 95% en de CD30 immunoreactieve fractie is > 0,7. De klinische ^{89}Zr -brentuximab PET-studie inclusief het IMPD is goedgekeurd door de autoriteiten en zal binnenkort starten.

Gerichte alfa radionuclide therapie heeft de potentie door hoge stralingsenergie tumorcel dood te induceren en vanwege een korte stralingsafstand gezond omliggend weefsel te sparen. Een voorbeeld hiervan is een antilichaam gericht tegen mesotheline, gekoppeld aan alpha emitter ^{227}Th via een 3,2-HOPO chelator (^{227}Th -MSLN). Om met PET beeldvorming de tumoropname en lichaamsverdeling van het molecuul te bestuderen hebben wij in **hoofdstuk 5** hetzelfde antilichaam-chelator conjugaat (3,2-HOPO-MSLN) gekoppeld aan ^{89}Zr (^{89}Zr -MSLN). In immuundeficiënte muizen accumuleerde ^{89}Zr -MSLN in hoog mesotheline-expresserende HT29-MSLN tumoren met een gemiddelde standaard opnamewaarde (SUV_{mean}) van $2,2 \pm 0,5$ na 168 uur. *Ex vivo* was de tumoropname $10,6\% \pm 2,4\%$ ID/g. Dit is hoger dan een ^{89}Zr -controle ($P = 0,0043$). Daarnaast lieten ^{89}Zr -MSLN en ^{227}Th -MSLN in muizen vergelijkbare opname zien in medium mesotheline-expresserend tumoren OVCAR3 en hoog mesotheline-expresserende HT29-MSLN tumoren. Tot slot was een ^{89}Zr -MSLN PET scan van muizen uitgevoerd voorafgaand aan ^{227}Th -MSLN behandeling. In HT29-MSLN tumoren vonden we een hogere opname van $\text{SUV}_{\text{mean}} 2,2 \pm 0,2$ en in muizen met laag mesotheline-expresserende tumoren (BxPc3) vonden we een lagere $\text{SUV}_{\text{mean}} 1,2 \pm 0,3$. Deze ^{89}Zr -MSLN PET data waren in overeenstemming met ^{227}Th -MSLN

antitumoractiviteit, namelijk HT29-MSLN-tumor regressie en BxPc3-tumor stabilisatie. Uit deze bevindingen blijkt dat de diagnostische tracer ^{89}Zr -MSLN de tumoropname van het therapeutische radiofarmacon ^{227}Th -MSLN reflecteert met PET en verder bestudeerd zou kunnen worden in een klinische setting.

Moleculaire beeldvorming biedt de mogelijkheid om het immuunactiverende effect van antilichaamtherapieën te onderzoeken. Hoe de immuunactivatie precies werkt en welke immuunmarker het best kan worden uitgelezen is nog niet opgehelderd. In **hoofdstuk 6** hebben we ^{89}Zr gekoppelde F(ab')_2 fragmenten gericht tegen CD4 en CD8 positieve T cellen (^{89}Zr -CD4, ^{89}Zr -CD8, ^{89}Zr -controle, 30 μg , 3 MBq) bestudeerd met PET beeldvorming. In gezonde immuuncompetente DBA/2 muizen bevond de meeste radioactiviteit zich 24 uur na injectie van de ^{89}Zr -CD4 en ^{89}Zr -CD8 tracer in de milt (respectievelijk SUV_{mean} of $2,7 \pm 0,3$ en $1,3 \pm 0,4$), in de mesenteriale lymfeklieren (respectievelijk SUV_{mean} $2,2 \pm 0,3$ en $1,1 \pm 0,1$), en de cervicale lymfeklieren (respectievelijk SUV_{mean} $1,6 \pm 0,1$ en $0,9 \pm 0,1$). De ^{89}Zr -controle daarentegen accumuleerde hoofdzakelijk in de nieren (SUV_{mean} $5,8 \pm 0,4$). Daarnaast lieten we voor ^{89}Zr -CD4 zien dat een tweede tracer injectie na 7 dagen met een bijbehorende PET scan na 24 uur ook mogelijk was en beide keren een zelfde verdeling liet zien. Voor ^{89}Zr -CD8 was een afwijkende verdeling te zien na de tweede injectie, waarschijnlijk vanwege antilichaam vorming tegen de tracer. Autoradiografie en histologie wees uit dat ^{89}Zr -CD4 voornamelijk accumuleerde in weefsels met veel T cellen, waar CD4 tot expressie komt. In DBA/2 muizen met een KLN205 muizen longtumor observeerden we dat ^{89}Zr -CD4 verdeling 5 dagen na behandeling met een nieuw tumor gericht antilichaam gekoppeld aan de alfa-emitter actinium-225 (250 kBq/kg, 0,75 mg/kg) niet verschilde van een controle groep die citraat buffer vehikel kreeg. Deze bevindingen kunnen gebruikt worden voor verder onderzoek naar T cel beeldvorming.

In **hoofdstuk 7** zijn de hoofdstukken in dit proefschrift samengevat. De toekomstperspectieven zijn bediscussieerd.

