

*Thérapies moléculaires ciblées
et radiations ionisantes :
un traitement prometteur*

Pierre VERRELLE

Département de Radiothérapie

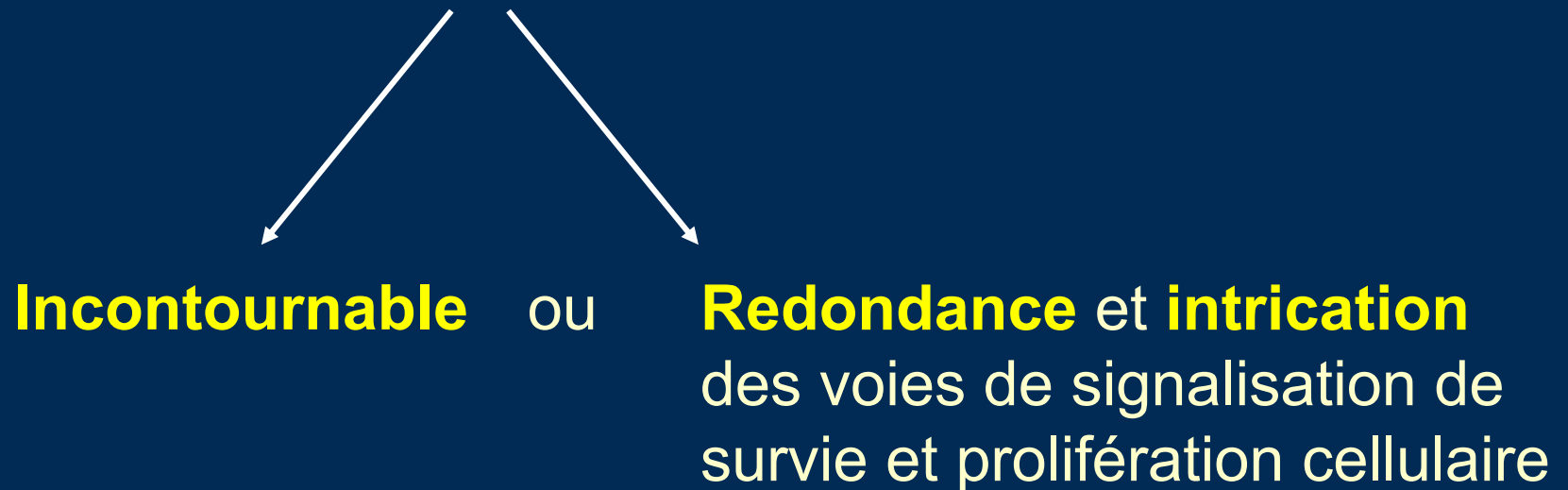


Clermont-Ferrand

Qu'est ce qu'une thérapie ciblée ?

Approche thérapeutique utilisant des drogues capables de neutraliser spécifiquement l'activité de molécules biologiques (Kinases,...) participant à la transformation et / ou la progression tumorale.

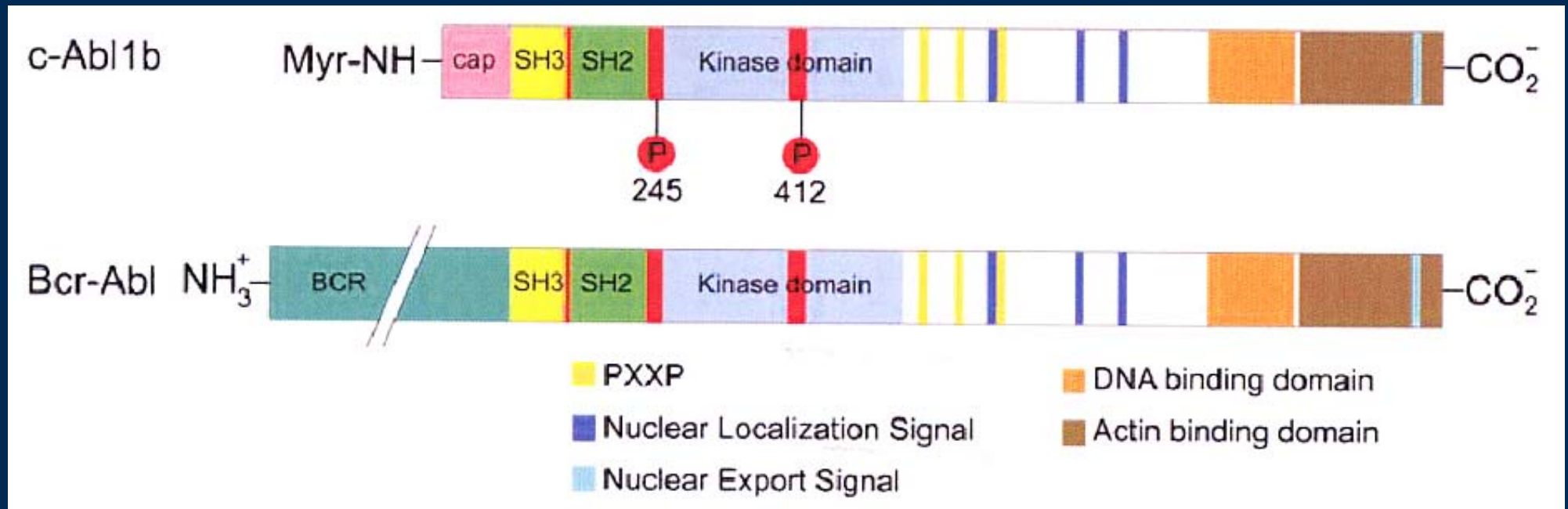
Son efficacité dépend du niveau **d'inhibition** de l'activité biologique et du rôle de la **cible**.



Exemple de thérapie ciblée = le STI 571 ou Imatinib (Gleevec)

La cible = Bcr-Abl : incontournable

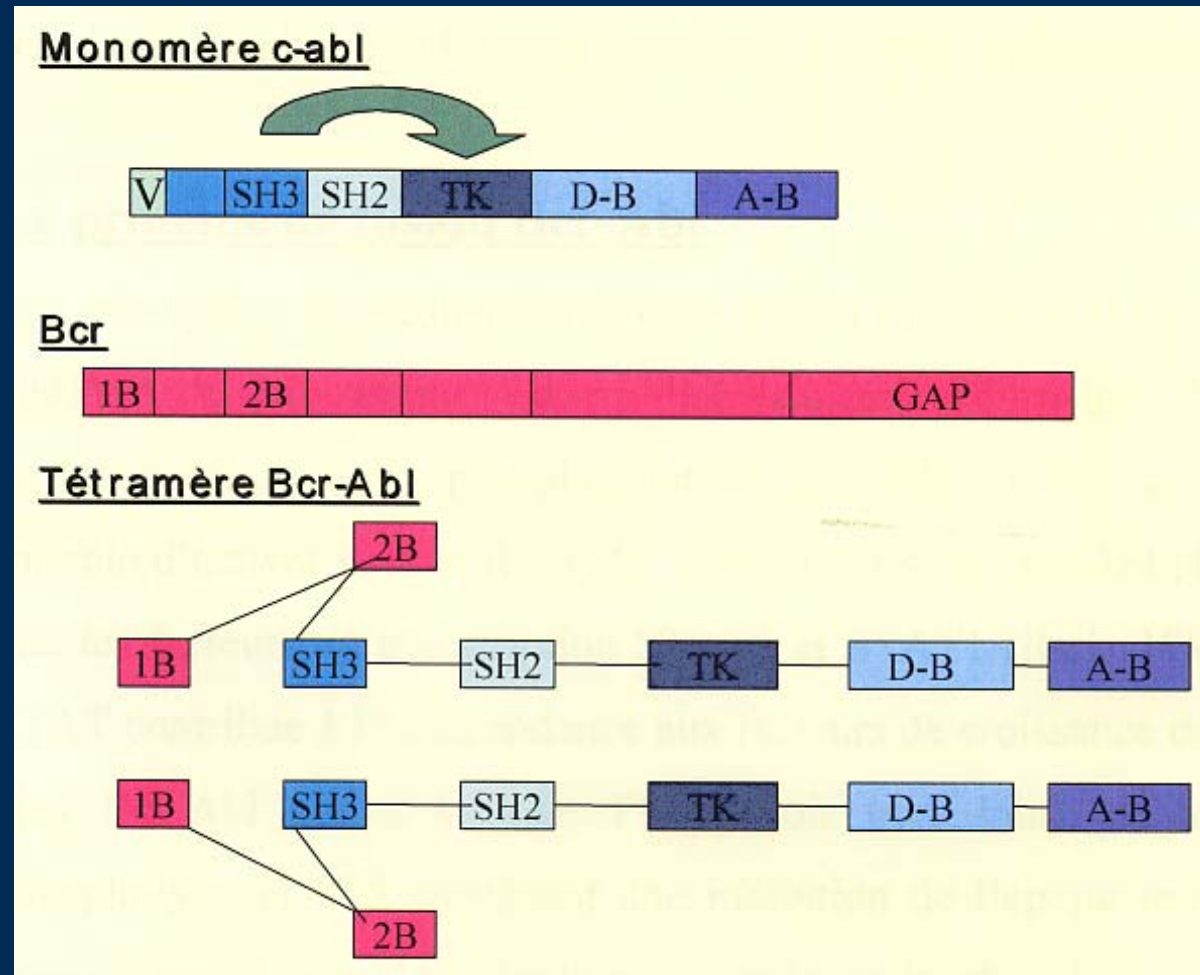
Leucémie myéloïde chronique



Nagar, 2003

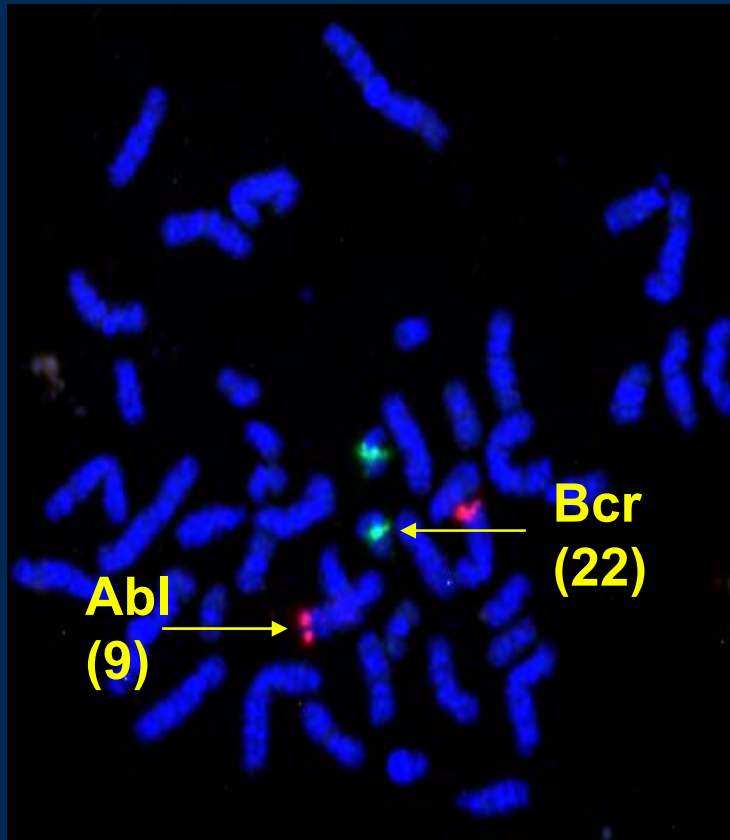
Exemple de thérapie ciblée = le STI 571 ou Imatinib (Gleevec)

Cible : Bcr-Abl

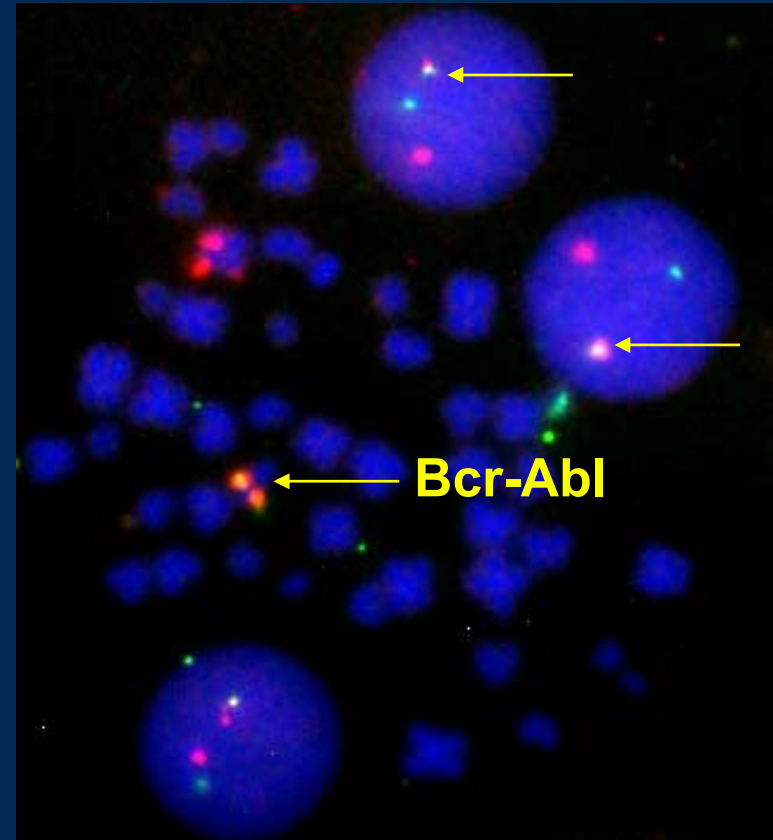


Exemple de thérapie ciblée = le STI 571 ou Imatinib (Gleevec)

FISH en double couleur avec des sondes Bcr et Abl

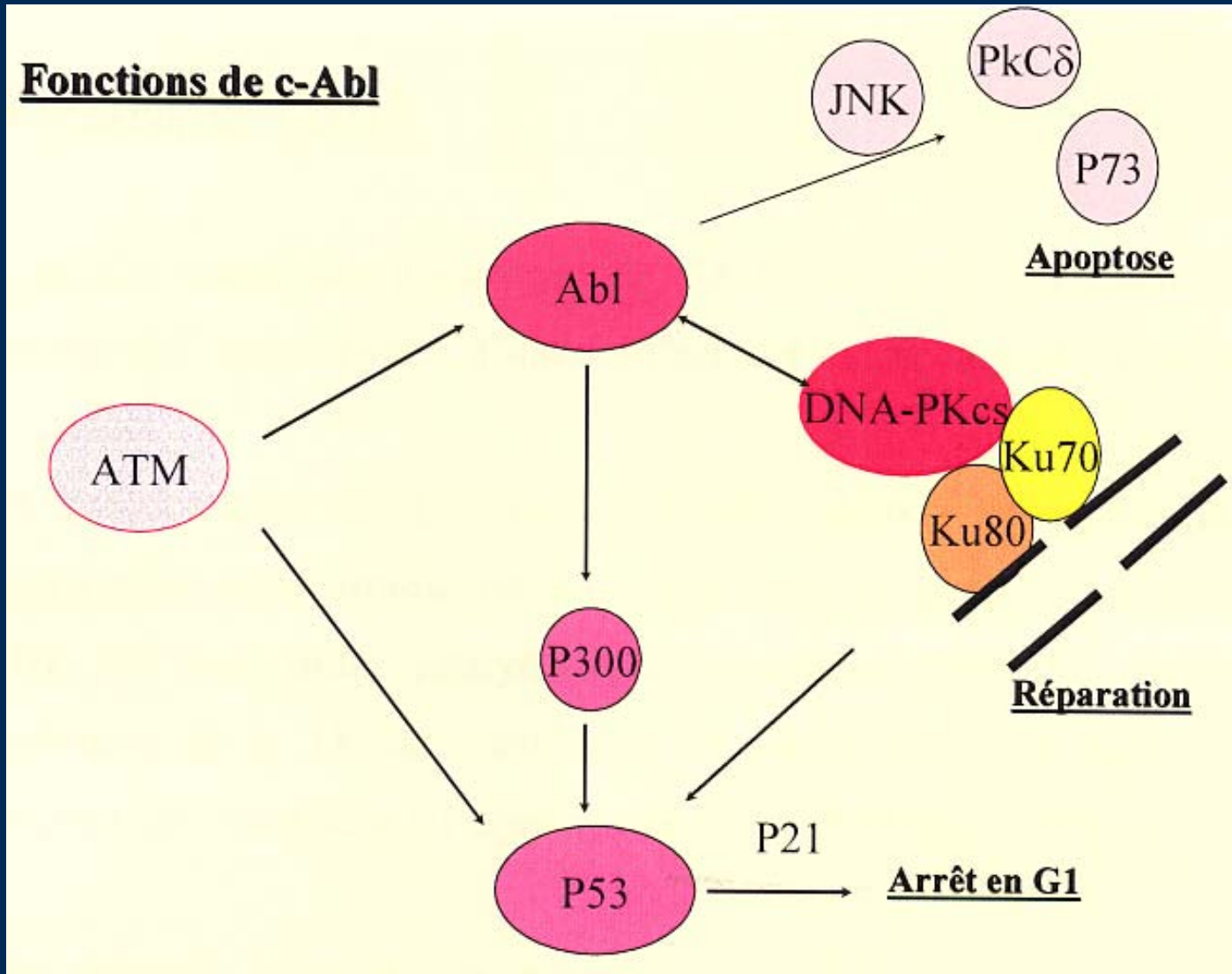


Témoin normal



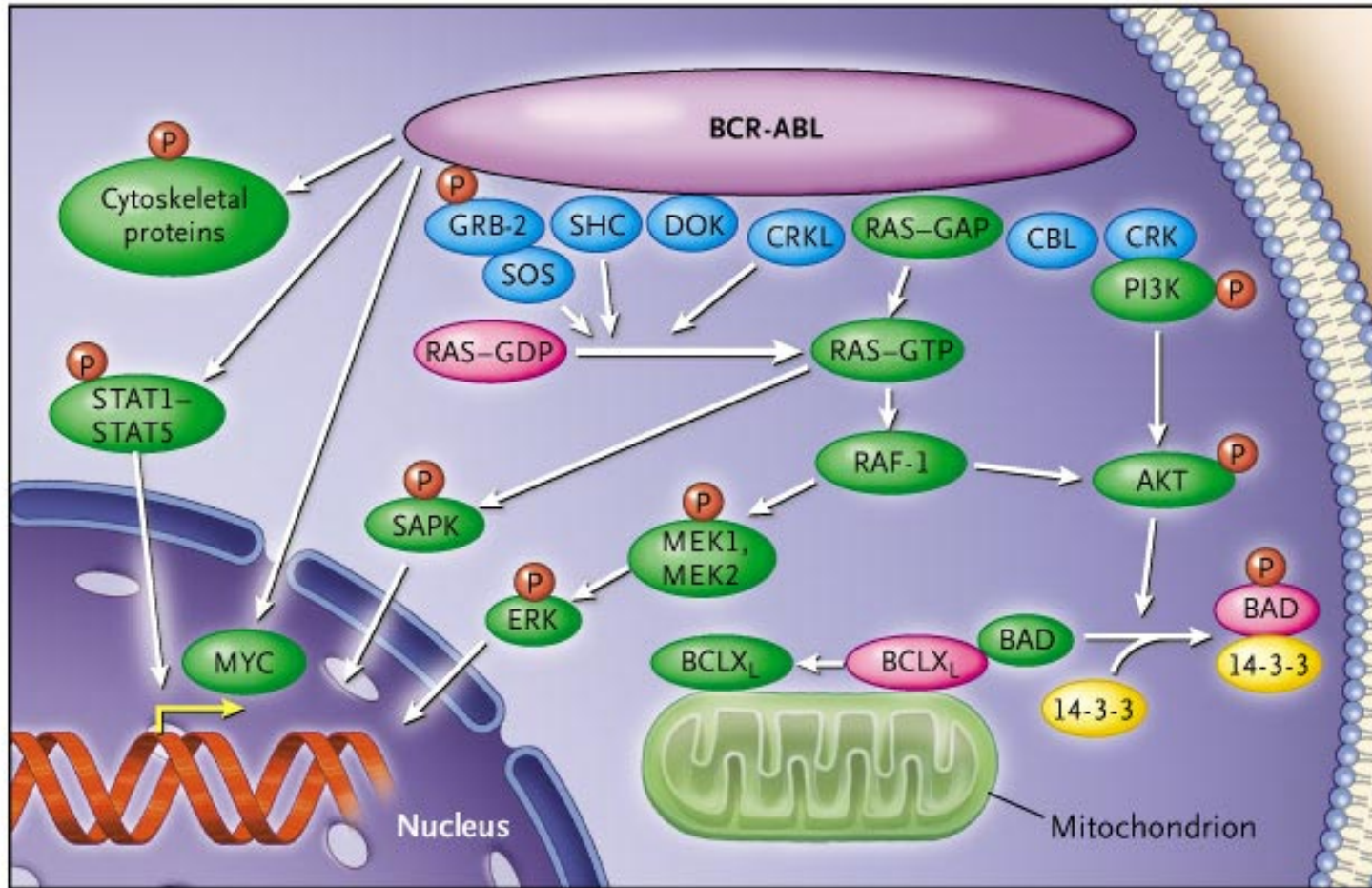
Leucémie myéloïde chronique :
fusion Bcr-Abl

Exemple de thérapie ciblée = le STI 571 ou Imatinib (Gleevec)



Van Etten, 1999

Signal-Transduction Pathways Affected by BCR-ABL

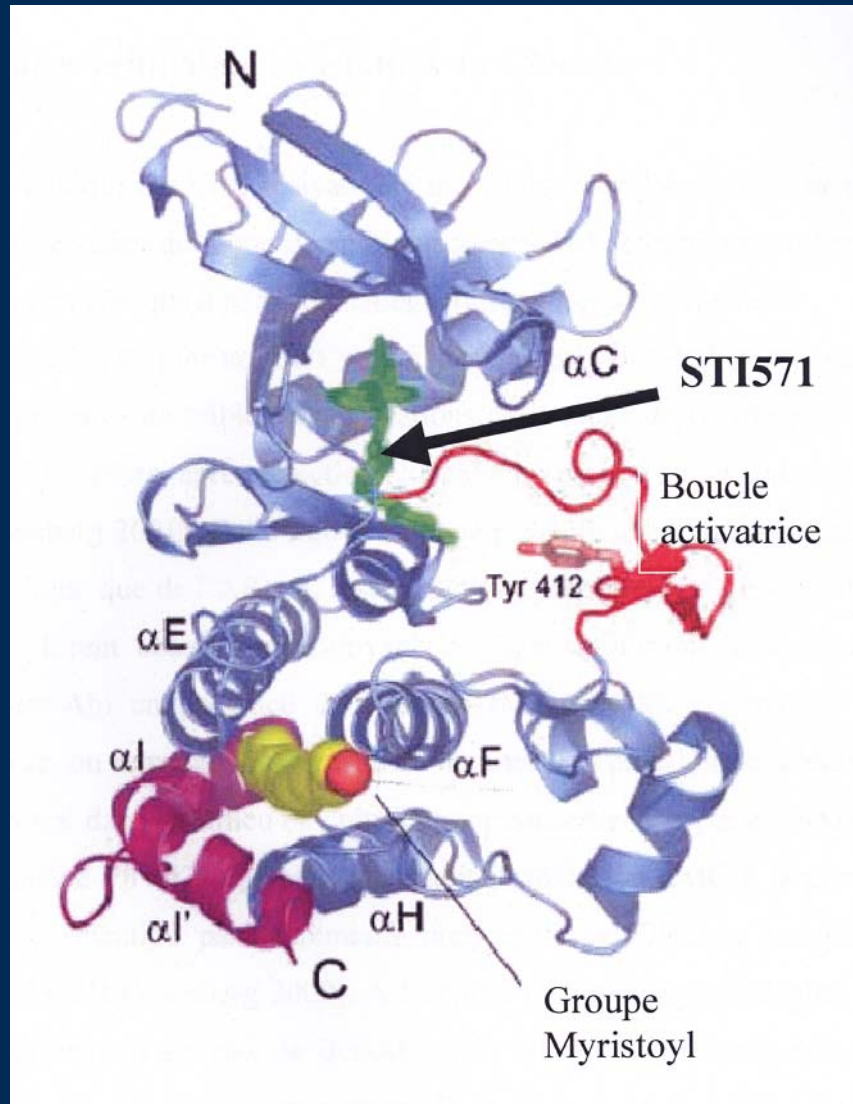


Goldman, J. M. et al. *N Engl J Med* 2003;349:1451-1464



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

Exemple de thérapie ciblée = le STI 571 ou Imatinib (Gleevec)



- Leucémie myéloïde chronique ++
- GIST avec C-Kit*

Pourquoi associer la RT aux thérapies ciblées ?

- ⇒ Efficacité souvent limitée des thérapies ciblées.
- ⇒ Démarche semblable à celle des associations radio-chimiques concomitantes.
- ⇒ Bases moléculaires.

Pourquoi associer la RT aux thérapies ciblées ?

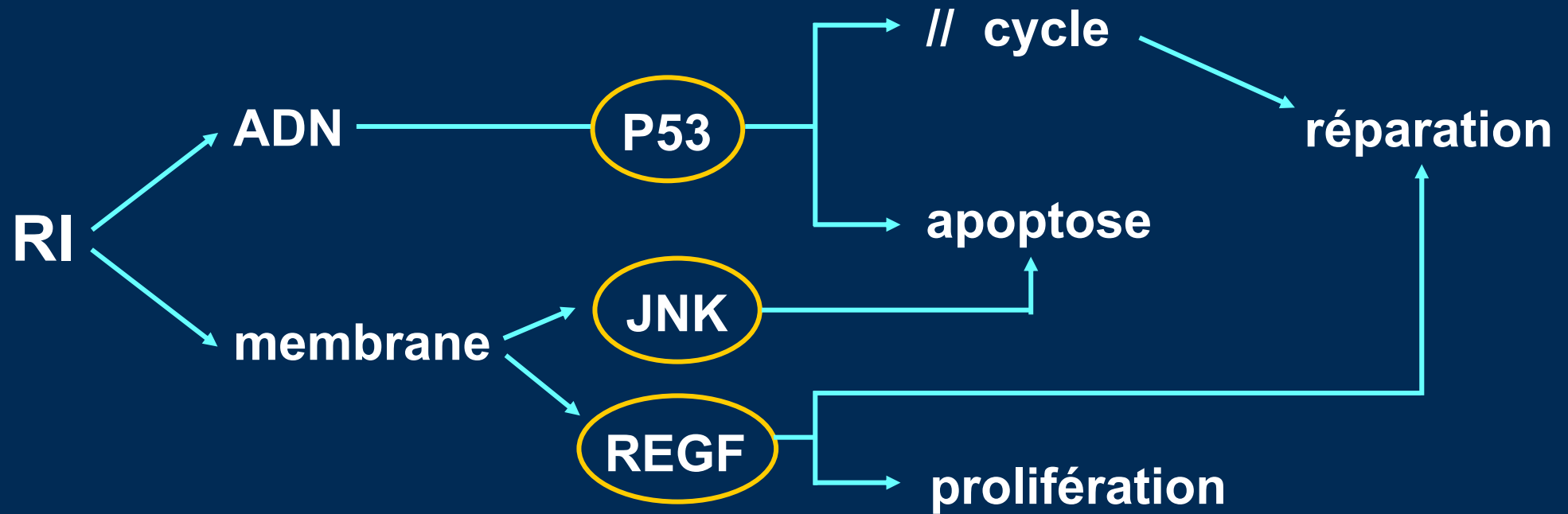
Bases moléculaires

De nombreuses anomalies moléculaires présentes dans les cellules cancéreuses se situent au niveau des voies de signalisation membranaire, cytoplasmique et nucléaire impliquées dans la **prolifération**, la progression de la cellule dans le **cycle cellulaire, l'apoptose**, la différenciation, la **réparation** de l'ADN, **l'angiogénèse** et l'adhésion cellulaire.

L'approche moléculaire de la radiobiologie a clairement mis en évidence que plusieurs de ces voies de signalisation sont en fait, à différents niveaux, directement ou indirectement impliquées dans la réponse cellulaire aux radiations ionisantes.

Ainsi, l'activation permanente dans la cellule cancéreuse d'une voie de signalisation de survie impliquée dans la radioréponse conduit à une radiorésistance accrue et constitue une cible thérapeutique potentielle pour majorer l'efficacité de la radiothérapie.

La radioréponse cellulaire



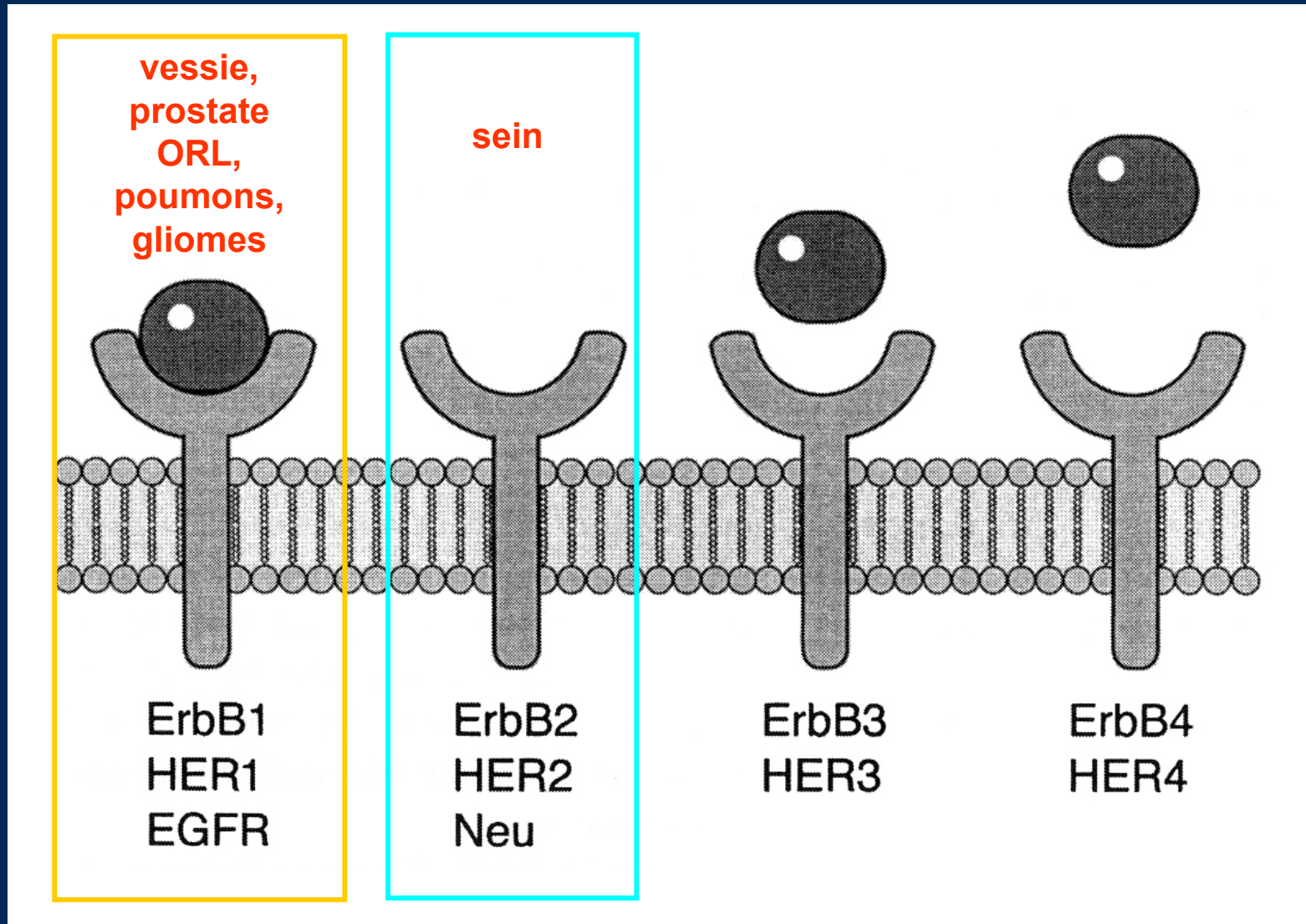
- Antagonisme apparent entre
 - les 2 voies membranaires
 - les 2 voies P53
- Radioréponse différente selon le type cellulaire

Les cibles

- ⇒ Famille REGF / Ras
- ⇒ Autres cibles impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire
- ⇒ Déterminants moléculaires de la vascularisation tumorale

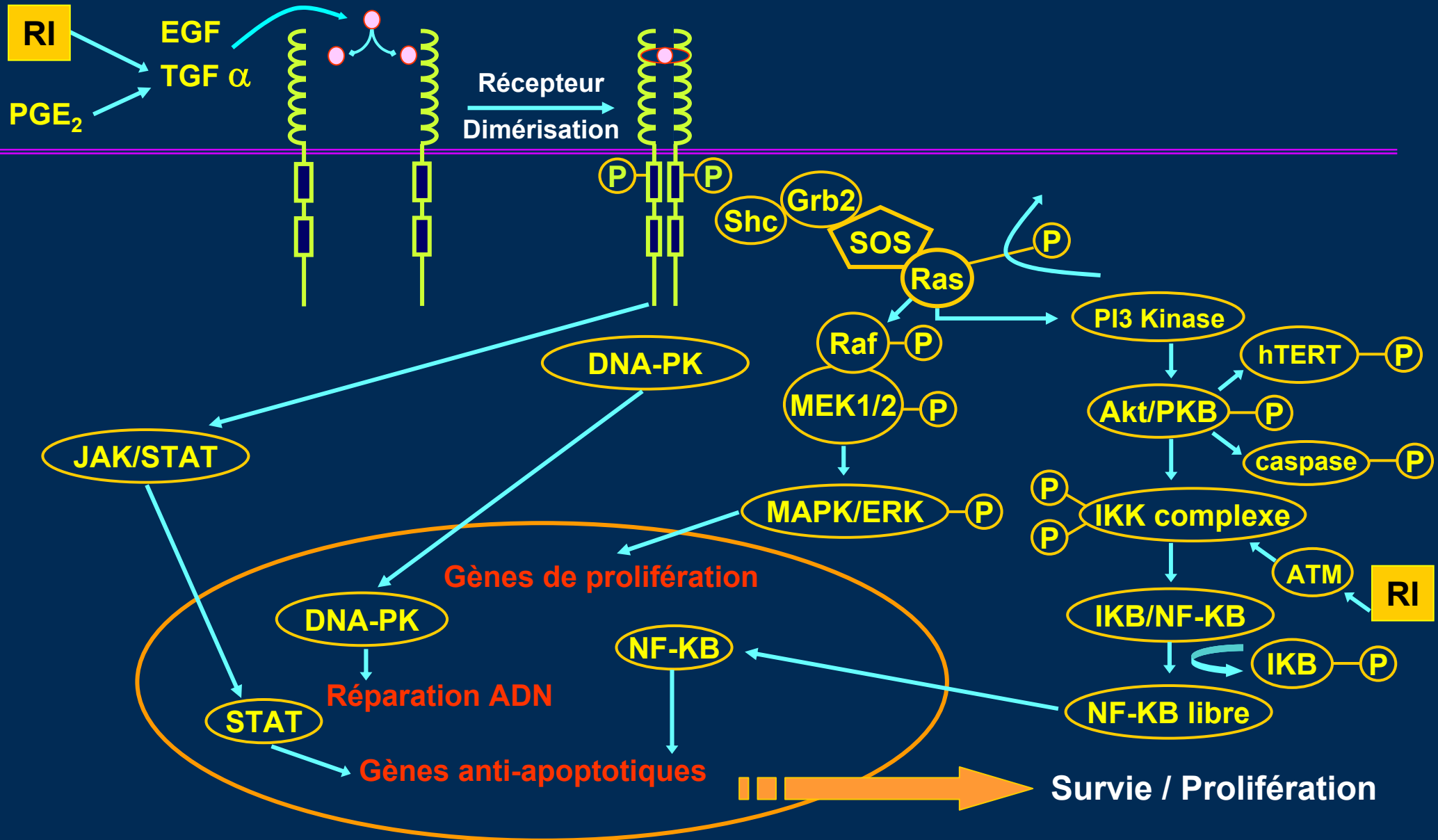
Famille REGF / Ras

Famille des récepteurs TK ErbB

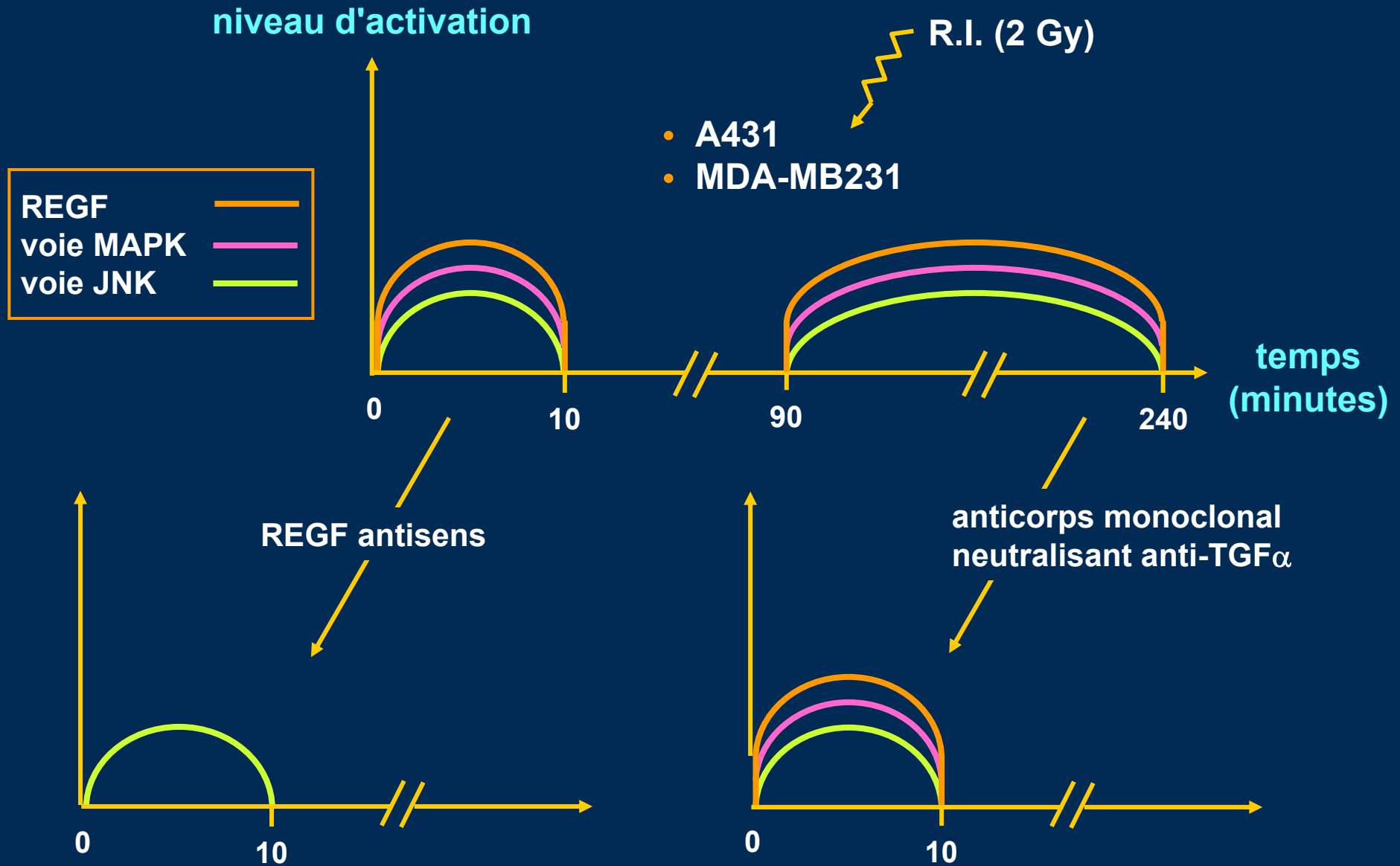


La voie REGF/Ras

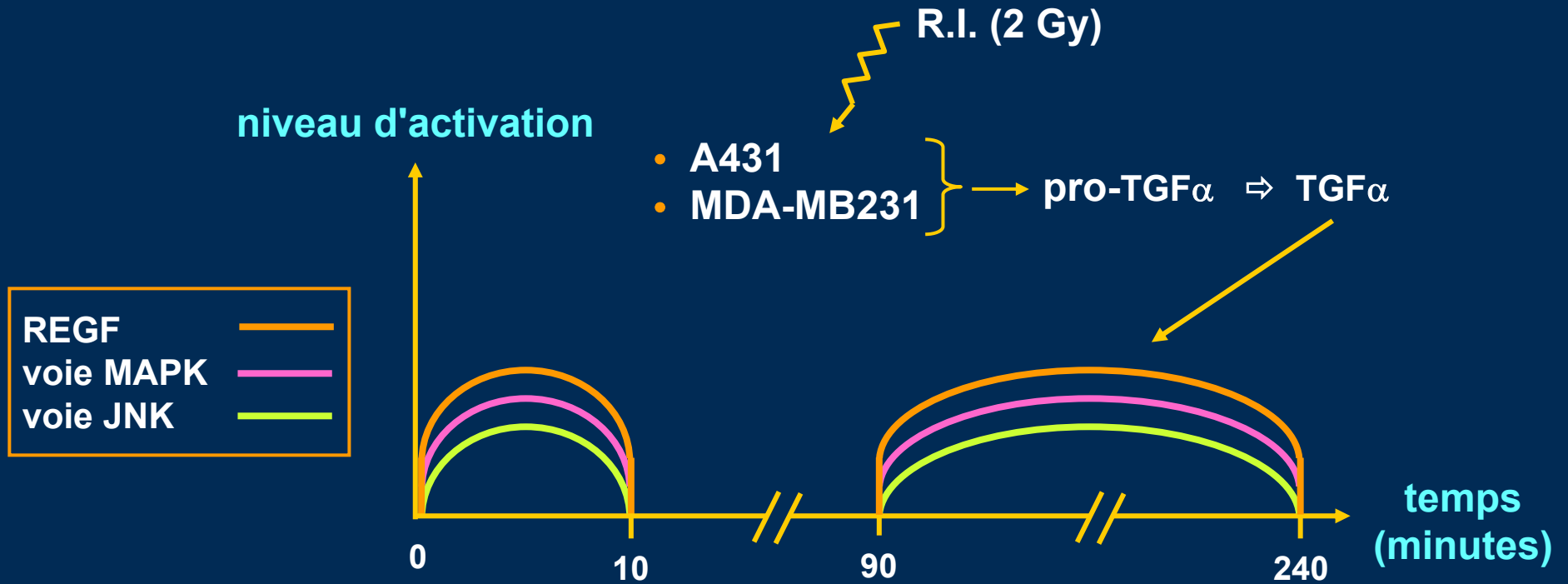
Conséquences de l'activation de la voie REGF/Ras



Radio-activation de REGF



Radio-activation de REGF



Expression de REGF et radiorésistance

- **Akimoto et al.**
(Clin Cancer Res 1999)
Relation inverse entre radiocurabilité de carcinomes murins et expression de EGFR (Western-Blot).
- **Barker et al.**
(Red J 2001)
Corrélation significative entre une surexpression de EGFR (score immunohistochimique) et mauvaise réponse à la RT dans 170 GBM.
- **Ang**
(Astro 2002)
Etude rétrospective sur plus de 1000 patients RTOG tête et cou.
[EGFR + COX-2] = facteur pronostique +++
- **Mac Kenna**
Phospho Akt > REGF comme facteur pronostique dans les carcinomes ORL.

Blocage de la voie REGF

2 buts distincts et complémentaires

Contrer les effets de l'anomalie moléculaire (hyperexpression, mutation de REGF)

Empêcher la radio-activation de REGF (potentiellement impliquée dans la repopulation tumorale sous radiothérapie)

approches

Expérimentale

Corrélations biocliniques rétrospectives puis prospectives

Essais thérapeutiques

Blocage de la voie REGF

⇒ anticorps monoclonaux humanisés

α R-EGF (C225)

- blocage de l'interaction ligand-récepteur
- radiosensibilisation majeure de lignées humaines ORL
- essai phase III en cours en Orl +++ (Harari)

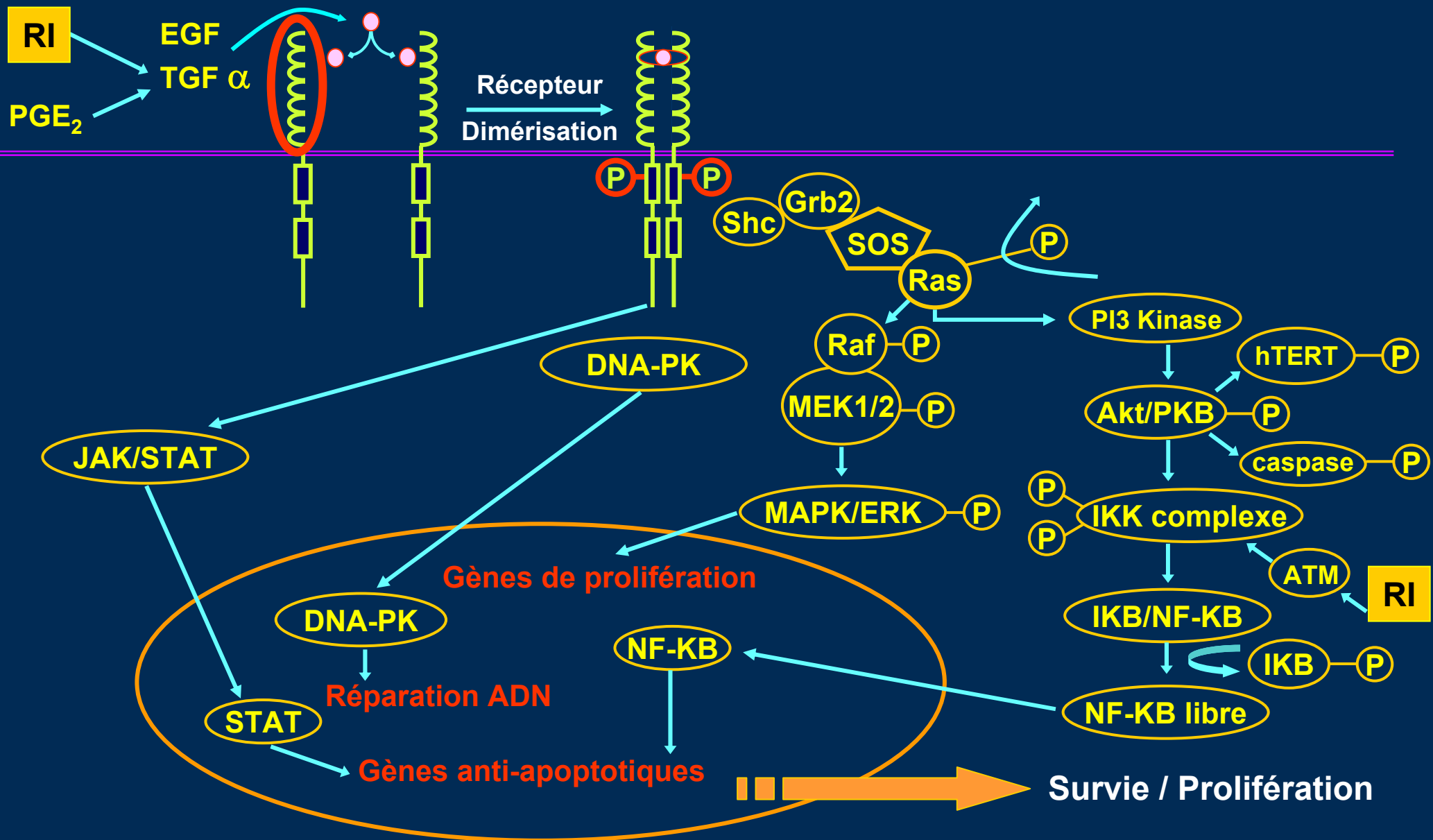
RT versus RT + C225

⇒ drogues inhibitrices de l'activité TK

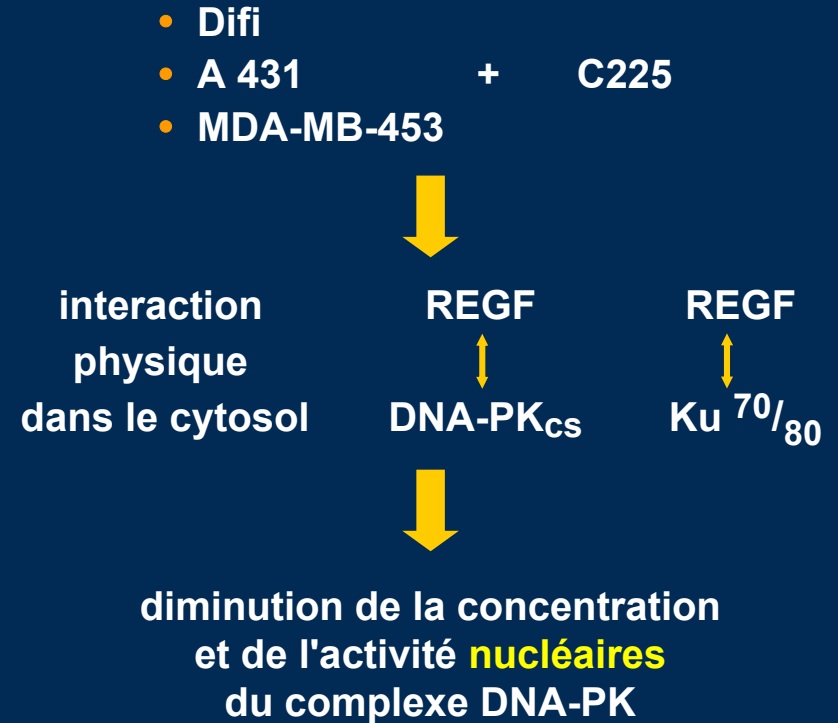
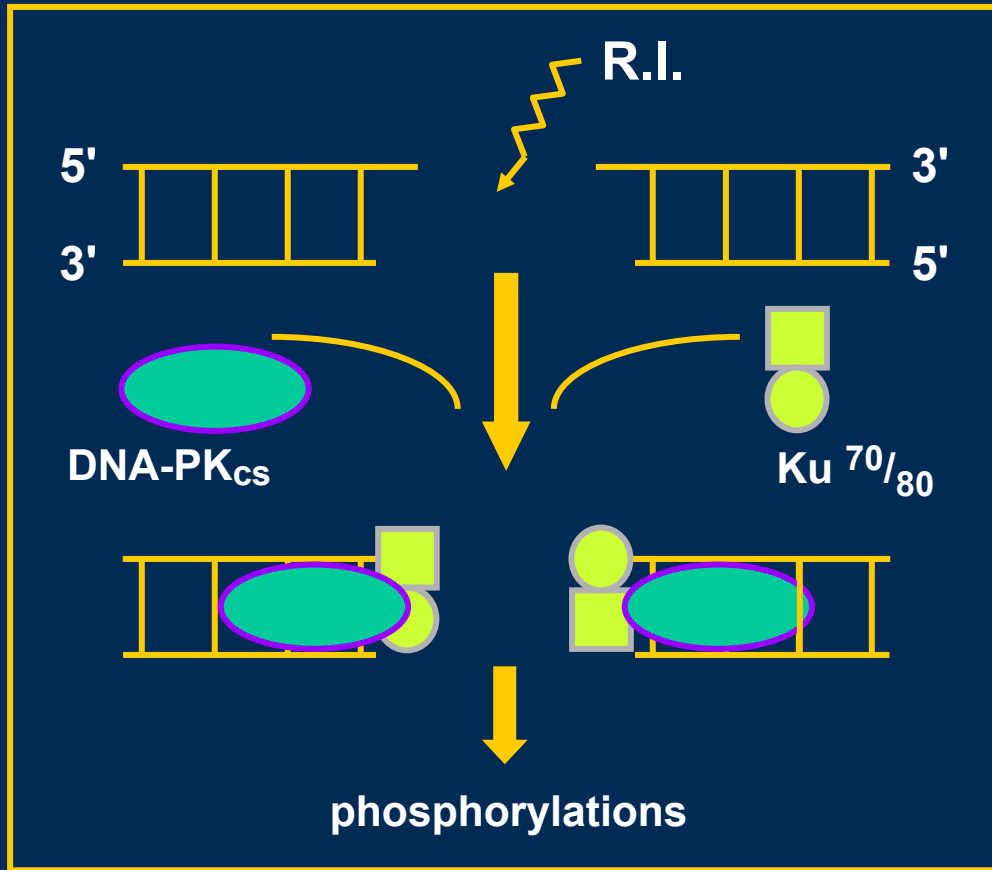
ZD1839 (Iressa)

- inhibition de l'autophosphorylation après dimérisation de R-EGF
- petite molécule, bonne diffusion ++
- active en monothérapie si mutation dans le site TK
- essais en cours : ORL, bronche

La voie REGF/Ras) Blocage de la voie REGF



Blocage de REGF par l'anticorps C225 et réparation de l'ADN



phénomène : - dépendant de la présence de REGF
- indépendant de son niveau d'expression +++

Études *in vitro* d'associations RT-C225

Lignées ORL
humaines
SCC

Huang *et al.*
(Cancer Res 1999)

↗ radio - apoptose
↘ survie clonogénique

Huang *et al.*
(Clin Cancer Res 2000)

↗ phases G1 et G2M
↘ phase S
↘ DNA-PK nucléaire

Bonner
(JCO 2000)

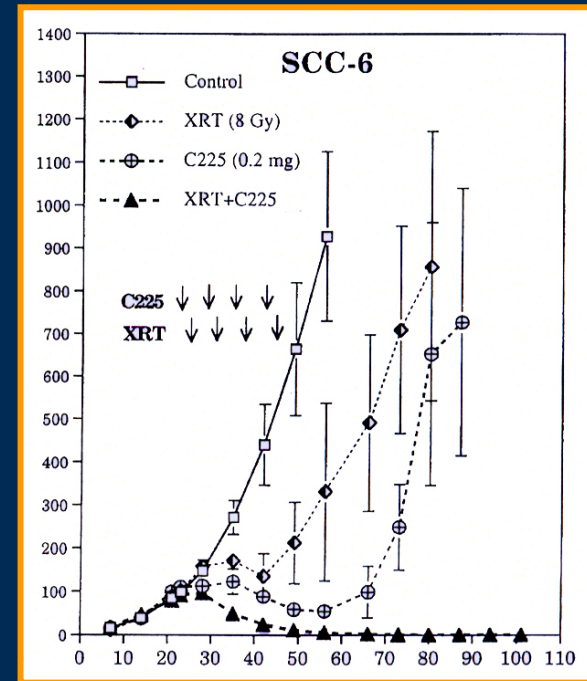
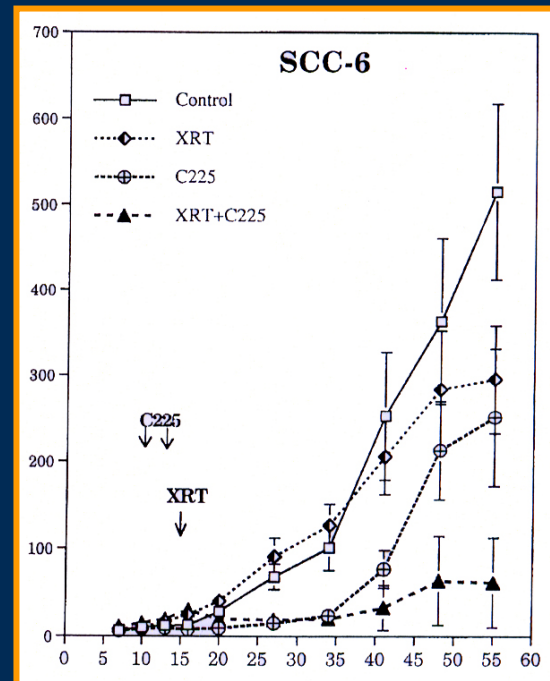
↗ radio - apoptose

Études précliniques d'associations RT-C225 sur souris nude

<i>lignées humaines</i>	<i>auteurs</i>	<i>résultats</i>
A431	Saleh et al. (Cancer Biother Radiopharm 1999)	↗ % de RC ↗ survie
	Milas et al. (Clin Cancer Res 2000)	↗ nécrose tumorale ↗ délai de recroissance tumorale
	Nasu et al. (Red J 2001)	↘ TCD50 (p < 0,001)
GEO et OVCAR - 3	Bianco et al. (Clin Cancer Res 2000)	RC > 100 jours

Huang et al. (Clin Cancer Res 2000)

lignées
SCC1
SCC-6



Essais cliniques tête et cou stades III et IV

RT + C225 hebdo		patients	RC	RP
phase I / II	Robert et al. (JCO 2000)	15	13	2

- 6 récurrences loco régionales précoces
- survie actuarielle : 73% à 1 an

RT + H-R3 hebdo		patients	RC	
phase I / II	Crombet et al. (ASCO 2002)	12 (REGF ⊕)	8 (5 à 2 ans)	
	Winkvist et al. (ASCO 2002)	17	7	

Essais cliniques tête et cou stades III et IV

Essai phase III - IMCL CP02-9815

- oropharynx
- hypopharynx
- larynx
stades III, IV

PATIENTS

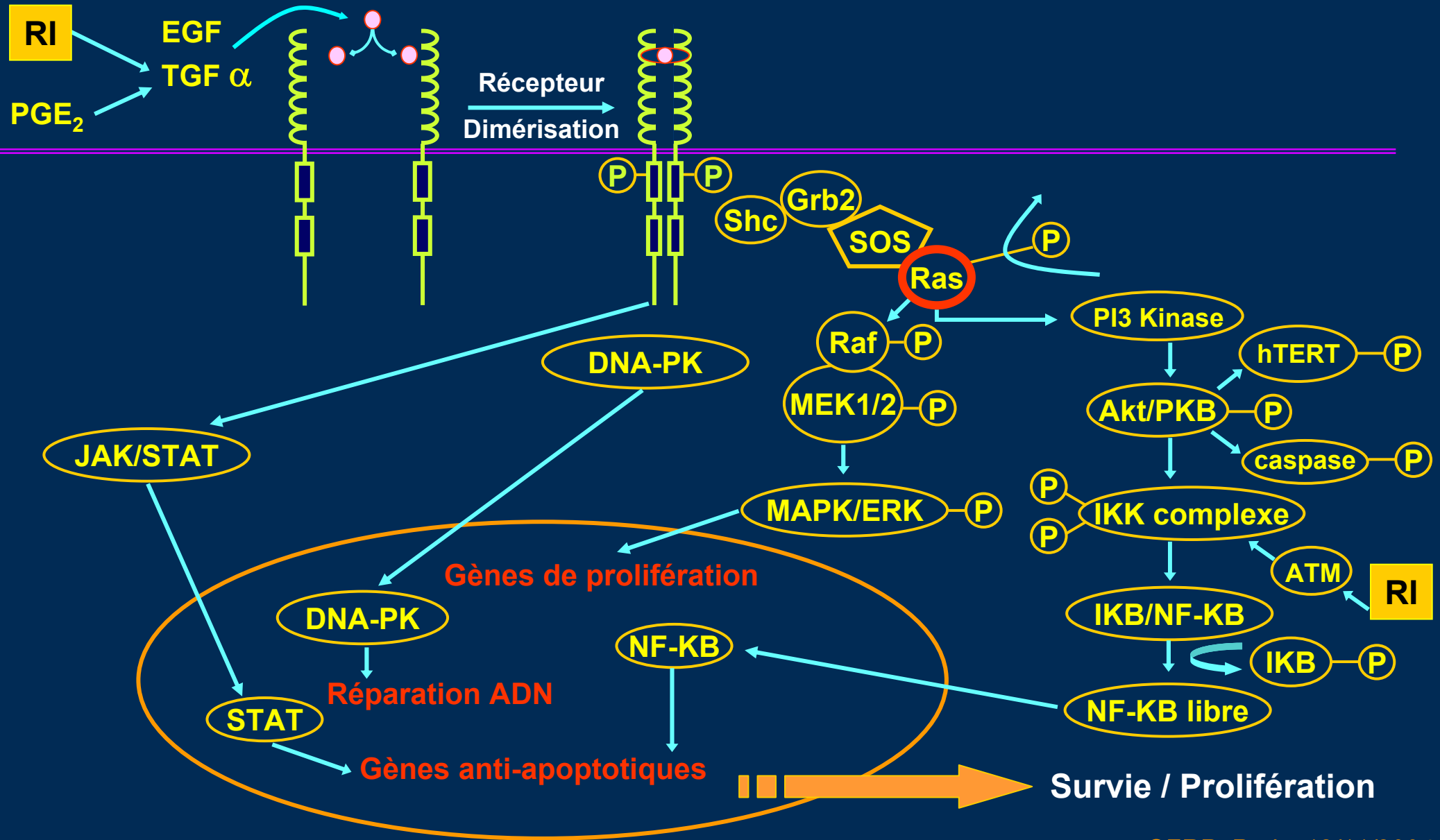


(*) <u>RADIOTHERAPIE</u>	70 Gy	/	35 fractions	/	47 jours	classique
	74,4 Gy	/	62 fractions	/	43 jours	bifractionnée accélérée
	72 Gy	/	42 fractions	/	40 jours	boost concomitant en clôture

(**) C225 - dose de charge : 400 mg/m² avant le début de la radiothérapie
- dose hebdomadaire d'entretien : 250 mg / m² tout au long de la radiothérapie

- plus de 400 patients
- inclusions terminées

Blocage de la voie Ras



Arguments **expérimentaux** et **cliniques**

⇒ **Cellules T24 très radiorésistantes** (Miller, 1993)

⇒ **Transfection de NIH / 3T3
avec H-ras* => ↗ radiorésistance**

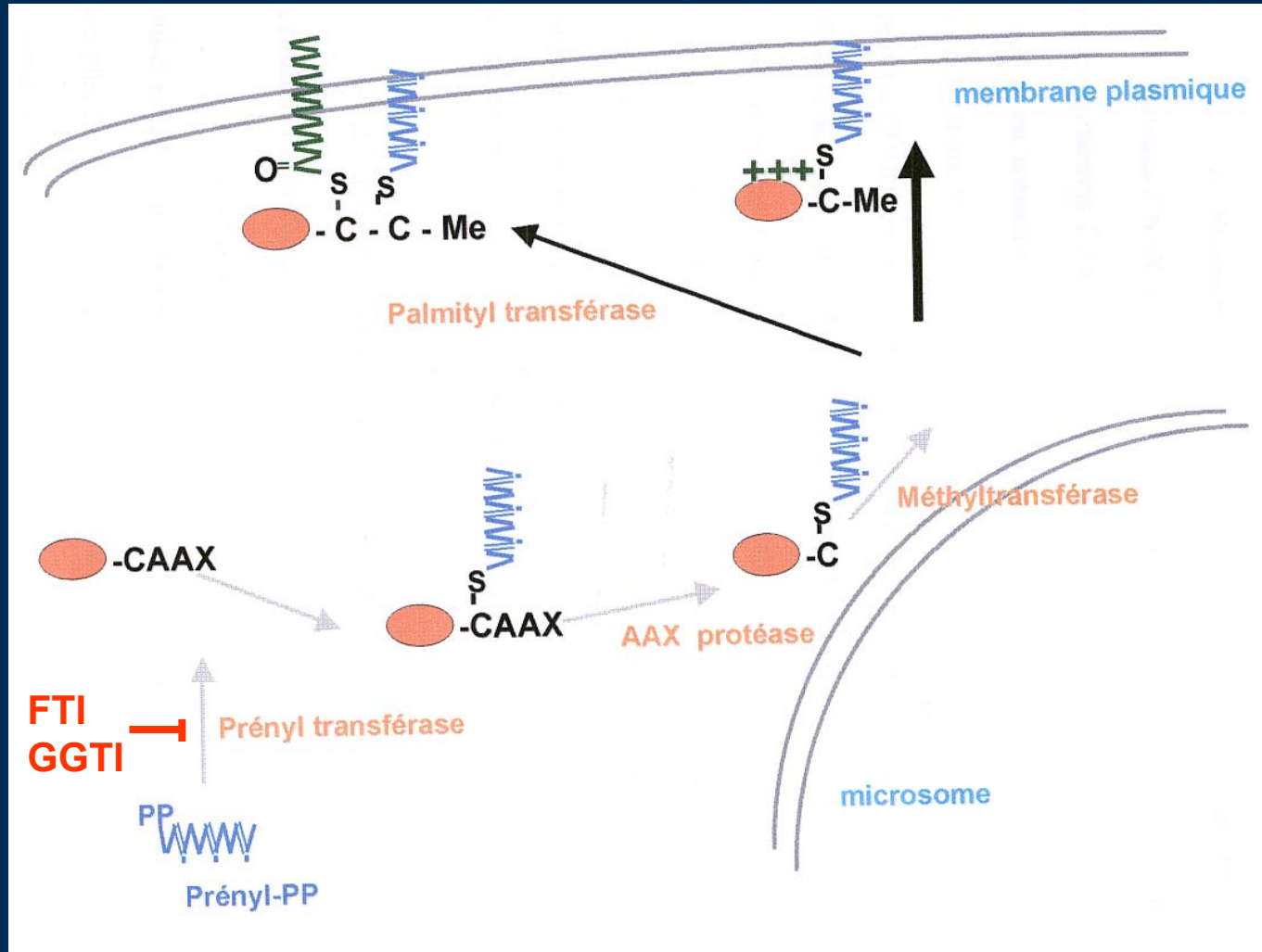
⇒ **Radiosensibilisation de lignées tumorales
humaines radiorésistantes par expression
d'un antisens de Ras** (Russel, 1999)
de Raf-1 (Gokhale, 1999)

⇒ **Transfection de cellules tumorales humaines
vésicales avec la sous-unité catalytique
PI3 Kinase => ↗ radiorésistance** (Gupta, 2001)

⇒ **Tumeurs avec Ras*
souvent très
radiorésistantes**

Blocage de la voie Ras

Étapes de maturation des protéines prénylées



Données expérimentales

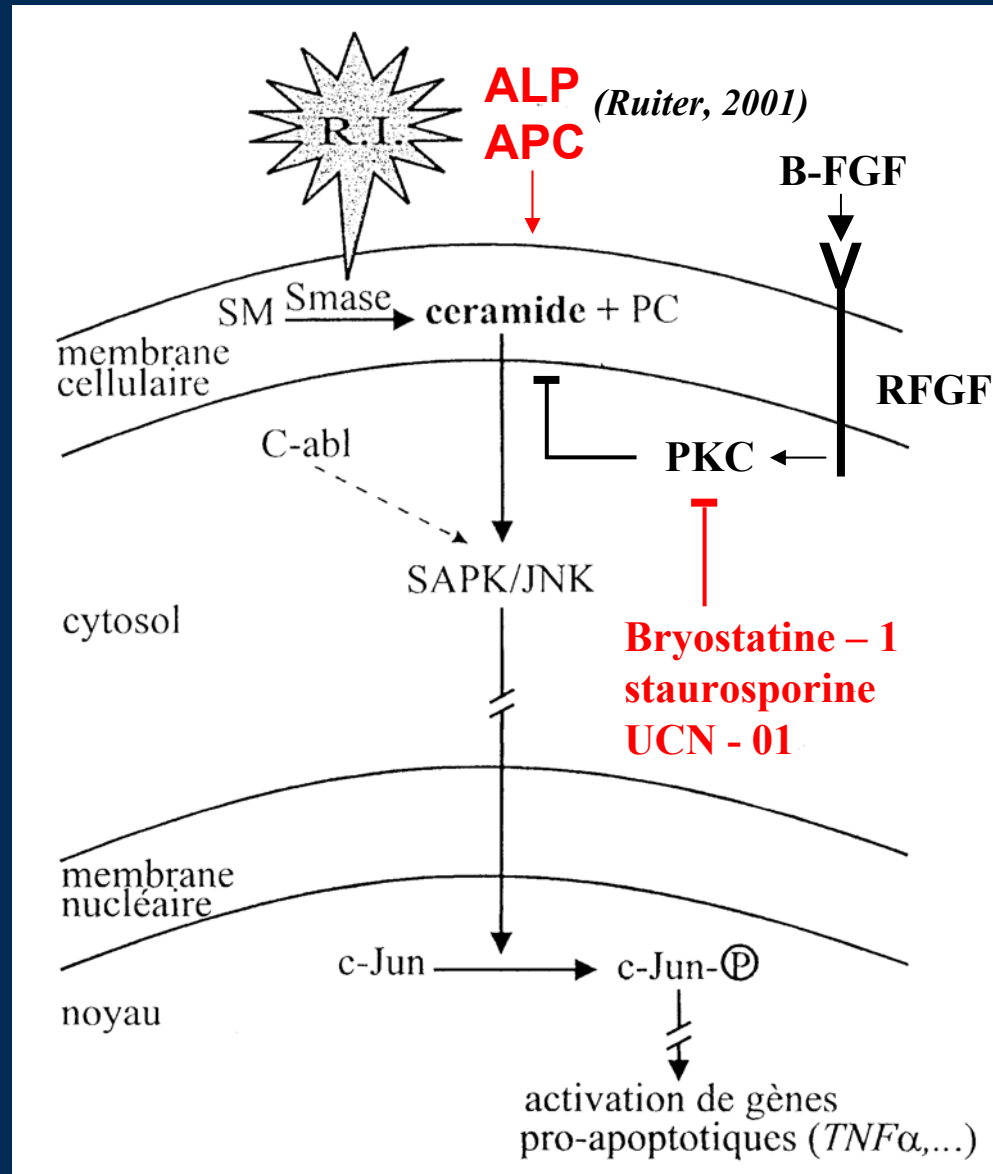
- ⇒ **Radiosensibilisation par FTI-277 de fibroblastes murins observée seulement après transfection par H-ras*** (Bernhard, 1996)
- ⇒ **Radiosensibilisation de cellules tumorales humaines avec**
 - **Ki-ras*** par FTI-277 plus GGTI-298 in vitro (Bernhard, 1998)
 - **Ha-ras*** par FTI-277 en xénogreffe (Cohen-Jonathan, 2000)
- ⇒ **RhoB : substrat des FTI impliqué également dans la radiorésistance** (Ader, 2003)
- ⇒ **Transfection de cellules tumorales humaines vésicales avec la sous-unité catalytique PI3 Kinase => ↗ radiorésistance** (Gupta, 2001)

Essais cliniques

- ⇒ **Phase I en ORL, L-778-123** (Hahn, 2002)
- ⇒ **Phase I / II en cours, glioblastome, R115777** (Cohen-Jonathan, 2000)

Autres cibles potentielles impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire

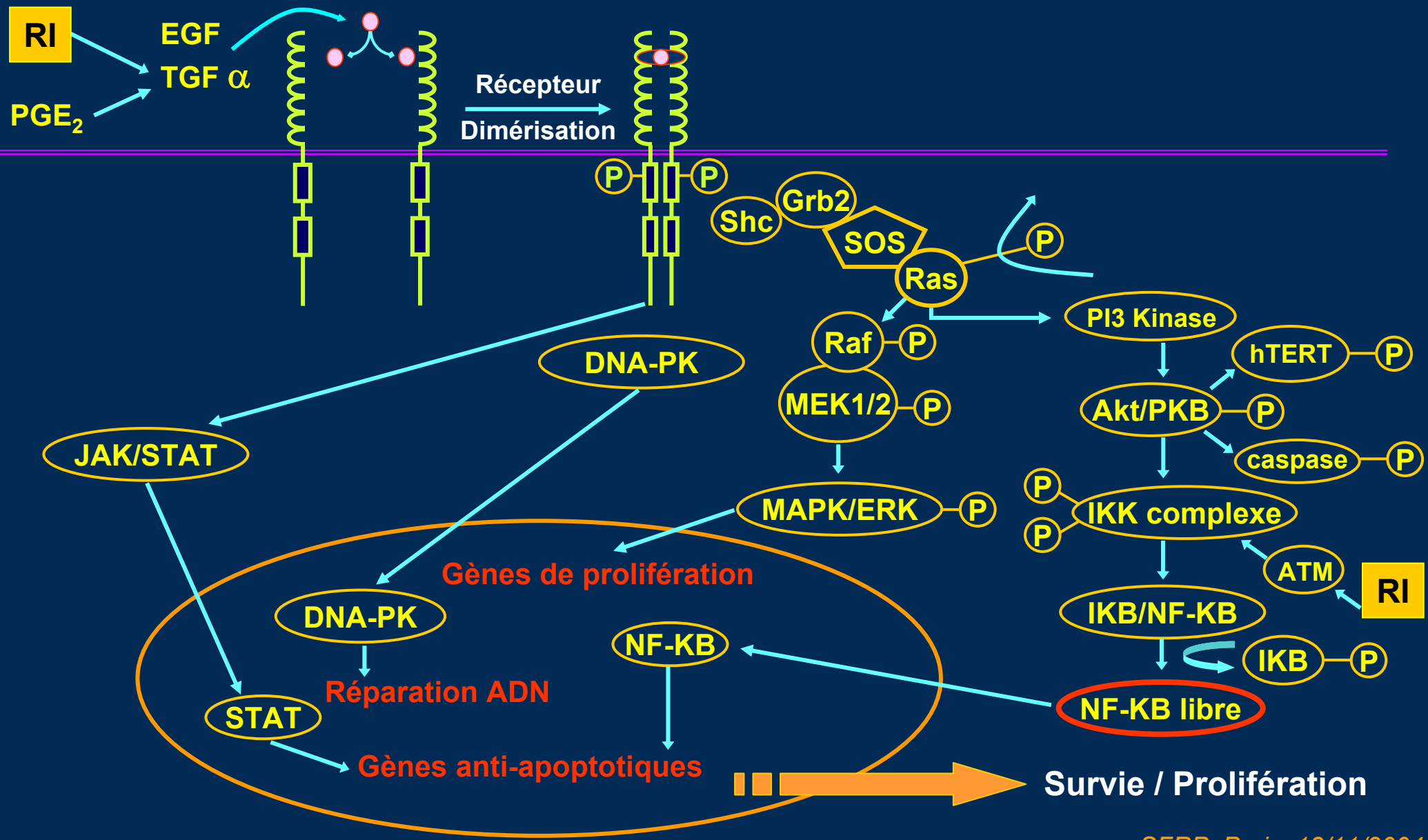
Médiateurs moléculaires de la régulation de l'apoptose radio-induite



Inducteurs de
la voie des
céramides

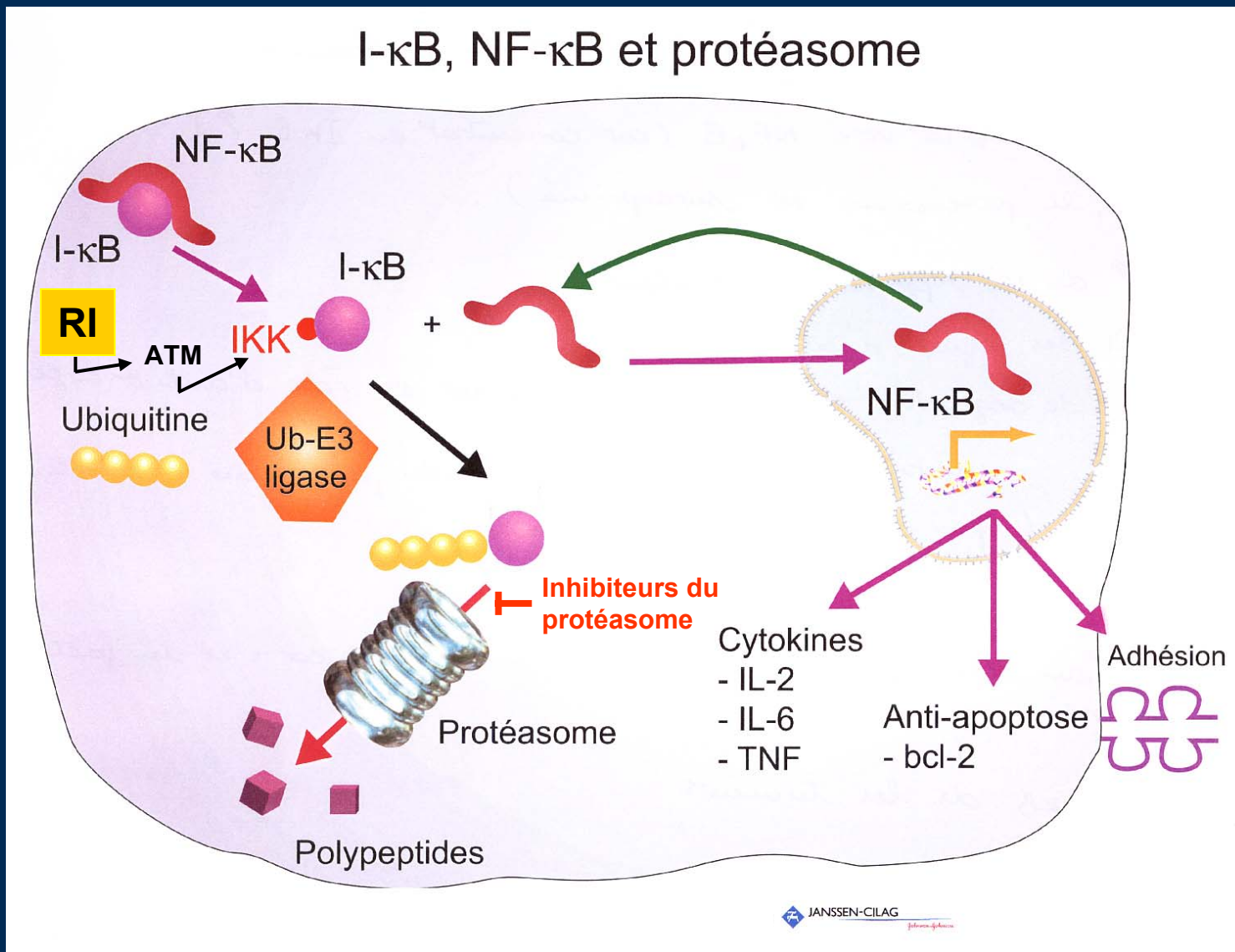
Médiateurs moléculaires de la régulation de l'apoptose radio-induite

Le facteur de transcription NF-kB



Autres cibles potentielles impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire

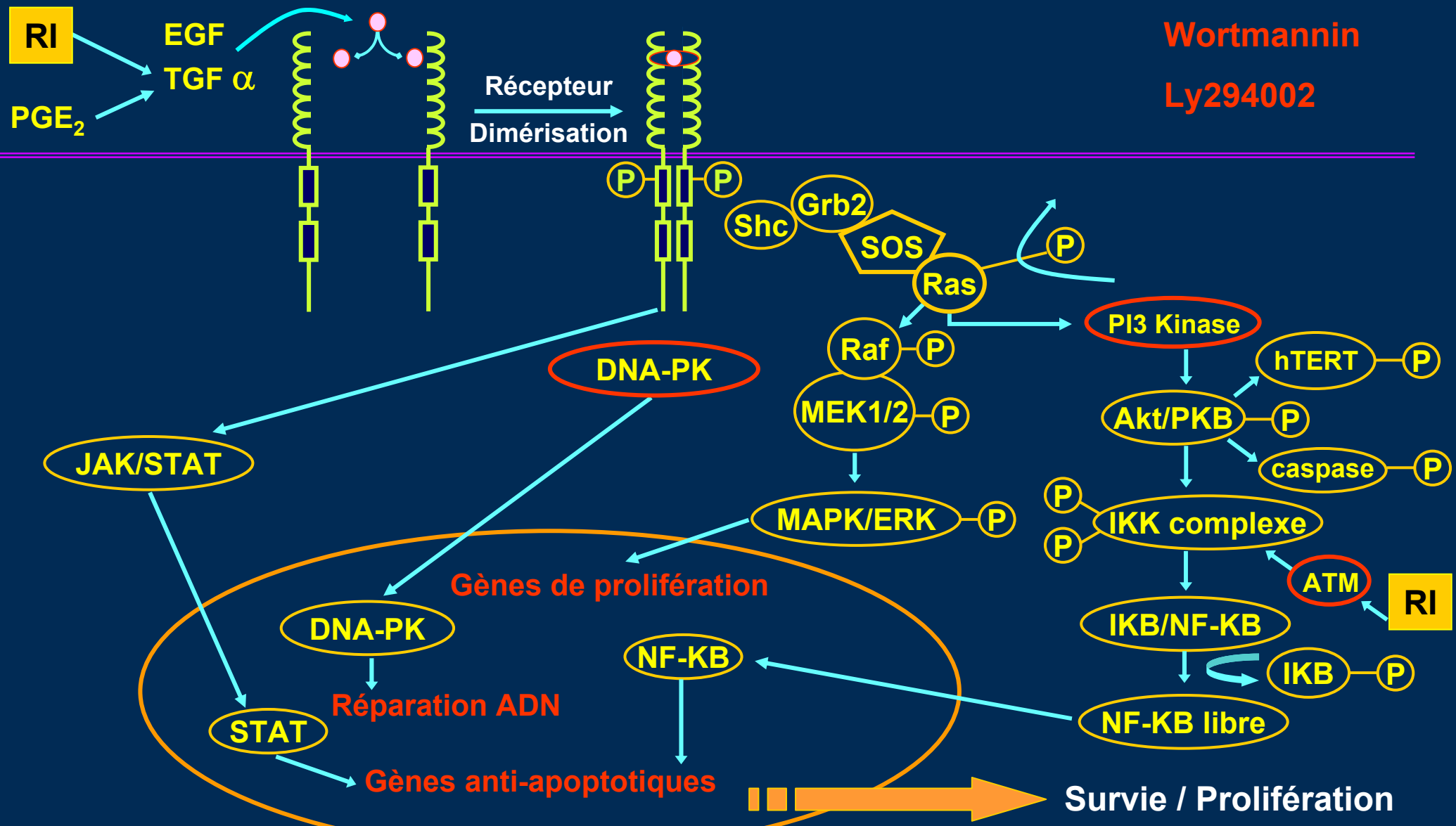
Médiateurs moléculaires de la régulation de l'apoptose radio-induite



Le facteur de transcription
NF- κ B

Médiateurs moléculaires de la régulation de l'apoptose radio-induite

Les inhibiteurs de la fonction PI3 Kinase ++



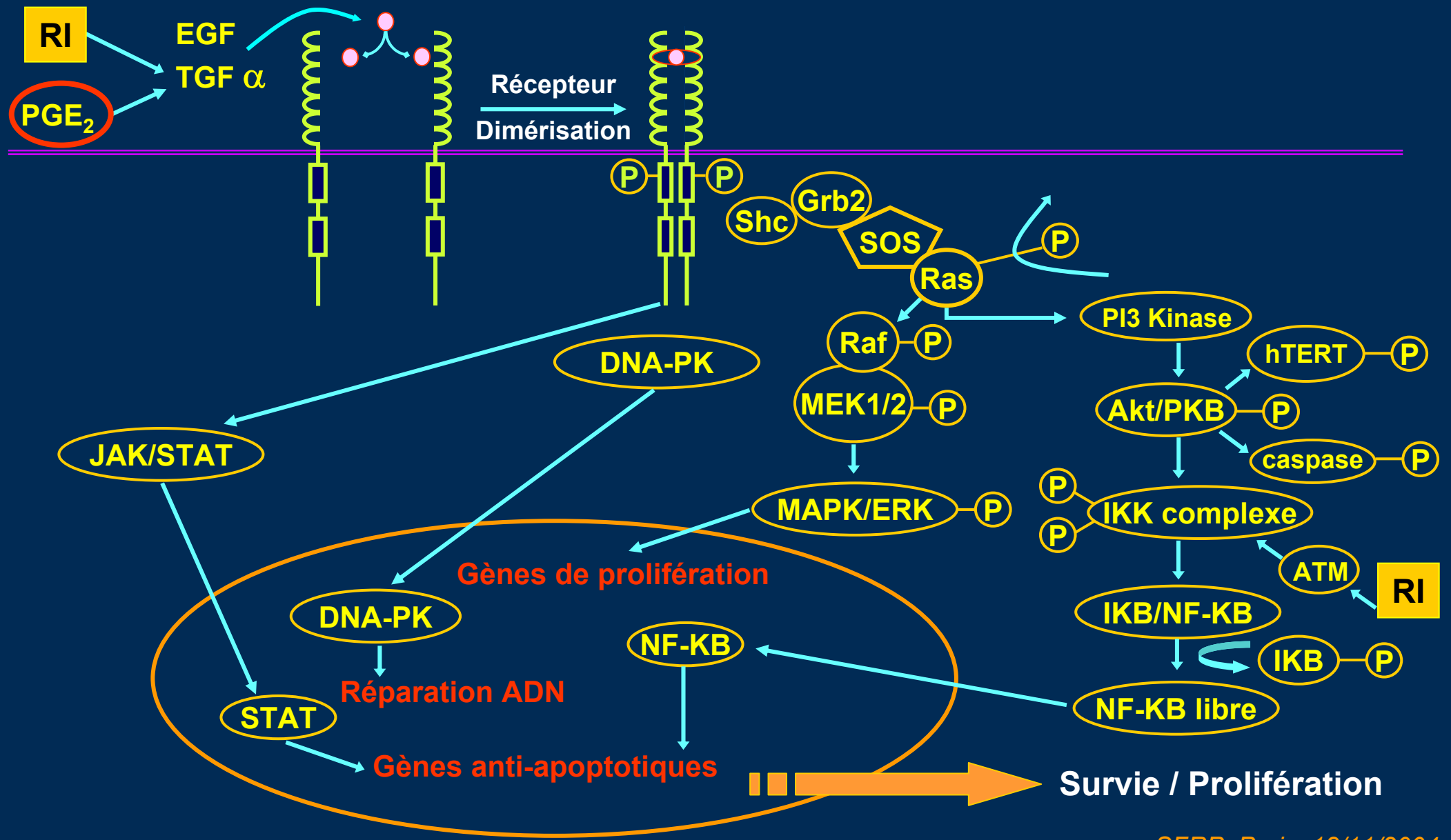
Wortmannin
Ly294002

⇒ **Médiateurs moléculaires du cycle cellulaire**

inhibiteurs des CDK : Flavopiridol, UCN-01

⇒ **Médiateurs moléculaires de la synthèse de PGE2**

inhibiteurs de COX-2 : Celecoxib



L'angiogenèse et la vascularisation

⇒ Une vascularisation précoce et fonctionnelle est incontournable pour la croissance tumorale (Folkman, 1995)

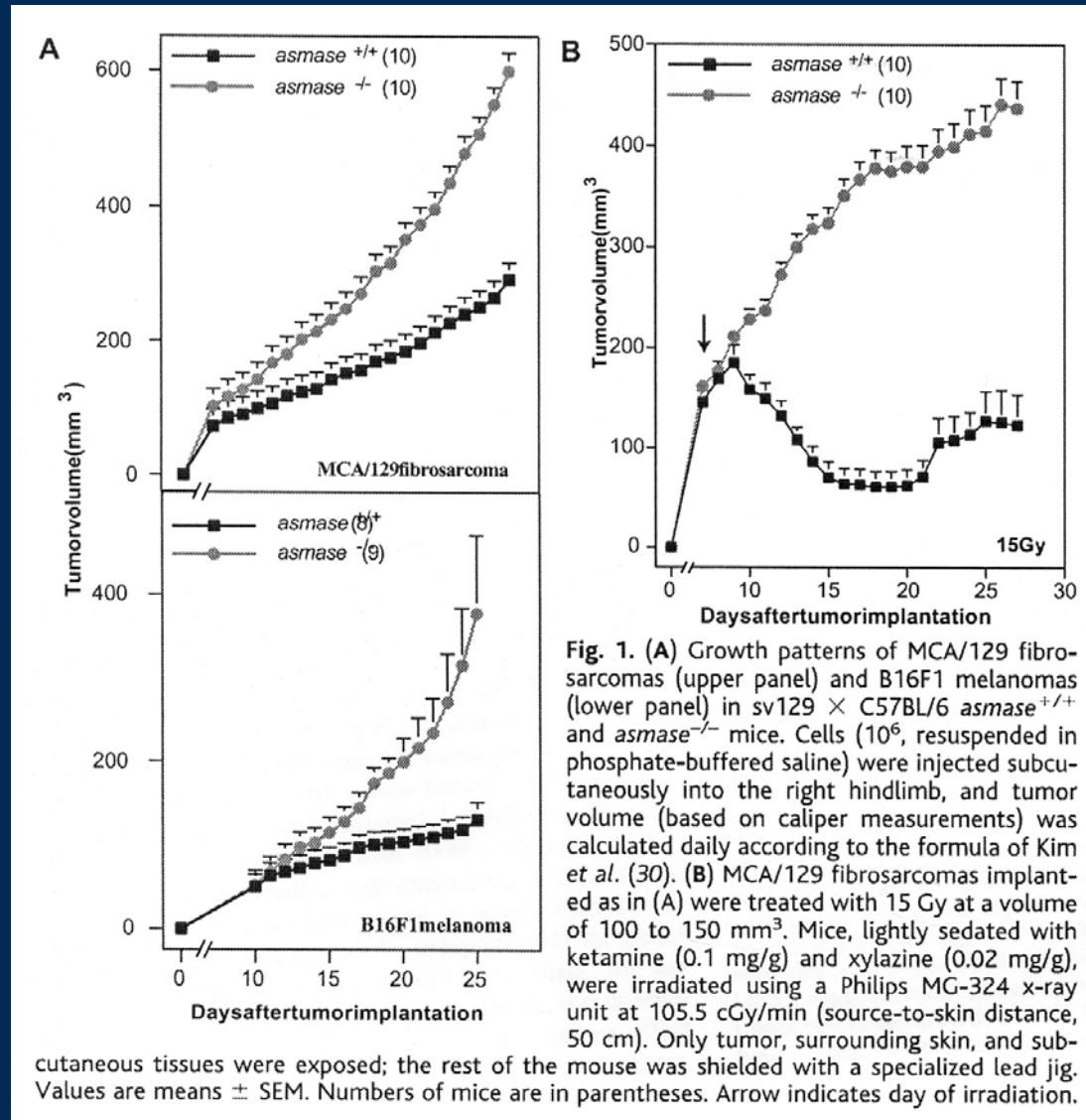
⇒ La radiosensibilité des microvaisseaux tumoraux est un déterminant majeur du contrôle local après RT

Tumor Response to Radiotherapy Regulated by Endothelial Cell Apoptosis

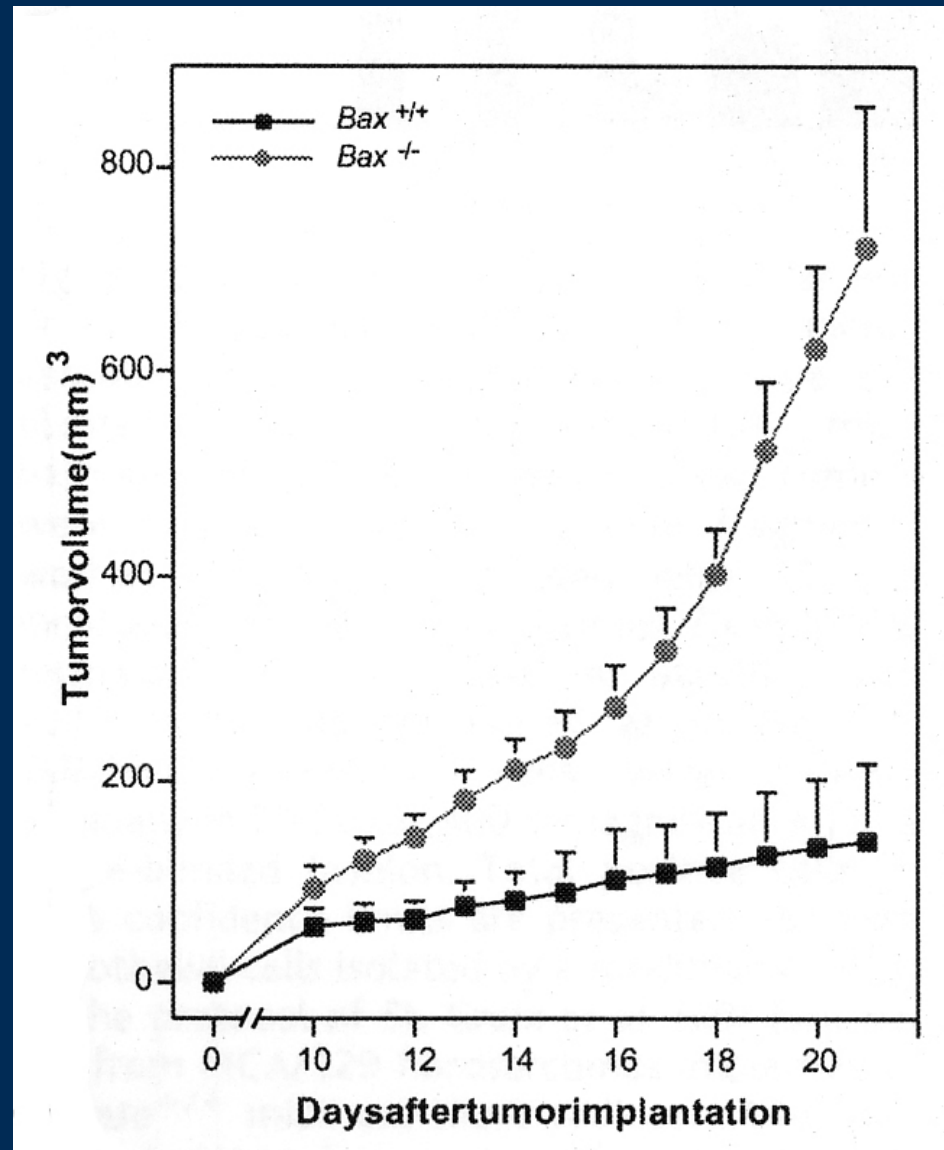
Monica Garcia-Barros,¹ Francois Paris,¹ Carlos Cordon-Cardo,² David Lyden,³ Shahin Rafii,⁵ Adriana Haimovitz-Friedman,⁴ Zvi Fuks,^{4*} Richard Kolesnick^{1*†}

About 50% of cancer patients receive radiation therapy. Here we investigated the hypothesis that tumor response to radiation is determined not only by tumor cell phenotype but also by microvascular sensitivity. MCA/129 fibrosarcomas and B16F1 melanomas grown in apoptosis-resistant *acid sphingomyelinase (asmase)*-deficient or *Bax*-deficient mice displayed markedly reduced baseline microvascular endothelial apoptosis and grew 200 to 400% faster than tumors on wild-type microvasculature. Thus, endothelial apoptosis is a homeostatic factor regulating angiogenesis-dependent tumor growth. Moreover, these tumors exhibited reduced endothelial apoptosis upon irradiation and, unlike tumors in wild-type mice, they were resistant to single-dose radiation up to 20 grays (Gy). These studies indicate that microvascular damage regulates tumor cell response to radiation at the clinically relevant dose range.

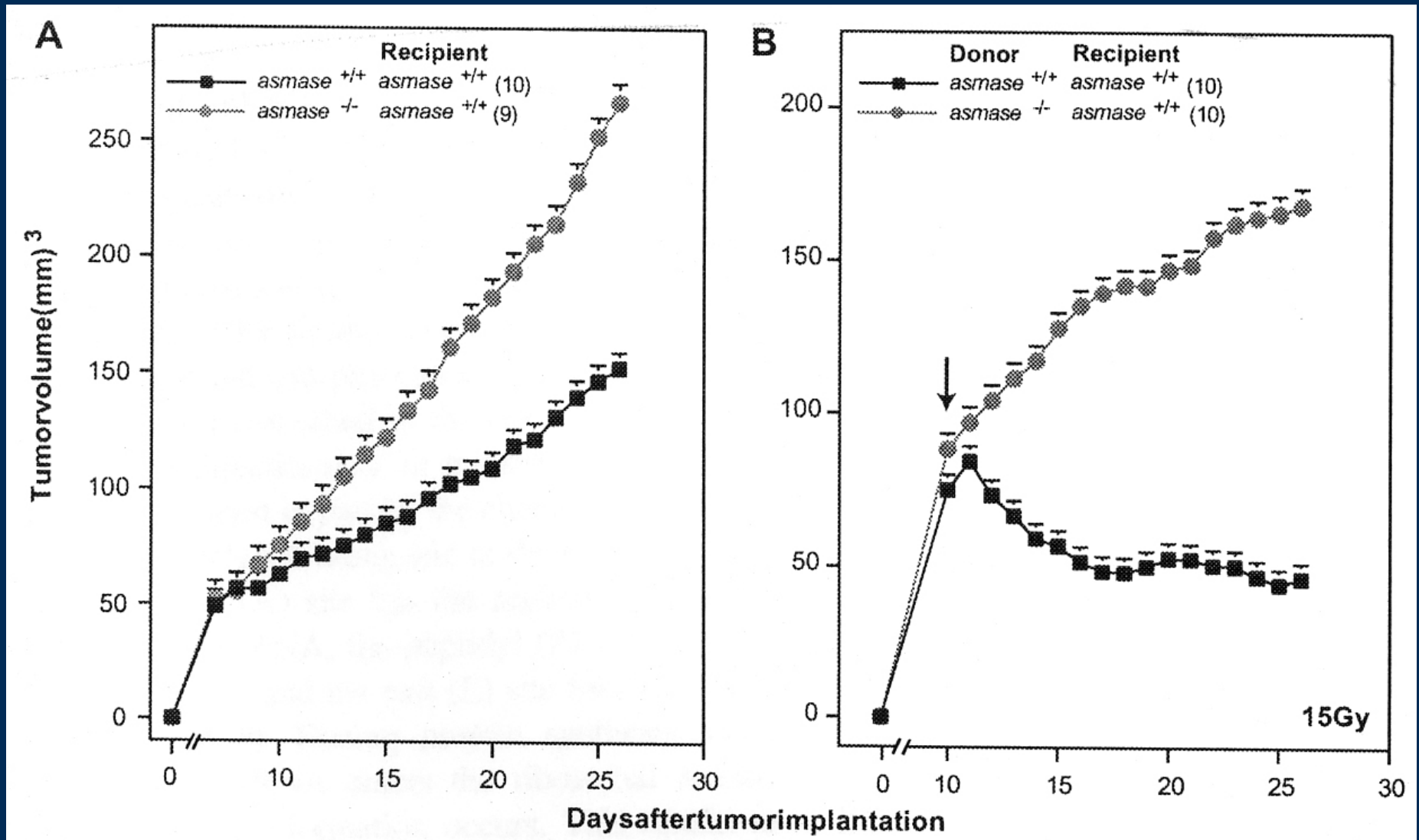
L'angiogenèse et la vascularisation



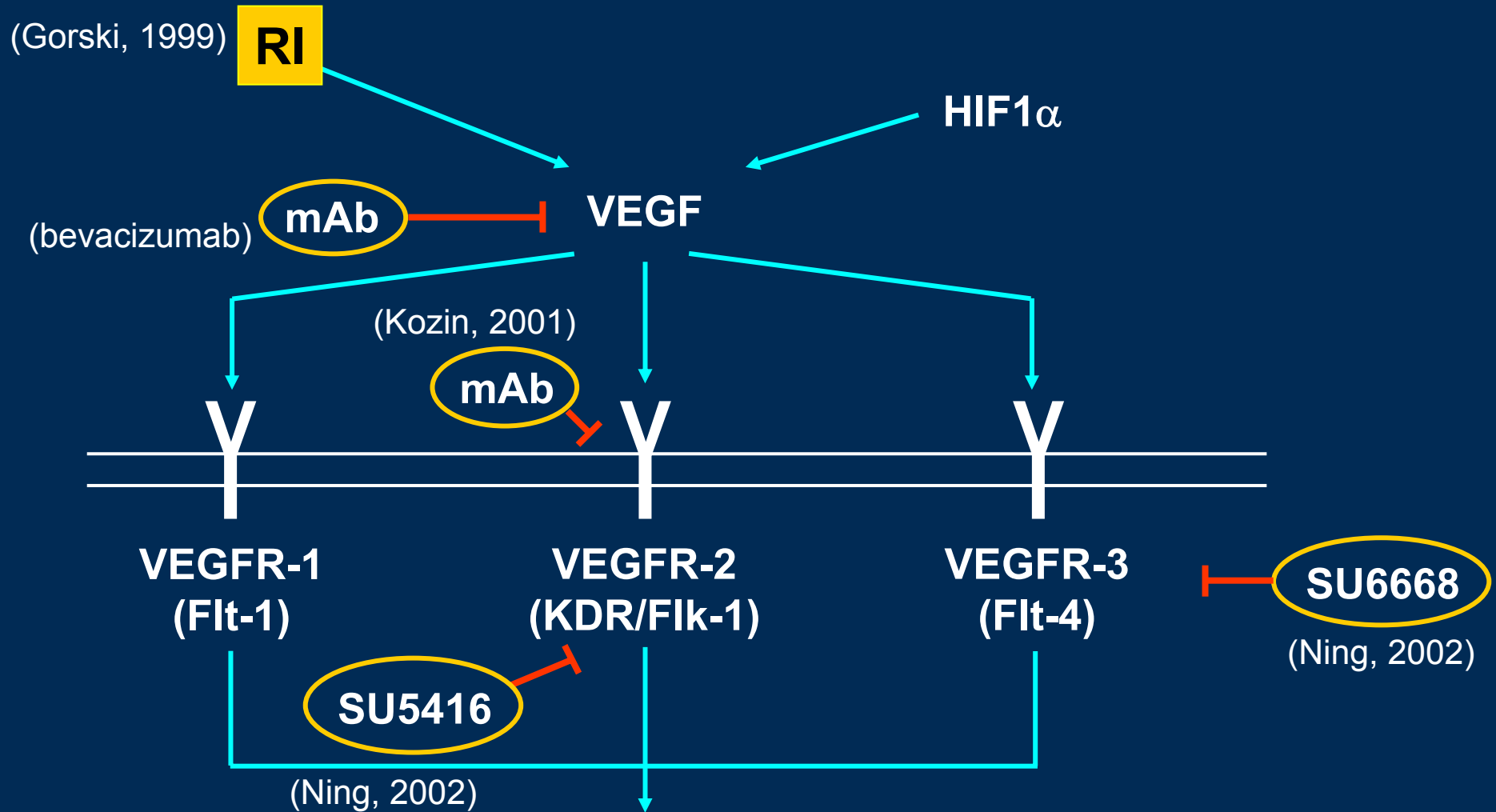
L'angiogenèse et la vascularisation



L'angiogenèse et la vascularisation



Inhibition des inducteurs moléculaires de l'angiogénèse



Néovascularisation
Activation collagénases
Dilatation et ↗ perméabilité vasculaire

Les cellules endothéliales

Inhibition fonctionnelle par des facteurs endogènes

Angiostatine
(fragment
du plasminogène)

Endostatine
(fragment
du collagène XVIII)



Prolifération

Migration

Cellule normale : pas de résistance acquise

Destruction par des drogues cytotoxiques

- Combretastatine A-4
- TNP – 470
- Isocoumadine NM - 3

Résultats expérimentaux

Table 6. Selected Antiangiogenic Agents and Radiosensitization

Type	Agent	Model	Effect Combining With Radiation
VEGF receptor inhibitor	mAb-VEGF	Lewis lung, Seg-1, SQ20B, U87 cells, and xenograft, single/Fract. RT ¹⁶⁹ Glioblastoma (U87) and colon (LS174T) xenografts, single RT ¹⁷⁰	Synergistic to RT in tumor growth delay Reduce tumor interstitial fluid pressure
	SU5416	Glioblastoma and melanoma xenografts, Fract. RT ¹⁷¹	Radiosensitize
	SU5416 and SU6668	C3H mice-bearing SCC VII squamous cell carcinoma, Fract. RT ¹⁷²	Enhance tumor growth inhibition
	mAb-VEGF-2 (DC101)	Small-cell lung cancer (54A, U87) xenograft in mice, Fract. RT ¹⁷³	Additive to RT; improve radiocurability at 6 months
Endogenous angiogenic inhibitor	Angiostatin	Lewis lung, glioma (D54), SCC VII squamous cell carcinoma (SQ-20B) and prostate (PC3) xenografts in nude mice; human endothelial cells ¹⁷⁴	Synergistic to RT in inducing tumor growth and endothelial cell death
	Endostatin	Lewis lung xenograft in mice, Fract. RT ¹⁷⁵ SQ-20B, Lewis lung xenograft in mice; human and murine endothelial cells; Fract. RT ¹⁷⁶	Enhance growth inhibition Additive to RT in tumor regression, growth inhibition, angiogenesis, and apoptosis
Other agent	TNP-470	Breast cancer xenograft in mice, Fract. RT ¹⁷⁷ Glioblastoma (U87) xenograft in nude mice ¹⁷⁸	Enhance growth delay radiocurability Radiosensitize
	Combretastatin	Rhabdomyosarcoma xenografts in rats, single RT ¹⁷⁹ Rodent KHT sarcoma xenografts, single RT ¹⁸⁰ Mouse breast (C3H) cancer and rodent KHT sarcoma ¹⁸¹	Additive to RT in tumor growth delay Radiosensitize Radiosensitize
	NM-3 isocoumadin	Lewis lung, Seg-1 esophageal cancer xenografts, Fract. RT ¹⁸²	Enhance tumor regression

Abbreviations: VEGF, vascular endothelial growth factor; mAb, monoclonal antibody; RT, radiotherapy; Fract., fractionated.

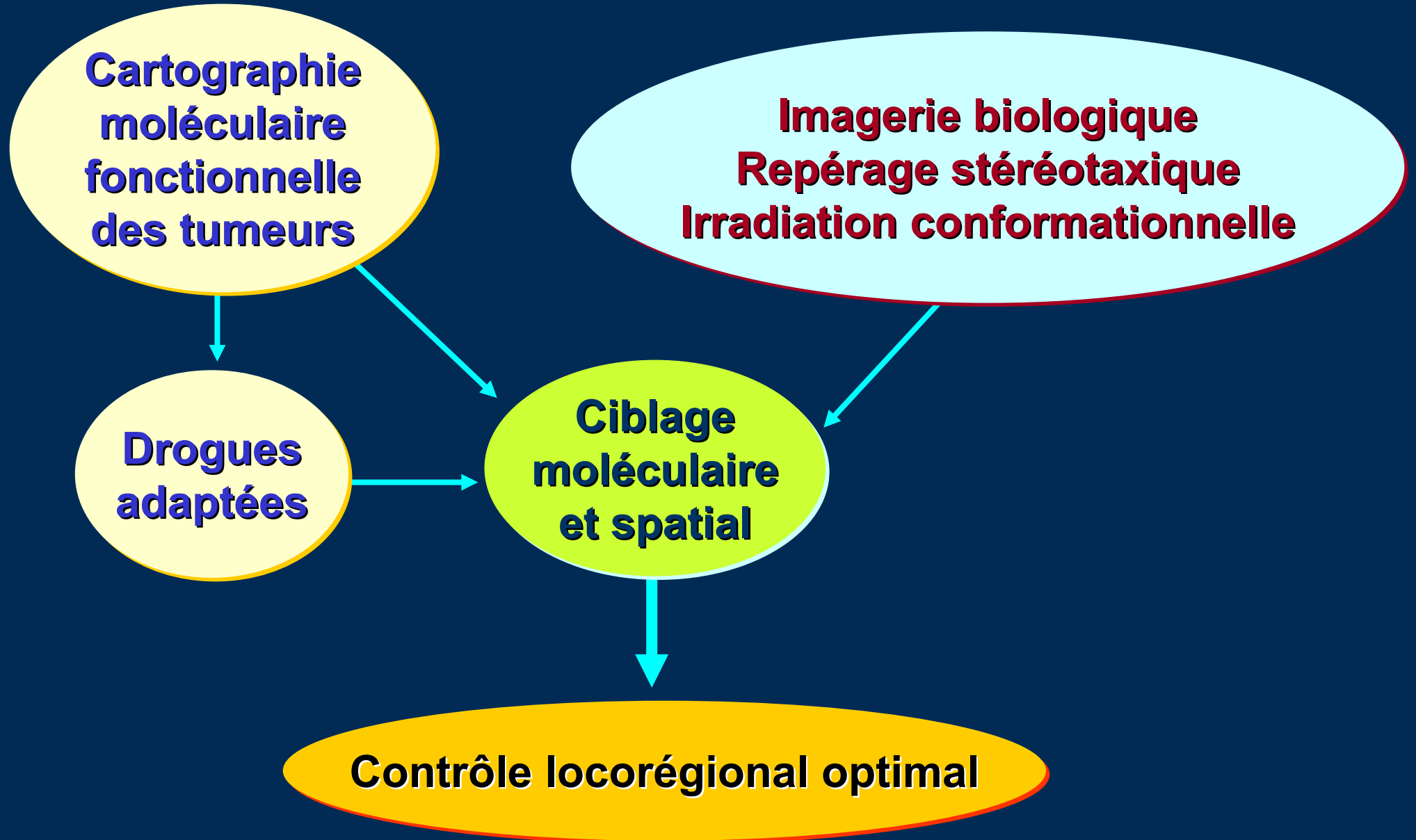
SU 5416 + RT

- **sarcome des parties molles**
- **néoadjuvant (RTOG)**

Angiostatine + RT

- **essai monocentrique**
- **23 patients,
localisations tumorales variées**
- **pas de toxicité ++**
- **réponses partielles**

CONCLUSION



Remerciements

- **Isabelle Ader** (ICR, Toulouse)
- **Eric Deutsch** (IGR, Villejuif)
- **Catherine Larregain** (CJP, Clermont-Ferrand)
- **Andréi Tchirkov** (CJP, Clermont-Ferrand)
- **Christine Toulas** (ICR, Toulouse)
- **Guillaume Varès** (CEA, Fontenay-Aux-Roses)

Combined-Modality Treatment of Solid Tumors Using Radiotherapy and Molecular Targeted Agents

By Brigette B.Y. Ma, Robert G. Bristow, John Kim, and Lillian L. Siu

Purpose: Molecular targeted agents have been combined with radiotherapy (RT) in recent clinical trials in an effort to optimize the therapeutic index of RT. The appeal of this strategy lies in their potential target specificity and clinically acceptable toxicity.

Design: This article integrates the salient, published research findings into the underlying molecular mechanisms, preclinical efficacy, and clinical applicability of combining RT with molecular targeted agents. These agents include inhibitors of intracellular signal transduction molecules, modulators of apoptosis, inhibitors of cell cycle checkpoints control, antiangiogenic agents, and cyclo-oxygenase-2 inhibitors.

Results: Molecular targeted agents can have direct effects on the cytoprotective and cytotoxic pathways implicated in the cellular response to ionizing radiation (IR).

These pathways involve cellular proliferation, DNA repair, cell cycle progression, nuclear transcription, tumor angiogenesis, and prostanoid-associated inflammation. These pathways can also converge to alter RT-induced apoptosis, terminal growth arrest, and reproductive cell death. Pharmacologic modulation of these pathways may potentially enhance tumor response to RT through inhibition of tumor repopulation, improvement of tumor oxygenation, redistribution during the cell cycle, and alteration of intrinsic tumor radiosensitivity.

Conclusion: Combining RT and molecular targeted agents is a rational approach in the treatment of solid tumors. Translation of this approach from promising pre-clinical data to clinical trials is actively underway.

J Clin Oncol 21:2760-2776. © 2003 by American Society of Clinical Oncology.

