

Thèse de Doctorat

Caroline BODET-MILIN

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université de Nantes
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : *BIOLOGIE-SANTE*

Discipline : *Biophysique-Médecine Nucléaire.*

Unité de recherche : *INSERM U892*

Thèse soutenue le *14 décembre 2015*

**Optimisation clinique du pré-ciblage utilisant l'anticorps anti-ACE
humanisé trivalent TF2 et le haptène bivalent IMP288 dans 2 modèles
de tumeurs exprimant l'ACE, pour une application thérapeutique en
radioimmunothérapie et pour une application en imagerie par
émission de positon appelée immuno-TEP.**

JURY

| | |
|----------------------|--|
| Rapporteurs : | Olivier MUNDLER, PU-PH, Université de Marseille-CHU de Marseille Pierre-Yves SALAUN, PU-PH, Université de Bretagne Occidentale-CHU de Brest |
| Examineurs : | Olivier Couturier, PU-PH, Université d'Angers-CHU d'Angers Alain Faivre-CHAUVET, PU-PH, Université de Nantes-CHU de Nantes |
| Invité(s) : | Jacques BARBET, DR, Cyclotron ARRONAX |
| Directeur de Thèse : | Françoise KRAEBER-BODERE, PU-PH, Université de Nantes-CHU de Nantes |

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Faivre-Chauvet,

Alain, tu me fais l'honneur de présider cette thèse.

Je te remercie pour ton aide, ta disponibilité, ton enthousiasme permanent, tes conseils scientifiques avisés... tout au long de la rédaction de cette thèse mais aussi dans la pratique quotidienne de la médecine nucléaire.

Reçois ici l'expression de ma reconnaissance, de mes sincères remerciements et de mon amitié.

A Monsieur le Professeur Mundler,

Vous me faites le grand honneur d'être rapporteur de ce travail et de vous déplacer pour la soutenance,

Veillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de mes remerciements.

A Monsieur le Professeur Salaün,

Merci Pierre-Yves d'avoir accepté d'être le rapporteur de ce travail.

Ce sujet de thèse est dans la continuité du travail que tu avais fait pour ta propre thèse en 2008. Ce travail et « ton séjour nantais » furent le point de départ de la collaboration et des liens forts qui unissent aujourd'hui les équipes de médecine nucléaire nantaises et brestoises.

Trouve ici l'expression de mes remerciements et de mon amitié.

A Monsieur le Professeur Couturier,

Merci Olivier d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

Tu m'as fait découvrir la médecine nucléaire sur les bancs de la fac puis dans le service de l'Hôtel Dieu,

Avec le recul, je te remercie profondément de m'avoir ouvert les yeux sur cette spécialité passionnante qui était encore (trop) méconnue il y a 15 ans (déjà...).

Reçois ici l'expression de toute mon amitié et mes sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Barbet,

Merci Jacques de m'avoir fait le grand honneur d'encadrer cette thèse. Ce travail de thèse m'a permis de prendre conscience de l'ampleur et de la constance du travail scientifique que vous avez mené durant toute votre carrière.

Votre patience, votre disponibilité, votre rigueur et vos conseils m'ont permis de mener à bien ce travail de thèse.

Veillez trouver ici le témoignage de mon profond respect, de ma reconnaissance et de mes remerciements.

A Madame le Professeur Kraeber-Bodéré,

Francoise,

Je te remercie, de m'avoir fait confiance au point de me confier cette thématique de recherche si chère à tes yeux, de m'avoir guidée dans cette activité passionnante qu'est la recherche clinique, de m'avoir lancé « ce défi » de thèse de science. J'ai appris beaucoup pendant cette période, tant sur le plan scientifique qu'humain.

Tu m'as fait confiance, tu m'as aidée, soutenue dans les moments de découragement. Tu as cette intelligence et cet esprit visionnaire que tous n'ont pas, je t'admire pour ça mais aussi pour ta disponibilité, ton écoute, pour ton engagement permanent à défendre tes convictions et les membres de ton équipe.

Merci pour ta si précieuse amitié,

Je te dois beaucoup...

A Ludovic Ferrer qui m'a largement guidée dans les méandres de la dosimétrie et qui a réalisé les calculs dosimétriques de cette thèse.

A Thomas Carlier qui a toujours pris sur son temps pour répondre aux questions plus ou moins pertinentes que je lui ai posées tout au long de ce travail...Merci Thomas pour ta patience, ta gentillesse et ta disponibilité.

A Catherine, Thomas et Clément, qui me suppléent tous les jours dans l'activité de routine pour que je mène à bien ce projet scientifique.

A Evelyne Cérato et Marine Biger pour leur implication permanente dans la mise en place des études cliniques et dans le recrutement et le suivi des patients.

A mes parents, merci pour votre soutien et vos encouragements (et pour la traque des fautes d'orthographe dans le manuscrit...).

A David et mes 3 petits cocos, votre présence et votre amour ont été ma plus grande motivation.

Table des matières

| | |
|--|----|
| CHAPITRE I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 1 |
| I. INTRODUCTION..... | 2 |
| II. LE PRECIBLAGE AES..... | 4 |
| 2.1 Généralités sur le préciblage..... | 4 |
| 2.2 Principe de l'approche AES..... | 7 |
| 2.3 Validation préclinique du préciblage AES..... | 8 |
| 2.4 Optimisation de l'approche AES..... | 9 |
| 2.4 Evolution du préciblage AES..... | 11 |
| 2.4.1 Ac bispécifique bivalent et haptène di-DTPA-indium..... | 11 |
| 2.4.2 La Technologie "Dock and Lock"..... | 13 |
| III. LA RADIOIMMUNOTHERAPIE PRECIBLEE (PRIT) ANTI-ACE..... | 16 |
| 3.1 Quelques données sur la radioimmunothérapie..... | 16 |
| 3.1.1 Principe de l'approche..... | 16 |
| 3.1.2 Principaux résultats cliniques..... | 18 |
| 3.2 Choix de l'ACE pour la RIT..... | 21 |
| 3.2.1 L'ACE..... | 21 |
| 3.2.2 RIT anti-ACE avec des immunoconjugués directement marqués..... | 22 |
| 3.3 PRIT anti-ACE avec les AcBs bivalents de 1 ^{ère} et 2 ^{ème} génération..... | 23 |
| 3.4 PRIT anti-ACE avec l'AcBs trivalent TF2..... | 27 |
| IV. LA TECHNIQUE DU PRECIBLAGE POUR L'IMAGERIE..... | 29 |
| 4.1 L'imagerie des Ac..... | 29 |
| 4.2 L'immuno-TEP..... | 31 |
| 4.3 Préciblage AES et immunoscintigraphie (IS)..... | 32 |
| 4.4 Préciblage AES et immuno-TEP..... | 35 |
| CHAPITRE II. OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE..... | 37 |
| CHAPITRE III. OPTIMISATION DE LA PRIT ANTI-ACE CHEZ DES PATIENTS PORTEURS DE TUMEURS PULMONAIRES EN RECHUTE ET EXPRIMANT L'ACE..... | 41 |
| I.INTRODUCTION..... | 42 |
| 1.1.Choix du modèle tumoral..... | 43 |
| 1.2 Choix du radionucléide..... | 44 |

| | |
|---|----|
| 1.3. Choix des paramètres de préciblage | 45 |
| II. MATERIELS ET METHODES | 46 |
| 2.1 Eligibilité des patients..... | 46 |
| 2.2 Produits de l'étude et marquage..... | 48 |
| 2.3 Design de l'étude et description des cohortes | 49 |
| 2.4 Immunoscintigraphie (IS) | 50 |
| 2.5 Dosimétrie | 51 |
| 2.6 Surveillance post-PRIT | 51 |
| 2.7 Pharmacocinétique | 52 |
| III. PRINCIPAUX RESULTATS | 55 |
| 3.1 Caractéristiques des patients | 55 |
| 3.2 Toxicité et immunisation | 57 |
| 3.3 Réponse thérapeutique..... | 57 |
| 3.4 Pharmacocinétique | 58 |
| 3.4.1 Cinétique du TF2 | 58 |
| 3.4.2 Cinétique de l'IMP288..... | 61 |
| 3.5 Imagerie..... | 64 |
| 3.5.1 Ciblage tumoral..... | 64 |
| 3.5.2 Dosimétrie..... | 66 |
| 3.5.2.1 Doses absorbées par organe..... | 66 |
| 3.5.2.2 Dose absorbée par la tumeur | 69 |
| 3.5.3 Analyse pharmacocinétique de la distribution tissulaire à partir de la quantification des images..... | 71 |
| IV. DISCUSSION | 72 |
| CHAPITRE IV. OPTIMISATION DE L'IMMUNO-TEP ANTI-ACE CHEZ DES PATIENTS PORTEURS DE CANCERS MEDULLAIRES DE LA THYROIDE EN RECHUTE..... | 81 |
| I.INTRODUCTION..... | 82 |
| 1.1 Choix du modèle tumoral | 83 |
| 1.2 Choix du radionucléide | 83 |
| 1.3 Choix des paramètres de préciblage..... | 85 |
| II. MATERIELS ET METHODES..... | 87 |
| 2-1 Eligibilité des patients | 87 |
| 2.2 Bilan d'inclusion | 88 |
| 2.3 Produits de l'étude, marquage et administration | 88 |

| | |
|---|-----|
| 2.4 Design de l'étude et description des cohortes | 89 |
| 2.5 Gold standard | 90 |
| 2.6 Acquisition et interprétation des TEP/TDM | 91 |
| 2.7 Pharmacocinétique | 92 |
| III. RESULTATS | 93 |
| 3.1 Caractéristiques des patients | 93 |
| 3.2 Résultats de l'immuno-TEP..... | 94 |
| 3.2.2 Résultats par lésions | 94 |
| 3.2.3 Comparaison des cohortes et analyse semi-quantitative | 97 |
| 3.3 Toxicité | 100 |
| 3.4 Pharmacocinétique | 101 |
| IV. DISCUSSION | 107 |
| CHAPITRE V CONCLUSIONS/PERSPECTIVES | 115 |
| 5.1 CONCLUSIONS..... | 116 |
| 5.2 PERSPECTIVES : | 118 |
| BIBLIOGRAPHIE | 122 |

Abréviations

Ac : Anticorps

AcM : Anticorps monoclonaux

Ag : Antigène

PM : Poids moléculaire

IS : Immunoscintigraphie

Ig : Immunoglobuline

AES : Affinity enhancement system

AcBs : Anticorps bispécifique

ACE : Antigène carcino-embryonnaire

TEP : Tomographie par émission de positons

RIT : Radioimmunothérapie

CCR : Cancer colo-rectal

CBP : Cancer broncho-pulmonaire

CBPPC : Cancer broncho-pulmonaire à petites cellules

CBPNPC : Cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules

CMT : Cancer médullaire de la thyroïde

PRIT : Radioimmunothérapie pré-ciblée

MBq : Méga Becquerels

HSG : Histamine-succinyl-glycine

DTPA : Acide diéthylène triamine penta acétique

DOTA : Acide tetraazacyclododecanetetraacétique

AMM : Autorisation de mise sur le marché

PSMA: Prostate-specific membran antigen

PSA: Prostate specific antigen

TD: Temps de doublement

Ct: Calcitonine

HAHA : Ac humain anti-murins

HAHA : Ac humain anti-humain

GTE : Groupe français des tumeurs endocrines

TEMP : Tomographie par émission mono-photonique

TDM : Tomodensitométrie

CE : Corps entier

FDG : Fluorodesoxyglucose

Gy: Gray

EGFR: Epithelial growth factor

AMT: Activité maximale théorique

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

VHB : Virus de l'hépatite B humaine

VHC : Virus de l'hépatite C humaine

ASAT : Aspartate Amino Transférase

ALAT : Alanine Amino Transférase

IRM : imagerie par résonance magnétique

IV : Intra-veineuse

GP: Pharmaceutical grade

MBP: Mediastinal Blood Pool

SUV: Standardized Uptake Value

DS: Déviation Standard

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 1: Différentes techniques de ciblage en RIT. _____ | 5 |
| Figure 2: Préciblage utilisant un AcBs et un haptène radio-marqué. _____ | 7 |
| Figure 3: Principe du préciblage AES. _____ | 8 |
| Figure 4: Les paramètres essentiels interférant dans l'optimisation du préciblage. _____ | 10 |
| Figure 5: Structure chimique du haptène IMP288 d'après Janevik-Ivanoska (21). _____ | 13 |
| Figure 6: Principes de la technologie DOCK and LOCK d'après Rossi (30). _____ | 14 |
| Figure 7: Analyse compartimentale de la cinétique du TF2 et de l'IMP288 _____ | 53 |
| Figure 8 : Courbes pharmacocinétiques du TF2 représentées pour chaque patient. _____ | 59 |
| Figure 9 : Courbes pharmacocinétiques de l'IMP288 représentées pour chaque patient. _____ | 62 |
| Figure 10 : Exemple d'un patient inclus dans la première cohorte. _____ | 64 |
| Figure 11 : Exemple d'un patient inclus dans la seconde cohorte. _____ | 65 |
| Figure 12 : Exemple d'un patient inclus dans la 3 ^{ème} cohorte. _____ | 65 |
| Figure 13 : Doses absorbées normalisées estimées par organe en fonction des sessions S1 et S2 __ | 67 |
| Figure 14 : Doses absorbées normalisées estimées aux tumeurs par cohortes en S1 et en S2 ____ | 70 |
| Figure 15 : Cinétiques de de l'IMP288 marqué à l' ¹¹¹ In et au ¹⁷⁷ Lu obtenues à partir des données de quantifications. _____ | 71 |
| Figure 16 : Images illustrant l'exemple d'un patient inclus dans la cohorte 1. _____ | 96 |
| Figure 16 : Exemples d'immuno-TEP (images MIP) obtenues dans chacune des cohortes. _____ | 97 |
| Figure 17 : Représentation de l'évolution de la concentration circulante de TF2 pour chaque patient en fonction du temps. _____ | 103 |
| Figure 18 : Courbes pharmacocinétiques de l'IMP288 représentées pour chaque patient dans chaque cohorte. _____ | 106 |
| Figure 19 : Corrélations entre les valeurs de clairance de l'IMP288 et les valeurs de SUV max mesurées à 60 et 120 min et le ratio entre la quantité molaire d'IMP288 injectée et la quantité molaire de TF2 circulant au moment de l'injection de l'IMP288. _____ | 106 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 1: Principaux radionucléides utilisés pour l'imagerie et la thérapie _____ | 17 |
| Tableau 2: Schémas thérapeutiques des différentes cohortes. _____ | 50 |
| Tableau 3: Données cliniques de l'ensemble de la population _____ | 56 |
| Tableau 4 : Analyse de la pharmacocinétique du TF2 selon un modèle bi-compartmental. _____ | 60 |
| Tableau 5 : Analyse de la pharmacocinétique de l'IMP288 selon un modèle bi-compartmental ____ | 63 |
| Tableau 6 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées (en mGy/MBq) par organe normalisées par l'activité injectée mesurée à la phase S1. _____ | 66 |
| Tableau 7 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées (en mGy/MBq) par organe normalisées par l'activité injectée mesurées à la phase S2. _____ | 66 |
| Tableau 8 : Valeurs de p obtenues selon un test de Wilcoxon pour tester les différences de doses absorbées par organes obtenues entre S1 et S2. _____ | 68 |
| Tableau 9 : Résultats du test de Spearman effectué pour rechercher une corrélation entre les doses absorbées par organe entre S1 et S2 pour les 8 patients étudiés. _____ | 68 |
| Tableau 10 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées estimées en mGy/MBq aux tumeurs en S1 et S2 _____ | 69 |
| Tableau 11 : Schémas d'administration des 5 cohortes étudiées _____ | 90 |
| Tableau 12 : Caractéristiques cliniques et biologiques des 16 patients inclus _____ | 93 |
| Tableau 13 : Répartition par organe et par modalité d'imagerie des lésions validées par le Gold Standard _____ | 95 |
| Tableau 14 : Valeurs de sensibilité par organe de chacune des modalités d'imagerie. _____ | 95 |
| Tableau 15 : Résultats des analyses semi-quantitatives obtenues pour chaque patient _____ | 98 |
| Tableau 16 : Pharmacocinétique du TF2 selon les données de l'analyse bi-compartmentale. ____ | 102 |
| Tableau 17 : Pharmacocinétique de l'IMP288 selon les données de l'analyse bi-compartmentale. | 105 |

CHAPITRE I. DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

I. Introduction

Les Ac monoclonaux (AcM), ainsi que leurs fragments et les Ac recombinants qui en sont dérivés sont développés depuis de nombreuses années pour vectoriser des radionucléides sur les lésions tumorales. Si des résultats prometteurs ont été obtenus, le contraste des images reste souvent insuffisant pour la détection de tumeurs ou les doses efficaces délivrées aux tumeurs restent trop faibles dans le cadre de la thérapie, notamment pour les tumeurs solides. De nombreuses voies d'optimisation ont été explorées afin d'améliorer les rapports de fixation tumeur/tissus sain pour des applications en imagerie comme en thérapie.

Les systèmes de préciblage ou de ciblage en plusieurs étapes ont été développés dans le but d'obtenir une meilleure sélectivité et de limiter le temps de circulation de l'agent radio-marqué. Ils reposent sur la séparation entre l'administration, dans un premier temps, d'un agent ciblant les cellules tumorales, un dérivé d'AcM non radioactif possédant une double spécificité, l'une envers un antigène (Ag) tumoral, l'autre envers une molécule de bas poids moléculaire (PM) puis, dans un second temps, de cette molécule de bas PM radio-marquée.

Cette approche en plusieurs étapes, initialement développée pour améliorer la qualité des images obtenues en immunoscintigraphie (IS), permet une reconnaissance spécifique de l'Ag tumoral et une élimination rapide de l'agent radio-marqué conduisant ainsi à une amélioration de la détection tumorale liée à un meilleur contraste des images (meilleur rapport tumeur/tissus sains). Cette technique de préciblage apparaît également intéressante pour des applications thérapeutiques, permettant une amélioration de la fixation tumorale spécifique et ainsi une augmentation de la dose absorbée par la tumeur, sans altération de la tolérance.

Si plusieurs techniques de préciblage ont été proposées, la technique la plus avancée dans son développement clinique est la technique appelée « affinity enhancement system » (AES), qui repose sur l'utilisation d'un Anticorps bispécifique (AcBs) et d'un haptène¹ bivalent. L'AcBs reconnaît un Ag tumoral et le haptène. La bivalence du haptène permet la formation d'un pont entre deux

¹ Un haptène est une molécule de faible PM pour laquelle des Ac ont pu être produits, par exemple par couplage de ce haptène avec une protéine immunogène issue de l'immunisation d'animaux. Dans cette thèse, deux haptènes seront considérés : le complexe entre le DTPA et l'indium (DTPA-Indium) et le pseudo-peptide histamine-succinyl-glycine (HSG) contre lesquels la société Immunotech a produit des AcM.

AcBs à la surface des cellules tumorales stabilisant la liaison Ag-AcBs. Cette technique a été particulièrement étudiée sur des modèles précliniques et cliniques de différents types histologiques de tumeurs exprimant l'Ag carcino-embryonnaire (ACE).

Notre travail de thèse a porté sur l'optimisation clinique de cette approche de préciblage AES avec des réactifs de nouvelle génération dans deux modèles de tumeurs exprimant l'ACE pour une application en radioimmunothérapie (RIT) et en imagerie par tomographie par émission de positon (TEP), appelée immuno-Tep. Cette revue bibliographique a pour objectif de présenter la technique de préciblage AES ainsi que son évolution ces dernières années avec les principaux résultats cliniques.

II. LE PRECIBLAGE AES

2.1 Généralités sur le préciblage

La pharmacocinétique des AcM radio-marqués administrés sous la forme d'immunoglobuline entière est lente. Aussi, si l'accumulation tumorale des IgG peut être importante (plus de 10% de l'activité injectée par gramme de tumeur chez la souris, et de l'ordre 0,1% par gramme de tumeur chez l'homme) quelques heures ou jours après l'injection, l'activité circulante reste élevée pendant plusieurs jours (1). Ainsi, si la captation tumorale importante est favorable, une activité circulante prolongée est défavorable, générant, un mauvais contraste en imagerie et une irradiation importante des tissus sains en thérapie.

L'utilisation de fragments d'Ac ou de molécules de bas poids moléculaire augmente la clairance sanguine de l'immunoconjugué au prix d'une captation tumorale plus faible (2). Ainsi, de nombreux travaux de recherche ont eu pour objectif de trouver un compromis entre ciblage et rétention tumorale et élimination rapide de la radioactivité du sang et des tissus sains, dans le but d'améliorer le rapport tumeur/tissus sains par rapport au ciblage direct avec un AcM radio-marqué.

La technique du préciblage a ainsi été développée afin d'obtenir une sélectivité optimale et de limiter la circulation de l'agent radio-marqué. Elle repose sur la séparation entre l'administration de l'agent ciblant et de l'agent radio-marqué de faible PM. Après fixation tumorale de l'agent ciblant et élimination de sa forme circulante, l'agent radio-marqué de faible PM, à élimination rapide, est injecté. Dès les premières tentatives de préciblage, il est apparu qu'il n'était pas possible d'attendre que l'agent ciblant soit totalement éliminé avant d'injecter l'agent radio-marqué. En effet, dans ce cas, la fixation tumorale est trop faible. Il a donc fallu ajouter au concept de base du préciblage des améliorations telles que la chasse de l'excès d'agent ciblant ou d'utiliser des agents radio-marqués dotés d'une coopérativité de liaison pour l'agent ciblant déjà fixé aux cellules cibles (3).

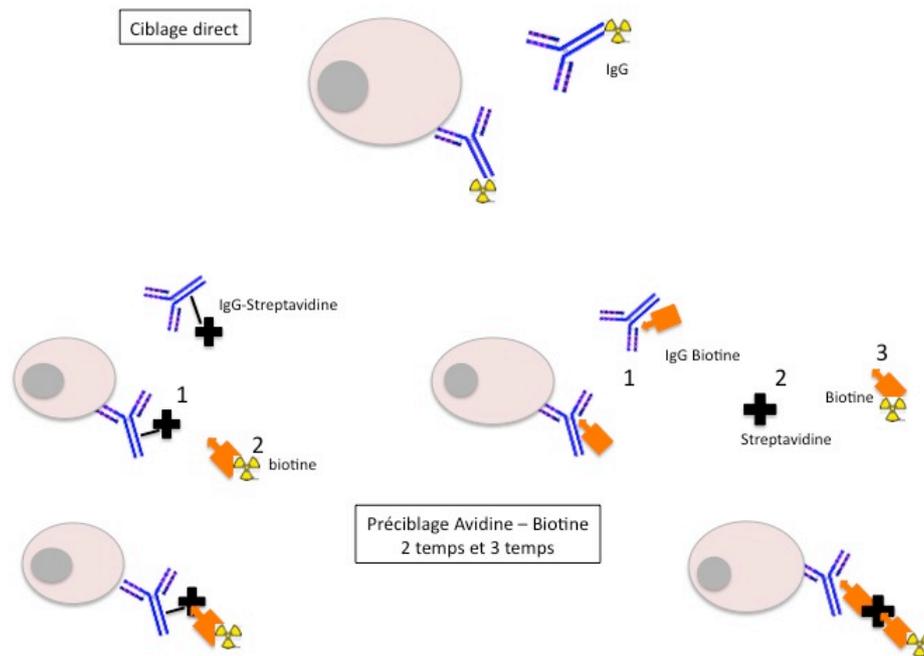


Figure 1: Différentes techniques de ciblage en RIT.

Plusieurs des approches de préciblage sont basées sur la liaison entre l'Ac et l'effecteur radio-marqué par le biais du couple avidine ou streptavidine/biotine (3). L'avidine est capable de lier de façon non covalente 4 molécules de biotine avec une constante de liaison très élevée (10^{-15} M). Le préciblage consiste alors en l'injection première d'un Ac anti-tumoral couplé à de l'avidine (ou de la biotine) (Figure 1). Du fait d'une élimination lente de l'agent ciblant (PM élevé de 175-210 kDa), un intervalle est respecté (1-2 jours) et une accélération de cette élimination est effectuée par une technique de chasse ou d'adsorption extracorporelle (4).

La biotine radio-marquée est injectée après réduction de la quantité d'agent ciblant circulante. De nombreuses variations autour de l'utilisation des complexes avidine-biotine ont été proposées et certaines ont été testées en clinique. Dans une approche en trois étapes, une liaison biotin/avidin/biotine est créée pour optimiser le ciblage et laver les molécules circulantes. Des fixations tumorales de 7 à 12% DI/g à 24 heures ont été obtenues chez la souris (5,6).

Cette technique est limitée par le caractère immunisant élevé de l'avidine et surtout de la streptavidine (100% des cas dans un essai de phase II sur métastases coliques) qui interdit la

répétition des injections chez l'homme mais également par la présence de biotine endogène pouvant interférer dans la préciblage (7).

Lors d'un essai de phase I/ II sur 25 patients porteurs de cancer colorectal (CCR) métastatique une réponse partielle sur 16 semaines ou une stabilité sur 10 à 20 semaines était obtenue chez respectivement 2 et 4 patients, après une injection unique de 4,07 GBq/m² de biotine marquée à l'yttrium ⁹⁰ (⁹⁰Y) (8). Dans ces études, la toxicité observée était essentiellement d'origine digestive, mais plus probablement attribuée à une mauvaise sélectivité de l'Ac dont l'expression était trop élevée sur les cellules digestives saines qu'au système de préciblage.

Une autre approche de préciblage consiste en l'utilisation d'un AcBs comprenant un ou deux bras dirigés contre l'Ag tumoral et un bras pour la liaison avec un haptène radio-marqué (**Figure 2**). L'élimination du haptène radio-marqué, de bas PM, tout comme celle de la biotine marquée, est rapide. Trois points critiques sont déterminants dans les performances de ce système : l'affinité de l'AcBs pour la cible antigénique tumorale, l'affinité du haptène pour l'Ac fixé sur la cible et les quantités molaires respectives d'AcBs et de haptène administrés. L'affinité de l'AcBs pour l'Ag cible tumorale doit assurer à la fois la spécificité du ciblage et une captation suffisante. Une affinité trop faible du haptène pour l'Ac expose au risque d'une fixation tumorale faible et rapidement réversible. Enfin, la fraction d'AcBs qui se lie effectivement aux cellules cibles étant limitée, l'activité spécifique du haptène radio-marqué doit être élevée pour éviter la saturation des sites de liaison (1).

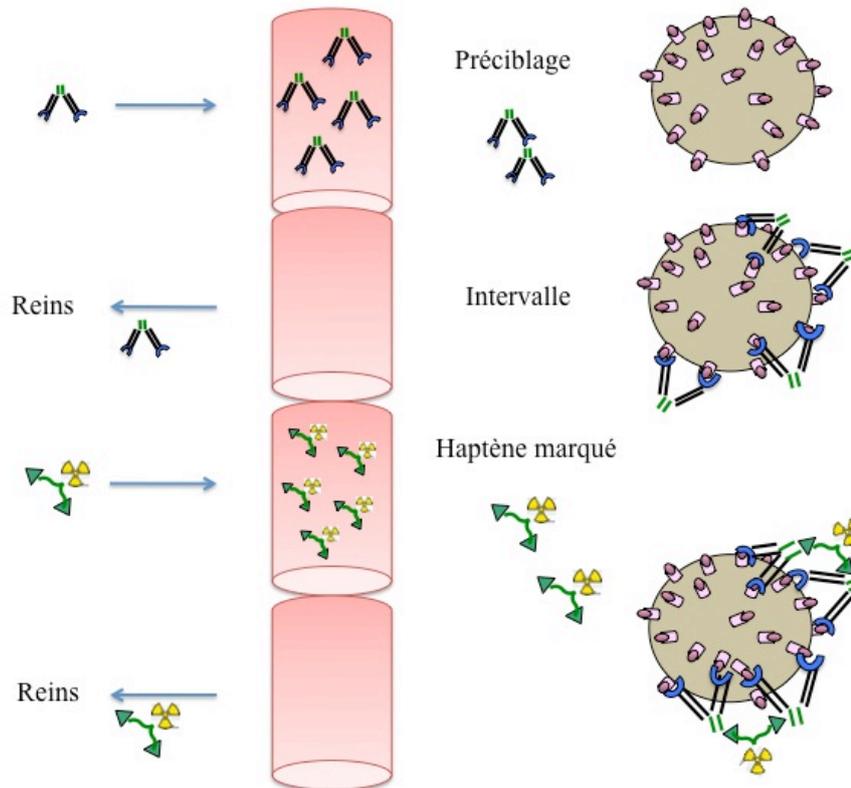


Figure 2: Préciblage utilisant un AcBs et un haptène radio-marqué.

2.2 Principe de l'approche AES

La technique AES a été mise au point par la société Immunotech (Marseille) et est actuellement développée par la société Immunomedics (Morris Plain, New Jersey). Elle associe un AcBs, anti-Ag tumoral/anti-haptène, et un haptène bivalent radio-marqué de PM inférieur à 1000-1500.

Ce système a été appelé AES pour "affinity enhancement system" car l'affinité du haptène pour la forme fixée de l'Ac en comparaison à sa forme circulante est augmentée par un effet de coopérativité créé par la bivalence du haptène. Cette bivalence est déterminante, permettant une liaison entre deux AcBs pré-localisés à la surface des cellules tumorales (Figure 3). Cette coopérativité rend les complexes radioactifs formés à la surface des cellules plus stables que dans le plasma et les liquides interstitiels (9). De plus, la bivalence améliore la fixation tumorale, l'AcBs circulant jouant le rôle d'un transporteur réversible et prolongeant la demi-vie sérique du haptène. La fraction de haptène complexée à un seul AcBs peut ainsi se lier aux sites tumoraux libres, ce qui

n'est pas possible avec un haptène monovalent. Sans AES, avec le préciblage AcBs-haptène, il est impossible de trouver un compromis satisfaisant entre activité circulante, augmentée par une forte dose d'AcBs et/ou un faible délai avant injection du haptène radio-marqué (délai de préciblage), et fixation tumorale, diminuée par une réduction de la dose d'AcBs et/ou un allongement du délai de préciblage. Ceci a été clairement montré dans les publications originales et confirmé de façon indépendante par les travaux du groupe de Nimègue (10,11).

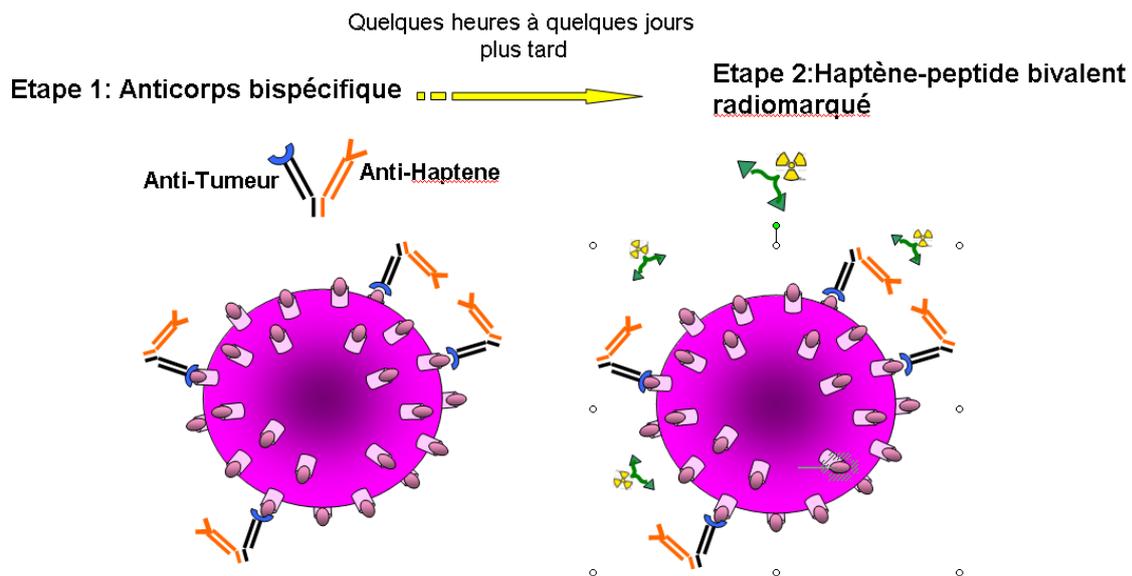


Figure 3: Principe du préciblage AES.

2.3 Validation préclinique du préciblage AES

Plusieurs travaux expérimentaux ont démontré la supériorité du ciblage tumoral utilisant un haptène bivalent (AES) par rapport au ciblage avec un haptène monovalent ou au ciblage direct (10,12,13). Ces résultats ont été confirmés à de nombreuses reprises dans plusieurs modèles cellulaires et animaux. Dans un modèle de souris greffées par une lignée humaine de cancer broncho-pulmonaire à petites cellules (CBPPC) par exemple, Hosono et al. obtenaient, 5 heures après l'injection de la radioactivité, des rapports moyens tumeur/sang, tumeur/foie et tumeur/rein respectivement de 0,3, 1,1 et 0,9 avec un AcM directement marqué à l'iode 125 et de 1,4, 10,8 et 4,6 avec un haptène bivalent histamine marqué à l'iode 125 préciblé (14). La supériorité du préciblage pour la RIT par rapport au ciblage direct a également été démontrée dans un modèle de souris nues greffées en sous-cutané par une lignée humaine de cancer médullaire de la thyroïde (CMT).

Cette étude comparait la toxicité et l'efficacité thérapeutique de la RIT préciblée (PRIT) utilisant l'AcBs murin anti-ACE x anti-DTPA F6 et le haptène bivalent ^{131}I -di-DTPA et celles des AcM directement radio-marqués ^{131}I -F(ab')₂. Cette étude montrait la moindre toxicité de la PRIT par rapport aux Ac AcM directement radio-marqués. De plus, une augmentation de l'efficacité thérapeutique était obtenue en répétant les injections de PRIT, sans majoration de la toxicité (15)

Dans un modèle murin de carcinome rénal, Boerman et al. ont également établi la supériorité d'un haptène bivalent par rapport à un haptène monovalent (11). Enfin, une étude comparant le système AES et le ciblage direct, dans un modèle de sphéroïdes multicellulaires d'adénocarcinome colique, a également établi que la rétention de la radioactivité était supérieure avec le système AES (16).

2.4 Optimisation de l'approche AES

En revanche, et en comparaison à l'utilisation d'un système de ciblage direct, le système de préciblage basé sur l'utilisation d'un couple Ac-haptène nécessite des études fines afin d'optimiser la fixation tumorale et les doses délivrées. Différents paramètres sont à prendre en compte, intéressant aussi bien les caractéristiques propres du système de préciblage (cinétique de fixation sur la cible, rapports tumeur sur organes sains), les radionucléides utilisés (nature et énergie des particules émises, temps de demi-vie) et la cible tumorale (niveau d'expression et homogénéité de distribution de l'Ag).

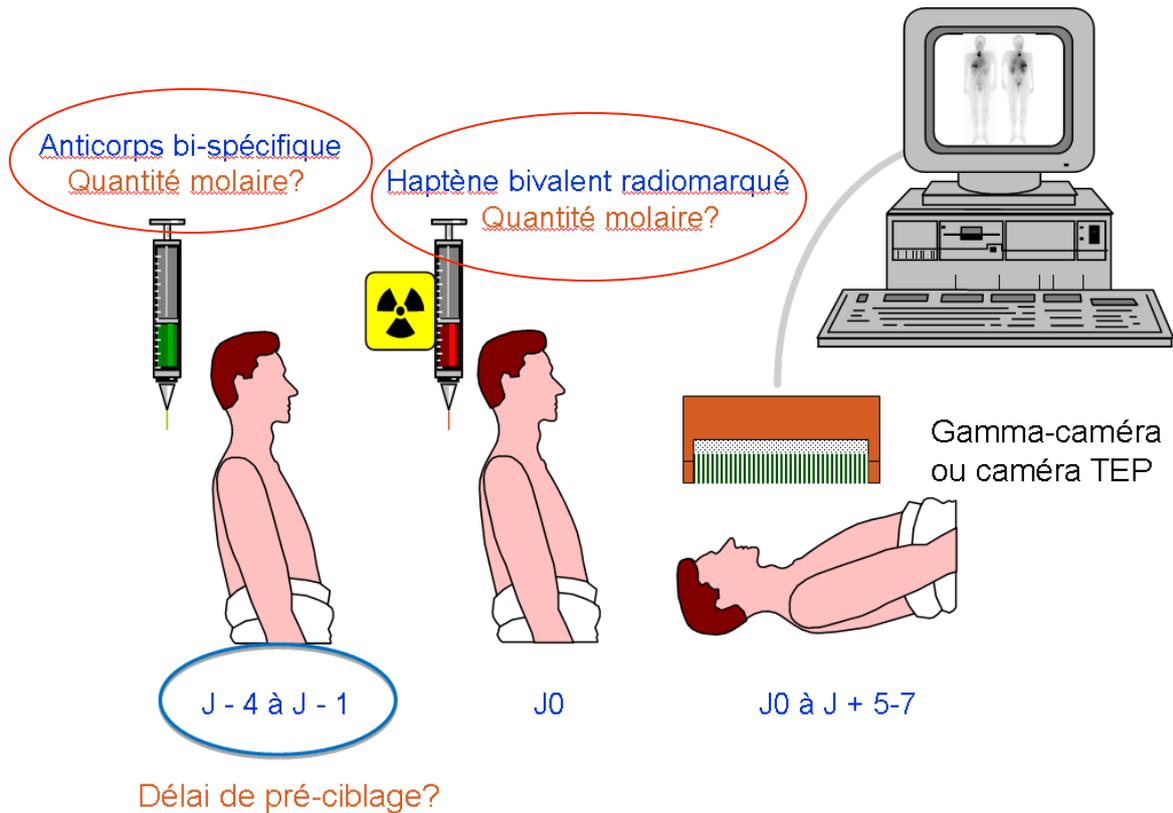


Figure 4: Les paramètres essentiels interférant dans l'optimisation du préciblage.

Trois paramètres essentiels vont plus particulièrement interférer dans ce système de préciblage : les doses molaires injectées, AcBs et haptène, et l'intervalle d'injection entre l'Ac et le haptène (figure 4). Il faut également prendre en compte l'objectif : imagerie ou thérapeutique. Pour l'imagerie, on recherche une fixation tumorale suffisante avec un excellent contraste tumeur/tissus sains à un instant donné, de préférence peu de temps après injection de la radioactivité pour pouvoir utiliser des radionucléides à durée de vie courte. Pour la thérapie, on recherche une fixation tumorale élevée, rapide mais surtout prolongée dans le temps car les radionucléides thérapeutiques ont en général des demi-vies assez longues, avec une faible exposition de tous les tissus sains pour limiter la toxicité.

Enfin, si les haptènes utilisés ont tous des cinétiques de distribution et d'élimination rapides et assez semblables, les AcBs peuvent montrer des différences bien plus grandes. C'est le cas pour les AcBs, obtenus par couplage chimique de deux fragments Fab' d'Ac (un Ac anti-ACE, un Ac anti-haptène) et utilisés dans nos études précliniques et cliniques plus anciennes, et les AcBs recombinants produits par la société Immunomedics, que nous utilisons maintenant et qui font

l'objet de cette thèse. Les premiers ont une grande stabilité dans l'organisme et sont éliminés lentement. Les seconds ont une cinétique d'élimination beaucoup plus rapide. Ainsi, Frampas et al. démontraient, dans un modèle animal de xénogreffes sous-cutanées d'adénocarcinome colique, en utilisant un de ces AcBs recombinants anti-ACE, l'importance d'une détermination optimale de ces paramètres pour optimiser la fixation tumorale et le ratio tumeur/tissus sains. Ils testaient, dans cette étude préclinique, plusieurs doses d'Ac et de haptène et plusieurs intervalles de préciblage (17). Si dans cette étude une réduction de l'intervalle de préciblage à 5 h augmentait la fixation tumorale du peptide, cela s'accompagnait d'une augmentation de la fixation hépatique et donc d'une toxicité potentielle. A l'inverse, un intervalle trop long entraînait une diminution de la fixation tumorale à cause de la dégradation de l'AcBs. Un rapport AcBs/haptène à 10/1 permettait une fixation tumorale élevée. Si augmenter la quantité de haptène pour un rapport 2/1, comme dans les études réalisées avec les AcBs obtenus par couplage chimique, permettait une augmentation de la dose absorbée tumorale, cette élévation n'était pas proportionnelle à l'augmentation de la dose et, surtout, exposait à une toxicité rénale en rapport avec l'élimination du peptide.

Au terme de ces différentes études de biodistribution, les conditions optimales retenues étaient un intervalle de préciblage compris entre 15 h et 24 h et des ratios Ac/peptide entre 10/1 et 20/1, ce qui est en accord avec les conclusions obtenues par les chercheurs de la société Immunomedics (18)

2.4 Evolution du préciblage AES

2.4.1 Ac bispécifique bivalent et haptène di-DTPA-indium

L'intérêt de la technique AES a très vite été démontré dans plusieurs études cliniques d'imagerie menées dans différents types de tumeurs exprimant l'ACE et en particulier dans le CMT, avec l'AcBs murin F6x734 reconnaissant l'ACE et le haptène di-DTPA radio-marqué (19–22). Cet AcBs était obtenu par la conjugaison chimique de 2 fragments Fab' : le fragment de l'Ac anti-ACE (clone F6, CIS Bio international) et le fragment de l'Ac anti-DTPA-indium (clone 734, Immunotech S.A.). Le haptène bivalent était préparé en associant la tyrosyl-lysine avec le DTPA di-anhydride. Cet haptène bivalent était marqué avec de l'¹¹¹In, mais pouvait l'être également avec de l'iode ¹³¹ (¹³¹I).

Cette technique innovante avait néanmoins un défaut : la spécificité de l'Ac pour le complexe DTPA-indium rendait impossible le radio-marquage par d'autres radionucléides métalliques.

Du fait de la dépendance de cette reconnaissance au radionucléide utilisé, d'autres AcBs ne reconnaissant plus le complexe DTPA-indium mais reconnaissant une séquence pseudo-peptidique ont été développés. L'application de ce nouveau système a été présentée par l'équipe de Gruaz-Guyon (figure 5) (23). L'AcBs reconnaît alors la séquence histamine-succinyl-glycine (HSG) et l'ACE.

Plusieurs structures mono et bivalentes de haptènes ont alors été étudiées, l'objectif étant de les rendre accessibles au radio-marquage par différents radionucléides, tout en maintenant une bonne affinité pour l'Ac et une élimination rapide (24). Initialement marquée à l'iode, le couplage ultérieur à un DOTA (acide tetraazacyclododecanetetraacétique) a permis l'utilisation de radionucléides variés à visée thérapeutique ou diagnostique (25), en particulier celle de ^{90}Y dont la liaison avec le DTPA (acide diéthylènetriamine pentaacétique) n'est pas suffisamment stable ainsi qu'avec certains émetteurs de positons pour des applications en imagerie.

La rétention tissulaire du haptène pouvait également être modifiée en faisant varier la portion peptidique de celui-ci. Une réduction d'un tiers de fixation rénale a ainsi pu être obtenue lors de la modification d'un peptide initial DOTA-anti-HSG IMP241 en IMP288 (26). Cette molécule, l'IMP288 est aujourd'hui utilisée dans de nombreuses études précliniques et cliniques. En effet, son radiomarquage aisé avec l'iode 124 et le ^{68}Ga (gallium ^{68}Ga) a permis des études d'immuno-TEP et une méthode pour marquer ce peptide avec du fluor 18 a également été décrite (27). Pour la thérapie, l'IMP288 a été marqué à ^{90}Y et au lutetium 177 (^{177}Lu) (28–30).

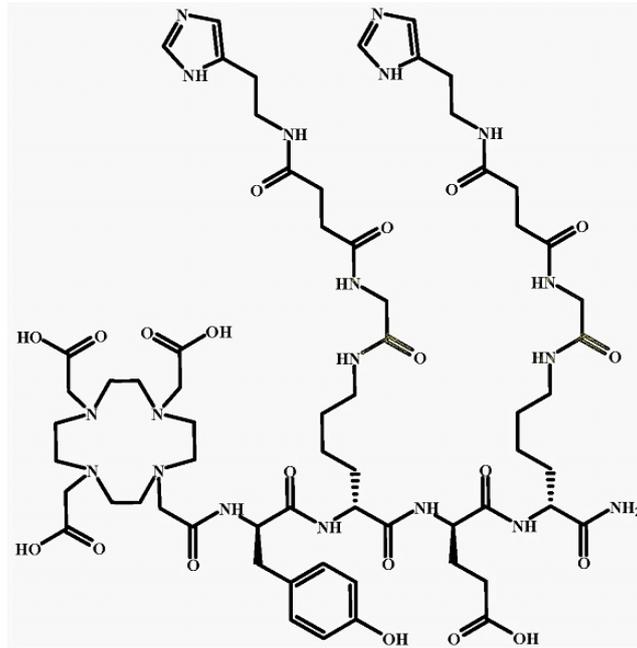


Figure 5: Structure chimique du haptène IMP288 d'après Janevik-Ivanoska (23).

2.4.2 La Technologie "Dock and Lock"

La préparation d'AcBs repose classiquement sur trois techniques: la plus ancienne par voie chimique avec couplage de fragments Fab' à l'aide de liaisons stables thio-ether, la fusion d'hybridomes produisant les deux Ac parents et plus récemment l'utilisation de vecteurs selon la technologie d'ADN recombinant (31). Cette dernière approche, conduisant en principe à des produits parfaitement caractérisés, s'est longtemps heurtée à des problèmes de rendement de production, jusqu'à ce que Rossi et al. (32) et Immunomedics introduisent une nouvelle technique, appelée méthode de « Dock and Lock », permettant la production d'AcBs trivalents.

Cette technique permet de fusionner 3 fragments protéiques de type Fab de manière stable en employant l'interaction spécifique protéine/protéine entre la sous-unité de la Protéine-Kinase cAMP-dépendante (Domaine de dimérisation et d'arrimage DDD) et les domaines d'ancrage des protéines kinase A (AD). La séquence ADNc du domaine DDD de 44 acides aminés modifié par l'ajout d'un résidu cystéine peut être liée à celle d'un composé protéique donné, notamment celle d'un Fab dirigé contre un Ag tumoral.

Compte tenu de la tendance spontanée à la formation d'un dimère, est alors obtenu un dimère de Fab, bivalent. De la même façon, le fragment d'ancrage AD, également modifié par l'ajout de résidus cystéine, est lié à un troisième Fab, anti haptène. La liaison naturelle entre les deux fragments DDD et AD permet l'obtention d'un composé bispécifique, trivalent : « Dock ». La présence de ponts disulfures assure alors une liaison stable : « Lock » (**Figure 6**).

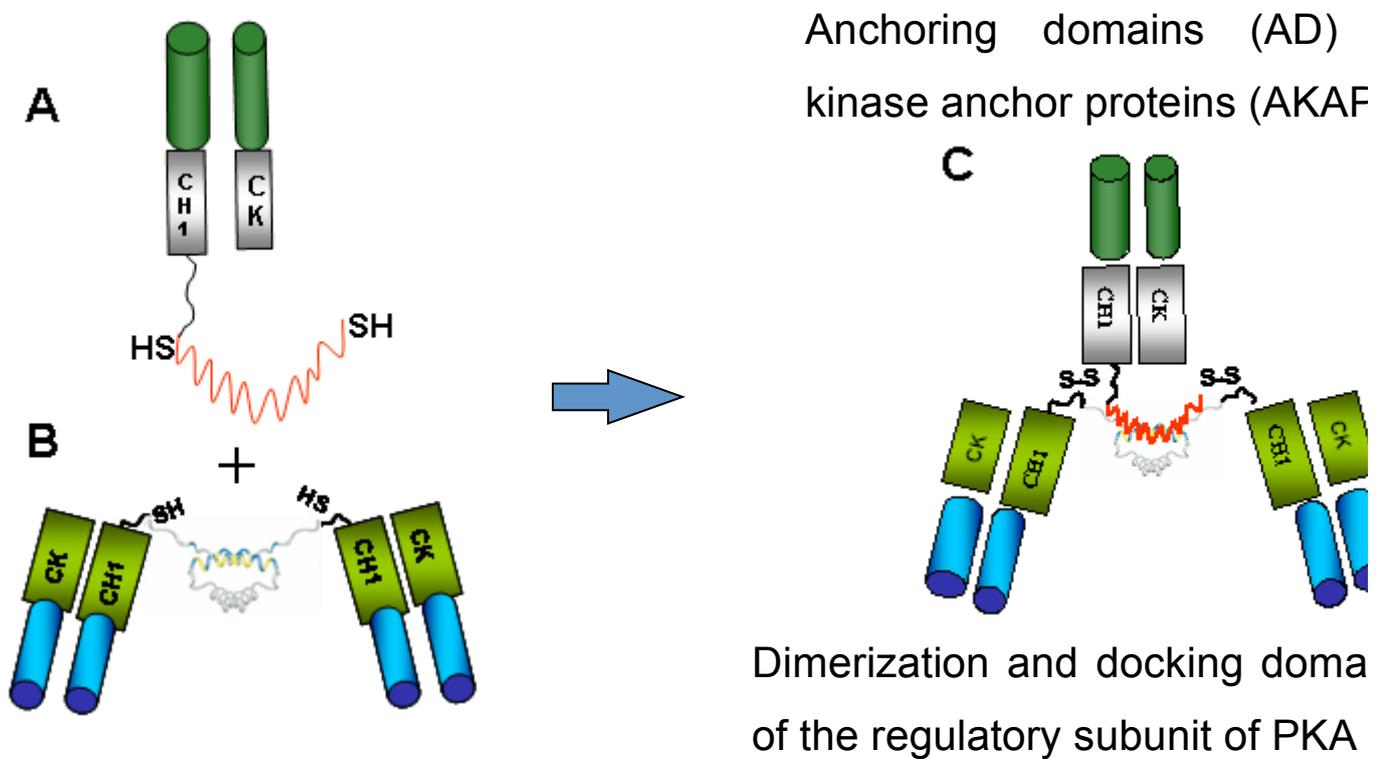


Figure 6: Principes de la technologie DOCK and LOCK d'après Rossi (32).

Le TF2, Ac humanisé bispécifique trivalent anti-ACE x anti-HSG, est le premier de ces produits. De PM égal à 157 kD proche de celui d'une IgG, le TF2 présente cependant une élimination rapide chez la souris, du fait de l'absence de fragment Fc et d'une stabilité limitée in vivo, avec une élimination sanguine proche de 99% seize heures après injection chez la souris. Il reste cependant

stable en milieu sérique jusqu'à 7 jours à 37°. Du fait de cette élimination assez rapide, sa fixation sur la cible antigénique est maximale à 6 h et moyenne (4 %ID/g) pour décroître à 1% vers 16 heures sur un modèle animal de cancer d'origine colique (33).

Des études pharmacocinétiques effectuées chez le lapin ont également montré que la clairance du TF2 était plus rapide que celle des précédentes générations d'AcBs. La clairance de ces précédentes générations étant proche chez l'homme et chez le lapin, il a été supposé que la clairance du TF2 serait également plus rapide que celle d'une IgG et que celle des précédentes générations d'AcBs chez l'homme. Le caractère potentiellement immunogène lié à l'addition des domaines DDD et AD est en cours d'évaluation chez l'homme (34). En revanche, son caractère humanisé lui confère une moindre immunogénicité que ses prédécesseurs d'origine murine.

III. LA RADIOIMMUNOTHERAPIE PRECIBLEE (PRIT) ANTI-ACE

3.1 Quelques données sur la radioimmunothérapie

3.1.1 Principe de l'approche

La RIT est une forme de radiothérapie interne utilisant comme agent de vectorisation un AcM, reconnaissant un Ag exprimé par les cellules tumorales, couplé à un radionucléide (35). Son efficacité provient essentiellement de la radioactivité émise par ce radioimmunoconjugué, qui provoque, selon une exponentielle décroissante, une irradiation à bas débit de dose qui peut être hétérogène dans les tumeurs. L'AcM peut aussi contribuer à l'effet tumoricide en stimulant les mécanismes effecteurs du système immunitaire et en induisant une mort immunogène, mais la réponse immune est limitée par les lymphocytes régulateurs et les macrophages immunosuppresseurs qui envahissent généralement les lésions tumorales. Lorsque les AcM sont radio-marqués, les cellules avoisinantes non directement ciblées par les AcM peuvent être détruites par le mécanisme dit du « feu croisé » (36).

L'efficacité et la toxicité de la RIT dépendent du choix de l'AcM, de l'Ag et des caractéristiques de la tumeur (37). Les effets de la RIT, comme pour toutes les formes de radiothérapie interne, dépendent aussi des propriétés physiques (nature, énergie, parcours, période physique), de la structure chimique et du comportement biologique du radionucléide qui modifient sa bio distribution et déterminent les doses d'irradiation. La période physique du radionucléide doit être compatible avec la cinétique de fixation de l'Ac aux cellules tumorales. Pour un Ac utilisé sous forme d'IgG, le maximum de liaison est obtenu seulement entre 2 et 4 jours après injection. Un radionucléide de durée de vie trop courte ne sera donc pas efficace. Le marquage d'un AcM peut être réalisé directement ou par l'intermédiaire d'un ligand bi fonctionnel, possédant des fonctions de couplage avec l'AcM et de complexation avec le radionucléide. Le radiopharmaceutique obtenu doit posséder la meilleure stabilité in vitro mais surtout in vivo. Le tableau 1 résume les différents radionucléides utilisés en thérapie.

| Radionucléide | T _{1/2} (heures) | Emissions | E _{max} (keV) | Distance maximale dans les tissus mous (mm) |
|---------------|------------------------------|----------------|------------------------|---|
| Fluor-18 | 1.83 | β ⁺ | 633 | 3.1 |
| Gallium-68 | 1.13 | β ⁺ | 1,899 | 9.8 |
| Cuivre-64 | 12.7 | β ⁺ | 653 | 3.2 |
| | | β ⁻ | 579 | 2.8 |
| Zirconium-89 | 78 | β ⁺ | ⁹⁰ 2 | 4.6 |
| Iode-124 | 100 | β ⁺ | 1,535 and 2,138 | 7.9 and 10.9 |
| Scandium-44 | 3.97 | β ⁺ | 1,473 | 7.6 |
| Iode-131 | 193 | β ⁻ | 610 | 2.9 |
| | | γ | 362 | |
| Yttrium-90 | 64 | β ⁻ | 2,250 | 11 |
| Lutétium-177 | 162 | β ⁻ | 498 | 2.0 |
| | | γ | 208 | |
| Cuivre-67 | 62 | β ⁻ | 392 – 577 | 1.8 |
| | | γ | 184 | |
| Bismuth-213 | 0.76 | α | 8,400 | 0.1 |
| | | γ | 440 | |
| Astate-211 | 7.2 | α | 5,870 and 7,450 | 0.055-0.080 |
| | | | 77–92 | |
| | | χ | | |

Tableau 1: Principaux radionucléides utilisés pour l'imagerie et la thérapie

3.1.2 Principaux résultats cliniques.

La RIT est une approche thérapeutique développée depuis plus de 30 ans ayant connu depuis, de nombreux progrès notamment en chimie et en immunologie avec la synthèse de chélates de plus grande stabilité et l'humanisation des AcM (36,38). Le lymphome non hodgkinien B représente aujourd'hui l'indication clinique la mieux validée pour la RIT : en effet, les cellules tumorales expriment des Ag bien caractérisés, sont sensibles aux effets des rayonnements ionisants et à l'immunothérapie passive avec des AcM non radio-marqués (par exemple l'anti-CD20 rituximab administré en routine dans le traitement des lymphopathies B).

Aujourd'hui, l'AcM murin anti-CD20 ibritumomab marqué à l'⁹⁰Y (Zevalin[®]) commercialisé par Spectrum dispose d'une AMM en France, aux USA, en Asie et en Afrique et la RIT peut être administrée en routine clinique, en utilisant des activités non-myéloablatives, pour le traitement de patients atteints de lymphome folliculaire (LF) récidivant ou réfractaire CD20 positifs (39,40). Le Zevalin[®] peut également être administré en consolidation après une chimiothérapie d'induction dans le traitement de première ligne des LF.

De nombreuses publications ont également rapporté l'efficacité de la RIT haute dose, utilisant des activités myéloablatives dans le LF ou le lymphome agressif, de la RIT administrée en consolidation post chimiothérapie, de l'administration fractionnée ou enfin de la RIT utilisant des AcM ciblant d'autres Ag que le CD20 (CD22 notamment) (41–45). En outre, les données précliniques et certaines études cliniques pilotes ont suggéré l'efficacité potentielle de la RIT dans d'autres hémopathies, tels que le myélome multiple ou de la leucémie aiguë, en particulier en utilisant des émetteurs alpha plus adaptés à une cible, la maladie microscopique (46–48).

Si l'intérêt thérapeutique de la RIT est établi pour les tumeurs hématologiques, il reste plus limité pour les tumeurs solides à cause de leur relative radiorésistance et de la néo-vascularisation tumorale qui diminue l'accessibilité de Ac radio-marqués à la tumeur. Cette mauvaise distribution tumorale impose l'administration d'activités élevées exposant au risque de toxicité du fait d'un rapport un rapport de fixation tumoral/tissus sain défavorable.

Plusieurs voies d'optimisation ont été explorées afin d'améliorer l'efficacité de la RIT des tumeurs solides. Ces voies d'optimisation portent sur le ciblage tumoral (en sélectionnant notamment les tumeurs exprimant des Ag bien caractérisés), le fractionnement qui permet d'augmenter l'activité injectée cumulée et la dose tumorale absorbée sans augmenter la toxicité hématologique, les combinaisons thérapeutiques associant la RIT à des molécules radiosensibilisantes et le préciblage.

De plus, et quelle que soit l'approche, toutes les études s'accordent à dire que l'efficacité de la RIT, et plus généralement de la radiothérapie interne, est d'autant plus grande que la masse tumorale est faible, la cible idéale étant la maladie résiduelle métastatique (49). Ainsi, l'efficacité de l'¹³¹I dans le traitement des carcinomes différenciés de la thyroïde est nettement meilleure pour les lésions pulmonaires microscopiques, avec un taux de réponse de 83 %, que pour les lésions macroscopiques, avec un taux de réponse de 14 % (50). En effet, la perfusion tumorale, insuffisante lorsque la tumeur grossit et atteint quelques grammes, n'autorise qu'une fixation faible et hétérogène des AcM et provoque une hypoxie des cellules qui majore leur radiorésistance (51–53).

Ainsi, tenant compte de ces différentes voies d'optimisation, des résultats encourageants ont été publiés dans certaines indications de tumeurs solides. Dans le cancer prostatique, entité potentiellement intéressante pour la RIT, l'efficacité de l'AcM huJ591, Ac humanisé reconnaissant un domaine extra-cellulaire du PSMA (prostate-specific membrane antigen) et dont le marquage peut se faire aisément avec les émetteurs β comme le ¹⁷⁷Lu et l'⁹⁰Y, a été démontrée dans plusieurs études. Très récemment, l'équipe de Tagasawa et al. publiait les résultats d'une étude de phase II portant sur 47 patients porteurs de cancers prostatiques résistant à l'hormonothérapie et traités par huJ591 marqué au ¹⁷⁷Lu (54). Les activités administrées étaient choisies en fonction de la dose maximale tolérée de 2590 MBq/m² qui avait été validée lors des études de phase 1.

Ainsi, 32 patients recevaient 2590 MBq/m² et 15 la dose un peu plus faible de 2405 MBq/m². Une réponse biologique était observée chez 28/47 patients, avec une baisse des PSA de plus de 50% pour 10% des cas et de plus de 30% dans 36% des cas. Tous les patients avaient présenté une toxicité hématologique réversible. Les patients traités par 2590 MBq/m² présentaient plus de toxicité hématologique de grade 4 mais obtenaient un taux plus élevé de réponses biologiques et surtout des survies plus longues (21,8 mois versus 11,9 dans le groupe traité par 2405 MBq/m²).

La combinaison de la RIT avec des agents radio-sensibilisants est une autre approche prometteuse pour la RIT des tumeurs solides. Un essai de phase I en escalade de dose évaluait l'association de la RIT utilisant le ^{90}Y -clivatuzumab tetraxetan et la chimiothérapie par gemcitabine chez des patients porteurs de cancers pancréatiques avancés en première ligne (55). Trente-huit patients étaient inclus, 33 stades stade IV et 5 stades III. Les patients recevaient 200 mg/m^2 de gemcitabine par semaine pendant 4 semaines. La RIT avec l'anti-mucine 1 ^{90}Y -hPAM4 était administrée de façon concomitante à la chimiothérapie les semaines 2, 3 et 4 pour le cycle 1. 25 patients avaient bénéficié d'un seul cycle alors que les 13 autres avaient reçu 1 à 4 cycles.

La toxicité était principalement hématologique avec des thrombopénies ou neutropénies chez 28 des 38 patients après le cycle 1 et chez tous les patients ayant reçu plusieurs cycles. Le fractionnement de la RIT permettait, pour le cycle 1, l'administration d'activités deux fois supérieures à celles qu'aurait permis une dose unique. L'activité maximale tolérée de ^{90}Y -hPAM4 était de 444 MBq/m^2 par semaine pendant les 3 semaines du cycle 1, puis $\leq 333\text{ MBq/m}^2$ hebdomadaires pendant les 3 semaines pour les cycles ultérieurs. Selon les critères RECIST, 6 patients (16%) avaient montré une réponse partielle et 16 patients (42%) une stabilisation de la maladie (soit un contrôle de la maladie pour 58% des patients).

La survie globale médiane était de 7,7 mois pour les 38 patients et 11,8 mois pour ceux qui avaient reçu des cycles répétés (46% ≥ 1 an). La meilleure efficacité était retrouvée chez les patients qui avaient reçu les doses les plus élevées de RIT.

3.2 Choix de l'ACE pour la RIT

3.2.1 L'ACE

Décrit en 1965 par Gold et Freedman, l'ACE est une glycoprotéine d'environ 180 kDa (56). L'ACE appartient à la famille des molécules d'adhésion (CEACAM), une subdivision de la famille des immunoglobulines de molécules d'adhésion cellulaire (IgCAMS) (57).

Présente au stade embryonnaire, la molécule est physiologiquement exprimée au stade adulte. L'ACE est présent sur la face apicale des cellules épithéliales dans le colon, la muqueuse nasale, la muqueuse pylorique, l'œsophage, les glandes sudoripares et la prostate. Il est très faiblement sécrété dans le sang. En revanche, son expression est fortement augmentée dans de nombreux cancers d'origine épithéliale : CCR, carcinome gastrique, carcinome pancréatique, carcinomes broncho-pulmonaire (CBP) dans les cancers mammaires et dans le CMT.

L'ACE peut être libéré dans la circulation sanguine ce qui peut théoriquement modifier le comportement pharmacocinétique des AcM. Les études animales ne permettent pas d'extrapoler le comportement des complexes ACE chez l'homme, la molécule d'ACE n'étant pas présente à l'état physiologique chez les rongeurs. Chez l'humain, un récepteur spécifique a été décrit. Ce récepteur intervient vraisemblablement dans la clairance sanguine des complexes ACE, en complément de mécanismes non-spécifiques qui sont les seuls à intervenir chez les animaux xéno greffés. Behr et son équipe ont comparé, dans une étude portant sur 275 patients porteurs de tumeurs ACE positives, la pharmacocinétique d'un AcM reconnaissant l'ACE circulant à celle d'un AcM ne reconnaissant pas l'ACE circulant (58).

La différence entre les clairances sanguines et la fixation tumorale des deux AcM était minime. En revanche, pour une même concentration d'ACE circulant, la pharmacocinétique et la biodistribution variaient entre les types de tumeurs, sans doute du fait d'une différence de structure des ACE produits, avec une possible différence d'affinité pour le récepteur spécifique en fonction des types histologiques de tumeurs.

Son identification dans le CCR au milieu des années 60 a eu un impact important dans l'immunologie, le diagnostic le suivi et la thérapie de ce cancer. Ainsi, dès les années 70, plusieurs équipes ont proposé son ciblage pour la RIT.

3.2.2 RIT anti-ACE avec des immunoconjugués directement marqués

C'est dans le CCR que la RIT utilisant un ciblage direct anti-ACE est la mieux documentée. Les premiers Ac radio-marqués employés étaient de type IgG monoclonale complète. Chez l'animal, la captation tumorale était élevée, se situant entre 10 et 30% DI/g (dose injectée par gramme) de tumeur (59). En contrepartie, l'élimination lente entre 1 et 3 jours à prédominance hépatique exposait au risque de toxicité médullaire, directement lié au temps de résidence sanguine de la radioactivité. La dose limitante pour la moelle osseuse était estimée à 4,5 Gy chez l'homme et entre 6 et 9 Gy chez le rongeur (60).

L'utilisation de molécules de plus petite taille (fragments F(ab')₂, PM 100 kDa ; minibodies, Fab' ; diabodies ; fragments scFV, PM 20-25 kDa) permet de réduire la demi-vie sanguine. Cependant, cette réduction se fait au détriment de la fixation tumorale et de la durée de cette fixation. Sur un modèle anti-ACE, Sharkey et coll. rapportaient des captations tumorales de 30 à 40% DI/g pour des AcM sous forme IgG, de 11% sous forme F(ab')₂ et de 5% sous forme Fab' (61). Alors que les fragments F(ab')₂ et F(ab') présentent une bonne pénétration tumorale, leur durée de fixation reste inférieure à l'IgG complète (62). L'élimination rénale expose par ailleurs à un risque de néphrotoxicité, majorée lors de l'emploi de radio-métaux réabsorbés et retenus au niveau rénal.

Plus d'une vingtaine d'essais non contrôlés de phase I ou II sont rapportés dans le cadre du CCR, intéressant essentiellement des patients présentant des masses tumorales importantes résistantes à la chimiothérapie (63). Les résultats thérapeutiques avec ciblage direct anti-ACE chez l'homme restent cependant modestes, Behr et coll. rapportant un effet anti-tumoral chez 12/35 patients traités par une IgG anti-ACE marquée à l'¹³¹I (60).

Dans un autre essai de phase I/II utilisant une molécule de plus petite taille de type F(ab')₂, l'administration d'une dose de 3,2 à 11,1 GBq d'¹³¹I à l'aide d'un Ac murin de type F(ab')₂ anti-ACE (F6) chez des patients porteurs de métastases hépatiques permet d'obtenir un résultat favorable (stabilité ou réponse partielle) chez 3 patients sur 9 au prix d'une toxicité hématologique de grade 1 ou 2 pour les doses inférieures à 9,25 GBq. Il est également à noter l'apparition d'une réponse immunitaire dirigée contre les HAMA (anticorps humains anti-murins) chez 3/7 patients (64).

Plus récemment, des résultats encourageants ont été obtenus, en administrant la RIT en situation adjuvante. En effet, dans une perspective d'optimisation, notamment dans l'optique de traiter la maladie résiduelle, Liersch et coll. ont évalué l'intérêt de la RIT anti-ACE en traitement adjuvant après chirurgie hépatique (65). Dans cette étude de phase II, 23 patients recevaient un traitement adjuvant par ¹³¹I-labetuzumab après une résection chirurgicale de métastases hépatiques à visée curatrice. Avec un suivi médian de 64 mois, la survie globale médiane après la chirurgie de résection était de ⁶⁸ mois et la survie sans progression médiane de 18 mois (11 à 31 mois). La survie globale à 5 ans était de 51,3%.

L'efficacité de la RIT était indépendante du caractère mono ou bilobaire de l'atteinte hépatique, de la taille et/ou du nombre de lésions hépatiques, ainsi que des marges de résection chirurgicale. La survie semblait améliorée par comparaison aux séries historiques et contemporaines n'ayant pas reçu de RIT. Les auteurs concluaient qu'un traitement adjuvant par ¹³¹I-labetuzumab après résection curatrice de métastases hépatiques (R0) mettait en évidence un allongement significatif de la survie médiane par rapport au groupe historique contrôle (58 vs. 31 mois).

3.3 PRIT anti-ACE avec les AcBs bivalents de 1^{ère} et 2^{ème} génération

Les premières études de PRIT ont été publiées en 1999, évaluant avec l'AcBs anti-ACE x anti-DTPA-indium murin F6x734, et le haptène bivalent di-DTPA-indium marqué à l'¹³¹I, chez 38 patients dont 26 traités pour CMT en rechute (documentées par l'imagerie et par une élévation du taux de calcitonine (Ct) et 15 pour rechutes de CBPPC (66) (21) . Les patients atteints de CMT recevaient 20 à 50 mg d'AcBs suivi 4 jours plus tard de l'injection de 1,48 à 3,7 GBq de di-DTPA-¹³¹I.

Les doses absorbées tumorales étaient comprises entre 0,08 et 4,97 cGy/MBq, laissant envisager un effet anti-tumoral sur les lésions de petites tailles. Malgré l'utilisation du système de ciblage en deux temps, l'activité maximale tolérée (AMT) était relativement faible, déterminée à 1,8 GBq/m², du fait d'une toxicité hématologique importante et inattendue avec le préciblage.

Cette étude nous a amenés à revoir l'ensemble des imageries des patients atteints de CMT progressifs et à mettre en évidence une fréquence élevée d'envahissement ostéo-médullaire métastatique lors du bilan pré-thérapeutique de ces patients, ce qui n'avait pas encore été rapporté dans la littérature (67). Ces envahissements ostéo-médullaires expliquaient la toxicité hématologique importante. Parmi les 17 patients évaluables, des réponses objectives ont néanmoins été observées, essentiellement chez les patients porteurs de petites masses tumorales (5 réponses tumorales minimales et 5 réponses biologiques).

Neuf sur vingt-six patients inclus dans cette étude ont développé une immunisation avec un dosage sanguin anormal d'HAMA. Les 15 patients porteurs de rechute de CPPC ont reçu 80 mg d'Ac suivi 4 jours plus tard de 1,48 à 7,4 GBq de di-DTPA-¹³¹I (avec collecte de cellules souches pour les activités supérieures à 5,5 GBq). Dans cette population, les doses absorbées tumorales étaient plus faibles, allant de 0,07 à 0,87 cGy/MBq. Une AMT supérieure à celle observée dans le groupe de CMT a été déterminée à 3,2 GBq/m², confirmant l'intérêt du préciblage, la toxicité limitant l'escalade restant hématologique. Trois réponses partielles et une stabilisation de la maladie supérieure à 34 mois ont été rapportées.

Compte tenu d'un nombre élevé de réactions immunitaires liées au caractère murin des Ac, un AcBs anti-ACE chimérique a par la suite été développé, l'AcBs hMN-14 (Ac anti-ACE humanisé) x m734 (Ac anti-DTPA murin) et une nouvelle étude clinique prospective de phase I a donc été mise en place, utilisant ce nouvel Ac chimérique anti-ACE et le haptène bivalent di-DTPA-¹³¹I chez 34 patients porteurs de tumeurs exprimant l'ACE (non-CMT: 25 patients, CMT: 9 patients) (68,69).

Cette étude est particulièrement intéressante pour la compréhension de notre travail de thèse, car à la différence des précédentes études, elle inclut une phase d'optimisation des doses de réactifs (AcBs et haptène) et du délai de préciblage. Ces patients ont reçu des doses croissantes d'AcBs hMN-14x734 et des activités croissantes de di-DTPA radio-marqué à l'¹³¹I, 5 ou 7 jours plus tard. Le ciblage tumoral, la pharmacocinétique, la dosimétrie, la toxicité et l'efficacité ont été étudiés. Une dose d'AcBs de 40 mg/m² avec un intervalle de préciblage de 5 jours était un bon compromis entre toxicité et efficacité.

Dans ces conditions de préciblage, l'AMT était de 3 GBq de ¹³¹I-di-DTPA-indium chez les patients porteurs de CMT. Chez les patients atteints d'autres tumeurs exprimant l'ACE des activités allant jusqu'à 5.5 GBq étaient bien tolérées en l'absence d'infiltration ostéo-médullaire.

L'utilisation d'AcBs chimériques réduisait le taux de réponse immune sans résoudre totalement le problème de l'immunogénicité, Une augmentation des HAMA (Ac humain anti-murins) a été observée chez 8% des patients et des HAHA (Ac humain anti-humains) chez 33%. Bien que l'efficacité thérapeutique soit modeste sans réponse objective, une stabilisation de la maladie était constatée chez 45% des patients, et de façon prolongée pour environ 50% des patients porteurs de CMT.

Une étude rétrospective a par la suite comparé la survie des 29 patients porteurs de CMT et traités par PRIT dans les 2 études cliniques de phase I/II présentées ci dessus avec celle de 39 patients contrôles porteurs de CMT non traités, pour lesquels les données avaient été collectées par le groupe français tumeur endocrine (GTE) (70). Compte tenu de la valeur pronostique sur la survie du temps de doublement (TD) de la Ct et de l'ACE démontrée antérieurement par Barbet et al. (71), les patients avaient été classés en 2 groupes pronostiques : les groupes à faible risque avec un TD de la Ct compris entre 2 et 5 ans et le groupe à haut risque dont le TD était inférieur à 2 ans.

En appariant les données des patients traités par PRIT aux données du groupe contrôle du GTE, la survie globale (OS) était significativement plus longue chez les patients du groupe à haut risque (Ct DT <2 ans) traités par PRIT comparativement aux patients à haut risque non traités (OS médiane, 110 contre 61 mois; P <0,030). Le TD de la Ct a alors été utilisé comme « surrogate marker » ou marqueur de substitution pour prédire la survie en comparant, parmi les patients traités, la survie des patients considérés comme répondeurs biologiques par rapport aux non répondeurs biologiques.

En définissant comme répondeur biologique un patient dont le TD avait été au minimum doublé après PRIT, la valeur médiane d'OS égale à 47% chez les patients répondeurs biologiques était significativement plus élevée que les patients non-répondeurs (159 contre 109 mois; P <0,035) ou non traités (159 vs 61 mois; P <0,010).

Enfin, la survie sans progression à 10 ans était significativement plus longue chez les patients porteurs d'une infiltration ostéo-médullaires métastatiques que chez les patients indemnes de métastases à ce niveau (83% contre 14%; $P < 0,023$). Cette observation suggérait une plus grande efficacité de la PRIT dans ce sous-groupe de patients.

Ces données encourageantes ont conduit à une nouvelle étude clinique prospective de phase II de PRIT évaluant l'AcBs chimérique anti-ACE x anti-DTPA HMN-14x734 et le haptène bivalent di-DTPA-indium marqué à ^{131}I chez des patients porteurs de CMT en progression définie biologiquement par un TD de la Ct de moins de 5 ans (72).

Quarante-cinq patients ont été inclus. Les patients étaient traités dans les conditions optimales de préciblage définies par les études antérieures et recevaient 40 mg/m^2 de HMN-14x734, suivie par $1,8 \text{ GBq/m}^2$ de haptène 4-6 jours plus tard. Quarante-deux patients ont été analysés (2 patients sont sortis de l'étude du fait de réactions anaphylactiques sévères à l'injection de l'AcBs et 1 du fait d'un échec du radiomarquage). Chez les 42 patients analysés et, selon les critères RECIST, la maladie a été contrôlée chez 76,2% des patients (Maladie stable + réponse partielle et réponse complète selon RECIST), incluant une réponse complète d'au moins 40 mois chez un patient et une stabilisation prolongée chez 31 patients.

Une réponse biologique était observée chez 56,7% des patients (21/37), définie comme une augmentation de $\geq 100\%$ du TD de l'ACE et/ou de la Ct ou une diminution prolongée de la concentration des biomarqueurs. De façon intéressante, la fixation tumorale sur les images d'IS enregistrées après la PRIT était prédictive de la réponse au traitement.

Comme précédemment démontré, la toxicité majeure était hématologique, notamment marquée chez les patients porteurs d'une infiltration ostéo-médullaire métastatique. Deux cas de syndrome myélodysplasique ont été constatés. Enfin, malgré le caractère chimérique des Ac, le taux d'immunisation était toujours relativement élevé (détection de HAHA/HAMA chez 26% des patients).

3.4 PRIT anti-ACE avec l'AcBs trivalent TF2

Afin de pallier ce risque d'immunisation, un nouvel Ac humanisé a été créé par la société Immunomedics selon la technique du Dock and Lock précédemment décrite : le TF2. Dans le même temps, un nouvel haptène était proposé : l'IMP288. Ce haptène-peptide possédait ainsi 2 valences HSG et un ligand DOTA capable de lier différents radionucléides, rendant accessible à la PRIT d'autres émetteurs bêta- que l'¹³¹I, comme le ¹⁷⁷Lu et l'⁹⁰Y.

C'est l'équipe hollandaise de Nijmegen qui a publié le premier essai chez l'homme rapportant l'utilisation de ce système de préciblage de dernière génération chez des patients porteurs de CCR en rechute, avec pour objectif, d'une part, de montrer sa faisabilité chez l'homme et, d'autre part, de définir les paramètres optimaux de préciblage (73,74). Dans cette étude de phase I d'optimisation, 4 cohortes de 5 patients étaient étudiées. La première cohorte recevait 75 mg de TF2 et 100 µg d'IMP288-¹⁷⁷Lu avec un délai de préciblage de 5 jours. Le choix de ce délai était basé sur les données pharmacocinétiques obtenues chez le lapin qui montraient une clairance du TF2 plus lente que chez la souris.

Les premières études pharmacocinétiques montrant une clairance du TF2 très rapide chez l'homme, ce délai de préciblage a été ramené à 24 heures pour les patients suivants. Ainsi, dans la seconde cohorte, les patients recevaient les mêmes quantités de TF2 et d'IMP288 (75 mg, 100 µG) avec un délai de préciblage de 24 h. La dose de TF2 était augmentée dans la troisième cohorte qui recevait 150 mg de TF2 et 24 heures plus tard de 100 µg d'IMP288. Enfin, le radiomarquage permettant d'obtenir une activité spécifique élevée avec le ¹⁷⁷Lu malgré une petite quantité de haptène, la dose de haptène fut abaissée à 25 µg dans la 4^{ème} cohorte soit 75 mg TF2, suivie 24 heures plus tard de 25 µg d'IMP288. Chaque patient bénéficiait d'une phase d'imagerie pré-thérapeutique enregistrée dans les mêmes conditions de préciblage, le marquage du haptène se faisant avec 185 MBq d'¹¹¹In.

L'objectif de cette phase d'imagerie était double : d'une part, évaluer le ciblage tumoral décisionnel sur la poursuite de l'étude et, d'autre part, d'effectuer les calculs dosimétriques indispensables pour déterminer l'activité maximale à administrer. Un nombre total de 21 patients a été inclus dans l'étude et 20 analysés. L'activité médiane de ¹⁷⁷Lu administrée était 5.6 GBq (2.5-7.4). L'analyse des données pharmacocinétiques obtenues selon la technique ELISA pour l'AcBs TF2 montrait que:

- la clairance du TF2 était très rapide avec respectivement 86 et 99% de la concentration sanguine de TF2 éliminée 6 et 24H après la fin de la perfusion,
- que la concentration sanguine de TF2 augmentait de façon proportionnelle à la dose administrée,
- et que la clairance de l'IMP288 était rapide, mais néanmoins ralentie par le raccourcissement du délai mais surtout par l'augmentation du ratio molaire TF2/IMP288.

Les images enregistrées à la phase pré-thérapeutique montraient un bon ciblage des lésions tumorales connues avec un contraste qui semblait meilleur en réduisant les quantités d'IMP288 administrées. Aucune réponse objective ne fut mise en évidence, aussi les patients ne bénéficièrent que d'un cycle de traitement. La toxicité limitante était hématologique avec des toxicités de grade ¼ chez 2 patients, résolutive 7 à 8 semaines après l'injection.

Enfin, malgré le caractère humanisé de l'Ac, des HAHA avaient été détectés chez 11/21 patients. Malgré l'absence d'efficacité thérapeutique, Shoefelen et al. démontraient dans cette étude la faisabilité et la sécurité d'administration de ce nouveau système de préciblage anti-ACE chez l'homme. Ils démontraient également la nécessité d'un délai de préciblage plus court que dans les précédentes études et l'intérêt d'une augmentation du ratio molaire TF2/IMP288.

IV. LA TECHNIQUE DU PRECIBLAGE POUR L'IMAGERIE

4.1 L'imagerie des AcM

Depuis plus de 20 ans, les AcM ont été marqués avec des radionucléides émetteurs gamma comme ^{131}I ou ^{111}In afin d'effectuer des images d'IS d'abord en mode planaire puis utilisant la technique TEMP (tomographie par émission mono-photonique) que ce soit pour des applications d'imagerie diagnostique (dans l'optique de détecter des récurrences tumorales précoces) ou pour des applications thérapeutiques, afin d'évaluer le ciblage tumoral et la dosimétrie dans les protocoles de RIT.

Malgré les progrès liés au développement de nouvelles générations de gamma-caméras TEMP-TDM, la sensibilité de l'IS reste limitée du fait d'une faible résolution spatiale (rendant parfois difficile la visualisation de lésions de petite taille) et de la correction complexe du diffusé. Le développement et la généralisation des caméras TEP ces 15 dernières années représentent une alternative intéressante pour optimiser les images d'IS. En effet, l'imagerie TEP est une imagerie de haute sensibilité, qui dispose d'une excellente résolution spatiale sur les caméras de dernière génération. La TEP permet de plus l'enregistrement d'images corps entier avec des temps d'acquisition bien plus courts que ceux offerts par les gamma-caméras classiques pour les acquisitions corps entier (CE) ou TEMP (75–77). Différents vecteurs sont envisagés pour développer des approches d'imageries TEP phénotypiques, notamment des hormones ou des peptides reconnaissant des récepteurs membranaires spécifiques. Les AcM sont également des vecteurs intéressants (78–80).

Comme pour la thérapie, la qualité des images d'immuno-TEP obtenues par le marquage d'un AcM avec un radionucléide émetteur de positons dépend de l'efficacité du ciblage qui dépendra lui-même de la spécificité, de l'affinité et des doses d'AcM. La distribution tumorale puis l'élimination de l'immunoconjugué doivent être rapides pour conduire à un contraste satisfaisant des images. Le choix du radionucléide est également déterminant (tableau 1). La période physique constitue un paramètre essentiel : elle doit être adaptée à la période biologique du vecteur (75) (81). L'émetteur approprié pour le marquage d'une IgG intacte n'est pas le même que celui approprié pour le marquage d'un fragment d'AcM ou d'un peptide préciblé.

Le spectre d'émission du radionucléide et la présence d'émissions gamma associées sont à considérer en termes de radioprotection, en fonction de l'activité à injecter. L'énergie et le parcours du positon déterminent la résolution.

Les paires d'isotopes β^+/β^- théranostiques ($^{124}\text{I}/^{131}\text{I}$, $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$, $^{64}\text{Cu}/^{67}\text{Cu}$, $^{44}\text{Sc}/^{47}\text{Sc}$) sont potentiellement intéressantes pour le développement de la dosimétrie dans le contexte de la RIT. Si le complexe Ag-AcM est internalisé, un marquage avec des métaux doit être préféré à celui à l'iode, l'iode étant relargué par la cellule après internalisation. Enfin, la stabilité du marquage, la disponibilité et le coût du radioélément sont également à prendre en compte.

Le ^{68}Ga , par exemple, a l'avantage d'être disponible sous forme de générateurs directement accessibles dans les services cliniques pendant plus de six mois. Il émet un positon avec un rapport d'embranchement de 87,9 % et une énergie de 1,89 MeV conduisant à une très bonne résolution intrinsèque. Cependant, étant donné sa période de 1,13 heure plus courte que celle du ^{18}F , il ne permet le marquage que de molécules à distribution rapide comme des peptides, des fragments d'Ac ou des immunoconjugués de petite taille. Freudenberg et al. avaient rapporté les avantages de la TEP/TDM avec l' ^{124}I (iodure de sodium) pour les patients atteints de cancer différencié de la thyroïde avec une détectabilité de 100% des lésions avec l' ^{124}I contre 83% par la scintigraphie à l' ^{131}I (82). Le ^{89}Zr et l' ^{124}I avec leurs périodes de plusieurs jours sont adaptés pour le marquage d'IgG intactes, mais leurs spectres sont plus complexes, notamment celui de l' ^{124}I , ce qui n'est théoriquement pas favorable en termes de détection et de radioprotection.

4.2 L'immuno-TEP

La littérature scientifique s'est enrichie ces dernières années dans ce domaine, l'immuno-TEP apparaissant un outil majeur de diagnostic moléculaire à l'échelle du corps entier pour développer une démarche théranostique ou de diagnostic compagnon dans le contexte de la médecine personnalisée ou stratifiée (75,81,82). Appliquée à la RIT, l'immuno-TEP pourrait fournir des informations complémentaires sur le ciblage de la tumeur, la pharmacocinétique et l'accumulation du radio-conjugué dans les organes sains critiques permettant ainsi d'obtenir des données dosimétriques capitales pour le calcul de l'activité thérapeutique à administrer. Appliquée au diagnostic, cette nouvelle technique d'imagerie pourrait mieux évaluer l'extension d'une tumeur.

Très récemment, l'équipe de Morris a démontré la faisabilité de l'immuno-TEP utilisant l'AcM anti-PMSA marqué au ^{89}Zr chez 50 patients porteurs d'adénocarcinome prostatique métastatique. Une analyse par lésion était effectuée pour valider les résultats de l'immuno-TEP en prenant pour Gold Standard les résultats du bilan conventionnel +/- l'histologie (83). Les auteurs démontraient l'excellente performance de l'immuno-TEP pour la détection des lésions osseuses (lésions supplémentaires visualisées par rapport au bilan conventionnel) et des performances un peu moins bonnes, mais néanmoins identiques à celles du bilan conventionnel, pour les lésions des tissus mous.

L'immuno-TEP permettrait également de mieux sélectionner les candidats à la RIT en vérifiant l'expression tumorale de l'Ag et son accessibilité. Par exemple, il a été démontré que l'immuno-TEP utilisant l'Ac B-B4 anti-CD138 marqué à l'iode 124 pouvait être utile pour détecter l'expression tumorale du CD138 et ainsi sélectionner les candidats potentiels à une RIT dans un modèle murin de cancer du sein métastatique triple négatif non candidat à un traitement hormonal ou à une immunothérapie anti-HER2 (84). Les images d'immuno-TEP obtenues à partir de l' ^{124}I -B-B4 Mab étaient bien corrélées aux données de biodistribution issues du sacrifice des animaux. De la même façon, il a été montré que la distribution du ^{90}Y -Zevalin pouvait être prédite par l'immuno-TEP au ^{89}Zr -Zevalin afin de vérifier l'expression du CD20 avant la RIT (85).

Jusqu'à présent, seules les méthodes invasives telles que la biopsie puis les analyses immuno-histochimique pouvaient identifier les patients ayant le plus de chance de répondre à une immunothérapie, l'immuno-TEP pourrait être une alternative aux gestes invasifs pour sélectionner les patients candidats à une immunothérapie. Par exemple, dans le cadre du cancer du sein, les agents thérapeutiques anti-HER2 ne sont efficaces chez les patients ayant un cancer du sein HER2-positif. Il a été prouvé que l'immuno-TEP anti-HER2 utilisant un AcM marqué avec le ^{68}Ga , le ^{64}Cu ou le ^{89}Zr permettait d'identifier les lésions métastatiques exprimant HER2, y compris dans le cerveau (86–88).

4.3 Préciblage AES et immunoscintigraphie (IS)

Le développement initial du préciblage visait à améliorer la qualité des images obtenues par IS. En effet, si plusieurs études cliniques avaient démontré la faisabilité de l'IS avec le marquage direct d'AcM anti-ACE chez des patients porteurs de CMT par exemple, l'interprétation des images était rendue complexe par les fixations « physiologiques » des AcM au niveau ostéo-médullaire, vasculaire et surtout hépatique (89).

Ce faible rapport de fixation tumeur/tissus sains lié à l'élimination lente des AcM fut bien démontré « in vivo » par Curtet et al au sein d'une étude de faisabilité du radio-immuno-guidage chirurgical utilisant un Ac anti-ACE (F6) marqué à l' ^{111}In chez 10 patients porteurs de CCR. Si cette technique montrait l'impact potentiel du radioimmunoguidage dans la détection per-opératoire des lésions métastatiques, les rapports de comptages pièce tumorale/bruit de fond inférieurs à 1,5 confirmaient l'existence d'un bruit de fond très élevé (90).

Le bénéfice du préciblage AES utilisant de l'AcBs murin F6x734 et le haptène di-DTPA-indium marqué à l' ^{111}In émetteur de photons gamma a été rapidement démontré par Le Doussal, Peltier, Vuillez et leurs collaborateurs dans différents modèles de tumeurs exprimant l'ACE (CMT, CBP et CCR) (19,20,91). Dans ces premières études, le délai de préciblage était de 4-5 jours et les images scintigraphiques étaient enregistrées 5 puis 24 h après l'injection du haptène radio-marqué. Une majorité des patients bénéficiait d'une prise en charge chirurgicale parfois aidée d'une détection per-opératoire dans la semaine qui suivait l'injection du haptène radio-marqué.

La chirurgie permettait, d'une part, de valider histologiquement les lésions visualisées sur l'IS en démontrant ainsi l'excellente sensibilité de cette technique mais également d'avoir une comparaison objective entre le ciblage direct et le préciblage : en effet, si après un ciblage direct, le rapport comptage pièce tumoral/bruit de fond n'excédait pas 1,5, il dépassait fréquemment 2 après un préciblage et permettait la détection de lésions non détectables par le chirurgien (90).

Barbet et al. publièrent ensuite les résultats d'une étude utilisant les mêmes réactifs AES chez 44 patients porteurs de CMT en rechute (dont 29 avec une maladie occulte (22)). Dans cette étude, le délai de préciblage était de 4 jours et les images obtenues enregistrées 2 h, 5 h et 24 h après l'injection du haptène. Un total de 24 patients sur les 44 patients inclus avaient bénéficié d'une prise en charge chirurgicale 3 à 7 jours après l'injection du haptène, parfois associée à une détection per-opératoire par immuno-radioguidage. Le gold standard était représenté par la chirurgie et/ou par la confirmation de la lésion visualisée sur l'IS par une autre modalité d'imagerie. L'IS détectait de la maladie chez 19/29 patients porteurs d'une récurrence occulte du CMT. Sur ces 19 lésions, 12 étaient confirmées par l'histologie et/ou un autre examen d'imagerie, 5 étaient restées non confirmées et 2 étaient considérées comme faussement positives. L'IS était positive chez 12/15 des patients porteurs de sites de récurrences connus et visualisait 5 sites tumoraux complémentaires, tous confirmés par le gold standard. Enfin, chez les patients ayant bénéficié d'une chirurgie, la valeur médiane du ratio de comptage tumeur/bruit de fond était de 27 confirmant l'intérêt du préciblage par rapport au ciblage direct en terme de ratio signal/bruit de fond.

Les études suivantes qui utilisaient le même AcBs murin anti-ACE étaient essentiellement des études de PRIT avec le haptène marqué à ^{131}I et les IS enregistrées au décours de la RIT. Dans ces études les images IS avaient pour objectif principal d'évaluer le ciblage tumoral mais également d'obtenir des informations dosimétriques, Ainsi, Vuillez et al. confirmaient le bon ciblage des lésions tumorales chez 14 patients porteurs de CBPPC en rechute post-chimiothérapie et traités par PRIT à dose myéloablatrice. Dans cette étude, les images étaient enregistrées 8 jours après l'injection du di-DTPA-indium marqué à ^{131}I et permettaient d'évaluer le ciblage tumoral et surtout d'avoir des évaluations de la dose tumorale absorbée (estimée entre 2.6-32.2 cGy/mCi) (21).

Par la suite, Oudoux et al. ont montré que, chez 33 patients inclus dans une étude de phase II de PRIT utilisant l'AcBs chimérique anti-ACE hMN-14x734 et le haptène di-DTPA-indium marqué à ^{131}I , l'IS post-PRIT était la méthode la plus sensible pour la visualisation des lésions métastatiques du CMT. En effet, la sensibilité globale de l'IS était de 94% versus 76% pour la TEP au ^{18}F -désoxyglucose (FDG) et 74% pour la tomодensitométrie (TDM) (92).

Si les premières générations de préciblage anti-ACE développées selon le système AES ne permettaient qu'un marquage par ^{111}In ou ^{131}I du fait de la spécificité de l'Ac anti-haptène, la dernière génération de haptène développée initialement par Gruaz-Guyon puis par la société Immunomedics®, le peptide HSG, permet un marquage avec de nombreux radioéléments grâce au ligand DOTA.

Cette latitude dans le choix du radionucléide rend possible la réalisation d'études en 2 phases, incluant une phase d'imagerie pré-thérapeutique à visée dosimétrique et de détection du ciblage tumoral et une phase thérapeutique potentiellement associée à de l'imagerie dosimétrique en fonction des propriétés physiques du radionucléide utilisé. Il s'agit alors clairement des premières approches dites « théranostiques » (diagnostique + thérapeutique) ou de thérapies guidées par l'image.

Ainsi, l'équipe néerlandaise de Shoffelen a démontré dans son étude d'optimisation de la PRIT utilisant le système TF2/IMP288 chez 20 patients atteints de CCR, que l'IS permettait d'adapter les activités administrées pour la phase thérapeutique confirmant ainsi son intérêt théranostique (74). Tous les patients bénéficiaient d'une phase d'imagerie pré-thérapeutique enregistrée dans les mêmes conditions de préciblage que la phase thérapeutique. Un ciblage de l'ensemble des lésions tumorales connues était obtenu 1 h après l'injection de ^{111}In -IMP, avec un contraste optimal à 24 h. La moelle osseuse et les reins étant considérés comme les organes les plus à risque de toxicité, l'activité de lutétium à administrer ne devait pas délivrer plus de 1.25 Gy à la moelle et 15 Gy aux reins. Les doses absorbées par la moelle osseuse et les reins étaient calculées sur l'IS. Supposant que les pharmacocinétiques et biodistributions de ^{111}In -IMP et ^{177}Lu -IMP étaient identiques dans des conditions de préciblage identiques, ces doses absorbées aux organes critiques étaient utilisées pour calculer la dose totale de lutétium à administrer dans la phase thérapeutique de l'étude.

4.4 Préciblage AES et immuno-TEP

Dans un souci constant d'optimisation et d'amélioration du contraste des images, le préciblage AES représente également une voie de développement très prometteuse pour l'immuno-TEP avec des applications potentielles en imagerie (pour mieux apprécier l'extension des certaines tumeurs) mais aussi en PRIT grâce à l'obtention d'images de plus haute sensibilité, de meilleure résolution et avec une meilleure correction d'atténuation que celle obtenues en IS. De plus, la courte période biologique du haptène le rend favorable au marquage par des émetteurs de positons à demi-vie courte, aisément disponible en clinique comme par exemple le fluor 18 ou le ^{68}Ga . Ainsi, une étude ancienne avait déjà montré la meilleure sensibilité des chélates du ^{68}Ga préciblés par des AcBs anti-MUC1/anti-Ga, par rapport à l'IS conventionnelle, chez dix patientes atteintes de cancer du sein (93). Très récemment, l'équipe de Boerman a démontré l'intérêt de l'immuno-TEP préciblée utilisant l'Ac TF12 (2 valences anti-TROP2 dirigées contre l'ag TROP 2 exprimé par de nombreux cancers épithéliaux et 1 valence anti-HSG) et le haptène ^{68}Ga -IMP288 dans un modèle murin de cancer prostatique (94,95). Des images sensibles et spécifiques des tumeurs prostatiques greffées, sous-cutanées et intra-péritonéales, sont obtenues dès 1 h après l'injection du peptide, avec un rapport signal tumoral/bruit meilleur que celui de la TEP au FDG.

Le système de préciblage anti-ACE humanisé TF2/anti-HSG a déjà fait l'objet de plusieurs études précliniques d'immuno-TEP. En 2006, Mc Bride et al. marquaient le haptène IMP-325 avec de l'iode 124 et comparaient cette technique d'immuno-TEP préciblée avec la TEP au FDG et l'immuno-TEP obtenue par le marquage direct par l'iode 124 de l'AcM anti-ACE hMN-14 chez l'animal (28,80). Le contraste était supérieur avec le système préciblé par rapport au ciblage direct par l'AcM ^{124}I -hMN-14. La fixation tumorale était trois à 15 fois supérieure et les ratios tumeur/sang 10 à 20 fois supérieurs à une heure et 24 heures respectivement avec le préciblage. La TEP au FDG permettait également une bonne visualisation de la tumeur dès 2 h post injection avec un rapport tumeur/sang favorable. En revanche, la quantification de la radioactivité dans les organes montrait que le pourcentage de la dose injectée par gramme de tumeur était supérieur pour le système préciblé AES. Ces réactifs AES permettaient même de détecter des micrométastases pulmonaires de 0,1 à 0,2 mm de diamètre qui n'étaient pas visualisées par la TEP au FDG chez des souris nues chez qui étaient administrées par voie intra-veineuse des cellules de CCR humain (25).

Schoffelen et al. avaient montré la faisabilité de l'immuno-TEP utilisant le TF2 et le haptène ^{68}Ga -IMP288 dans un modèle préclinique de souris (28). Trois groupes de souris étaient étudiés : un groupe greffé avec des cellules de cancer colique exprimant l'ACE, un groupe greffé avec des cellules de cancer colique n'exprimant pas l'ACE et un troisième groupe chez qui une lésion inflammatoire était induite au niveau de la cuisse. Toutes les souris bénéficiaient d'une TEP au FDG et d'une immuno-TEP au ^{68}Ga -IMP288. L'injection intra-veineuse du TF2 était suivie 16 heures plus tard, par l'injection de 5 MBq de ^{68}Ga -IMP288. Les images enregistrées dans l'heure suivant l'injection du haptène montraient un ciblage tumoral important et spécifique (10,7 +/- 3,6% de l'activité injectée par gramme de tumeur ACE positive), une fixation très faible dans les tissus normaux (ratio tumeur/sang : 69,9 +/- 32,3), dans les tumeurs ACE négatives (0,35 +/- 0,35% de l'activité injectée par gramme) et dans l'inflammation (0,72 +/- 0,20% de l'activité injectée par gramme). Aucune étude d'immuno-TEP utilisant ces réactifs anti-ACE n'a pour l'instant été publiée chez l'homme. Comme précédemment décrit pour la PRIT, une optimisation précise des doses molaires d'AcBs et de peptide ainsi que du délai de préciblage sont nécessaires pour un transfert de l'immuno-TEP en clinique.

CHAPITRE II. OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE

Le préciblage constitue aujourd'hui une voie de développement privilégiée pour les approches d'immunociblage tumoral appliquées en thérapie comme en imagerie. Notre équipe a largement contribué à l'optimisation et à la validation de cette approche innovante dans des modèles précliniques et cliniques de tumeurs exprimant l'ACE et plus particulièrement dans le CMT, tumeur rare mais exprimant de façon quasi-constante l'ACE (96). Elle a en particulier transféré en clinique jusqu'en phase II l'approche AES utilisant l'AcBs chimérique hMN-14x734 et le haptène-peptide di-DTPA-indium. Les réactifs AES de nouvelle génération, AcBs anti-ACE recombinant trivalent humanisé TF2 et haptène-peptide bivalent HSG IMP288, sont aujourd'hui disponibles et accessibles pour un transfert en clinique.

Comme précédemment décrit, ce nouveau système présente plusieurs avantages :

- d'une part, l'AcBs TF2, composé d'un fragment Fab anti-HSG humanisé dérivé de l'Ac anti-HSG 679 et de 2 fragments Fab anti-ACE humanisé dérivé de l'Ac monoclonal hMN-14x734 (labetuzumab; Immunomedics, Inc.), est potentiellement moins immunogène, facilitant les injections répétées.
- d'autre part, le haptène-peptide HSG permet un radiomarquage stable avec différents métaux radioactifs émetteurs bêta-, tels que ^{177}Lu ou ^{90}Y , dont les caractéristiques physiques favorables pourraient améliorer l'efficacité de la PRIT, ou avec des émetteurs de positons (^{18}F ou ^{68}Ga) qui permettraient d'améliorer la qualité des images IS enregistrées.

L'équipe hollandaise de Schofellen et al. a déjà montré la faisabilité du préciblage utilisant ce nouveau système anti-ACE pour l'immuno-TEP et la PRIT sur des modèles murins de CCR et transféré en clinique l' ^{177}Lu -IMP288 dans une étude d'optimisation chez des patients atteints de CCR métastatiques (30,73, 74). Ils ont également souligné les propriétés pharmacocinétiques différentes de ces nouvelles molécules par rapport aux systèmes précédents utilisés dans les premières études de phase I/II, rendant nécessaire la réalisation de nouvelles études d'optimisation.

L'objectif principal de ce travail de thèse est donc d'optimiser l'utilisation du système de préciblage utilisant l'AcBs TF2 et le haptène bivalent IMP288, à partir de données pharmacocinétiques et de données d'imagerie, dans deux modèles de tumeurs dans le cadre de deux études cliniques :

- une étude de PRIT utilisant le TF2 et le haptène ^{177}Lu -IMP288 chez des patients porteurs de CBP exprimant l'ACE en rechute.
- une étude d'imagerie TEP utilisant le TF2 et le haptène ^{68}Ga -IMP288 chez des patients en rechute de CMT.

Ce travail avait également pour objectifs :

- de déterminer si les données pharmacocinétiques et dosimétriques obtenues dans l'étude d'imagerie pré-thérapeutique avec le haptène ^{111}In -IMP288 étaient prédictives de celles obtenues avec le haptène ^{177}Lu -IMP288.
- d'évaluer l'immunogénicité de l'Ac humanisé TF2 et du peptide IMP288 dans les 2 modèles de tumeurs.
- d'évaluer, à partir des données préliminaires de la phase d'optimisation, l'efficacité et la toxicité de la PRIT utilisant le haptène ^{177}Lu -IMP288 chez des patients porteurs de CBP exprimant l'ACE en rechute.
- de déterminer, sur les données préliminaires, la sensibilité de l'immuno-TEP utilisant le TF2 et le haptène ^{68}Ga -IMP288 chez des patients porteurs de CMT en rechute, en comparaison aux techniques validées par les recommandations internationales dans ce type de tumeur.

**CHAPITRE III. OPTIMISATION DE LA PRIT ANTI-ACE CHEZ DES
PATIENTS PORTEURS DE TUMEURS PULMONAIRES EN
RECHUTE ET EXPRIMANT L'ACE.**

I.INTRODUCTION

Un essai de phase I/II a été conçu pour optimiser et évaluer la nouvelle génération de réactifs de préciblage, l'AcBs anti-ACE x anti-HSG TF2 et le haptène-peptide ^{177}Lu -IMP288, chez des patients porteurs de CBP en rechute et exprimant l'ACE. Cet essai a obtenu un financement dans le cadre des appels à projets DHOS-INCA recherche translationnelle 2007 et PHRC national 2008. Cet essai comprend deux parties :

- la première partie de l'étude (phase d'optimisation) a pour but à définir les paramètres optimaux de préciblage à partir des données pharmacocinétiques et dosimétriques obtenues dans 3 cohortes de 3 patients ;
- la deuxième partie de l'étude (escalade d'activité) a pour but de déterminer l'AMT de ^{177}Lu -IMP288 délivré selon le schéma optimisé défini dans la première phase.

Les deux parties de l'étude comprennent une étape d'imagerie (S1) avec le haptène-peptide marqué à l'indium 111, ^{111}In -IMP288, précédant la phase de PRIT avec le haptène-peptide marqué au Lutétium 111, ^{177}Lu -IMP288 (S2).

Notre travail de thèse porte sur la phase d'optimisation, l'objectif étant de définir les paramètres optimaux de préciblage pour une application thérapeutique et également de démontrer que les données pharmacocinétiques et dosimétrique de la phase pré-thérapeutique S1 sont prédictives de celles de la phase thérapeutique S2. Enfin, l'analyse des données préliminaires nous permettra d'évaluer la toxicité, l'immunogénicité du TF2 et ainsi que les premières données d'efficacité et de toxicité de cette nouvelle approche de PRIT.

1.1. Choix du modèle tumoral.

Le CBP constitue l'une des entités tumorales présentant une expression cellulaire et parfois une sécrétion sanguine de l'ACE (expression tumorale retrouvée par immunohistochimie dans environ 50% des cas) (97). Malgré les avancées thérapeutiques liées au développement des thérapies ciblées, le pronostic des malades non opérables (stade IIIB) ou en rechute est sombre avec des survies à 5 ans de l'ordre de 10% (sauf pour certaines formes mutées EGFR qui peuvent bénéficier d'un traitement efficace par le gefitinib, molécule de la famille des inhibiteurs de la tyrosine-kinase anti-EGFR).

Cette entité tumorale constitue donc une cible potentielle pour la PRIT anti-ACE et ce d'autant que notre équipe avait déjà montré la faisabilité de la PRIT, utilisant une précédente génération d'Ac murin anti-ACE F6x734 chez 15 patients porteurs de CBPPC (21). Ces patients recevaient 20 à 80 mg d'AcBs et, 4 jours plus tard, 1,48 à 7,4 GBq de haptène ¹³¹I-di-DTPA. Dans cette étude, un bon ciblage tumoral était observé sur les images d'IS, les doses tumorales estimées variant de 0,07 à 0,87 cGy/MBq. La toxicité était hématologique. De façon intéressante dans le contexte d'une étude pilote de phase I, une efficacité avait été observée avec 3 réponses partielles et une stabilisation de plus de 34 mois chez les patients traités aux palliers de doses les plus élevés. Pour cette étude d'optimisation et de phase I, nous avons choisi le modèle du CBPPC ou du CBP non à petites cellules (CBPNPC) en rechute et exprimant l'ACE, qui représentent des indications potentielles pour l'approche du fait du pronostic sombre et de leur relative radiosensibilité. Le CBP représente de plus un véritable enjeu de santé publique. En raison de la fréquence des envahissements ostéo-médullaires (limitant l'escalade de dose) et du risque accru de toxicité hématologique, nous n'avons pas considéré le CMT comme un modèle pertinent pour une étude de phase I visant à déterminer l'AMT de la PRIT.

1.2 Choix du radionucléide

Le haptène IMP288 utilise pour ligand le DOTA capable de chélater de façon stable l'⁹⁰Y et le ¹⁷⁷Lu pour des applications thérapeutiques(98). L'⁹⁰Y est un émetteur bêta- pur de haute énergie, 5 fois plus énergétique que l'¹³¹I, avec un parcours tissulaire atteignant 12 mm, favorable au traitement des tumeurs de taille moyenne. Ce parcours favorise le phénomène du feu croisé rendant accessible au traitement des tumeurs faiblement vascularisées mais exposant également au risque d'irradiation des tissus sains. Son émission β pure, favorable en terme de radioprotection, ne permet pas d'obtenir des images de bonne qualité et leur quantification est délicate. Les études d'imagerie et dosimétrique nécessitent donc l'injection d'un autre radionucléide. Il présente un risque de toxicité médullaire, d'une part du fait de son parcours tissulaire assez long, de sa haute énergie mais également par fixation de l'yttrium libre au niveau osseux. Il présente également un risque potentiel de toxicité rénale par accumulation des radiométaux au niveau glomérulaire.

L'émission bêta- du ¹⁷⁷Lu, du fait d'une énergie moindre (Bmax= 0,5 Mev), présente une pénétration moindre dans les tissus (parcours tissulaire maximal de 5 mm) le rendant plus favorable au traitement des lésions de petites tailles et aux résidus tumoraux. Cette émission bêta- est adaptée au traitement des petites masses tumorales retrouvées en situation de consolidation après un traitement d'induction, ce qui représente une indication intéressante pour appliquer la RIT dans le traitement des CP. Cette énergie inférieure associée à une pénétration moins marquée le rendrait également moins toxique que l'⁹⁰Y sur le glomérule. Son émission gamma (11%) rend possible la réalisation d'images scintigraphiques post-thérapeutiques à visée dosimétrique. Si sa période physique de 6,7 jours est éloignée de la période biologique rapide du haptène, elle est adaptée à une rétention tumorale prolongée du complexe Ag-AcBs-haptène ; la clairance rapide du haptène des tissus sains permettrait ainsi une irradiation à bas débit de dose mais prolongée des cibles tumorales.

Le ¹⁷⁷Lu a été choisi pour cet essai de PRIT afin, d'une part, d'envisager l'administration d'activités thérapeutiques élevées sans effet délétère sur les tissus sains et d'autre part d'associer à l'étude d'optimisation, une étude dosimétrique post-thérapeutique.

1.3. Choix des paramètres de préciblage

Dans cette étude, le choix des doses administrées en termes d'activité molaire s'est basée sur différentes données : les données de pharmacocinétiques du TF2 obtenues chez la souris et le lapin, les données cliniques déjà obtenues par notre équipe avec les systèmes de préciblage AES des générations antérieures et les premiers résultats cliniques publiés par l'équipe hollandaise rapportant l'administration du TF2 et de l'IMP288 chez des patients atteints de CCR (99) (17) (68) (74). Les données précliniques obtenues essentiellement sur des modèles murins de souris xéno greffées par des cellules de CCR ou de CMT avaient démontré que 2 paramètres étaient déterminants pour définir les conditions « basales » dans une étude d'optimisation : les données de radiomarquage pour définir l'activité spécifique maximum (dans notre cas de l'IMP288 marqué au ¹⁷⁷Lu) et les données pharmacocinétiques de l'AcBs (ici celles du TF2). Ces différentes études démontraient également qu'un ciblage optimal était observé lorsque la quantité molaire d'AcBs injecté était 10 à 20 fois supérieure à celle du haptène (17).

De la même façon, le choix de l'intervalle de préciblage initialement fixé entre 48 et 96 heures était basé sur les données de pharmacocinétiques du TF2 obtenues chez le lapin. Les premières données pharmacocinétiques publiées par l'équipe hollandaise chez l'homme montraient cependant une clairance très rapide du TF2 dans la première cohorte de patient pour laquelle le délai de préciblage était fixé à 5 jours, rendant nécessaire la réduction de ce délai à 24h pour les 3 autres cohortes (74).

II. MATERIELS ET METHODES

2.1 Eligibilité des patients

Les patients inclus dans cette étude clinique de phase I présentaient les critères suivants :

- plus de 18 ans,
- un diagnostic de CBPPC exprimant l'ACE en réponse partielle ou récidivant ou réfractaire après au moins 2 lignes thérapeutiques standards de radiothérapie et/ou de chimiothérapie,
- ou de CBPNPC exprimant l'ACE, sans mutation activatrice connue du gène de l'EGFR, en rechute après échec d'au moins une ligne thérapeutique standard,
- En dehors de contre-indications absolues, les patients devaient avoir reçu au moins une ligne de chimiothérapie à base de sels de platine,
- Un délai d'au moins 4 semaines après le traitement précédent était nécessaire et les patients devaient avoir récupéré d'éventuelles toxicités liées à ces traitements,
- Un indice de Karnofsky ≥ 60 ou un score ECOG 0-2 et une espérance de vie estimée à plus de 3 mois,
- Une concentration plasmatique d'ACE supérieure à 10 ng/mL et/ou une expression tumorale de l'ACE démontrée en immunohistochimie,
- Au moins une lésion mesurable en TDM et une lésion détectable en TEP au FDG dans les 4 semaines précédant le traitement,
- Une fonction hépatique normale (Bilirubine ≤ 30 mmol/l, transaminases $\leq 2,5$ la limite supérieure de la normale, une créatininémie $\leq 2,5$ la limite supérieure de la normale, des plaquettes ≥ 100 G/l, des polynucléaires neutrophiles ≥ 1.5 G/l),
- Des sérologies VIH, VHB, VHC négatives,
- Une absence de HAMA et HAHA,

L'essai clinique de phase I a été approuvée par les comités d'éthique locaux (Eudract CT 200800603096) et tous les patients ont signé un consentement éclairé.

Etaient exclus du protocole :

- les femmes enceintes ou allaitantes,
- les femmes en âge de procréer et refusant une contraception efficace,
- les patients porteurs d'un autre cancer (sauf en cas de cancer basocellulaire cutané et de cancer du col),
- les patients présentant des troubles psychiatriques graves
- les patients ayant fait une aplasie fébrile lors d'une précédente chimiothérapie
- les patients ayant des troubles sévères de l'hémostase ou un traitement anti-coagulant à visée curatif
- les patients diabétiques non équilibrés.
- les patients porteurs de métastases cérébrales évolutives. En revanche, les patients avec des métastases cérébrales contrôlées après chirurgie ou radiothérapie depuis plus de 4 semaines étaient éligibles. Un traitement par corticothérapie pouvait être associé pour ces patients
- Les patients suspects d'envahissement tumoral > 25% de la moelle osseuse
- Les patients porteurs de CBPNPC avec mutation tumorale du gène EGFR.
- Les patients aux antécédents d'irradiation > 25% de la moelle osseuse ou d'irradiation supérieure au niveau maximal toléré pour un organe spécifique.
- Les patients aux antécédents de réactions d'hypersensibilité à l'administration d'Ac ou de peptides.

Tous les patients ont bénéficié dans le mois précédant la PRIT d'un bilan biologique et par imagerie, comprenant dans tous les cas un TDM thoraco-abdominal et une TEP au FDG, le bilan pouvant être éventuellement complété par une IRM en cas de doute sur une atteinte cérébrale et/ou ostéo-médullaire.

2.2 Produits de l'étude et marquage

Le TF2 est une construction trivalente et bispécifique comprenant trois fragments Fab, élaborée selon la technologie de "Dock and Lock" (32). Le TF2 est composé de deux fragments Fab d'Ac monoclonal humanisé hMN-14, spécifique pour l'ACE (anti-ACECAM5) et d'un fragment Fab d'Ac monoclonal humanisé h679 reconnaissant spécifiquement le haptène histamine-succinyl-glycine (HSG). Son poids moléculaire est voisin de 156 kDa. L'IMP288 (DOTA-D-Tyr-D-Lys (HSG)-D-Glu-D-Lys (HSG)-NH₂), (Immunomedics Inc., New Jersey, Etats-Unis), PM 1456 Da, est un peptide possédant deux résidus HSG pouvant se lier au TF2 et un ligand DOTA permettant des marquages aisés de haute stabilité avec différents radioéléments. L'Ac TF2, l'IMP288 ainsi que les réactifs nécessaires au marquage de l'IMP288 étaient fournis par la compagnie Immunomedics Pharmaceuticals (US). Ils sont importés et distribués en Europe par leur filiale allemande. L'IMP288 (4,4 nmol/m²) était marqué avec 185 MBq d'¹¹¹In (Mallinckrodt médical B.V, Petten, The Netherlands) pour la phase d'imagerie pré-thérapeutique S1. L'IMP288 (24 nmol/m²) était marqué avec 1,1 GBq/m² de ¹⁷⁷Lu (IDB radiopharmacy bv, Baarle-Nassau, The Netherlands) pour la phase thérapeutique S2. La pureté radiochimique était supérieure à 90% pour l'¹¹¹In-IMP288 et 99% pour le ¹⁷⁷Lu-IMP288.

Le TF2 était dilué dans 250 ml de NaCl 0,9% puis administré par voie intra-veineuse lente pendant une durée allant de 30 à 60 min. Le peptide radio-marqué ¹¹¹In or ¹⁷⁷Lu-IMP288 était dilué dans 50 ml de NaCl 0,9% puis injecté par IV lente pendant 30 min.

Compte-tenu du caractère potentiellement immunogène des Ac et des peptides, chaque patient a bénéficié d'une prémédication incluant un anti-histaminique de nouvelle génération (Xyzall®) associé à une injection de corticoïde (Dexaméthasone) dans les 30 minutes qui précédaient l'injection de l'Ac et du haptène. Une surveillance clinique rapprochée était effectuée au moment des injections d'Ac et d'haptène avec notamment une surveillance des constantes vitales (pouls, tension artérielle, température saturation en O₂) et de la survenue potentielle de manifestations d'hypersensibilité.

2.3 Design de l'étude et description des cohortes

Tous les patients ont bénéficié d'une phase d'imagerie pré-thérapeutique S1 utilisant le TF2 et l' ^{111}In -IMP avant la phase thérapeutique S2 et seuls les patients avec un ciblage de la maladie en S1 poursuivaient S2. Le délai entre S1 et S2 était de 8 ou 15 jours. Trois différentes conditions de préciblage ont été examinées dans 3 cohortes de 3 patients (tableau 2).

Dans la première cohorte (C1), les patients recevaient une dose de 7 mg/m^2 (44 nmol/m^2) de TF2 suivie, 48h plus tard, de l'injection de $4,4 \text{ nmol/m}^2$ d'IMP288 marqué avec 185 MBq d' ^{111}In pour la phase S1, puis $37,5 \text{ mg/m}^2$ (240 nmol/m^2) de TF2 suivi 48h plus tard par 24 nmol/m^2 d'IMP288 marqué avec $1,1 \text{ GBq/m}^2$ de ^{177}Lu pour la phase thérapeutique S2.

Dans la seconde cohorte (C2), seules les doses de TF2 étaient modifiées et multipliées par 2. Ainsi, les patients recevaient 14 mg/m^2 (88 nmol/m^2) de TF2 en S1 et 75 mg/m^2 (480 nmol/m^2) pour S2. Les doses d'IMP288, les activités d' ^{111}In et de ^{177}Lu ainsi que le délai de préciblage étaient identiques entre C1 et C2.

Dans la 3^{ème} cohorte (C3), les doses de TF2, d'IMP288 ainsi que les activités d' ^{111}In et de ^{177}Lu étaient stables par rapport à C2 mais le délai de préciblage était réduit à 24h.

S'agissant d'une étude multicentrique, six centres français ont été ouverts et qualifiés pour effectuer le radiomarquage de l'IMP288. Il s'agissait des services de médecine nucléaire des CHU de Brest, Angers, Grenoble, Clermont-Ferrand, Nantes ainsi que le service de médecine nucléaire de l'Institut de Cancérologie de l'Ouest René Gauducheau à Saint Herblain.

| | S1: imagerie pré-thérapeutique | | | S2: Thérapie | | |
|-------------|--------------------------------|-------|--------------------------|-------------------------|-------|--------------------------|
| | TF2 dose | Délai | ¹¹¹ In-IMP288 | TF2 dose | délai | ¹⁷⁷ Lu-IMP288 |
| Cohorte I | 7 mg/m ² | 48h | 185 MBq | 37,5 mg/m ² | 48h | 1,1 GBq/m ² |
| | 44 nmol/ m ² | | 4,4 nmol/ m ² | 240 nmol/m ² | | 24 nmol/m ² |
| Cohorte II | 14 mg/m ² | 48h | 185 MBq | 75 mg/m ² | 48h | 1,1 GBq/m ² |
| | 88 nmol/ m ² | | 4,4 nmol/ m ² | 480 nmol/m ² | | 24 nmol/m ² |
| Cohorte III | 14 mg/m ² | 24h | 185 MBq | 75 mg/m ² | 24h | 1,1 GBq/m ² |
| | 88 nmol/ m ² | | 4,4 nmol/ m ² | 480 nmol/m ² | | 24 nmol/m ² |

Tableau 2: Schémas thérapeutiques des différentes cohortes.

2.4 Immunoscintigraphie (IS)

Des IS en mode planaire corps entier (CE) et en mode tomographique par tomographie par émission monophotonique (TEMP) étaient enregistrées lors des phases S1 et S2 selon la séquence suivante :

- J0 (jour de l'injection du haptène) :
 - CE 1 h après la fin de la perfusion
 - CE + TEMP/TDM double lit thorax-abdomen-pelvis 2 à 4 h après la fin de la perfusion
- J1: CE + TEMP/TDM double lit thorax-abdomen-pelvis
- J2 : CE + TEMP/TDM double lit thorax-abdomen-pelvis
- Entre J5 et J7 : CE + TEMP/TDM double lit thorax-abdomen-pelvis

En fonction de l'état clinique et de la tolérance, 3 à 5 séquences d'imagerie étaient programmées en S1 puis S2.

Les différents centres étant équipés d'un modèle de caméra identique, toutes les images étaient enregistrées sur une caméra SPECT/CT Symbia T/T2 Siemens. Les patients étaient autorisés à poursuivre la phase S2 si au moins une lésion métastatique connue, visualisée sur le bilan d'inclusion (TDM et/ou TEP au FDG) était visualisée sur les IS enregistrées en S1. Une étude dosimétrique était effectuée à partir des images TEMP/TDM enregistrées en S1 et S2. Les masses tumorales étaient délimitées automatiquement ou manuellement sur les images TEMP.

2.5 Dosimétrie

La quantification a été effectuée sur les reconstructions tomographiques en tenant compte de l'atténuation, de la diffusion Compton et de la fonction de réponse des collimateurs.

Les poids des organes cibles étaient obtenus en utilisant le logiciel « 3D slicer » (100) à partir des données issues du contourage manuel ou automatique des organes sur les images TDM. Pour la moelle osseuse, on considérait comme représentatif la segmentation du rachis lombaire de L2 à L4.

Les volumes tumoraux étaient estimés à partir du contourage des tumeurs sur les images SPECT en sélectionnant les coupes sur lesquelles le rapport signal/bruit de fond était considéré comme optimal.

Afin d'estimer les doses absorbées par organe en S1 et S2, les facteurs S extraits du MIRD ont été normalisés par le poids des organes pour chaque patient.

Les doses absorbées estimées en S1 étaient normalisées afin de tenir compte des différences de période physique entre les 2 radio-éléments.

Une étude de pharmacocinétique utilisant une approche par population a été effectuée à partir des données de quantification de l'IMP288 en S1 et en S2 au sein des organes cibles (CE, poumon droit, poumon gauche, foie, rein droit, rein gauche, moelle osseuse).

2.6 Surveillance post-PRIT

Chaque patient bénéficiait d'une surveillance biologique au décours du traitement afin de rechercher une éventuelle toxicité de la PRIT. La surveillance proposée était la suivante :

- NFS plaquettes : toutes les semaines pendant 8 semaines (ou jusqu'à récupération d'une Hg > 10 g/dl, de plaquettes > 100 g/l, de leucocytes > 2 g/l en cas de toxicité constatée) puis tous les 3 mois.
- Créatinine, ASAT, ALAT, bilirubine totale, phosphatases alcalines, calcium sanguin, phosphore, acide urique, sodium, potassium, et électrophorèse des protéines sériques à 4 semaines, 8 semaines puis tous les 3 mois.

La toxicité était évaluée selon les critères NCI version 3.0. Pour la toxicité hématologique, seules les valeurs d'Hg, de plaquettes et de leucocytes étaient prises en compte.

Une surveillance des HAHA était également effectuée par plusieurs prélèvements : 48h après la première injection de TF2, puis 4 semaines, 8 semaines et 3 mois après la seconde injection de TF2. Le dosage des Ac était effectué selon la méthode ELISA avec un seuil de détection à 50 ng/ml.

Chaque patient bénéficiait d'un suivi thérapeutique afin d'évaluer l'efficacité de la PRIT. Ce suivi thérapeutique nécessitait la réalisation d'un examen clinique ainsi que d'un TDM et d'une TEP au FDG 4 semaines après la PRIT, à 3 mois puis tous les 3 mois jusqu'à constatation d'une progression. La réponse morphologique était évaluée selon les critères RECIST (101).

2.7 Pharmacocinétique

Des études pharmacocinétiques étaient effectuées en S1 et S2 et des échantillons sanguins prélevés dans des tubes séparés après les injections de TF2, ^{111}In -IMP288 et ^{177}Lu -IMP288 aux temps suivants : avant le début de la perfusion, 5 minutes avant la fin de la perfusion, 5 minutes après la fin de la perfusion, 1 heure après la fin de la perfusion, 2 à 4 heures après la fin de la perfusion, 24 heures après la fin de la perfusion puis 4 autres prélèvements répartis entre 48 et 168 heures après la fin de la perfusion.

Les échantillons sanguins étaient centrifugés afin de récupérer le sérum puis congelés. Les concentrations sanguines de TF2 étaient déterminées selon la méthode ELISA en utilisant les réactifs fournis par Immunomedics®. Ces mesures de concentrations sériques du TF2 étaient faites de façon centralisée dans le service de biochimie du CHU de Nantes (Dr D. Masson). Les activités d' ^{111}In et de ^{177}Lu étaient mesurées, dans chaque centre, par comptage des échantillons de sérum (0,1 à 0,2 ml) dans un compteur gamma étalonné. Ces comptages étaient effectués immédiatement après avoir récupéré chaque série de tube puis corrigés de la décroissance.

Les pharmacocinétiques étaient ensuite étudiées suivant une approche compartimentale en utilisant un logiciel d'analyse pharmacocinétique des populations développé par Jacques Barbet et validé grâce à une étude comparative avec les logiciels MONOLIX (102). Les paramètres utilisés pour ajuster la cinétique du TF2 sur un modèle bi-compartimental étaient les taux de transfert ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), le taux d'élimination (k_{el}) et le volume du compartiment central VBA exprimé par unité de surface corporelle (Volume/m^2) (figure 7). Le volume compartiment central V_c était un paramètre dépendant de la surface corporelle du patient utilisée ici comme co-variable. Ce volume V_c était calculé selon la formule $V_c = \text{Volume}/\text{m}^2$ (VBA) x surface corporelle du patient (BSA).

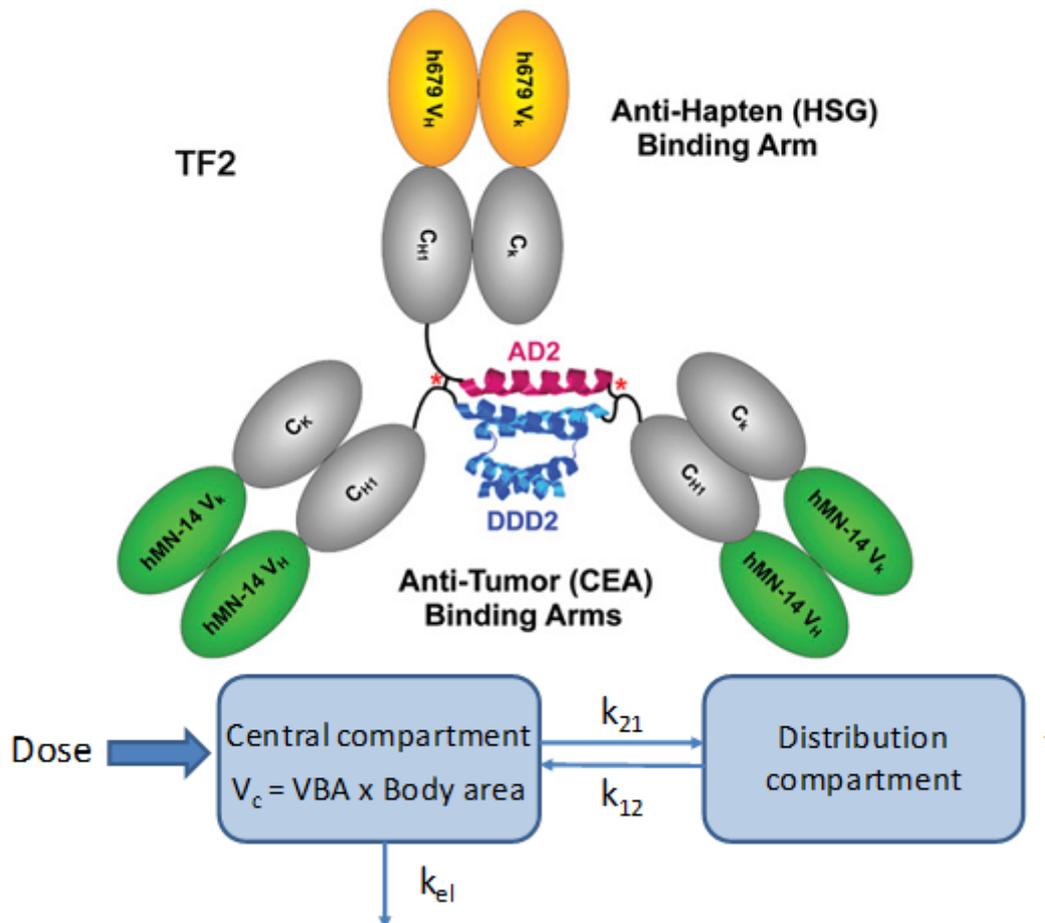


Figure 7: Analyse compartimentale de la cinétique du TF2 et de l'IMP288

Pour l'analyse pharmacocinétique de l'IMP288, plusieurs variables ont été testées pour représenter l'influence du TF2 sur la cinétique de l'IMP288 : la concentration sérique de TF2 au moment de l'injection du haptène, calculée à partir de la concentration de TF2 extrapolée à l'heure d'injection du haptène, la quantité de TF2 circulante au même moment, obtenue à partir de sa concentration multipliée par le volume du compartiment central obtenue dans l'analyse pharmacocinétique du TF2 et enfin le rapport molaire de la quantité d'IMP288 injecté sur la quantité de TF2 circulante au moment de l'injection de l'IMP288. Ce dernier paramètre a été finalement considéré comme la meilleure co-variable. Il représente en effet la capacité du TF2 circulant à fixer le haptène et donc à freiner sa clairance. Les taux de transfert ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), et le volume du compartiment central exprimé par unité de surface corporelle (Volume/m^2) étaient des paramètres ajustables. La clairance était calculée selon $A_5 \times \text{MR}^{B_5}$ avec MR le rapport du nombre de moles de IMP288 injecté sur le nombre de moles de TF2 présentes dans la circulation au moment de l'injection de l'IMP288, A_5 et B_5 étant 2 paramètres ajustables et k_{el} étant calculé comme la clairance/ V_c .

Pour l'étude de cinétique de l'IMP288 à partir des images, l'activité calculée à partir des images pour le corps entier était modélisée comme la somme des compartiments centraux et des compartiments de distribution. Les paramètres utilisés pour ajuster la cinétique étaient les taux de transfert ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$). Deux autres paramètres ajustables A_{WB} ad B_{WB} , étaient utilisés pour calculer le taux d'élimination selon la formule $k_{el} = A_{WB} \times MR^{B_{WB}}$.

Pour l'analyse pharmacocinétique de la distribution tissulaire à partir de la quantification des images, la cinétique corps entier était utilisée comme une fonction d'entrée et la distribution tissulaire de l'IMP288 dans les tissus d'intérêt était modélisée au moyen d'un compartiment de distribution spécifique pour chaque tissu et d'une fraction de l'activité dans le compartiment central. Les paramètres ajustables, pour chaque tissu, étaient les constantes k_{on} et k_{off} , et cette fraction de l'activité.

III. Principaux résultats

3.1 Caractéristiques des patients

Dix patients ont été inclus : 1 patient au CHU de Brest, 2 patients au CHU d'Angers, 2 au CHU de Nantes et 5 à l'ICO-Gauducheau. Neuf des 10 patients ont été traités, l'un des patients inclus à Nantes ICO étant décédé entre l'inclusion et le début du protocole. Six patients étaient porteurs de CBPPC et 3 CBPNPC dont 1 adénocarcinome et 2 carcinomes épidermoïdes. Les caractéristiques cliniques des 9 patients inclus et traités sont résumées dans le tableau 3.

Chaque patient a reçu 185 MBq d' ^{111}In -IMP288 pour S1 et des activités allant de 1 641 à 3 026 MBq de ^{177}Lu -IMP288 pour S2. Les activités spécifiques médianes injectées étaient 24 MBq/nmol [range 16-30 MBq/nmol] pour l' ^{111}In -IMP288 et 47 MBq/nmol [range 45-53 MBq/nmol] pour le ^{177}Lu -IMP288. Un patient est décédé de progression 5 jours après la PRIT. Les données incomplètes de ce patient n'ont pas permis son analyse.

| | |
|---|-------------------|
| Age Médian | 65 [53-80] |
| Homme/femme | 7/2 |
| Type Histologique | 6 CBPPC/ 3 CBPNPC |
| Index de Karnofsky | |
| 90-100 | 5 |
| 70-80 | 2 |
| 60-70 | 2 |
| ACE plasmatique médian [min-max] | 79 ng/ml [10-388] |
| Traitements antérieurs | |
| Chimiothérapie | 100% |
| Radiothérapie | 67% |
| Chirurgie | 33% |
| Inhibiteurs de la Tyrosine Kinase | 11% |
| Sites de la maladie | |
| Poumons | 78% |
| Médiastin | 78% |
| Foie | 56% |
| Pancréas | 22% |
| Surrénales | 33% |
| Ganglions sous- diaphragmatiques | 33% |
| Os | 11% |
| Muscle | 11% |
| Cerveau | 11% |
| Délai médian depuis le diagnostic initial [min-max] | 25 mois [10-64] |

Tableau 3: Données cliniques de l'ensemble de la population

3.2 Toxicité et immunisation

Aucun patient n'a présenté de réaction d'hypersensibilité au moment des injections de TF2 ou de haptène.

La toxicité hématologique de la PRIT était très limitée : une thrombopénie de grade 1 a été constatée chez 2/8 patients évalués, et une anémie de grade 2 survenue 3 mois après l'administration du ¹⁷⁷Lu -IMP288 chez 1 patient. Trois patients porteurs de métastases hépatiques à l'inclusion ont présenté une élévation des transaminases (ASAT/ALAT) durant le suivi, élévation attribuée une progression tumorale confirmée par l'imagerie et considérée comme non en rapport avec la PRIT. Il n'a pas été constaté de toxicité rénale.

Une élévation des HAHA a été observée chez 1 des 8 patients pour lesquels le suivi biologique avait été effectué. Ce dosage était évalué à 2 966 ng/ml 4 semaines après la PRIT puis à 969 ng/ml sur le suivi à 3 mois.

3.3 Réponse thérapeutique

Aucune réponse objective n'a été constatée. Deux patients ont néanmoins été considérés en maladie stable selon les critères RECIST sur le bilan TDM ainsi que sur la TEP au FDG enregistrés 4 semaines après la PRIT. Ces 2 patients étaient progressifs à 3 mois. Une progression était rapportée chez les 6 autres patients dès 4 semaines après la PRIT.

3.4 Pharmacocinétique

3.4.1 Cinétique du TF2

La modélisation simultanée des perfusions TF2 en S1 et S2 a montré que, malgré des quantités molaires de TF2 différentes entre les deux sessions, les profils pharmacocinétiques obtenus en S1 et S2 étaient identiques (Figure 8). En utilisant une approche par population, les paramètres cinétiques sont ajustés d'abord pour l'ensemble des patients, en tenant compte des co-variables pour chacun, puis, pour chaque patient, en introduisant, pour l'ajustement des paramètres cinétiques individuels, une contrainte représentée par le carré de la différence entre valeur ajustée et valeur de population pondéré par la variance estimée de la valeur de population.

Les faibles différences constatées entre les valeurs des paramètres individuels et celles des paramètres de population, et donc entre les courbes pharmacocinétiques obtenues, montraient que la variabilité inter-individuelle des profils pharmacocinétiques du TF2 était faible.

Les cinétiques sériques du TF2 étaient rapides avec une demi-vie alpha moyenne de $3,7 \pm 0,1$ heures et une demi-vie bêta moyenne de $21,3 \pm 0,7$ heures, la variabilité inter-individuelle étant très faible (3,2 et 3,3%, respectivement). La clairance sérique moyenne du TF2 était rapide et évaluée à $0,64 \pm 0,12$ l / h (tableau 4).

L'utilisation de la surface corporelle (BSA) en tant que co-variable (selon la formule $V_c = VBA \times BSA$) réduisait le coefficient de variation du volume du compartiment central (V_c) de 19% à 4,0 % pour le paramètre estimé (VBA). Cette observation validait a posteriori l'intérêt du calcul des doses de TF2 injectées en fonction de la surface corporelle de chaque patient.

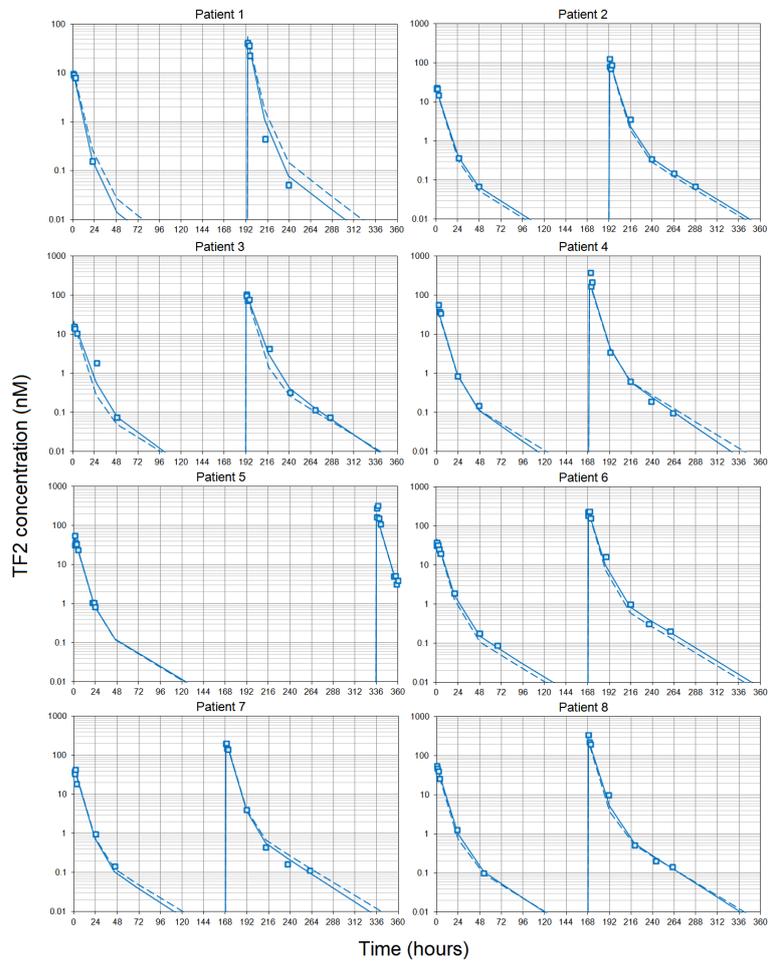


Figure 8 : Courbes pharmacocinétiques du TF2 représentées pour chaque patient.

Les données pharmacocinétiques étaient modélisées selon un modèle bi-compartmental par une approche de population. Les courbes sont représentées en mode semi-logarithmique en pointillé pour les cinétiques de population et en lignes continues pour les cinétiques individuelles.

| Paramètres | $k_{2,1}$ (h^{-1}) | $k_{1,2}$ (h^{-1}) | k_{el} (h^{-1}) | Volume/ m^2 (L/m^2) | Vc (L) | Clairance (L/h) |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|--------|--------------------|
| Valeurs de la population | | | | | | |
| Estimation | 0,034 | 0,0075 | 0,182 | 1,86 | NA | NA |
| DS | 0,002 | 0,0005 | 0,003 | 0,04 | NA | NA |
| Valeurs individuelles | | | | | | |
| Patient 1 | 0,033 | 0,0062 | 0,194 | 2,00 | 4,01 | 0,78 |
| Patient 2 | 0,033 | 0,0080 | 0,177 | 1,82 | 2,71 | 0,48 |
| Patient 3 | 0,036 | 0,0081 | 0,169 | 1,83 | 4,93 | 0,84 |
| Patient 4 | 0,036 | 0,0071 | 0,182 | 1,80 | 3,33 | 0,61 |
| Patient 5 | 0,034 | 0,0075 | 0,1,83 | 1,81 | 3,05 | 0,56 |
| Patient 6 | 0,033 | 0,0085 | 0,174 | 1,84 | 3,20 | 0,56 |
| Patient 7 | 0,035 | 0,0068 | 0,183 | 1,92 | 3,73 | 0,68 |
| Patient 8 | 0,035 | 0,0073 | 0,177 | 1,77 | 3,45 | 0,61 |
| Moyenne | 0,034 | 0,074 | 0,180 | 1,85 | 3,52 | 0,64 |
| DS | 0,001 | 0,001 | 0,007 | 0,07 | 0,69 | 0,12 |
| VC | 5,5% | 14,5% | 9,0% | 7,7% | 21,4% | 20,1% |

$k_{2,1}$ and $k_{1,2}$: taux de transfert, k_{el} : taux d'élimination, Vc : Volume du compartiment central, DS : déviation standard.

Tableau 4 : Analyse de la pharmacocinétique du TF2 selon un modèle bi-compartimental.

3.4.2 Cinétique de l'IMP288

Pour comparer les pharmacocinétiques de l' ^{111}In -IMP288 et du ^{177}Lu -IMP288, les activités comptées sur les tubes indium ont été corrigées de la décroissance puis ajustées à la période du ^{177}Lu . On considérait ainsi que la pharmacocinétique de l'IMP288 était indépendante du radionucléide utilisé.

L'approche par population a montré une variabilité inter-individuelle plus grande des cinétiques de l'IMP288 que celle des cinétiques du TF2, probablement liée à l'influence de la pré-dose de TF2 sur le comportement sanguin de l'IMP288 (figure 9). Une corrélation étroite était mise en évidence entre les concentrations sanguines résiduelles de TF2 au moment de l'injection de l'IMP288 et le temps de résidence de l'IMP288 dans le sang.

La clairance moyenne de l'IMP288 était plus rapide que celle du TF2, évaluée entre 1,36 et 3,25 l/h selon les conditions de préciblage (tableau 5).

Ainsi, la cinétique de l'IMP288 étant principalement modulée par les paramètres de préciblage (dose molaire injectée de TF2 et délai de préciblage), et étant donné les faibles variabilités S1/S2 et inter-individuelles des cinétiques du TF2, la cinétique de la session S2 pouvait être prédite par S1 malgré des doses molaires différentes de TF2 et d'IMP288 par le fait que le rapport des doses molaires et le délai de préciblage étaient maintenus constant entre S1 et S2.

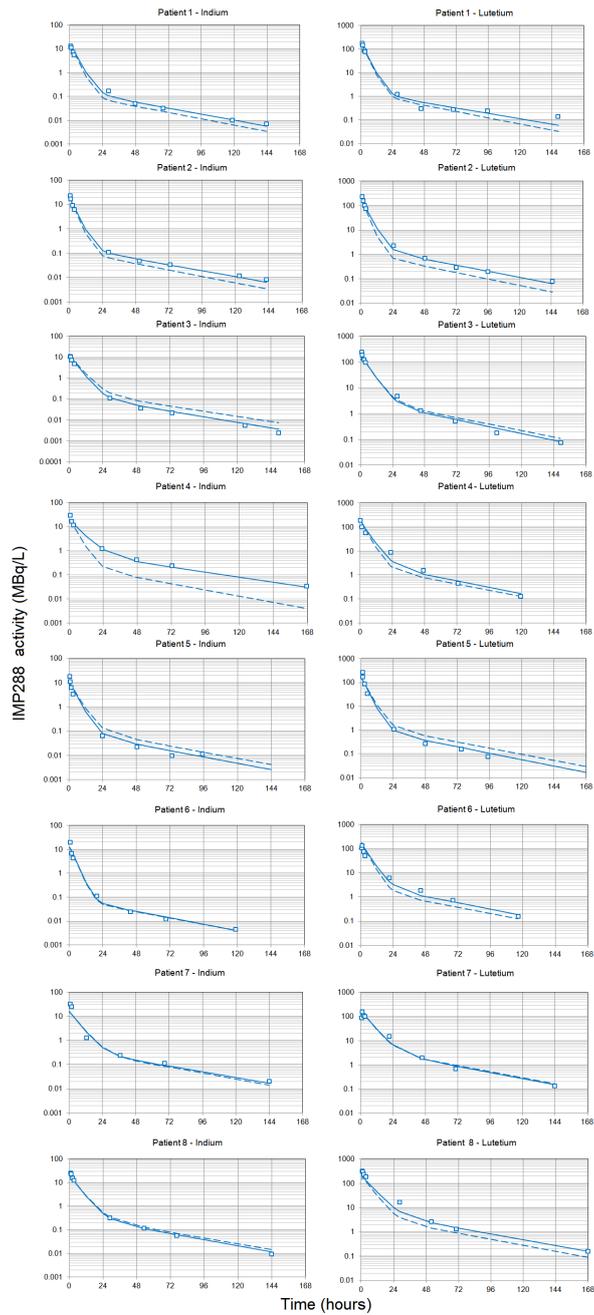


Figure 9 : Courbes pharmacocinétiques de l'IMP288 représentées pour chaque patient.

Les données pharmacocinétiques étaient modélisées selon un modèle bi-compartimental et par une approche de population. Les courbes sont représentées en mode semi-logarithmique en pointillé pour les cinétique de population et en lignes continues pour les cinétiques individuelles.

| Paramètres | $k_{2,1}$ (h ⁻¹) | $k_{1,2}$ (h ⁻¹) | A _s | B _s | MR | k_{el} (h ⁻¹) | Volume/m ² (L/m ²) | Vc (L) | Clearance (L/h) |
|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------|----------------|-------|-----------------------------|--|--------|--------------------|
| Valeurs de la population | | | | | | | | | |
| Estimation | 0,027 | 0,019 | 1,42 | 0,182 | NA | NA | 6,38 | NA | NA |
| DS | 0,001 | 0,002 | 0,07 | 0,012 | NA | NA | 0,27 | NA | NA |
| Valeurs individuelles | | | | | | | | | |
| Patient 1, Indium | 0,027 | 0,021 | 1,35 | 0,169 | 124,2 | 0,226 | 6,69 | 13,4 | 3,04 |
| Patient 1, Lutétium | 0,024 | 0,021 | 1,37 | 0,172 | 125,5 | 0,241 | 6,50 | 13,1 | 3,15 |
| Patient 2, Indium | 0,026 | 0,023 | 1,31 | 0,167 | 40,7 | 0,250 | 6,54 | 9,7 | 2,43 |
| Patient 2, Lutétium | 0,027 | 0,022 | 1,22 | 0,156 | 40,1 | 0,219 | 6,63 | 9,9 | 2,16 |
| Patient 3, Indium | 0,028 | 0,015 | 1,53 | 0,199 | 35,7 | 0,185 | 6,23 | 16,8 | 3,11 |
| Patient 3, Lutétium | 0,028 | 0,017 | 1,43 | 0,183 | 37,8 | 0,165 | 6,25 | 16,8 | 2,78 |
| Patient 4, Indium | 0,026 | 0,026 | 0,92 | 0,141 | 22,6 | 0,112 | 6,90 | 12,7 | 1,43 |
| Patient 4, Lutétium | 0,029 | 0,019 | 1,29 | 0,167 | 22,0 | 0,173 | 6,78 | 12,5 | 2,17 |
| Patient 5, Indium | 0,027 | 0,017 | 1,53 | 0,196 | 22,5 | 0,235 | 6,15 | 12,0 | 2,82 |
| Patient 5, Lutétium | 0,028 | 0,017 | 1,52 | 0,196 | 31,1 | 0,249 | 6,13 | 11,9 | 2,97 |
| Patient 6, Indium | 0,027 | 0,019 | 1,41 | 0,179 | 109,0 | 0,291 | 6,44 | 11,2 | 3,25 |
| Patient 6, Lutétium | 0,028 | 0,021 | 1,31 | 0,170 | 18,8 | 0,179 | 6,93 | 12,0 | 2,15 |
| Patient 7, Indium | 0,027 | 0,022 | 1,41 | 0,181 | 3,3 | 0,146 | 6,21 | 12,0 | 1,76 |
| Patient 7, Lutétium | 0,028 | 0,018 | 1,41 | 0,181 | 3,2 | 0,137 | 6,54 | 12,7 | 1,74 |
| Patient 8, Indium | 0,028 | 0,018 | 1,44 | 0,182 | 2,3 | 0,161 | 6,18 | 10,4 | 1, ⁶⁸ |
| Patient 8, Lutétium | 0,028 | 0,020 | 1,16 | 0,174 | 2,5 | 0,124 | 6,49 | 10,9 | 1,36 |
| Moyenne | 0,027 | 0,020 | 1,35 | 0,176 | | 0,193 | 6,47 | 12,4 | 2,37 |
| DS | 0,001 | 0,003 | 0,16 | 0,015 | | 0,052 | 0,27 | 2,0 | 0,65 |
| VC | 4,5% | 14,3% | 11,5% | 8,6% | | 27,0% | 4,1% | 16,4% | 27,5% |

$k_{2,1}$ and $k_{1,2}$: taux de transfert, k_{el} : taux d'élimination, Vc : Volume du compartiment central, DS : déviation standard.

Tableau 5 : Analyse de la pharmacocinétique de l'IMP288 selon un modèle bi-compartimental

3.5 Imagerie

3.5.1 Ciblage tumoral

Les images enregistrées après l'injection d' ^{111}In -IMP288 montraient un ciblage des lésions tumorales connues pour l'ensemble des patients, leur permettant à tous d'intégrer la phase thérapeutique S2 du protocole.

Le ciblage tumoral était identique entre les images enregistrées à l' ^{111}In et celles au ^{177}Lu , avec cependant, selon l'analyse visuelle, un meilleur contraste tumoral chez les patients inclus dans C2 et C3 par rapport à C1.

Les figures 10, 11 et 12 montrent des exemples d'images enregistrées chez un patient inclus dans chacune des cohortes.

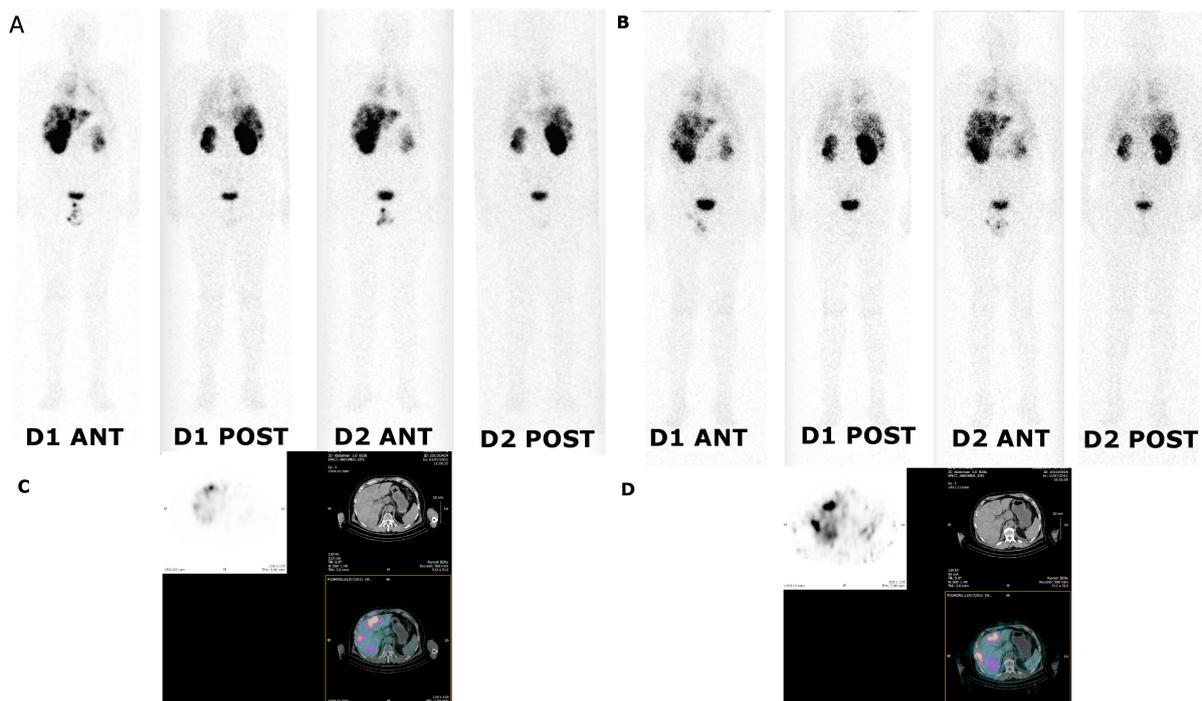


Figure 10 : Exemple d'un patient inclus dans la première cohorte.

Il s'agit d'un patient porteur d'un CBPPC avec une élévation de l'ACE plasmatique à 79 ng/ml. Les images enregistrées à l'indium (A-C) et au lutétium (B-D) montrent un ciblage tumoral de lésions métastatiques connues du foie, du poumon et du médiastin mais avec un contraste assez faible.

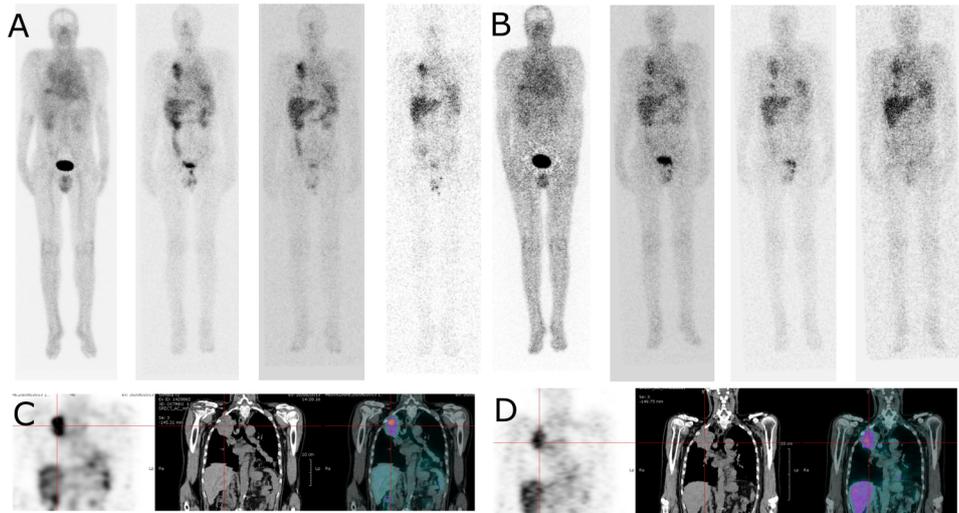


Figure 11 : Exemple d'un patient inclus dans la seconde cohorte.

Il s'agit d'un patient porteur d'un adénocarcinome broncho-pulmonaire, avec une élévation de l'ACE plasmatique à 275 ng/ml. Les images CE et SPECT/CT montrent un ciblage des lésions métastatiques pulmonaires connues avec un bon contraste (B & D). Il s'agit d'un patient considéré comme stable selon les critères RECIST à 4 semaines du traitement mais progressif à 3 mois. Il s'agit du seul patient chez lequel une élévation des HAHA fut constatée 4 semaines après la dernière injection de TF2

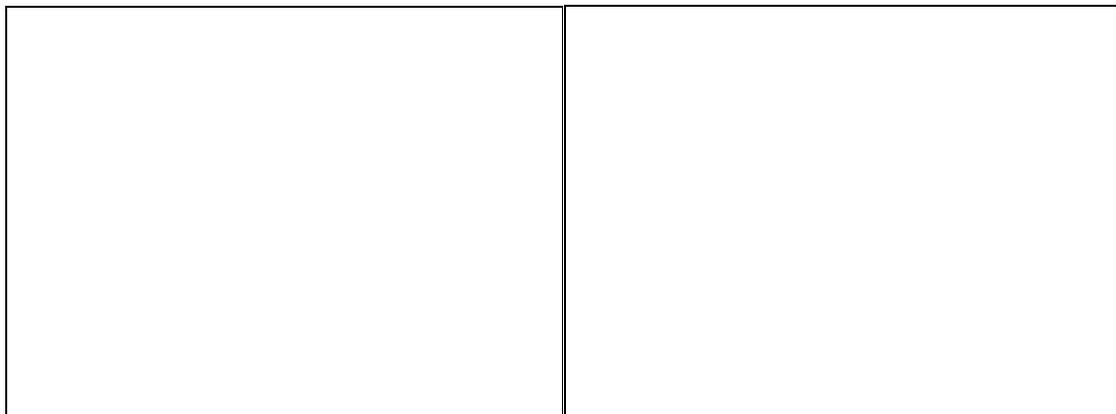


Figure 12 : Exemple d'un patient inclus dans la 3^{ème} cohorte.

Il s'agit d'un patient porteur d'un carcinome épidermoïde avec un taux d'ACE élevé à 94.4 ng/ml. Les images corps entier enregistrées 4, 24,48 et 72h après l'injection de ¹¹¹In-IMP288 (A) et ¹⁷⁷Lu-IMP288 (B) montrent un ciblage très franc des lésions pulmonaires métastatiques connues.

3.5.2 Dosimétrie

3.5.2.1 Doses absorbées par organe

Les doses absorbées par organe ont été estimées en S1 et en S2 puis normalisées par l'activité injectée en S2 (tableaux 6 et 7, figure 13). Les doses absorbées par organe étaient très faibles en S1 comme en S2. La dose absorbée à la moelle osseuse n'excédait pas 0,13 mGy/MBq en S1 et 0,31 mGy/MBq en S2.

| mGy/MBq | CE | Poumon droit | Poumon gauche | Foie | Rate | Rein droit | Rein Gauche | Moelle osseuse |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Cohorte I N=3 | 0,03 [0,02, 0,03] | 0,12 [0,07, 0,13] | 0,09 [0,07, 0,15] | 0,07 [0,06, 0,19] | 0,08 [0,06, 0,08] | 0,37 [0,25, 1,32] | 0,37 [0,22, 0,33] | 0,08 [0,01, 0,03] |
| Cohorte II N=3 | 0,05 [0,02, 0,07] | 0,15 [0,09, 0,16] | 0,13 [0,10, 0,14] | 0,18 [0,12, 0,26] | 0,26 [0,12, 0,26] | 0,52 [0,27, 0,66] | 0,51 [0,26, 0,72] | 0,08 [0,08, 0,19] |
| Cohorte III N=3 | 0,04 [0,03, 0,07] | 0,14 [0,14, 0,15] | 0,14 [0,07, 0,15] | 0,22 [0,20, 0, ⁹⁰] | 0,20 [0,15, 0,22] | 0,31 [0,16, 0,42] | 0,30 [0,16, 0,37] | 0,13 [0,12, 0,20] |

Tableau 6 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées (en mGy/MBq) par organe normalisées par l'activité injectée mesurée à la phase S1.

| mGy/MBq | CE | Poumon droit | Poumon gauche | Foie | Rate | Rein droit | Rein Gauche | Moelle osseuse |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Cohorte I N=3 | 0,02 [0,02, 0,03] | 0,09 [0,08, 0,15] | 0,08 [0,06, 0,09] | 0,09 [0,07, 0,18] | 0,10 [0,09, 0,12] | 0,18 [0,16, 0,65] | 0,20 [0,16, 0,25] | 0,07 [0,06, 0,07] |
| Cohorte II N=3 | 0,07 [0,03, 0,07] | 0,17 [0,08, 0,20] | 0,11 [0,07, 0,14] | 0,29 [0,14, 0,35] | 0,16 [0,10, 0,22] | 0,30 [0,14, 0,69] | 0,28 [0,13, 0,54] | 0,14 [0,09, 0,23] |
| Cohorte III N=2 | 0,07 [0,06, 0,07] | 0,18 [0,18, 0,18] | 0,22 [0,21, 0,23] | 0,42 [0,39, 0,44] | 0,45 [0,44, 0,46] | 0,29 [0,18, 0,41] | 0,27 [0,18, 0,36] | 0,31 [0,31, 0,31] |

Tableau 7 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées (en mGy/MBq) par organe normalisées par l'activité injectée mesurées à la phase S2.

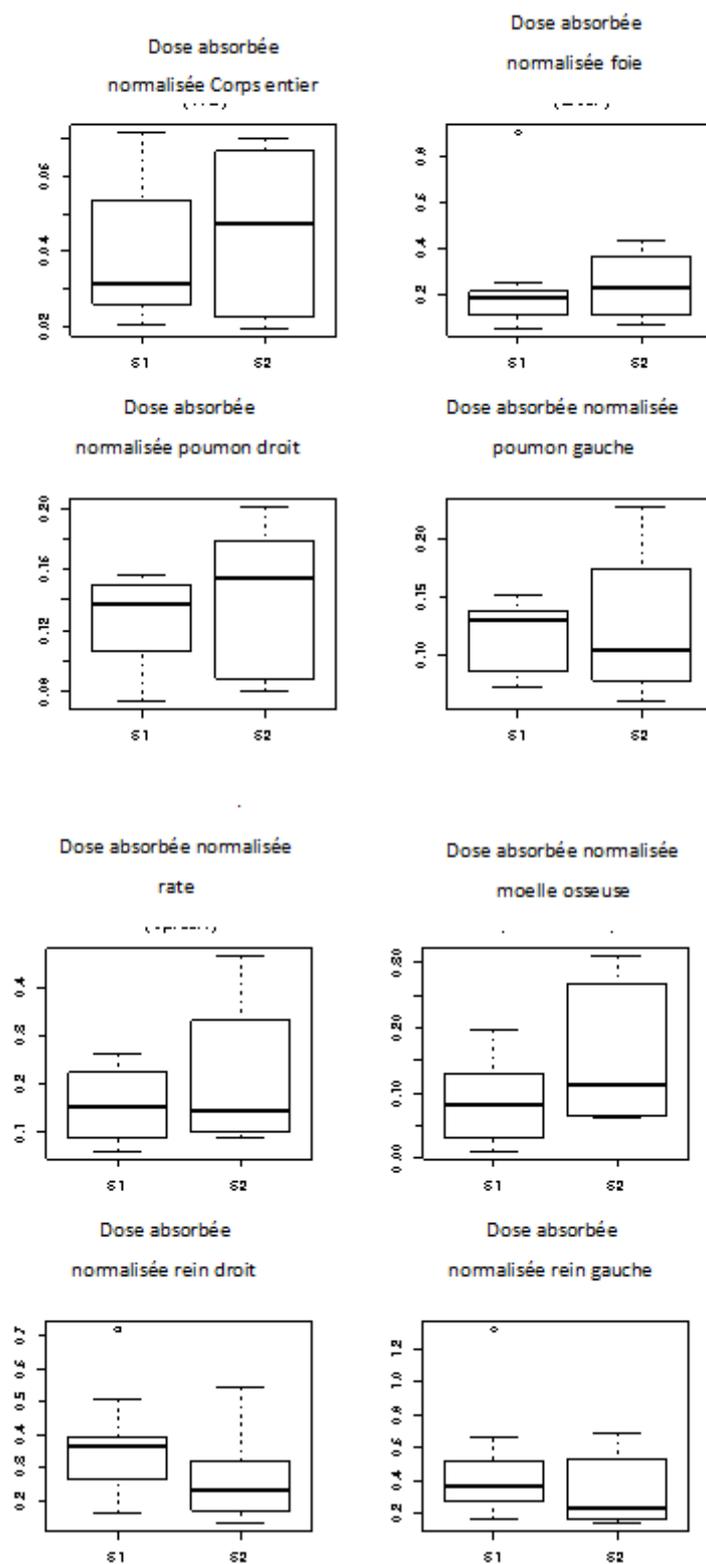


Figure 13 : Doses absorbées normalisées estimées par organe en fonction des sessions S1 et S2

Selon un test statistique de Wilcoxon, il n'existait pas de différence significative de doses absorbées aux organes entre les 3 cohortes de patients ($p < 0.05$) et les doses absorbées n'étaient pas significativement différentes entre les phases S1 et S2 (tableau 8).

| Wilcoxon test p-value | CE | Poumon droit | Poumon gauche | Foie | Rate | Rein droit | Rein gauche | Moelle osseuse |
|-----------------------|------|--------------|---------------|------|------|------------|-------------|----------------|
| Cohorte I | 1,00 | 1,00 | 0,20 | 1,00 | 0,70 | 0,40 | 0,10 | 0,10 |
| Cohorte II | 1,00 | 1,00 | 0,70 | 0,40 | 0,70 | 0,40 | 0,40 | 0,40 |
| Cohorte III | 0,20 | 0,67 | 0,20 | 0,80 | 0,20 | 0,80 | 0,80 | 0,20 |

Tableau 8 : Valeurs de p obtenues selon un test de Wilcoxon pour tester les différences de doses absorbées par organes obtenues entre S1 et S2.

Le test de Spearman retrouvait une bonne corrélation entre les doses absorbées par organe entre S1 et S2 (tableau 9).

| Spearman-test | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---------------|---------|-------|------------------|-------|---------|-------|-------|-------|
| Rho | 0,99 | 0,83 | 0, ⁹⁰ | 0,72 | 0,92 | 0,84 | 0,89 | 0,73 |
| p-value | <0,0001 | 0,031 | <0,0001 | 0,007 | <0,0001 | 0,003 | 0,001 | 0,015 |

Tableau 9 : Résultats du test de Spearman effectué pour rechercher une corrélation entre les doses absorbées par organe entre S1 et S2 pour les 8 patients étudiés.

Enfin, un test de Kruskal-Wallis était effectué pour comparer les doses absorbées par organe pour chaque cohorte entre S1 et S2. Cette analyse confirmait l'absence de différence significative de dose absorbée par cohorte entre S1 et S2 ($p > 0.07$).

Au total, cette analyse dosimétrique nous permettait donc de dire que la dose absorbée par organe sur les images enregistrées en S1 était prédictive de la dose absorbée par organe en S2.

3.5.2.2 Dose absorbée par la tumeur

Vingt-quatre tumeurs ont été analysées chez 8 patients. Les tumeurs étaient essentiellement localisées au poumon (37%) ou au foie (29%). La masse tumorale médiane était estimée à 19 g (variant de 1 à 1 364 g).

Les valeurs médianes des doses absorbées par les tumeurs étaient très faibles dans les 3 cohortes de patients, variant de 0,05 à 0,25 mGy/MBq en S1 et de 0,10 à 0,54 mGy/MBq en S2 avec des valeurs extrêmes allant de 0,02 à 0,12 mGy/MBq en S1 et de 0,52 à 1,08 mGy/MBq en S2 (tableau 10). Ces valeurs n'étaient pas significativement différentes selon un test statistique de Wilcoxon ($p > 0,13$) et étaient corrélées entre elles selon le test de Spearman ($\rho = 0,85$, $p < 0.0001$).

| | Session S1 | | | Session S2 | | |
|-------------|------------|------|------|------------|------|------|
| | Médian | Min. | Max | Médian | Min. | Max |
| Cohorte I | 0,05 | 0,02 | 0,77 | 0,10 | 0,07 | 0,52 |
| Cohorte II | 0,22 | 0,12 | 1,40 | 0,54 | 0,15 | 1,08 |
| Cohorte III | 0,25 | 0,07 | 2,91 | 0,47 | 0,19 | 0,74 |

Tableau 10 : Valeurs médianes et extrêmes des doses absorbées estimées en mGy/MBq aux tumeurs en S1 et S2

Au total, cette analyse dosimétrique nous permettait de dire que la dose absorbée par les tumeurs estimée à partir des images enregistrées en S1 était prédictive de la dose absorbée par les tumeurs estimée en S2.

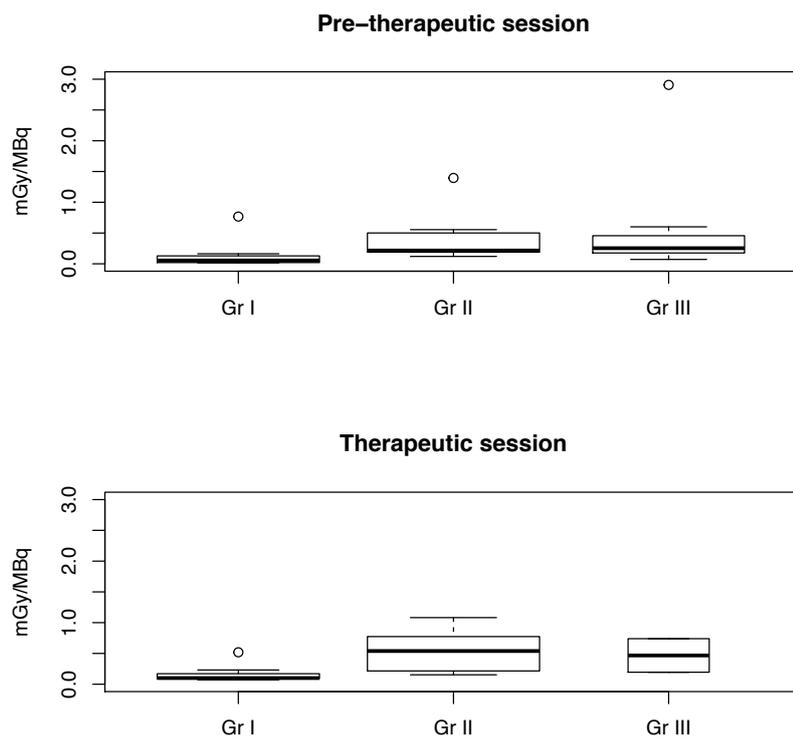


Figure 14 : Doses absorbées normalisées estimées aux tumeurs par cohortes en S1 et en S2

Par ailleurs, un test de Kruskal-Wallis comparant les doses tumorales absorbées entre les différentes cohortes montrait que les doses absorbées par les tumeurs étaient significativement moins élevées chez les patients inclus en C1 par rapport à C2 et C3 ($p < 0.002$, figure 14).

Ce résultat nous permettait donc de dire que la dose de TF2 injectée (moindre en C1 qu'en C2 et C3) avait une influence sur la dose absorbée tumorale.

En revanche, ce test ne mettait pas en évidence de différence significative de doses tumorales absorbées entre C2 et C3, ne validant pas, sur ces données dosimétriques, l'intérêt de la réduction du délai de préciblage à 24h.

3.5.3 Analyse pharmacocinétique de la distribution tissulaire à partir de la quantification des images.

La figure 15 représente les cinétiques de distribution de l'IMP288 marqué à l' ^{111}In et au ^{177}Lu obtenues à partir des données de quantifications du CE et des organes cibles (poumons droit et gauche, foie, rate, reins droit et gauche, moelle osseuse et tumeurs) pour 8 patients. Les cinétiques d'activités par organe cibles et pour les tumeurs étaient modélisées selon un modèle bi-compartmental pour le CE et chaque organe était ensuite modélisé selon une approche par population. Les activités tumorales étaient ajustées individuellement.

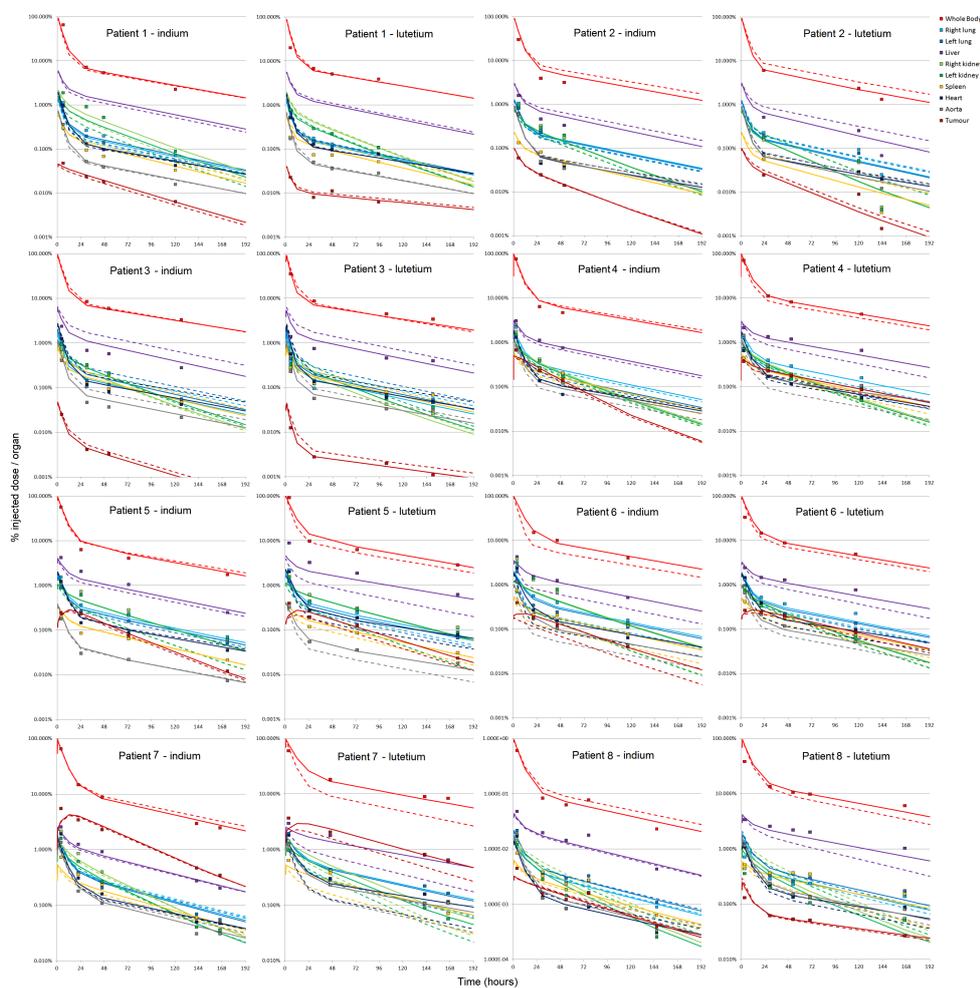


Figure 15 : Cinétiques de de l'IMP288 marqué à l' ^{111}In et au ^{177}Lu obtenues à partir des données de quantifications.

Les données pharmacocinétiques étaient modélisées selon un modèle bi-compartmental et par une approche de population. Les courbes sont représentées en mode semi-logarithmique en pointillé pour les cinétiques de population et en lignes continues pour les cinétiques individuelles.

IV. DISCUSSION

Le transfert en clinique de la PRIT requiert une optimisation précise des paramètres de préciblage. Afin d'augmenter la dose délivrée à la tumeur et réduire la toxicité, différents paramètres sont à prendre en compte, intéressant aussi bien les caractéristiques propres du système de préciblage (cinétique de fixation sur la cible, rapports tumeur sur organes sains), les radionucléides utilisés (nature et énergie des particules émises, temps de demi-vie) et la cible tumorale (niveau d'expression et homogénéité de distribution de l'Ag). Chaque nouveau système de préciblage nécessite une phase d'optimisation afin de déterminer les 3 paramètres essentiels qui interfèrent dans ce système : les doses molaires injectées d'AcBs et de haptène, le ratio AcBs/haptène, et l'intervalle d'injection entre l'AcBs et le haptène encore appelé délai de préciblage.

L'équipe hollandaise de Nijmegen avait déjà démontré la faisabilité de la PRIT utilisant le TF2 et le haptène IMP288 marqué au ^{177}Lu chez des patients porteurs de CCR en rechute (73). Dans cette étude de phase I d'optimisation, 4 cohortes de 5 patients étaient étudiées. La première cohorte recevait 75 mg de TF2 et 100 μg du peptide ^{177}Lu -IMP288 avec un délai de préciblage de 5 jours. Dans la seconde cohorte, les patients recevaient les mêmes quantités de TF2 et d'IMP288 (75mg, 100 μg) avec un délai de préciblage de 24 heures. La dose de TF2 était augmentée dans la troisième cohorte qui recevait 150 mg de TF2 et 24 heures plus tard de 100 μg d'IMP288. Enfin, le radiomarquage permettant d'obtenir une activité spécifique élevée avec le ^{177}Lu malgré une petite quantité de haptène, la dose de haptène a été réduite à 25 μg dans la 4^{ème} cohorte soit 75 mg TF2, suivie 24 heures plus tard de 25 μg d'IMP288. Chaque patient bénéficiait d'une phase d'imagerie pré-thérapeutique enregistrée dans les mêmes conditions de préciblage. L'analyse des données pharmacocinétiques obtenues selon la technique ELISA ainsi que des données d'imagerie montraient : (i) que la clairance du TF2 était très rapide, 99% du TF2 circulant étant éliminé 24 heures après la fin de la perfusion, (ii) que la concentration sérique de TF2 augmentait de façon proportionnelle avec la dose administrée, (iii) que la clairance de l'IMP288 était rapide, mais néanmoins ralentie par le raccourcissement du délai mais surtout par l'augmentation du ratio molaire TF2/IMP288, (iv) et enfin que le ciblage tumoral sur les images IS était meilleur quand la dose de haptène était réduite.

Ainsi, dans cette étude, Shoffelen et al. démontraient la faisabilité de la PRIT utilisant ce nouveau système TF2/IMP288, avec un ciblage tumoral rapide et spécifique de l'IMP288 marqué à l'indium ou au lutétium, ciblage optimisé par la réduction du délai de préciblage à 24 heure et de la

dose molaire de peptide. Néanmoins, du fait du comportement pharmacocinétique du TF2, très différent de celui d'un anticorps directement marqué, Shoeffelen et al. mentionnaient la nécessité d'études complémentaires d'une part pour déterminer si des améliorations du ciblage tumoral pouvaient encore être obtenues par modification des conditions de préciblage et d'autre part, afin de valider les paramètres de préciblage sur différents modèles tumoraux.

La phase d'optimisation de notre étude de phase I/II utilisant le même système de préciblage TF2/IMP288 sur une population de patients porteurs de CBP en rechute et exprimant l'ACE était conçue sur un schéma proche de celui publié par Shoeffelen et al. Notre objectif principal était de définir les paramètres optimaux de préciblage à partir de données pharmacocinétiques et d'imagerie obtenues dans 3 cohortes de 3 patients, en modifiant entre les cohortes les doses de TF2 (doses doublées entre C1 et C2/C3) et les délais de préciblage (48 heures pour C1/C2 et 24 heures pour C3). Chaque patient bénéficiait d'une phase pré-thérapeutique à l' ^{111}In (S1) et d'une phase thérapeutique au ^{177}Lu (S2). Comme dans l'étude hollandaise, les ratios molaires TF2/IMP288 étaient identiques entre S1 et S2.

Des modélisations pharmacocinétiques de la concentration sérique du TF2, de l'activité sérique de l'IMP288 (ajustée à la demi-vie physique du ^{177}Lu afin de permettre les comparaisons) et celle des activités de IMP288 dans les tissus et les tumeurs (segmentées sur les images SPECT) étaient effectuées grâce à une analyse compartimentale, en utilisant un logiciel de pharmacocinétique de population. Cette approche par population permettait une modélisation plus cohérente des données, même dans les cas où nous ne disposions que d'un faible nombre de paramètres (notamment pour le TF2 avec des concentrations parfois trop faibles pour être détectées par les dosages ELISA ou pour l'imagerie, certaines images ne pouvant être enregistrées du fait d'une mauvaise tolérance par le patient).

Dans la cohorte C1 évaluant la plus faible quantité de TF2 avec un délai de pré-ciblage de 48 heures, on observait une clairance très rapide du TF2 et une faible captation tumorale sur les IS du fait d'une concentration résiduelle de TF2 au moment de l'injection de l'IMP288 trop faible et ainsi d'une clairance très rapide de l'IMP288.

Le doublement de dose de TF2 dans la cohorte C2 augmentait la concentration de TF2 circulante au moment de l'injection du haptène, augmentant ainsi la captation tumorale du haptène tout en réduisant sa clairance. Cela permettait, selon les données dosimétriques, d'augmenter la dose absorbée aux tumeurs, sans augmentation significative de la dose absorbée aux organes.

Enfin dans la 3^{ème} cohorte C3, le raccourcissement du délai à 24 heures augmentait les concentrations circulantes de TF2 par rapport à C2 sans augmenter de façon significative les doses absorbées aux organes. Etonnamment, on ne constatait pas d'augmentation significative de la dose absorbée par les tumeurs dans cette cohorte, avec néanmoins la réserve liée au fait que les données dosimétriques n'étaient exploitables que chez 2 patients, l'un montrant une fixation tumorale élevée et l'autre une fixation faible.

Ainsi, les données pharmacocinétiques et dosimétriques obtenues dans notre étude démontraient, comme celles de Shoffelen et al., l'intérêt d'augmenter la dose de TF2 (et ainsi le ratio molaire TF2/IMP288) et suggéraient l'intérêt d'une réduction du délai de préciblage à 24 heures (74).

Chaque patient inclus dans notre étude bénéficiant d'une phase pré-thérapeutique S1, dans les mêmes conditions de pré-ciblage que la phase thérapeutique S2, le second objectif de l'étude était de démontrer que la session S1 était prédictive, en termes de pharmacocinétique comme de dosimétrie, et ainsi de démontrer le rôle théranostique de S1 par rapport à S2. L'analyse des profils pharmacocinétiques du TF2 et de l'IMP288 entre les individus et entre les sessions S1 et S2 nous permettait de dire que les profils pharmacocinétiques du TF2 variaient peu entre les différents individus, mais également entre les sessions S1 et S2 (malgré des doses molaires injectées différentes) et qu'une corrélation étroite était mise en évidence entre les concentrations sanguines résiduelles de TF2 au moment de l'injection de l'IMP288 (qui dépendait de la dose injectée et du délai de préciblage) et le temps de résidence de l'IMP dans le sang (car l'haptène se lie avec le TF2 circulant ce qui provoque un ralentissement de sa clairance (68)). Ainsi, la cinétique de l'IMP288 étant principalement modulée par les paramètres de préciblage (dose molaire injectée de TF2 et délai de préciblage), et étant donné les faibles variabilités S1/S2 et inter-individuelles des cinétiques du TF2, la cinétique de la session S2 pouvait être prédite par S1 malgré des doses molaires différentes de TF2, à condition que les rapports molaires TF2/IMP288 et les intervalles de préciblage soient inchangés.

De la même façon, les données d'imagerie nous montraient que les doses absorbées par les tissus et les tumeurs en S2 pouvaient être prédites à partir des données de S1. En effet, les différents tests statistiques effectués à partir des données dosimétriques obtenues en S1 et S2 ne montraient pas de différences significatives de doses absorbées par les tissus et les tumeurs entre S1 et S2. Malgré des approches différentes, nos résultats étaient concordants avec ceux obtenus par Schoffelen et al. qui démontraient, dans un autre modèle tumoral, que par le biais de données dosimétriques et pharmacocinétiques enregistrées en phase pré-thérapeutique, il était possible d'effectuer un calcul personnalisé des activités à administrer pour la phase thérapeutique de l'étude ((74). Dans cette étude, la moelle osseuse et les reins étant considérés comme les organes les plus à risque de toxicité, l'activité de lutétium à administrer ne devait pas délivrer plus de 1,25 Gy à la moelle et 15 Gy aux reins. Supposant que les pharmacocinétiques et biodistributions de l'¹¹¹In-IMP288 et du ¹⁷⁷Lu-IMP288 étaient identiques, les images et les données pharmacocinétiques de la phase pré-thérapeutique à l'¹¹¹In étaient utilisées pour définir l'activité du ¹⁷⁷Lu délivrée à la phase thérapeutique de l'étude.

Notre étude et celle de l'équipe hollandaise démontrent ainsi la valeur théranostique de la phase pré-thérapeutique, de part sa capacité, d'une part à sélectionner les patients potentiellement candidats au traitement mais d'autre part également à définir, par le biais d'études pharmacocinétiques et dosimétriques, les activités thérapeutiques à administrer, pour augmenter l'efficacité tumorale tout en limitant la toxicité. Ce rôle théranostique de la session pré-thérapeutique n'est néanmoins valable qu'à condition de garder un rapport molaire AcBs/haptène et un délai de pré-ciblage constants entre les 2 phases.

La toxicité hématologique a été extrêmement limitée (un cas de thrombopénie de grade 1 et un cas d'anémie de grade 2) dans notre étude, et seule une toxicité hépatique a été mise en évidence chez 3 patients, plutôt attribuée à la progression des métastases hépatiques qu'à une toxicité de la PRIT. Cette faible toxicité s'expliquait par les faibles activités administrées, mais également par les très faibles doses absorbées estimées aux tissus sains et aux tumeurs. Néanmoins, même si les doses absorbées constatées dans cette première partie d'étude étaient très faibles, les résultats dosimétriques semblaient montrer que les organes à risques pour la seconde partie de l'étude en escalade de dose à suivre seraient le foie et la moelle osseuse, et à un degré moindre les reins.

Malgré les faibles doses absorbées aux tumeurs, nous avons observé deux cas de stabilisation de la maladie sur le bilan effectué 4 semaines après la PRIT. Il s'agissait de 2 patients inclus dans la 2^{nde} cohorte, et qui avait donc reçu 75 mg/m² de TF2 avec un délai de préciblage de 48 heures. Si les données précliniques antérieures obtenues par Frampas et al. (17) et nos données pharmacocinétiques suggéraient qu'une augmentation des doses délivrées aux tumeurs pouvait être obtenue en diminuant le délai de préciblage (à 24 heures dans notre étude), nos données dosimétriques ne permettaient pas de valider cette hypothèse, sans doute du fait d'un manque de données, le dernier patient de la cohorte 3 n'ayant pu bénéficier des études pharmacocinétiques et dosimétriques de S2 compte tenu d'une aggravation brutale (non en lien avec le traitement) de son état général. Malgré cette absence de validation dosimétrique, l'ensemble des données nous a néanmoins incité à choisir un délai de préciblage de 24 heures pour la 2^{nde} phase de notre étude clinique actuellement en cours de recrutement. Avant de débiter cette seconde phase de l'étude, une 4^{ème} cohorte avec des doses injectées plus élevées de TF2 aurait pu être envisagée, afin d'augmenter la concentration sérique de TF2, la captation tumorale et ainsi l'efficacité. Les résultats des travaux préalables sur le TF2 qui ont montré que la quantité absolue d'Ac fixé sur la tumeur n'augmentait pas pour des doses de TF2 supérieures à un certain seuil et le coût élevé de production du TF2 ne nous ont pas incité à tester cette hypothèse (28). Schoffelen ayant montré qu'une réduction de la quantité de haptène et donc une augmentation du ratio TF2/IMP améliorerait le ciblage tumoral (ratio TF2/IMP à 55 dans leur étude versus 20 dans la notre), la 4^{ème} cohorte aurait également pu être construite en réduisant la quantité de haptène administrée jusqu'à 12 nmol pour obtenir un ratio TF2/IMP de 40 (73). L'escalade de dose de la 2^{nde} partie de l'étude nécessitant des marquages avec des activités élevées, nous avons préféré maintenir une quantité de haptène de 24 nmol afin de conserver la possibilité d'un marquage avec une haute activité.

Nos résultats, bien que préliminaires, suggèrent une efficacité thérapeutique limitée avec cette nouvelle approche de PRIT. En effet, comme déjà discuté précédemment, les doses absorbées aux tumeurs étaient très faibles expliquant aisément la faible efficacité thérapeutique constatée. En effet, les études dosimétriques ont permis d'estimer la dose absorbée aux tumeurs à un maximum de 1 à 2 mGy par MBq injecté chez les patients pour lesquels la fixation tumorale était optimale. Cela permet d'estimer qu'en injectant 5 GBq, les doses absorbées aux tumeurs seraient de 5 à 10 Gy dans les cas les plus favorables. Dans la phase 2 de l'étude, l'escalade de dose prévoit l'administration de dose de ¹⁷⁷Lu allant de 1.85 GBq/m² à 4.1 GBq/m² pour le palier le plus élevé. L'index de masse corporelle moyen étant de 1.8, les activités moyennes injectées aux 4 différents

paliers seraient d'environ 3 GBq, 5 GBq, 5.6 GBq et 7.5 GBq respectivement. Nos résultats dosimétriques et les résultats de nos travaux déjà publiés avec les précédentes générations d'AcBs dans un modèle de CBPPC justifient néanmoins la faible activité administrée au 1^{er} palier de l'escalade de dose (21). En effet, au vue des données dosimétriques, l'administration de 5 GBq délivrerait 2 à 2,5 Gy au foie, ce qui est peu, mais déjà 1 à 1,5 Gy à la moelle osseuse, ce qui n'est pas négligeable et potentiellement limitant en terme de toxicité hématologique. Bien qu'utilisant l'iode 131 à la place du 177Lu, notre précédente étude sur les CBPPC avait en effet démontré que la dose maximale théorique était de 3.2 GBq/m² et que le facteur limitant à l'escalade de dose était la toxicité hématologique.

Même si l'on espère observer une augmentation de l'efficacité thérapeutique avec l'escalade de dose prévue dans la seconde partie de l'étude, des voies d'optimisation sont d'ores et déjà à discuter pour améliorer l'efficacité de cette approche thérapeutique. Tout d'abord, les patients inclus (comme ceux inclus dans l'étude hollandaise), présentaient de volumineuses masses tumorales, largement supra-centimétriques et il est aujourd'hui clairement démontré que l'efficacité de la RIT est meilleure sur les petites masses tumorales voire sur la maladie résiduelle (49). Le choix du lutétium est également discutable au vu de la taille des masses tumorales. En effet, le lutétium est un radionucléide émetteur bêta- adapté au traitement des petites masses tumorales ou de la maladie résiduelle. Ainsi dans ce contexte clinique, la RIT serait potentiellement plus efficace en consolidation d'une chimiothérapie, c'est-à-dire administrée non pas chez les patients en rechute de CP mais chez des patients en réponse partielle après une première ou une seconde ligne de chimiothérapie.

Au même titre que cela avait déjà été démontré dans le cancer pancréatique, la RIT pourrait également être administrée de façon fractionnée et combinée avec des agents radio-sensibilisants. Un essai de phase I en escalade de dose a en effet démontré l'intérêt de la combinaison thérapeutique et du fractionnement chez des patients porteurs de cancers pancréatiques avancés en première ligne traités par l'association du ⁹⁰Y-clivatuzumab tetraxetan et la gemcitabine (55). Trente-huit patients étaient inclus, 33 stades stade IV et 5 stades III. Le fractionnement de la RIT permettait, pour le cycle 1, l'administration d'activités deux fois supérieures à celles qu'aurait permis une dose unique. La survie globale médiane était de 7,7 mois pour les 38 patients, dont 11,8 mois pour ceux qui avaient reçu des cycles répétés (46% ≥ 1 an), une meilleure efficacité étant retrouvée chez les

patients qui avaient reçu les doses les plus élevées de RIT. La faible immunogénicité du TF2 rend en effet envisageable le fractionnement dans le but d'augmenter les doses tumorales. Le protocole thérapeutique de l'étude hollandaise prévoyait d'ailleurs un fractionnement des doses, avec une cure de PRIT initialement prévue toutes les 8 semaines (73). Aucun des patients inclus n'a reçu de 2nd cycle de PRIT du fait d'une progression tumorale rapide au décours du premier cycle. Les auteurs critiquaient, a posteriori, le design de l'étude en mentionnant le caractère trop tardif du 2nd cycle qui aurait dû être programmé juste au décours du premier pour obtenir une efficacité thérapeutique maximale.

Le radiomarquage par l'⁹⁰Y pourrait également être une voie intéressante d'amélioration en permettant du fait d'une plus haute énergie, de délivrer des doses tumorales plus élevées. Il a été montré que les performances du système de préciblage dépendaient du rapport molaire TF2/IMP288 qui devait être le plus élevé possible. Cela implique des radiomarquages avec des activités spécifiques élevées. Cette activité spécifique élevée, associée à une captation tumorale lente mais potentiellement réversible oriente vers l'utilisation de radionucléides à demi-vie courte, de haute énergie et dont la période physique se rapproche le plus possible de la période biologique du haptène, comme par exemple l'⁹⁰Y. Le parcours tissulaire plus long de l'⁹⁰Y serait, de plus, mieux adapté au traitement des tumeurs de plus grandes tailles.

L'utilisation de paires de bêta+/bêta-, (¹²⁴I /¹³¹I, ⁸⁶Y/⁹⁰Y, ⁶⁴Cu/⁶⁷Cu, ⁴⁴Sc/⁴⁷Sc) pourrait également être une approche théranostique prometteuse. Cela permettrait la réalisation d'imagerie pré-thérapeutique quantitative de haute sensibilité par immuno-TEP améliorant potentiellement l'approche dosimétrique. Enfin, le marquage de l'IMP2288 par des émetteurs alpha à ½ vie courte comme le bismuth 213 ou de l'astate 211 pourraient également être envisagés mais plutôt en situation adjuvante directement après une chimiothérapie ayant réduit les masses tumorales plutôt qu'en situation de rechute.

Les réactions allergiques d'hypersensibilités au moment des injections de TF2 ou de haptène et le nombre de patient ayant développé des HAHA étaient inférieurs, dans ce travail, à ce qui était décrit dans nos précédentes études portant notamment sur le CMT (66,69). Cette différence s'explique aisément par le caractère humanisé du TF2, les AcBs utilisés dans les précédents protocoles de PRIT étant chimériques ou murins. En revanche, cette hypothèse n'explique pas la moindre immunogénicité du TF2 constatée dans notre étude par rapport à l'étude de Schoffelen et al (73). Dans cette étude, des réactions immunitaires de grade 2 ont été constatées chez 7 des 21

patients lors de la seconde perfusion de TF2 et une prémédication d'abord par anti-histaminiques puis par anti-histaminiques et corticoïdes a été introduite au cours de l'étude. Dans notre étude, tous les patients ont reçu une prémédication par anti-histaminique et corticoïde avant chaque perfusion de TF2 et d'IMP288 et aucune réaction n'a été observée au moment des injections. En outre, Schoffelen et al. décrivaient une immunisation chez 11 des 21 patients (50%) apparaissant 1 semaine après la deuxième perfusion puis augmentant progressivement pendant les 8 semaines de suivi. Dans notre étude, des HAHA n'ont été détectés que chez un patient, 1 mois après la deuxième perfusion de TF2, avec une diminution sur le bilan réalisé 2 mois plus tard. Compte-tenu de schémas d'administration et de doses proches dans les deux études, la différence d'immunisation ne peut être rapportée qu'à la différence de prémédication. En effet, tous nos patients ont reçu une prémédication complète par anti-histaminiques et corticoïdes alors que seuls 5 des 21 patients de la série hollandaise ont reçu les deux molécules. Malheureusement, les données de la publication ne permettent pas de dire si ces 4 patients sont ceux ayant développé des HAHA. Ainsi, la brève immunosuppression provoquée par une injection systématique de 200 mg de dexaméthasone avant chaque injection de TF2 pourrait être une explication potentielle à cette immunogénicité moindre du TF2. Une autre hypothèse pour expliquer cette différence pourrait résider dans les différents types histologiques de tumeurs inclus dans les 2 études. Si les patients inclus dans les 2 études sont en rechute et multi-traités, les rechutes de CP sont souvent plus agressives que celles des CCR, impliquant un état général plus altéré (7 de nos patients sont décédés dans l'année suivant l'étude) et une immunité moindre. Le patient qui a présenté un dosage positif de HAHA était un des 2 patients pour lesquels une brève stabilisation de la maladie a été constatée. Il se peut aussi que les chimiothérapies administrées aux patients porteurs de CBP métastatiques soient plus cytotoxiques et immunosuppressives que celles des patients porteurs de CCR. Cette faible immunogénicité associée à la faible toxicité sont favorables à la répétition des traitements dans l'optique d'augmenter l'efficacité anti-tumorale.

**CHAPITRE IV. OPTIMISATION DE L'IMMUNO-TEP ANTI-ACE CHEZ
DES PATIENTS PORTEURS DE CANCERS MEDULLAIRES DE LA
THYROIDE EN RECHUTE**

I.INTRODUCTION

Un essai de phase I/II a été conçu pour optimiser et évaluer l'immuno-TEP utilisant l'AcBs anti-ACE x anti-HSG TF2 et le haptène-peptide IMP288 marqué au ^{68}Ga pour l'imagerie des patients atteints de récurrences de CMT. Cet essai, financé dans le cadre des appels à projets DHOS-INCA recherche translationnelle en 2010, a pour objectif, dans le cadre d'une étude pilote d'optimisation pharmacocinétique et d'imagerie, de transférer vers la clinique le nouveau système de préciblage TF2/ ^{68}Ga -IMP-288 pour développer une imagerie spécifique corps entier de l'expression de l'ACE par immuno-TEP.

Cette étude comprend deux parties :

- La première phase de l'étude, analysant 15 patients inclus dans 5 cohortes, a pour objectif principal de définir les paramètres optimaux de préciblage à partir des données pharmacocinétiques et d'analyse semi-quantitative des images TEP.
- Neuf patients supplémentaires sont ensuite inclus dans une seconde phase pour valider les conditions optimales de préciblage définies dans la première phase de l'étude. La deuxième phase de l'étude est en cours de finalisation.

L'objectif de notre travail de thèse était de définir à partir des données pharmacocinétiques et de l'analyse des images TEP des 15 premiers patients inclus, les paramètres de préciblage optimaux pour l'imagerie TEP. L'analyse des données préliminaires de ces 15 premiers patients nous a également permis d'évaluer l'immunogénicité du TF2 et d'obtenir une première estimation de la sensibilité de l'immuno-TEP par rapport aux autres examens d'imagerie fonctionnelle et conventionnelle habituellement prescrits dans cette indication.

1.1 Choix du modèle tumoral

Le CMT représente environ 10% des cancers thyroïdiens (103). Le traitement initial comprend systématiquement une thyroïdectomie totale et un curage ganglionnaire. Des métastases à distance sont retrouvées chez environ 25% des patients dès le diagnostic. Trois mois après la chirurgie, si la concentration sérique de Ct est indétectable chez la majorité des patients sans envahissement ganglionnaire, elle reste dosable chez plus de 80% des patients qui présentaient une extension ganglionnaire métastatique au diagnostic, la difficulté résidant dans la mise en évidence de ces métastases parfois occultes expliquant cette élévation de la Ct (104). Dès lors que la concentration sérique de Ct est ≥ 150 ng/ml, ces patients considérés comme en rechute bénéficient de différentes méthodes d'imagerie pour détecter le site de rechute et caractériser l'extension de leur maladie (105). Si l'échographie reste systématique pour rechercher une rechute ganglionnaire loco-régionale, on lui associe, du fait du potentiel métastatique élevé du CMT, un TDM cervico-thoraco-abdomino-pelvien ainsi que des IRM hépatiques et ostéo-médullaires. L'imagerie fonctionnelle TEP est également d'une grande utilité, d'une part pour obtenir une imagerie corps entier permettant souvent une meilleure cartographie de l'envahissement métastatique mais aussi du fait de son intérêt en tant que biomarqueur de substitution.

Deux traceurs TEP disposant de l'AMM sont potentiellement recommandés dans le cadre du CMT en rechute : la ^{18}F -DOPA-TEP est considérée comme le marqueur le plus sensible pour documenter l'extension de la maladie tandis que le ^{18}F FDG possède une meilleure valeur pronostique sur la survie notamment chez les patients présentant un temps de doublement rapide de la Ct (106).

1.2 Choix du radionucléide

Le CMT est caractérisé par une expression intense et constante de l'ACE et nous avons montré dans nos précédents essais cliniques que les IS enregistrées après les RIT utilisant des AcBs anti-ACE et des peptides préciblés marqués à l' ^{131}I étaient plus sensibles que les méthodes d'imagerie conventionnelles pour détecter les métastases (92).

Dans cette série, l'IS avait une sensibilité comparable à celle de l'IRM pour explorer le squelette et supérieure au CT et à la TEP au FDG pour explorer le cou, le médiastin et les poumons. De plus, l'IS permettait d'explorer le cerveau, à la différence de la TEP au ^{18}F FDG. Ces résultats obtenus avec de

fortes activités (thérapeutiques) d'¹³¹I suggéraient que les réactifs AES utilisés avec des radioéléments émetteurs TEP conduiraient à une imagerie TEP corps entier avec des performances largement meilleures en termes de sensibilité et de résolution.

Des études d'immuno-TEP n'étaient pas envisageables avec ces réactifs AES d'ancienne génération qui utilisaient le haptène di-DTPA-indium limitant ainsi les possibilités de radiomarquage à l'¹¹¹In et aux isotopes de l'iode. Seul l'iode 124 aurait pu être utilisé pour une imagerie TEP, mais la complexité de son spectre et notamment l'existence de rayonnements gamma « parasites » ne le rendent pas favorable en termes de qualité d'image et de radioprotection.

Des systèmes de préciblage de nouvelles générations avec des AcBs recombinants humanisés trivalents, comme l'AcBs anti-ACE TF2, et des peptides HSG comme l'IMP-288 ont ensuite été développés (32,107). Ce nouveau peptide bivalent di-HSG couplé au ligand DOTA appelé IMP288 permet des marquages aisés de haute stabilité avec différents radioéléments et notamment avec des émetteurs de positons.

Comme pour la PRIT, le choix du radioélément est déterminant pour l'immuno-TEP. La période physique du radioélément constitue un paramètre essentiel : elle doit être adaptée à la période biologique du vecteur. Enfin, la stabilité du marquage, la disponibilité et le coût du radioélément sont également à prendre en compte.

Les études précliniques et cliniques ayant mis en évidence des cinétiques de distribution et d'élimination rapides du couple TF2/IMP288, il n'est pas nécessaire d'utiliser le ⁸⁹Zr ou l'¹²⁴I avec leurs périodes de plusieurs jours. De plus leurs spectres complexes, notamment celui de l'¹²⁴I, n'est théoriquement pas favorable en termes de détection et leur émission de photons gamma de haute énergie pose des problèmes de dosimétrie et de radioprotection. Les émetteurs à demi-vie courte comme le fluor 18, le gallium 68 et le cuivre 64 sont ainsi plus adaptés au marquage du haptène dont la cinétique de fixation aux tumeurs est rapide et qui s'élimine rapidement de la circulation et des tissus sains.

Le ⁶⁸Ga a l'avantage d'être disponible sous forme de générateurs directement accessibles dans les services cliniques. Il émet un positon avec un rapport d'embranchement de 87,9 % et une énergie de 1,89 MeV conduisant à une bonne résolution intrinsèque et il est très favorable en termes de radioprotection. Malgré sa demi-vie très courte, il permet d'enregistrer des images 60 minutes à 120 minutes après l'injection.

Des études précliniques ont également utilisé le fluor 18 pour le marquage des systèmes de préciblage de nouvelles générations par le biais d'un complexe Aluminium-¹⁸F. Ce marquage nécessitait, pour être stable, l'utilisation d'un autre agent chélatant, le NOTA (27).

Enfin, la disponibilité du cuivre 64 en qualité clinique est encore très limitée.

Une première étude dans un modèle animal murin de CRC a montré la faisabilité de l'immuno-TEP avec le peptide préciblé ⁶⁸Ga-IMP288 (28). On visualisait, dans l'heure suivant l'injection du peptide radio-marqué un ciblage tumoral important et spécifique (10,7 +/- 3,6% de l'activité injectée par gramme de tumeur ACE positive), une fixation très faible dans les tissus normaux (ratio tumeur/sang : 69,9 +/- 32,3), dans les tumeurs ACE négatives (0,35 +/- 0,35% de l'activité injectée par gramme) et dans l'inflammation (0,72 +/- 0,20% de l'activité injectée par gramme).

L'ensemble de ces données suggéraient donc que l'utilisation du nouveau système de préciblage AES TF2/⁶⁸Ga-IMP288 permettrait d'obtenir une imagerie par immuno-TEP de haute sensibilité et spécificité chez les patients porteurs de tumeurs ACE positive comme le CMT. A la différence de la TEP au ¹⁸FDG et du fait d'une expression quasi-constante de l'ACE, la sensibilité de l'immuno-TEP anti-ACE dans le CMT serait indépendante du caractère agressif ou non de la tumeur.

1.3 Choix des paramètres de préciblage

Les doses et les schémas d'administration des réactifs TF2/IMP288 utilisés dans notre étude ont été établis à partir des données précliniques et cliniques connues avec les réactifs AES ainsi qu'à partir des résultats des premières études cliniques de thérapie et d'imagerie ayant utilisé ce même système (22,28,30,69,72,108)

Ces différentes études démontraient qu'un ciblage tumoral optimal était observé lorsque la quantité molaire d'AcBs injecté était 10 à 20 fois supérieure à celle du haptène.

Le choix de l'intervalle de pré-ciblage initialement fixé entre 48 et 96 heures était basé sur les données de pharmacocinétiques du TF2 obtenues chez le lapin. Les premières données pharmacocinétiques publiées par l'équipe hollandaise chez l'homme montraient cependant une clairance très rapide du TF2 dans la première cohorte de patient pour laquelle le délai de pré-ciblage était fixé à 5 jours, rendant nécessaire la réduction de ce délai à 24h pour les 3 autres cohortes (74). Un délai de pré-ciblage de 24h fut donc choisi pour la première cohorte de patients.

Dans un contexte d'une application en imagerie, il apparaissait logique d'utiliser les doses molaires minimales de TF2 et d'IMP288 conduisant à un ciblage tumoral et un contraste optimal. La dose molaire d'IMP288 était elle-même conditionnée par le choix de l'activité de Ga⁶⁸ à administrer.

Ainsi, dans un premier temps, le choix de l'activité de Ga⁶⁸ injectée, basé sur les données publiées de TEP utilisant ce radionucléide, a donc été fixé à 150MBq (109,110).

Les essais de radiomarquage de l'IMP288 avec le Ga⁶⁸ 150MBq ont démontré que si l'on pouvait marquer 1 nmol avec 100MBq de Ga⁶⁸ en début de vie d'un générateur, l'activité spécifique n'était plus que de 40 MBq par nmol en fin de vie du générateur. La dose de 6 nmol d'IMP288 a donc été validée pour la première cohorte de l'étude. Le ratio molaire AcBs/haptène de 20 ayant été considéré comme optimal dans nos précédentes études, une quantité molaire 20 fois supérieure soit 120nmol de TF2 fut également validé pour cette première cohorte.

Ainsi le schéma d'administration de la cohorte 1 était défini comme suit: **120 nmol de TF2/6 nmol d'IMP-288/24 h de délai de pré-ciblage.**

Le schéma d'administration des cohortes suivantes dépendaient directement des résultats obtenus dans la cohorte 1 selon le modèle suivant :

- Cas n°1. Signal tumoral bon mais bruit de fond élevé: augmentation du délai, 120 nmol TF2/6 nmol de IMP-288/ délai 30 h
- Cas n°2. Signal tumoral bas: diminution du délai, 120 nmol TF2/6 nmol IMP-288/ délai 18 h
- Cas n°3. Signal tumoral et bruit de fond bons: diminution de la dose, 60 nmol TF2/3 nmol IMP-288/ délai 24 h

Les schémas d'administration des cohortes suivantes étaient décidés en fonction de la synthèse des résultats d'imagerie et de la pharmacocinétique obtenus dans les cohortes précédentes.

II. MATERIELS ET METHODES

2-1 Eligibilité des patients

Les patients inclus dans cette étude clinique de phase I/II devaient répondre aux critères suivants :

- Un diagnostic histologique de CMT,
- Une concentration sérique de Ct > 150 pg/ml ,
- Une tumeur primitive traitée (thyroïdectomie totale ou radiothérapie),
- La présence d'au moins une lésion métastatique de plus de 10 mm détectable sur l'imagerie conventionnelle,
- Age ≥ 18ans,
- Un test de grossesse négatif pour les femmes en âge de procréer dans les 2 jours précédents l'immuno-TEP. Les femmes en âge de procréer devront prendre une contraception efficace en continu pendant 3 mois après l'immuno-TEP.
- Un état général conservé avec Karnofsky ≥ 70 ou ECOG 0-1 et une espérance de vie d'au moins 6 mois,
- L'Absence de maladie grave ou de Co-morbidité à risque,
- Une créatinémie ≤ 2,5 la valeur supérieure de la norme,
- L'Absence de traitement carcinologique dans les 6 semaines précédent l'immuno-TEP,
- L'Absence d'antécédent de cancers dans les 5 ans, à l'exception de carcinomes cutanés autres que des mélanomes ou de carcinomes in-situ du col utérin,
- Des HAHA OU HAMA négatifs chez les patients antérieurement traités pas AcM.

L'essai clinique de phase I/II était approuvé par les comités d'éthique locaux (Eudract CT 2011-005430-19) et tous les patients avaient signé un consentement éclairé.

Etaient exclus de cette étude :

- Les femmes enceintes ou allaitante,
- Les patients ayant une hypersensibilité connue aux Ac ou protéines,
- Les patients ayant une incapacité intellectuelle à signer le consentement éclairé ou les patients protégés par la loi.

2.2 Bilan d'inclusion

Tous les patients bénéficiaient, dans le mois qui précédait l'inclusion, d'un bilan complet comprenant : un examen clinique complet, un dosage sérique de l'ACE et de la Ct, un TDM cervical et thoraco abdomino pelvien, une IRM pelvi-rachidienne, une IRM hépatique, une TEP à la 18F-DOPA, un dosage des HABA et HAMA si le patient avait déjà reçu des Ac, et un dosage de la créatininémie.

2.3 Produits de l'étude, marquage et administration

L'Ac TF2, l'IMP288 ainsi que les réactifs nécessaires au marquage de l'IMP288 étaient fournis par la compagnie Immunomedics Pharmaceuticals (Morris Plains, NJ, USA). Ils sont importés et distribués en Europe par leur filiale allemande.

Un générateur de gallium 68 de 1,85 GBq (au moment de la calibration) de type GP (pharmaceutical grade) fourni par la société Eckert-Ziegler (Germany) a été utilisé. Tous les réactifs tampons étaient fournis par Sigma-Aldrich comme « traceSELECT® grade ». Le générateur de ⁶⁸Ga était élué avec 10 mL de 0.1 NHCL par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique. Le ⁶⁸Ga élué était ensuite purifié à l'aide d'une cartouche échangeuse de cations (Bondelut SCX, Varian). Le complexe ⁶⁸GaCl₄ était récupéré de la cartouche par injection de 0,5 ml de 4,9 M NaCl M-0,1 HCl. La solution de gallium purifié était ajoutée à 2,4 ml à la solution tampon acétate (0,3 M, pH 4,1 à 4,5) contenant le peptide (7 à 25 nmol; 10,2 à 36,5 pg) et le mélange était incubé pendant 10 min à 95°C.

La solution radio-marquée était ensuite purifiée par chromatographie en phase inverse et le produit final amené à une concentration de 0,7 à 2,5 nmol/ml pour une activité volumique de 25 à

60 MBq/ml dans du NaCl à 0,9% avec 10% d'éthanol de qualité pharmaceutique était stérilisé par filtration à travers un filtre de 0,22 µm. La pureté radiochimique de l'⁶⁸Ga-IMP288 était testée par chromatographie en phase inverse C18 (ACE, 150 x 3 mm, 3 µm, AIT-France) en utilisant de l'acide trifluoroacétique (TFA) à 0,1% dans un gradient linéaire d'acétonitrile-eau. La pureté radionucléide était mesurée par le calcul de décroissance en utilisant une chambre d'ionisation calibrée (Capintec, Berthold France) et un gamma-scintillateur (Gamma-counte, Wizard2, Perkin Elmer). La stérilité et l'absence d'endotoxine étaient vérifiées. Le volume calculé du produit final (3 ou 6 nmol de ⁶⁸Ga-IMP288 selon les cohortes) était transférée dans une seringue de 2,5 ml blindé puis l'activité était mesurée dans une chambre d'ionisation calibrée (Capintec, Berthold).

Le TF2 était dilué dans 250 ml de NaCl 0.9% puis injecté par voie IV lente pendant 30 minutes environ. Le ⁶⁸Ga-IMP288 était dilué dans 50ml de NaCl 0.9%. L'injection était faite en IV directe du patient 1 au patient 10 puis en IV lente sur 30 minutes à partir du patient 11. Compte-tenu du caractère potentiellement immunogène des Ac et des peptides, chaque patient a bénéficié d'une prémédication incluant un anti-histaminique (Xyzall® ou Clarytine) la veille de l'injection puis d'une injection IV d'anti-histaminique de type polaramine 5 mg/ml et de corticoïde (100 mg hémisuccinate d'hydrocortisone) dans les 5 minutes qui précédaient l'injection de l'Ac. A partir du patient 10, cette prémédication a également été effectuée avant l'injection du haptène.

2.4 Design de l'étude et description des cohortes

Cinq schémas différents de préciblage ont été comparés dans 5 cohortes de 3 patients chacune (Tableau 11). Les trois premières cohortes ont reçu 120 nmol de TF2 et 6 nmol IMP288 avec un délai de préciblage de 24 heures, 30 heures ou 42 heures, respectivement. La cohorte 4 a reçu la même dose de 120 nmol de TF2 suivie, 30 heures plus tard, d'une dose réduite de 3 nmol d'IMP288. La cohorte 5 a reçu une dose de TF2 réduite (60 nmol) et une dose de 3 nmol d'IMP288 avec un délai de préciblage identique à la précédente cohorte (30 heures).

L'activité de ⁶⁸Ga-IMP288 (environ 150 MBq) était identique pour tous les patients.

| | Dose molaire TF2 | délai | ⁶⁸ Ga-IMP288 dose molaire et activité | TF2/IMP288 Ratio molaire |
|-------------|------------------|-------|--|--------------------------|
| Cohorte I | 120 nmol | 24 h | 6 nmol 150 MBq | 20 |
| Cohorte II | 120 nmol | 30 h | 6 nmol 150 MBq | 20 |
| Cohorte III | 120 nmol | 42 h | 6 nmol 150 MBq | 20 |
| Cohorte IV | 120 nmol | 30 h | 3 nmol 150 MBq | 40 |
| Cohorte V | 60 nmol | 30 h | 3 nmol 150 MBq | 20 |

Tableau 11 : Schémas d'administration des 5 cohortes étudiées

Une surveillance clinique rapprochée était effectuée au moment des injections d'Ac et d'haptène avec notamment une surveillance des constantes vitales (pouls, tension artérielle, température saturation en O₂) et de la survenue potentielle de manifestations d'hypersensibilité.

Un dosage des HAHA était effectué 3 et/ou 6 mois après l'injection de TF2 selon une méthode ELISA. Le seuil de positivité était de 50 ng/ml.

2.5 Gold standard

Un foyer détecté par l'immuno-TEP était considéré comme en rapport avec le CMT quand il était confirmé par l'histologie ou détecté par une autre méthode d'imagerie et confirmé par le follow-up.

Des examens d'imagerie complémentaires (TDM, IRM, TEP à la ¹⁸F-DOPA, TEP au ¹⁸FDG) pouvaient être prescrits dans les 3 mois qui suivaient l'immuno-TEP pour confirmer des anomalies décrites par l'immuno-TEP mais non visualisées sur le bilan d'imagerie d'inclusion.

2.6 Acquisition et interprétation des TEP/TDM

Les TEP/TDM ont été enregistrées sur une caméra Siemens Biograph mCT TEP/CT system 4 couronnes disposant de la technologie TOF (time of flight). Les images ont été enregistrées 60 et 120 minutes après l'injection intra-veineuse de ^{68}Ga -IMP288. Les images ont été reconstruites à partir d'un algorithme 3D ordinary Poisson-OSEM avec correction de la fonction de réponse du détecteur associée au temps de vol, avec 3 itérations et 21 sous-ensembles, puis post-filtrées à l'aide d'une gaussienne 3D de largeur à mi-hauteur de 2 mm, pour des tailles de voxels de 4x4x2 mm³. Les acquisitions allaient du sommet de la tête aux genoux, en respiration normale, et avec des durées d'acquisition de 2,5 minutes par pas. Le TDM a été obtenu sans injection de produit de contraste, avec des mAs variables, une tension de 120 kVp et un pitch de 1.

Une analyse semi-quantitative a été effectuée afin d'évaluer l'activité des sites de fixation « anormale » du ^{68}Ga -IMP288. Une région d'intérêt était manuellement dessinée afin de définir la SUVmax de chacun des foyers. Le bruit de fond vasculaire médiastinal (MBP) était déterminé en mesurant la SUVmoyenne (SUVmean) pour chaque acquisition au sein d'un volume d'intérêt de 1 à 2 cm³ dessiné dans l'oreillette droite.

Pour chaque patient, la valeur de SUVmax de la lésion la plus fixante considérée comme en rapport avec le CMT selon le Gold Standard (T-SUVmax) était déterminée. Cette valeur de T-SUVmax permettait de calculer, pour chaque patient, le ratio tumeur/bruit de fond médiastinal (T/MBP) selon la formule T-SUVmax/ MBP-SUVmean.

2.7 Pharmacocinétique

Des échantillons sanguins ont été prélevés dans des tubes séparés avant et après les injections de TF2 aux temps suivants : avant le début de la perfusion, 5 minutes avant la fin de la perfusion, 5 minutes après la fin de la perfusion, 1 heure après la fin de la perfusion, 2 à 4 heures après la fin de la perfusion, puis 5 min avant l'injection de ^{68}Ga -IMP288. Les échantillons sanguins étaient centrifugés afin de récupérer le sérum puis congelés. Les concentrations sanguines de TF2 étaient déterminées dans le service de biochimie du CHU de Nantes (Dr D. Masson) selon la méthode ELISA en utilisant les réactifs fournis par Immunomedics®.

Les activités de ^{68}Ga ont été mesurées par comptage des échantillons de sérum (0,1 à 0,2 ml) dans un compteur gamma étalonné. Ces comptages étaient effectués immédiatement après avoir récupéré chaque série de tube. Les activités du ^{68}Ga -IMP288 ont ensuite été corrigées de la décroissance et transformées en concentrations molaires.

Les analyses pharmacocinétiques du TF2 et de l'IMP288 ont ensuite été effectuées selon un modèle bi-compartimental en utilisant le logiciel d'analyse de pharmacocinétique de populations décrit précédemment.

Les paramètres utilisés pour ajuster la cinétique du TF2 sur un modèle bi-compartimental étaient les taux de transfert ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), le taux d'élimination (k_{el}) et le volume du compartiment central V exprimé par unité de surface corporelle (Volume/m^2). Le volume compartiment central V_c était un paramètre dépendant de la surface corporelle du patient utilisée ici comme co-variable. Ce volume V_c était calculé selon la formule $V_c = \text{Volume}/\text{m}^2 \times \text{surface corporelle du patient}$.

Pour l'analyse pharmacocinétique de l'IMP288, comme dans l'étude thérapeutique précédente, la concentration sérique de TF2 au moment de l'injection du haptène était calculée à partir de la concentration de TF2 extrapolée à l'heure d'injection du haptène multipliée par le volume du compartiment central obtenue dans l'analyse pharmacocinétique du TF2 et le rapport molaire de la quantité d'IMP288 injecté sur la quantité de TF2 circulante au moment de l'injection de l'IMP288 (MR) était considéré comme co-variable. Les taux de transfert ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), et le volume du compartiment central exprimé par unite de surface corporelle (Volume/m^2) étaient des paramètres ajustables. La clairance était calculée par la formule $A_5 \times \text{MR}^{BS}$, A_5 et B_5 étant 2 paramètres ajustables et k_{el} était calculé comme la clairance/ V_c .

III. RESULTATS

3.1 Caractéristiques des patients

Seize patients (8 hommes et 8 femmes), âge médian 60,5 ans (allant de 37 à 75 ans), ont été inclus dans les 5 différentes cohortes (3 patients par cohorte) entre Janvier 2013 et Novembre 2014. Tous les patients avaient des CMT en progression avec au moins une localisation métastatique connue, une élévation de la Ct +/- de l'ACE plasmatique (Tableau 12). Quinze des 16 patients ont été analysés : 1 patient était exclu du fait de l'administration d'une dose incomplète de haptène. La valeur médiane de l'activité injectée de ⁶⁸Ga-IMP288 était de 153 MBq [range 80-214].

| | |
|---|------------------------------|
| Age médian en années (range) | 60.5 (37-75) |
| Sexe, <i>n</i> (%) | |
| Homme | 8(50) |
| Femme | 8 (50) |
| Délai médian depuis le diagnostic (range) | 8.5 (0.5-30 années) |
| Traitements antérieurs, <i>n</i> (%) | |
| Chirurgie | 15 (94) |
| Radiothérapie externe | 4(25) |
| Radioimmunothérapie | 2 (13) |
| Inhibiteurs de la tyrosine kinase | 1 (6) |
| Taux médian de Ct en pg/ml (range) | 850 [154-392 ⁹⁰] |
| Taux médian d'ACE en ng/ml (range) | 22.5 [3-1443] |
| TD médian de la Ct en années (range) | 1.3 [4.7-0.5] |
| TD médian de l'ACE en années (range) | 0.9 [4.4-0.6] |
| Sites de la maladie, <i>n</i> (%) | |
| Ganglions | 14 (88) |
| Poumons | 5 (32) |
| Foie | 7 (44) |
| Os | 9 (56) |
| Autres | 2 (13) |
| Abréviations: TD temps de doublement | |

Tableau 12 : Caractéristiques cliniques et biologiques des 16 patients inclus

3.2 Résultats de l'immuno-TEP

3.2.2 Résultats par lésions

Chez les 15 patients analysés, l'immuno-TEP a détecté un total de 119 foyers de fixation pathologique du ^{68}Ga -IMP288. Un nombre total de 101 foyers a été considéré comme en rapport avec le CMT selon le Gold Standard. Le patient N°16 ne présentait qu'un seul foyer de fixation sur l'immuno-TEP, foyer non confirmé par le Gold Standard au moment de l'analyse. Nous précisons que ce patient avait été considéré comme incluable en raison de la présence d'une adénopathie médiastinale au TDM, non confirmée comme en rapport avec le CMT d'après le gold standard.

Parmi les 101 lésions validées par le Gold Standard on retrouvait 55 ganglions, 5 nodules pulmonaires, 16 lésions hépatiques, 15 lésions osseuses et/ou ostéo-médullaires, 1 lésion cardiaque et 1 lésion cérébrale. Huit lésions étaient considérées comme des faux négatifs de l'immuno-TEP dont 1 lésion ganglionnaire, 5 lésions pulmonaires et 2 lésions osseuses et/ou ostéo-médullaires.

La sensibilité globale de l'immuno-TEP était de 92% versus 69% pour la TEP à la ^{18}F -DOPA, 68 % pour le TDM, 75% pour l'IRM hépatique et 82% pour l'IRM pelvi-rachidienne.

Le tableau 13 résume les valeurs de sensibilités par organe de l'immuno-TEP et des autres examens du bilan conventionnel. Le tableau 14 représente la répartition, par organe et par modalité d'imagerie, des lésions validées par le Gold Standard.

| | iTEP | TDM | 18F-DOPA-TEP | IRM foie | IRM os | Gold standard |
|-----------|-----------|---------------|--------------|-----------|-----------|---------------|
| Poumons | 5 | 10 | 2 | NA | NA | 10 |
| Ganglions | 55 | 43 | 44 | NA | NA | 56 |
| Foie | 16 | 14 | 12 | 12 | NA | 16 |
| Os | 15 | NA | 10 | NA | 14 | 17 |
| Autre | 2 | NA | 1 | NA | NA | 2 |
| | 93 | ⁶⁸ | 69 | 12 | 14 | |

Tableau 13 : Répartition par organe et par modalité d'imagerie des lésions validées par le Gold Standard

| | iTEP | TDM | 18F-DOPA-TEP | IRM foie | IRM os |
|-----------|------|------|--------------|----------|--------|
| Poumons | 50% | 100% | 20% | NA | NA |
| Ganglions | 98% | 77% | 78% | NA | NA |
| Foie | 100% | 63% | 75% | 75% | NA |
| Os | 88% | NA | 59% | NA | 82% |
| Autre | 100% | 100% | 50% | NA | NA |

Tableau 14 : Valeurs de sensibilité par organe de chacune des modalités d'imagerie.

La figure 16 montre l'exemple d'un patient inclus dans la première cohorte de patients. L'immuno-TEP a mis en évidence des atteintes ganglionnaires cervicales, un nodule pulmonaire, plusieurs nodules hépatiques, une atteinte ostéo-médullaire diffuse et un petit foyer cérébral. La TEP à la ^{18}F -DOPA-TEP retrouvait les atteintes ganglionnaires et le nodule pulmonaire mais ne visualisait pas d'anomalie hépatique, ostéo-médullaire ou cérébrale. L'IRM confirmait l'atteinte hépatique et ostéo-médullaire, tandis que l'évolutivité du TDM thoracique confirmait l'atteinte pulmonaire. Enfin, une IRM cérébrale dont l'interprétation était « guidée » par l'immuno-TEP confirmait le caractère suspect de la lésion parenchymateuse cérébrale infra-centimétrique.

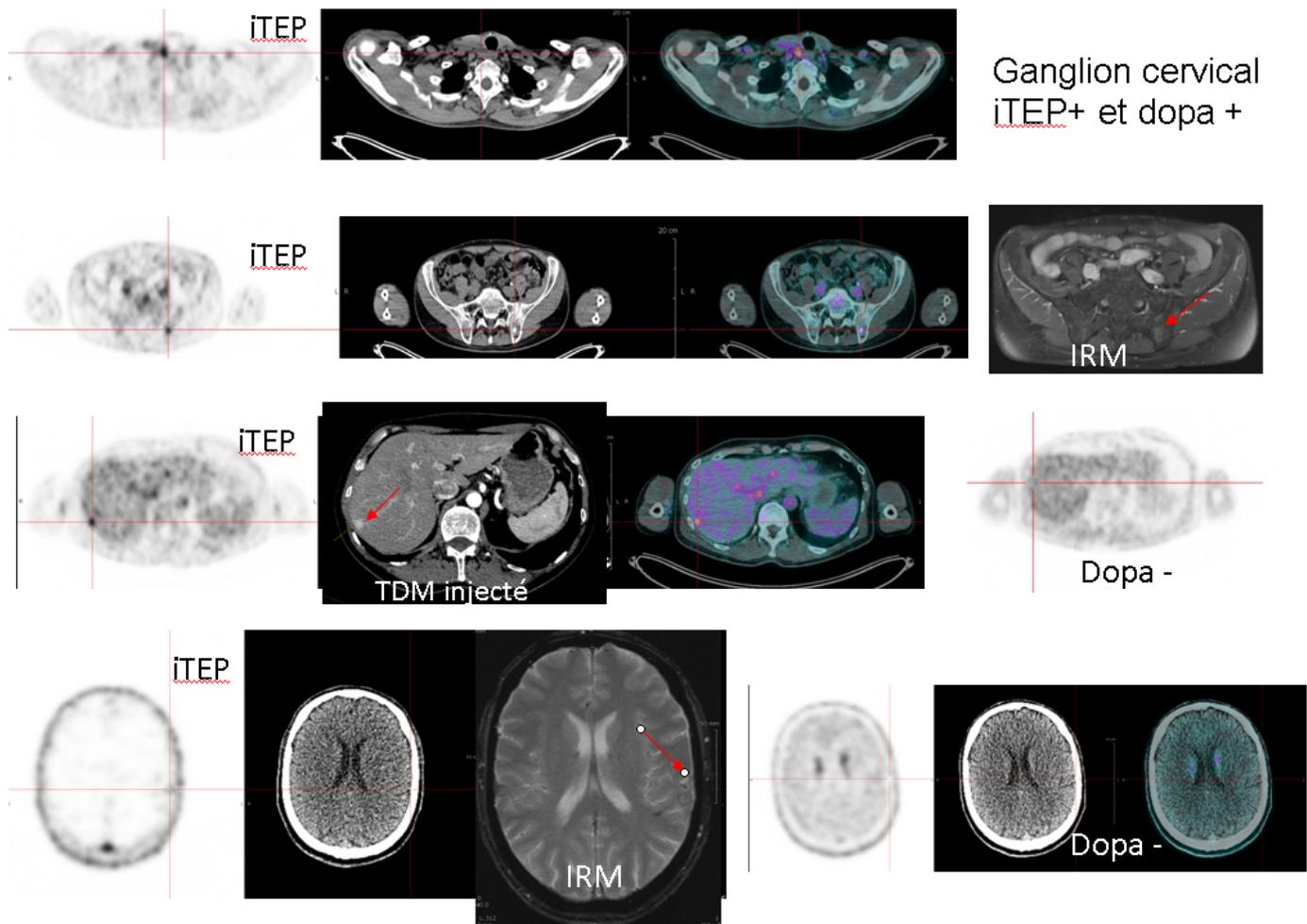


Figure 16 : Images illustrant l'exemple d'un patient inclus dans la cohorte 1.
 Il s'agit d'un patient pour lequel l'immuno-TEP a révélé une localisation métastatique cérébrale.

3.2.3 Comparaison des cohortes et analyse semi-quantitative

La figure 17 montre un exemple d'immuno-TEP obtenue dans chacune des cohortes de patients.

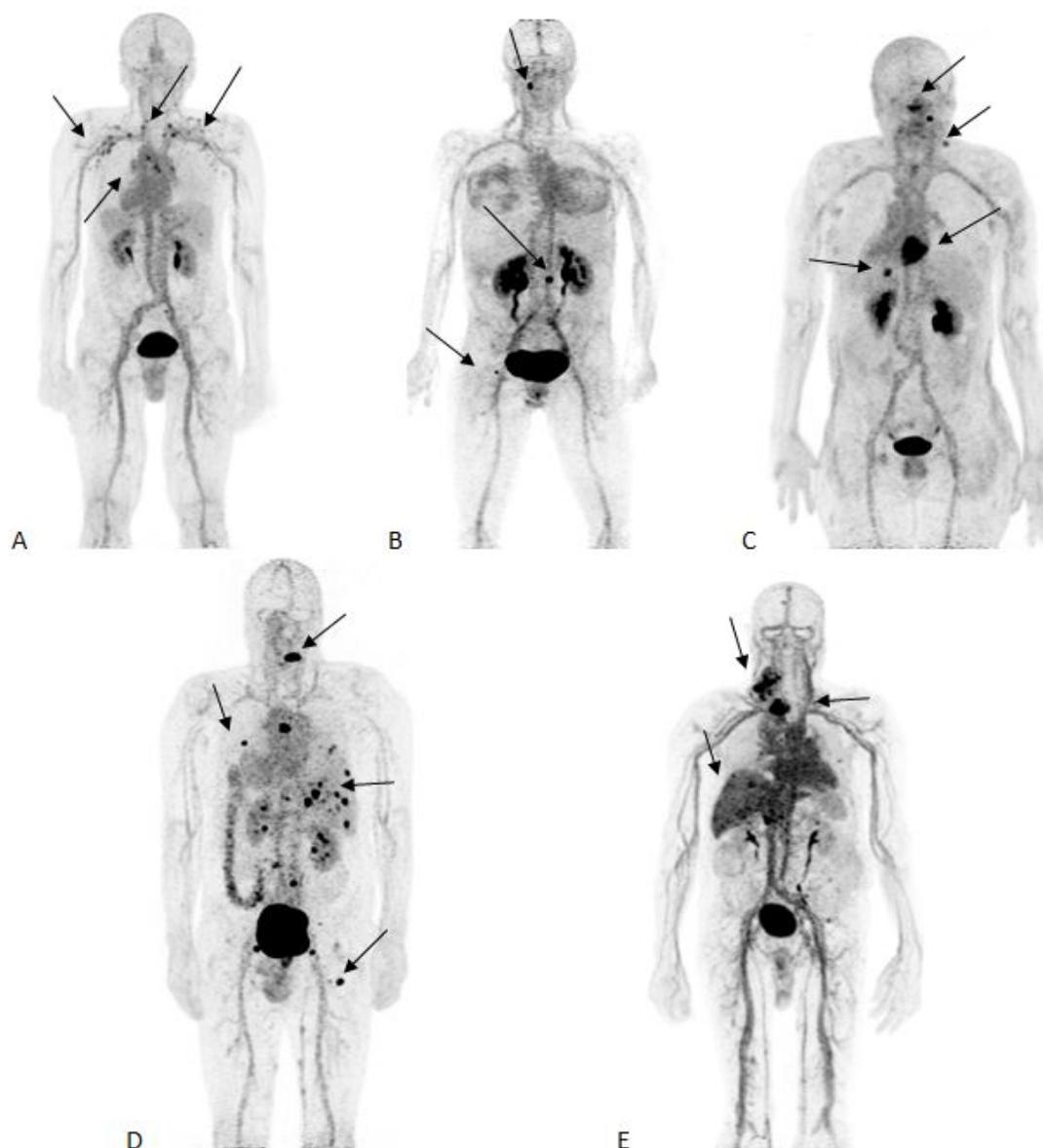


Figure 17 : Exemples d'immuno-TEP (images MIP) obtenues dans chacune des cohortes.

L'image A correspond à la cohorte 1, B à la cohorte 2, C à la cohorte 3, D à la cohorte 4 et E à la cohorte 5.

Le tableau 15 résume les résultats des analyses semi-quantitatives (SUV max de la lésion la plus fixante : T-SUVmax, Bruit de fond vasculaire : MBP-SUVmean et rapport T-SUVmax /MBP) faites pour chaque patient.

| | T-SUVmax | | MBP SUVmean | | T-SUVmax /MBP ratio | |
|--|----------|---------|-------------|---------|---------------------|---------|
| | 60 min | 120 min | 60 min | 120 min | 60 min | 120 min |
| Cohorte 1 | | | | | | |
| Patient 1 | 4,09 | 5,14 | 2,94 | 1,88 | 1,39 | 2,73 |
| Patient 2 | 8,93 | 11,25 | 2,4 | 2,09 | 3,72 | 5,38 |
| Patient 3 | 7,16 | 10,83 | 2,27 | 2,35 | 3,15 | 4,61 |
| Cohorte 2 | | | | | | |
| Patient 4 | 15,25 | 6,82 | 2,37 | 3,2 | 6,43 | 2,13 |
| Patient 5 | 20,77 | 22,57 | 2,43 | 1,81 | 8,54 | 12,47 |
| Patient 6 | 33,33 | 29,7 | 1,27 | 1,26 | 26,24 | 23,57 |
| Cohorte 3 | | | | | | |
| Patient 7 | 9,31 | 11,0 | 1,74 | 1,54 | 5,36 | 7,14 |
| Patient 9 | 5,38 | 7,19 | 2,01 | 1,48 | 2, ⁶⁸ | 4,85 |
| Patient 10 | 14,21 | 9,3 | 2,44 | 1,09 | 5,82 | 8,53 |
| Cohorte 4 | | | | | | |
| Patient 11 | 25,79 | 28,37 | 3,06 | 2,35 | 8,42 | 12,07 |
| Patient 12 | 94,14 | 100,2 | 2,76 | 2,02 | 34,1 | 49,6 |
| Patient 13 | 31,29 | 47,19 | 4,51 | 3,86 | 6,94 | 12,22 |
| Cohorte 5 | | | | | | |
| Patient 14 | 27,73 | 36,56 | 4,92 | 4,73 | 5,64 | 7,73 |
| Patient 15 | 37,14 | 39,4 | 3,98 | 3,33 | 9,33 | 11,82 |
| Patient 16 | ND | ND | 0,74 | 0,47 | ND | ND |
| Abbreviations: SUV, Standardized uptake value; MBP, mediastinal blood pool; min, minutes; ND, non defini | | | | | | |

Tableau 15 : Résultats des analyses semi-quantitatives obtenues pour chaque patient

Un ciblage tumoral était observé dès la première cohorte (120 nmol TF2, 6 nmol IMP-288, ratio TF2/IMP288=20, 24 h de délai de préciblage).

Compte tenu de valeurs de T-SUVmax assez basses et d'un bruit de fond vasculaire visuellement élevé, nous avons augmenté le délai de préciblage à 30 h dans la cohorte suivante (120 nmol TF2, 6 nmol IMP288, ratio TF2/IMP288=20, 30h). La comparaison visuelle et semi-quantitative des images enregistrées dans les cohortes 1 et 2 montraient un bruit de fond vasculaire relativement stable mais une meilleure fixation tumorale et un meilleur contraste avec le délai de 30 h. Si la fixation tumorale et le ratio T/MBP augmentaient entre 60 and 120 minutes chez les 3 patients de la cohorte 1, les images enregistrées à 120 min ne montraient une augmentation de la fixation tumorale et du contraste que chez 1 des 3 patients de la cohorte 2.

Comme démontré dans le tableau 15, l'augmentation du délai de préciblage à 42 h dans la cohorte 3 a provoqué une baisse de la fixation tumorale et du contraste par rapport à la cohorte 2. Le délai de 30h apparaissait donc le plus favorable en termes d'analyse visuelle et semi-quantitative. Dans cette cohorte 3, la fixation tumorale et le contraste étaient meilleurs à 120 min chez 2 des 3 patients.

Dans la cohorte 4, le rapport molaire TF2/peptide a été augmenté à 40 en réduisant la dose molaire de peptide administrée à 3 nmol. Le délai de préciblage était toujours de 30 h. Ce schéma nous a permis d'augmenter la fixation tumorale et le contraste par rapport à la cohorte 2 mais au prix d'un bruit de fond vasculaire MBP-SUV_{mean} également plus élevé. Enfin, on constatait, pour les 3 patients, une augmentation de la fixation tumorale et du ratio T-SUVmax/MBP entre 60 et 120 minutes.

La cohorte 5 testait de nouveau un rapport molaire TF2/peptide à 20 mais avec des doses réduites de TF2 et d'IMP288 (60 nmol et 3 nmol respectivement). La fixation tumorale était élevée chez 2 des 3 patients mais au prix d'un bruit de fond vasculaire également très élevé. On constatait également chez ces 2 patients, une augmentation de la captation tumorale et du ratio T/MBP entre 60 et 120 minutes. Pour le 3^{ème} patient de cette cohorte (patient 16), l'immuno-TEP n'a révélé qu'un seul foyer de fixation pathologique dans la loge de thyroïdectomie (avec des SUVmax à 5.53 et 4.75 à 60 min puis 120 min respectivement). Ce foyer n'étant pas détecté par le bilan conventionnel d'imagerie et étant inaccessible à une biopsie, il n'a pas été retenu par le Gold Standard comme en rapport avec le CMT au moment de l'analyse. Comparativement aux 14 autres, le bruit de fond vasculaire enregistré chez ce patient était extrêmement bas.

3.3 Toxicité

Aucun patient n'a présenté de réaction d'hypersensibilité ou anaphylactique pendant ou après l'injection de TF2.

Une patiente a présenté une réaction anaphylactique associant malaise, bronchospasme, tachycardie et hypertension artérielle immédiatement après l'injection de l'IMP288. Il s'agissait d'une patiente qui avait pour antécédent un asthme et un terrain allergique. Cette réaction allergique de grade 3 a nécessité une oxygénothérapie, des aérosols de beta2 mimétiques et une injection de solumédrol IV. La patiente avait été hospitalisée pendant 24h pour surveillance.

Des dosages des HAHA ont été effectués chez 11 des 16 patients, 3 puis 6 mois après l'injection de TF2 pour 9/11 patients et seulement à 3 mois pour les 2 autres. Deux des onze patients ont présenté une élévation des HAHA. Pour 1 patient, les HAHA étaient très modérément élevés à 3 mois (52 ng/ml) puis normalisés à 6 mois. Le second patient avait un dosage de HAHA normal à 3 mois mais élevé à 243.7 ng/ml à 6 mois.

Sur la base des données pharmacocinétiques obtenues dans notre essai de thérapie Eudract 2008-006030-96 qui utilisait le même Ac TF2 et le peptide IMP-288, pour une injection de 150 MBq de TF2/⁶⁸Ga-IMP-288, la dose efficace corps entier liée à l'injection de 150 MBq de TF2/⁶⁸Ga-IMP-288 était estimée à 0,7 mSv.

3.4 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique sanguine du TF2 était bien décrite en utilisant un modèle bi-compartimental grâce à l'approche par population. Néanmoins, du fait du faible nombre de prélèvements sanguins, des faibles doses injectées et du manque de sensibilité de la technique ELISA utilisée pour mesurer la concentration sanguine de TF2, la valeur du T1/2 de la phase beta de la cinétique n'a pas pu être estimée pour 2 patients (patients 3 et 16).

Pour l'ensemble de la population, la clairance moyenne du TF2 était rapide et estimée à 0.59 ± 0.11 L/h, avec une valeur de T1/2 pour la phase alpha estimée à 4.1 ± 0.5 h (tableau 16). Pour la phase beta, le T1/2 était de 14.3 ± 1.2 h en excluant les valeurs obtenues pour les patients 3 et 16. Les variations inter-individuelles étaient limitées et essentiellement provoquées par les différences de surfaces corporelles entre les patients. Le coefficient de variation des estimations de Vc était réduit de 11,0 % à 3,4% en rapportant Vc à la surface corporelle (tableau 16).

On note que ces résultats sont très proches de ceux qui ont été obtenus dans l'étude PRIT. On note également que le patient 16 présente une clairance du TF2 très élevée par rapport aux autres patients, qui n'a pu être expliquée (Figure 18).

| Paramètres | $k_{2,1}$ (h ⁻¹) | $k_{1,2}$ (h ⁻¹) | k_{el} (h ⁻¹) | Volume/m ² (L/m ²) | Vc (L) | Clairance (L/h) |
|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--|--------|--------------------|
| Valeurs de la Population | | | | | | |
| Estimation | 0,051 | 0,010 | 0,167 | 2,14 | NA | NA |
| DS | 0,027 | 0,004 | 0,011 | 0,06 | NA | NA |
| Valeurs individuelles | | | | | | |
| Patient 1 | 0,050 | 0,009 | 0,164 | 2,19 | 3,52 | 0,58 |
| Patient 2 | 0,057 | 0,012 | 0,167 | 2,20 | 4,01 | 0,67 |
| Patient 3 | 0,011 | 0,011 | 0,180 | 2,16 | 3,89 | 0,70 |
| Patient 4 | 0,051 | 0,010 | 0,1 ⁶⁸ | 2,14 | 2,98 | 0,50 |
| Patient 5 | 0,049 | 0,008 | 0,164 | 2,07 | 4,01 | 0,66 |
| Patient 6 | 0,050 | 0,009 | 0,165 | 2,20 | 3,43 | 0,57 |
| Patient 7 | 0,053 | 0,009 | 0,166 | 2,25 | 4,73 | 0,79 |
| Patient 9 | 0,047 | 0,012 | 0,157 | 2,14 | 4,01 | 0,63 |
| Patient 10 | 0,049 | 0,011 | 0,158 | 2,079 | 3,47 | 0,55 |
| Patient 11 | 0,054 | 0,010 | 0,156 | 2,070 | 4,01 | 0,63 |
| Patient 12 | 0,050 | 0,008 | 0,162 | 2,070 | 3,71 | 0,60 |
| Patient 13 | 0,071 | 0,015 | 0,114 | 2,053 | 3,77 | 0,43 |
| Patient 14 | 0,073 | 0,017 | 0,108 | 2,197 | 4,30 | 0,46 |
| Patient 15 | 0,070 | 0,012 | 0,104 | 1,980 | 3,44 | 0,36 |
| Patient 16 | 0,001 | 0,012 | 0,178 | 2,153 | 3,95 | 0,70 |
| Moyenne | 0,049 | 0,011 | 0,154 | 2,13 | 3,82 | 0,59 |
| DS | 0,020 | 0,003 | 0,025 | 0,07 | 0,42 | 0,11 |
| CV | 39,9% | 22,9% | 15,9% | 3,4% | 11,0% | 19,5% |

$k_{2,1}$ and $k_{1,2}$: taux de transfert, k_{el} : taux d'élimination, Vc : Volume du compartiment central, DS : déviation standard.

Tableau 16 : Pharmacocinétique du TF2 selon les données de l'analyse bi-compartimentale.

Comme l'illustre la figure 18, la clairance rapide du TF2 pour l'ensemble des patients expliquait les variations importantes des concentrations de TF2 circulant au moment de l'injection de l'IMP288 selon que le délai de préciblage choisi était de 24 h, 30 h ou 42h.

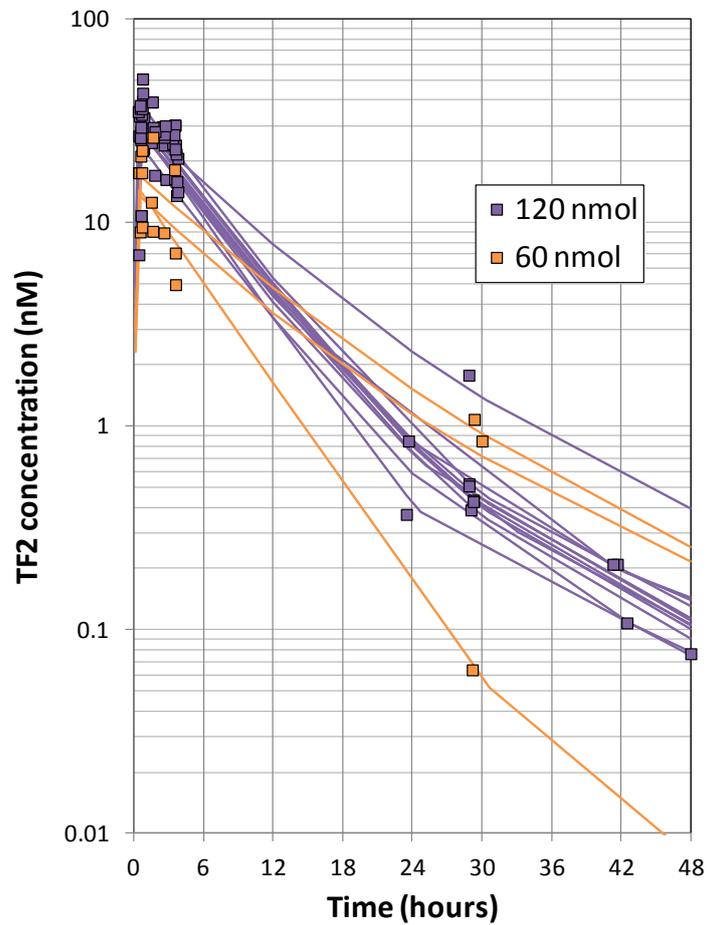


Figure 18 : Représentation de l'évolution de la concentration circulante de TF2 pour chaque patient en fonction du temps.

Les patients de 4 premières cohortes ont reçu 120 nmol de TF2, alors que les patients de la cohorte 5 n'ont reçu que 60 nmol de TF2.

La pharmacocinétique de l'IMP288 était également bien représentée par un modèle bi-compartimental, la difficulté étant d'y intégrer la relation entre la clairance du haptène et la concentration circulante de TF2 au moment de l'injection de l'IMP288 (Figure 19). En effet, les molécules de TF2 circulantes vont se lier avec l'⁶⁸Ga-IMP288 et ainsi ralentir sa clairance. Les valeurs moyennes de clairance de l'IMP288 étaient respectivement $1,16 \pm 0,1$ L/h, $2,14 \pm 0,6$ L/h et $2,61 \pm 0,5$ L/h pour les cohortes 1, 2 et 3 qui ont reçu les mêmes quantités molaires de TF2 (120 nmol) et d'IMP288 (6 nmol) avec des délais de préciblage différents (tableau 17). Cependant, même si on note une tendance à une accélération de la clairance avec l'augmentation du délai, les différences de clairances entre les 3 cohortes n'apparaissent pas statistiquement significatives.

La réduction de la dose molaire d'IMP288 à 3 nmol et donc l'augmentation du ratio molaire à 40 ralentissait la clairance de l'IMP288 évaluée à $1,05 \pm 0,5$ L/h dans la cohorte 4.

Dans la cohorte 5, la même dose molaire réduite de 3 nmol d'IMP288 a été administrée mais précédée d'une dose également réduite à 60 nmol de TF2. On observait dans cette cohorte un ralentissement de la clairance de l'IMP288 pour 2 patients avec des valeurs respectives de 0,54 et 0,70 L/h. Chez ce 2 patients les clairances lentes du TF2 étaient lentes (0,46 et 0,36 L/h respectivement) et les concentrations circulantes de TF2 élevées au moment de l'injection de l'IMP288. A l'opposé, la clairance de l'IMP288 du 3^{ème} patient de cette cohorte était extrêmement rapide évaluée à 5,4 L/h avec une valeur de clairance du TF2 dans les valeurs hautes par rapport aux autres patients (0,70 L/h pour une moyenne à $0,59 \pm 0,11$ L/h) correspondant à une concentration circulante de TF2 très basse au moment de l'injection de l'IMP288 (figure 18).

En utilisant le ratio quantité molaire de peptide injecté/quantité molaire de TF2 circulant au moment de l'injection de l'IMP288 comme covariable, il était possible de modéliser l'effet du TF2 sur la pharmacocinétique de l'IMP288, comme dans l'étude de pRIT. En effet, une bonne corrélation ($R^2 = 0,90$) était mise en évidence entre la clairance de l'IMP288 et la quantité molaire de TF2 circulant au moment de l'injection de l'IMP288 (Figure 20). La corrélation entre les SUVmax mesurées à 60 et 120 min et ce même rapport était moins forte, mais on pouvait distinguer, comme attendu, une tendance à la baisse de ces SUV avec l'augmentation du rapport (figure 20).

| Paramètres | $k_{2,1}$ (h^{-1}) | $k_{1,2}$ (h^{-1}) | A_s | B_s | MR | k_{el} (h^{-1}) | Volume/ m^2 (L/ m^2) | Vc (L) | Clearance (L/h) |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|------------------|------------------|------|-----------------------|------------------------------|--------|--------------------|
| Valeurs de la population | | | | | | | | | |
| Estimation | 2,92 | 1,77 | 0,62 | 0,71 | NA | NA | 2,84 | NA | NA |
| DS | 0,78 | 0,65 | 0,10 | 0,06 | NA | NA | 0,22 | NA | NA |
| Valeurs individuelles | | | | | | | | | |
| Patient 1 | 3,19 | 1,16 | 0,62 | 0,71 | 2,5 | 0,27 | 2,72 | 4,38 | 1,19 |
| Patient 2 | 3,00 | 1,80 | 0,64 | 0,72 | 2,5 | 0,24 | 2,88 | 5,25 | 1,24 |
| Patient 3 | 2,77 | 2,29 | 0,67 | 0,73 | 4,6 | 0,38 | 3,04 | 5,48 | 2,06 |
| Patient 4 | 2,99 | 2,13 | 0,54 | 0,69 | 4,7 | 0,38 | 2,97 | 4,13 | 1,55 |
| Patient 5 | 2,52 | 1,99 | 0,71 | 0,75 | 4,3 | 0,38 | 2,91 | 5,62 | 2,14 |
| Patient 6 | 2,58 | 2,02 | 0,70 | 0,75 | 6,2 | 0,62 | 2,82 | 4,40 | 2,74 |
| Patient 7 | 2,71 | 2,26 | 0,54 | 0,67 | 13,3 | 0,50 | 2,86 | 6,03 | 3,02 |
| Patient 9 | 2, ⁹⁰ | 2,38 | 0,56 | 0, ⁶⁸ | 11,0 | 0,50 | 3,05 | 5,70 | 2,83 |
| Patient 10 | 3,33 | 2,07 | 0,41 | 0,63 | 12,7 | 0,39 | 3,07 | 5,13 | 1,99 |
| Patient 11 | 2,64 | 1,61 | 0, ⁶⁸ | 0,73 | 2,4 | 0,24 | 2,77 | 5,35 | 1,31 |
| Patient 12 | 2,59 | 1,37 | 0,70 | 0,73 | 2,4 | 0,28 | 2,66 | 4,77 | 1,34 |
| Patient 13 | 2,72 | 1,04 | 0,65 | 0,71 | 0,7 | 0,11 | 2,51 | 4,61 | 0,51 |
| Patient 14 | 3,22 | 1,12 | 0,60 | 0,71 | 0,9 | 0,10 | 2,79 | 5,47 | 0,54 |
| Patient 15 | 2,35 | 0,93 | 0,70 | 0,71 | 1,0 | 0,17 | 2,42 | 4,20 | 0,70 |
| Patient 16 | 2,25 | 2,58 | 0,66 | 0,74 | 16,5 | 0,97 | 3,01 | 5,53 | 5,36 |
| Moyenne | 2,78 | 1,78 | 0,63 | 0,71 | | 0,37 | 2,83 | 5,07 | 1, ⁹⁰ |
| DS | 0,32 | 0,54 | 0,08 | 0,03 | | 0,22 | 0,19 | 0,61 | 1,25 |
| CV | 11,4% | 30,3% | 13,5% | 4,8% | | 60,3% | 6,9% | 12,0% | 65,6% |

$k_{2,1}$ and $k_{1,2}$: taux de transfert, k_{el} : taux d'élimination, Vc : Volume du compartiment central, DS : déviation standard.

Tableau 17 : Pharmacocinétique de l'IMP288 selon les données de l'analyse bi-compartimentale.

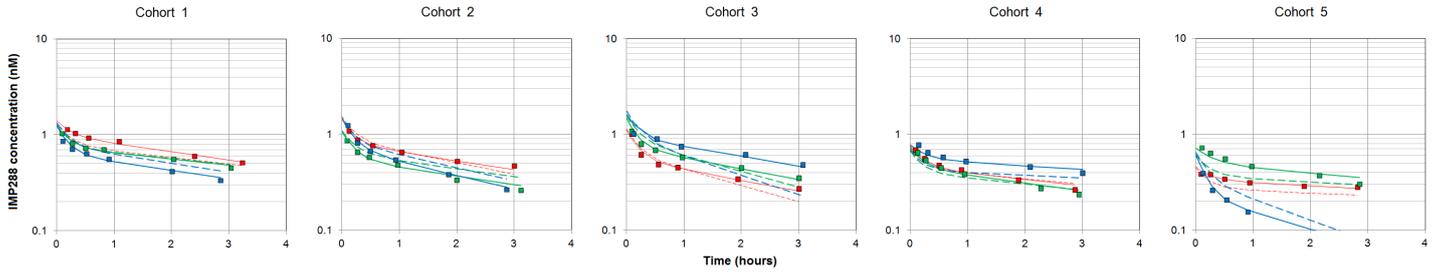


Figure 19 : Courbes pharmacocinétiques de l'IMP288 représentées pour chaque patient dans chaque cohorte.

Les données pharmacocinétiques étaient modélisées selon un modèle bi-compartimental par une approche de population. Les courbes sont représentées en mode semi-logarithmique en pointillé pour l'analyse par population et en ligne continue pour l'analyse individuelle.

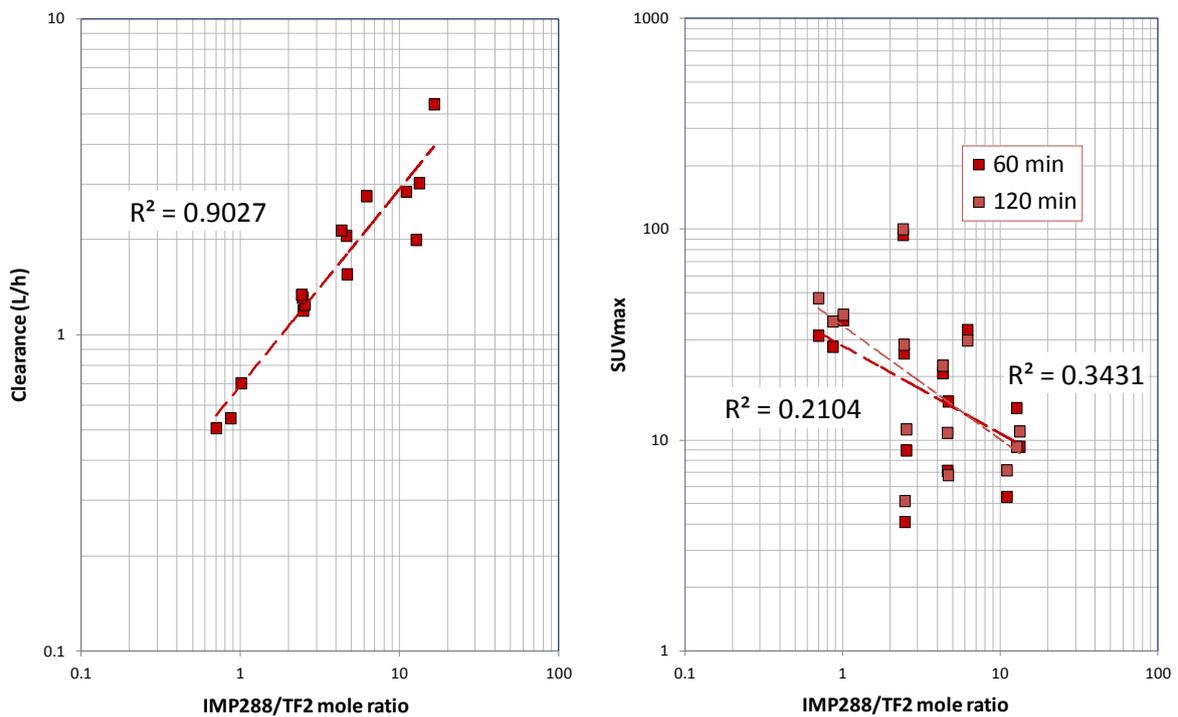


Figure 20 : Corrélation entre les valeurs de clairance de l'IMP288 et les valeurs de SUV max mesurées à 60 et 120 min et le ratio entre la quantité molaire d'IMP288 injectée et la quantité molaire de TF2 circulant au moment de l'injection de l'IMP288.

IV. DISCUSSION

Cette étude clinique est la première démontrant la faisabilité chez l'homme de l'immuno-TEP utilisant l'AcBs TF2 et le haptène IMP288 marqué au ^{68}Ga .

En effet, si la faisabilité de l'immuno-TEP avec le système de préciblage TF2/IMP288 dans des modèles précliniques avait déjà été montrée par les équipes d'Immunomedics et de l'Université de Nimègue, les précédentes études cliniques qui utilisaient ce système étaient des études de PRIT au sein desquelles était systématiquement effectuée une phase pré-thérapeutique utilisant l'IMP288 marqué à l' ^{111}In (28,73,111).

Dans la première étude de RIT, publiée par Schoffelen et al. chez des patients porteurs de CRC métastatiques, une fixation tumorale était visualisée en IS dès 1 h après l'injection du haptène et avec un contraste optimal à 24 h. Dans cette étude, le ciblage tumoral optimal était obtenu avec l'administration d'une dose de TF2 élevée par rapport à la dose de peptide (ratio molaire de 55) avec un délai de préciblage de 24 h. Cette étude dont l'objectif principal était d'optimiser la PRIT (et pas l'IS) concluait que le TF2 avait une clairance très rapide, que la concentration sanguine de TF2 augmentait proportionnellement à la dose injectée et que la clairance de l'IMP288 était rapide mais néanmoins ralentie par un raccourcissement du délai de préciblage et par l'augmentation du ratio TF2/IMP288. Dans notre étude de PRIT qui étudiait les mêmes réactifs chez des patients porteurs de CBP exprimant l'ACE et en rechute, des conclusions similaires étaient obtenues sur les meilleures conditions de préciblage, le schéma TF2 480 nmol, IMP288 24 nmol (ratio TF2/IMP de 20), délai de préciblage 24 h étant celui qui nous paraissait optimal en termes de dose délivrée à la tumeur.

Cependant, les objectifs de l'optimisation sont différents pour la thérapie et l'imagerie. En thérapie, l'objectif principal est de déterminer le schéma de préciblage qui permettra de délivrer une activité maximale à la tumeur tout en évitant d'être toxique sur les tissus sains. Le ciblage tumoral doit donc être le meilleur possible pendant un temps assez long, correspondant à la décroissance du radionucléide utilisé, au prix d'une activité circulante qui peut rester significative. Ainsi pour une efficacité maximale de la PRIT utilisant le système TF2/IMP288, les deux études cliniques précédemment décrites ont recommandé d'augmenter le ratio TF2/IMP288 en réduisant au maximum la quantité de haptène injectée. Cette quantité de haptène devait néanmoins être suffisante pour effectuer le marquage avec la plus haute activité possible. Il fallait également réduire au maximum le délai de préciblage.

Pour l'imagerie, le schéma optimal de préciblage est celui qui nous permet d'obtenir un bon ciblage tumoral mais également un bon contraste tumoral, et donc un bruit de fond circulant le plus faible

possible, au moment de l'enregistrement des images, c'est-à-dire, pour le ^{68}Ga , 60 à 120 minutes après l'injection du haptène, pour ne pas gêner leur interprétation. Ainsi, à cause de ces finalités différentes, les conditions optimales de préciblage ne sont pas nécessairement les mêmes pour la PRIT et l'immuno-TEP.

Nous avons dans un premier temps rapproché et comparé les résultats pharmacocinétiques obtenus dans nos deux études utilisant les mêmes réactifs pour la PRIT et l'immuno-TEP. Les valeurs moyennes de clairance du TF2 n'apparaissent pas différentes entre les 2 séries de patients, estimées respectivement à 0,59 +/- 0,11 pour l'immuno-TEP et 0,64 +/- 0,12 pour la PRIT. De la même façon les valeurs de T1/2 de la phase alpha étaient proches dans les 2 séries. La comparaison des T1/2 de la phase bêta était plus difficile du fait de l'impossibilité de calculer ce T1/2 pour 2 patients de la série immuno-TEP (patients 3 et 16). Ceci s'explique essentiellement par la limite de sensibilité de la technique de mesure des concentrations de TF2 circulants par ELISA pour des faibles quantités de TF2 administrées. En excluant ces 2 patients de l'analyse, on obtenait une différence des valeurs T1/2 de la phase bêta entre l'étude d'imagerie et celle de thérapie. Cette différence ne doit néanmoins pas être sur-interprétée, compte de la limite de sensibilité de la mesure de TF2 et de l'arrêt des prélèvements à 24 h, 30 H ou 42 h suivant les cohortes dans l'étude immuno-TEP. La comparaison des clairances et des profils pharmacocinétiques de l'IMP288 entre les 2 études n'est pas réellement possible car dans l'étude PRIT la plage d'observation est longue (5 à 7 jours) alors qu'elle est très courte dans l'étude immuno-TEP (3 heures) à cause des différences de demi-vie des radionucléides utilisés. Dans les deux cas, même si les variations de pharmacocinétique du TF2 étaient assez faibles, l'impact direct de la concentration de TF2 sur la clairance de l'IMP288 expliquait la variabilité des cinétiques de l'IMP288 observée entre patients (différentes cohortes) et entre les deux études.

Ainsi, ces différences constatées dans nos 2 études entre les profils pharmacocinétiques du TF2 et de l'IMP288 associées aux finalités différentes des approches d'imagerie et de PRIT justifiaient, malgré l'utilisation des mêmes réactifs, la répétition des études d'optimisation. L'objectif de notre étude était en effet de déterminer les paramètres optimaux d'utilisation du système TF2/IMP288 en imagerie TEP avec le Ga^{68} en faisant varier dans chacune des cohortes le délai de préciblage ou les quantités de réactifs administrés.

À cause des limites liées au faible nombre de patients dans chaque cohorte, aux difficultés de mesures de faibles concentrations circulantes de TF2 et à la variabilité inter-individuelle des cinétiques, relativement faible pour le TF2 mais plus importante pour l'IMP288, il n'existait pas de différence significative entre les différentes cohortes. Il a été néanmoins possible de dégager

certaines tendances, e s'appuyant en particulier sur la corrélation entre clairance de l'IMP288 et rapport quantité molaire de peptide injecté/quantité molaire de TF2 circulant au moment de son injection. Ainsi, on constatait qu'une augmentation du délai de préciblage augmentait la clairance de l'IMP288. A l'inverse, une baisse de la quantité molaire d'IMP288 diminuait sa clairance. Une imagerie de bonne qualité nécessitant une fixation tumorale de bonne qualité mais aussi un bruit de fond, en rapport avec l'activité circulante, faible, l'objectif de l'analyse visuelle et semi-quantitative des immuno-TEP enregistrées était de trouver un compromis entre une clairance trop rapide limitant potentiellement le bruit de fond mais diminuant la fixation tumorale et une clairance trop lente augmentant la fixation tumorale au prix d'un bruit de fond plus élevé.

Nous avons ainsi démontré qu'un délai de préciblage de 30 h était meilleur qu'un délai de 24 h en termes de fixation tumorale et de contraste. Le délai de 42 h, trop long, dégradait la qualité des images. Le délai de 30 h était ainsi déterminé comme le délai de préciblage optimal dans cette étude.

Ensuite, même si de bonnes performances d'imagerie étaient enregistrées entre les cohortes 2 et 4, le ratio molaire TF2/IMP288 de 20 testé dans la cohorte 2 semblait meilleur, dans ce contexte de marquage au ^{68}Ga , que le ratio 40 de la cohorte 4 qui testait une plus faible quantité de haptène. En effet même si la fixation tumorale semblait meilleure dans la cohorte 4 avec des valeurs de T-SUVmax plus élevées, le contraste tumoral était moins bon du fait d'un bruit de fond vasculaire visuellement et semi-quantitativement plus élevé. Cette élévation du bruit de fond vasculaire était en rapport avec la baisse de la quantité molaire de haptène qui diminuait sa clairance. Dans cette 4^{ème} cohorte, la fixation tumorale et le contraste étaient meilleurs sur les images enregistrées à 120 min pour les 3 patients suggérant l'intérêt d'images plus tardives, potentiellement permises par le marquage avec un émetteur de positons à $\frac{1}{2}$ vie plus longue comme le ^{64}Cu par exemple. L'intérêt d'images plus tardives avait déjà été suggéré par l'équipe hollandaise qui montrait que, lorsque les quantités de haptène étaient basses, le contraste tumoral optimal en IS était obtenu sur les images enregistrées 24 h après l'injection de l'IMP288. Enfin, la réduction à 3 nmol d'IMP288 injectées dans la cohorte 4 posait également un problème de radiomarquage. En effet, une très faible quantité de haptène nécessitait un marquage avec une activité spécifique élevée de ^{68}Ga , ce qui était très difficile à obtenir avec un générateur « en fin de vie ». L'ensemble de ces données nous faisait donc conclure que le schéma utilisé dans la cohorte 2 (120 nmol de TF2, 6 nmol d'IMP288, 30h de délai de préciblage) semblait le plus reproductible en routine clinique.

Les données enregistrées dans la cohorte 5 étaient plus discordantes et hétérogènes. Cette cohorte 5 était destinée à tester la possibilité d'obtenir une bonne imagerie en administrant moins d'anticorps, composé susceptible de causer des effets secondaires. Deux des 3 patients inclus dans

cette cohorte présentaient une bonne fixation tumorale mais également un important bruit de fond vasculaire qui réduisait le contraste tumoral et gênait l'interprétation des images. Les données d'imagerie étaient d'ailleurs cohérentes avec les données de pharmacocinétique qui montraient des clairances assez lentes du TF2 et de l'IMP288. Comme déjà décrit et discuté dans la cohorte 4, pour ces 2 patients, le contraste tumoral était amélioré sur les images enregistrées à 120 minutes. Le 3^{ème} patient de cette cohorte montrait quant à lui des résultats tout à fait opposés à ceux des 2 premiers patients. Chez ce patient, les clairances du TF2 mais surtout de l'IMP288 extrêmement rapides expliquaient le très faible bruit de fond vasculaire enregistré sur les images TEP. La concentration circulante de TF2 enregistrée en cours de perfusion et peu après chez ce patient attestait qu'il avait reçu une quantité de TF2 identique à celle des autres patients de la cohorte. L'ACE circulant dosé chez ce patient au moment de l'inclusion était bas évalué à 3,01 ng/ml. Une élévation de l'ACE circulant aurait pu expliquer des clairances accélérées par la formation de complexes circulants avec le TF2 (58). Le seul événement clinique notable chez ce patient était le diagnostic d'une polyglobulie de Vaquez dans les semaines qui avaient suivies l'immuno-TEP. Nous n'avons donc pas trouvé d'explication à ces différences de cinétique dans cette cohorte, mais nous avons conclu que la réduction de la dose de TF2 à 60 nmol pouvait poser des problèmes pour l'imagerie.

Enfin, dans nos précédentes études de RIT, les quantités d'Ac et de peptide administrées n'étaient pas fixes mais adaptées à la surface corporelle de chaque patient. Dans notre étude de PRIT qui utilisait les mêmes réactifs chez des patients porteurs de CP en rechute, l'utilisation de la surface corporelle du patient comme covariable pour le calcul du volume du compartiment central de chaque patient réduisait la variabilité interindividuelle des valeurs de clairance du TF2, validant ainsi a posteriori l'intérêt de l'escalade des doses de TF2 dans les différentes cohortes. Nous avons choisi dans cette étude d'immuno-TEP, d'administrer à chaque patient des doses de TF2 préalablement définies pour toute la cohorte sans tenir compte de la surface corporelle. L'étude pharmacocinétique nous montrait cependant, comme pour l'étude de RIT, qu'un calcul de la dose de TF2 adapté à la surface corporelle aurait permis une moins grande variabilité inter-individuelle des clairances du TF2.

Un autre intérêt de cette étude était d'évaluer si, malgré l'injection de quantités plus faibles de TF2, l'hypothèse précédemment émise dans notre étude de PRIT sur l'intérêt prophylactique potentiel de la prémédication systématique était également valable dans cette étude d'imagerie. En effet, tout comme dans notre étude de thérapie, et contrairement à ce qui était décrit par Shoeffelen, tous les patients inclus dans cette étude d'imagerie bénéficiaient d'une prémédication systématique par anti-histaminique et corticoïdes IV avant l'injection de TF2 (73). Aucune réaction d'hypersensibilité n'avait été constatée pendant ou après l'injection de l'AcBs suggérant l'intérêt

clinique de cette prémédication prophylactique systématique. Des HAA étaient dosées chez 2/11 patients évalués dans cette étude et chez 1/8 patient dans l'étude de RIT. Ce taux d'immunisation cumulé de 16% entre les 2 études était moindre que celui de 50% décrit dans l'étude de Shoeffelen, suggérant également l'effet bénéfique potentiel d'une possible immunosuppression transitoire induite par les corticoïdes administrés de façon prophylactique et limitant la formation de HAA.

En revanche, si aucune réaction d'hypersensibilité n'était constatée à l'injection du TF2, un patient de la série (numéro 10) était hospitalisé après la survenue d'une réaction d'hypersensibilité de grade 3 immédiatement au décours de l'injection du haptène. Des symptômes identiques survenus au décours de la perfusion du haptène avaient déjà été décrits chez 5 patients inclus dans une de nos études de PRIT qui utilisait les réactifs anti-ACE de la génération précédente et notamment le di-DTPA indium comme haptène (69). Bien que surprenantes, ces manifestations faisaient fortement suggérer des manifestations allergiques à l'injection du peptide. Au vu de ces données, le protocole a été amendé : la prémédication systématique a été étendue et prescrite de façon systématique avant l'injection du haptène pour tous les patients et l'injection du haptène a été faite en IV lente sur 30 minutes.

Quoi qu'il en soit, cette faible immunogénicité du TF2 constatée après prémédication devrait offrir la possibilité d'administrer plusieurs perfusions TF2 et représente un élément favorable pour l'utilisation de l'immuno-TEP comme une approche théranostique, par exemple pour sélectionner des patients pour un traitement par PRIT.

Dans les 5 cohortes étudiées, l'immuno-TEP permettait de détecter des lésions pathologiques chez tous les patients inclus à une exception près. Une lésion suspecte était néanmoins visualisée chez ce patient. Cette lésion ganglionnaire cervicale de petite taille située au niveau de la loge de thyroïdectomie n'était pas détectée par les autres examens d'imagerie et non accessible à un geste chirurgical donc non confirmée par le GS au moment de l'étude. Les résultats préliminaires de cette étude donnaient à l'immuno-TEP une excellente sensibilité globale évaluée à 92%, meilleure que celle de la ¹⁸F-DOPA-TEP et du TDM pour l'analyse globale et également meilleure que celles des IRM hépatiques et ostéo-médullaires. L'immuno-TEP permettait la visualisation de 119 lésions dont 101 étaient confirmées par le GS. Les 18 lésions restantes n'étaient pas confirmées par le GS au moment de l'analyse. Huit lésions étaient considérées comme faussement négatives en immuno-TEP. Il s'agissait de 5 lésions pulmonaires infra-centimétriques sur le TDM, de 2 lésions osseuses et d'1 lésion ganglionnaire. Les lésions osseuses et ganglionnaires faussement négatives étaient décrites chez des patients présentant de faibles évolutivités cliniques et biologiques du CMT (malades diagnostiqués depuis 22 ans et 9 ans respectivement, concentration

sérique de Ct relativement stables) pouvant faire suggérer l'hypothèse de lésions tumorales mais non évolutives expliquant ainsi l'absence de fixation en immuno-TEP.

Malgré des activités injectées et des quantités molaires d'AcBs et de haptène nettement plus faibles qu'en IS, l'excellente résolution spatiale de la technologie TEP permettait d'obtenir une sensibilité globale très proche de celle décrite en IS dans notre étude de 2007 chez 33 patients porteurs de CMT progressifs et traités dans le cadre d'un protocole de PRIT qui utilisait les réactifs AES d'ancienne génération (92% versus 94% en 2007) (92). Les résultats préliminaires laissaient également supposer que l'immuno-TEP permettait de détecter plus de lésions que l'IS. En effet, 107 lésions étaient visualisées chez 33 patients en IS versus 101 lésions pour seulement 15 patients dans notre étude d'immuno-TEP. Dans une analyse par « organe », les sensibilités de l'immuno-TEP étaient meilleures que celles obtenues avec les examens du bilan conventionnel permettant ainsi un meilleur staging ganglionnaire, hépatique que la TEP à la ¹⁸F-DOPA-TEP, le TDM et l'IRM. La sensibilité de l'immuno-TEP était meilleure que celle de l'IRM ostéo-médullaire en révélant des lésions osseuses qui n'étaient pas dans le champ d'acquisition de l'IRM. Enfin l'acquisition corps entier nous avait également permis de révéler une métastase cérébrale infra-centimétrique non détectée par les autres modalités d'imagerie. On constatait en revanche la faible sensibilité de l'immuno-TEP (50%) pour la détection des lésions pulmonaires alors que cette sensibilité était de 100% dans notre précédente étude d'IS.

Deux hypothèses peuvent expliquer ces discordances. D'une part, les nouvelles générations de TDM sont nettement plus sensibles que ceux utilisés entre 2000 et 2006 permettant de diagnostiquer des nodules pulmonaires de toute petite taille. Ainsi, notre Gold standard n'exigeant pas de preuve histologique, nous avons validé (au même titre que les cliniciens l'avaient fait) comme en rapport avec le CMT, des micronodules visualisés sur plusieurs TDM de suivi et discrètement progressifs sur le plan morphologique selon les critères RECIST (101). La très petite taille de certaines de ces lésions pouvait ainsi expliquer la moindre sensibilité de l'immuno-TEP. D'autre part, les images IS de notre étude de 2007, étaient enregistrées 4 à 6 jours après l'injection du haptène. Si l'analyse des immuno-TEP montrait que toutes les lésions étaient visualisées des 1 h après l'injection du haptène, on constatait une augmentation de la fixation tumorale entre 60 et 120 minutes chez 11/15 patients. Notre deuxième hypothèse était donc que les images d'immuno-TEP étaient peut-être enregistrées trop précocement après l'injection du haptène pour permettre la visualisation de certains nodules pulmonaires largement infra-centimétriques. Des images plus tardives auraient éventuellement permis une amélioration du contraste tumoral plus favorable à la visualisation d'images de petites tailles.

Ainsi, même si la sensibilité de l'immuno-TEP sera l'objet de la seconde partie de l'étude clinique qui portera sur les 24 patients inclus, ces résultats préliminaires suggèrent déjà largement l'intérêt de cette nouvelle modalité d'imagerie dans le CMT, permettant un examen corps entier sensible, spécifique, faiblement irradiant (dose efficace corps entier liée à l'injection de 150 MBq de TF2/⁶⁸Ga-IMP-288 évaluée à 0,7 mSv) et, à l'inverse de la TEP au ¹⁸FDG, indépendant du caractère agressif ou non de la tumeur (106).

L'importance de la littérature récente sur le sujet traduit un intérêt accru pour l'immuno-TEP ces dernières années. Ceci s'explique aisément par le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dans la prise en charge du cancer qui reposent notamment sur l'administration de thérapies ciblées utilisant, entre autres, des AcM (78,79). En effet, les thérapies ciblées sont des traitements coûteux et potentiellement toxiques pour lesquels la vérification de l'expression de la cible ne peut se faire qu'à partir de données histologiques souvent obtenues au diagnostic. Dans notre ère de médecine personnalisée, l'immuno-TEP pourrait ainsi être utilisée pour mieux comprendre les processus pathologiques. L'immuno-TEP pourrait ainsi offrir une solution non-invasive pour évaluer quantitativement l'expression de la cible et adapter ainsi les stratégies de traitement. Par exemple, les agents thérapeutiques anti-HER2 ne sont efficaces que chez les patients ayant un cancer du sein HER2-positif, mais l'expression de la cible est déterminée par immunohistochimie sur la pièce tumorale initiale. Il a été prouvé que l'immuno-TEP utilisant les Ac anti HER2 marqués avec du ⁶⁸Ga, du ⁶⁴Cu ou du ⁸⁹Zr pouvaient identifier les lésions HER2-positives et donc susceptibles de répondre au traitement (86–88,112,113).

Dans un second temps, l'immuno-TEP pourrait permettre une meilleure évaluation de la réponse thérapeutique et détecter la maladie résiduelle. Une étude préclinique portant sur des souris xénotreffées avec des lignées de cellules de tumeurs gastriques HER2 positive et négative a démontré d'une part la valeur discriminante de l'immuno-TEP au ⁸⁹Zr-trastuzumab pour déterminer les tumeurs HER2 positive et d'autre par son utilité comme marqueur pharmacodynamique pour évaluer la réponse tumorale à l'afatinib (114). Dans cette étude, s'il n'existait pas de variation significative de fixation du ¹⁸F-FDG chez les souris traitées, une diminution de l'absorption ⁸⁹Zr-trastuzumab était observée dans le groupe de souris traitées par rapport au groupe témoin. De plus, ces changements dans l'absorption du ⁸⁹Zr-trastuzumab étaient corrélés avec la diminution de la taille de la tumeur et la régulation négative de l'activité de HER2 en immunohistochimie.

L'immuno-TEP pourrait également être développée comme une modalité d'imagerie spécifique pour la détection tumorale mais aussi comme une approche théranostique/compagnon avant d'envisager une thérapie par RIT ou plus récemment par des immunotoxines (Antibody Drug

Conjugate) conjuguée telle que les anti-Trop-2 Ac-SN-38 conjugué, Sacituzumab Govitecan, développé pour le traitement de diverses tumeurs solides métastatiques (115). Ainsi, l'immuno-TEP préciblée anti-ACE pourrait remplacer l'IS pour sélectionner les patients porteurs de tumeurs exprimant l'antigène candidats à une RIT. Une étude préclinique a également démontré que l'immuno-TEP avec l'AcBs l'anti-TROP x anti-HSG TF12 et un haptène-peptide marqué au Ga⁶⁸ permettait une imagerie rapide, sensible et spécifique dans un modèle de cancer de la prostate (95). Cette approche pourrait être considéré comme une approche théranostique/compagnon pour sélectionner les patients avant une RIT utilisant le même système de préciblage mais marqué au ¹⁷⁷Lu ou à l'⁹⁰Y (116).

CHAPITRE V CONCLUSIONS/PERSPECTIVES

5.1 Conclusions

Au terme de ce travail plusieurs points de conclusion peuvent être dégagés :

Tout d'abord, les paramètres optimaux du système de pré-ciblage par TF2/IMP288 ont pu être définis à partir des données de ces deux études. Les différences observées entre les paramètres optimaux définis dans les 2 études démontrent l'intérêt des études d'optimisation pour l'utilisation d'un même système de pré-ciblage avec des finalités différentes. Ces résultats démontrent également la complémentarité de l'imagerie et des études pharmacocinétiques pour la détermination de ces schémas optimaux. Pour l'étude de thérapie, on a privilégié un délai de pré-ciblage plus court (24 h) et une dose molaire d'IMP288 la plus faible possible afin de ralentir au maximum la clairance de l'IMP288 et favoriser la fixation tumorale. Pour l'imagerie, le délai privilégié était de 30h et une dose molaire de 6 nmol était préférée à celle de 3 nmol. En effet, même si ce schéma n'était pas celui qui permettait d'obtenir la meilleure fixation tumorale selon l'analyse semi-quantitative des images, c'est celui avec lequel le rapport signal/bruit et la qualité des images étaient optimaux. Ce schéma d'administration (TF2 120 nmol, IMP288 6 nmol et délai 30 h) est également celui qui semble optimal dans notre seconde étude de phase I/II d'immuno-TEP, menée en parallèle, qui évalue le système TF2/IMP288 marqué au ^{68}Ga chez des patientes en rechute de cancers du sein exprimant l'ACE. De plus, et de façon intéressante, les paramètres optimaux de pré-ciblage que nous avons déterminés pour la PRIT comme pour l'immuno-TEP sont assez proches de ceux qui avaient été validés par l'équipe hollandaise de Nimègue. Malgré une collaboration partagée avec l'équipe américaine d'Immunomedics®, les travaux de recherche pré-cliniques et cliniques de notre équipe et ceux de l'équipe hollandaise sont totalement indépendants et la concordance des résultats obtenus apporte une certaine forme de « validation externe » aux données obtenues.

Par ailleurs, nous avons mis en évidence dans notre étude de PRIT le rôle théranostique de la session pré-thérapeutique sur la session thérapeutique à condition de garder un rapport molaire AcBs/haptène et un délai de pré-ciblage constants. Ainsi, et de façon tout à fait innovante, notre étude démontrait, à rapports molaires et délai de pré-ciblage constants, la possibilité d'administrer des quantités molaires nettement moindres d'AcBs et de haptène pour la phase pré-thérapeutique. En effet, dans les précédentes études de PRIT et notamment dans l'étude de Schoffelen et al. (74), la phase pré-thérapeutique de l'étude, était faite dans des conditions strictement identiques à celles de la phase thérapeutique. Ces résultats pourraient avoir un intérêt pour les études à venir, permettant

de réduire les quantités d'AcBs et de haptène administrées dans la phase pré-thérapeutique et ainsi de réduire, d'une part le coût de l'étude (en lien avec le coût élevé de production des AcBs) et d'autre part le risque immunogène.

En marge des études dosimétriques et pharmacocinétiques effectuées dans le cadre de cette étude de PRIT du CBP, nous avons montré que l'analyse quantitative des images IS enregistrées à visée dosimétrique nous permettait d'évaluer correctement les données pharmacocinétiques, c'est-à-dire d'obtenir des profils cinétiques de biodistribution à partir des images de quantification. En effet, l'excellente corrélation obtenue entre les valeurs obtenues à partir de l'imagerie et celles obtenues grâce aux prélèvements sanguins suggérait l'intérêt potentiel des profils cinétiques issus des données d'imagerie en complément des prélèvements sanguins répétés. Ces études vont se poursuivre pour intégrer cinétiques sanguines et cinétiques de biodistribution par imagerie et définir des protocoles optimisés permettant, avec un nombre de sessions d'imagerie minimum, une bonne estimation des paramètres pharmacocinétiques. Cette optimisation passe par une approche de population dans laquelle tous les patients ne seront pas soumis à une séance d'imagerie aux mêmes temps après injection de l'activité. Au contraire, les séances d'imagerie seront réparties au cours du temps pour obtenir, sur la population des patients inclus dans l'étude, des estimations fiables des paramètres pharmacocinétiques. Il est à noter que la même approche pourra être appliquée aux études précliniques et que dans une deuxième phase, les données obtenues sur des populations limitées étudiées en détail au décours des phases précoces d'études cliniques pourront être utilisées pour définir des protocoles d'imagerie minimaux en imagerie pré-thérapeutique et en dosimétrie en routine.

Les résultats préliminaires de l'étude d'immuno-TEP ont démontré, d'une part, la faisabilité de cette nouvelle modalité d'imagerie phénotypique et, d'autre part, son excellente sensibilité dans cette entité clinique rare qu'est le CMT. En effet, la sensibilité globale de l'immuno-TEP apparaît supérieure à celle de toutes les autres modalités d'imagerie validées par les recommandations internationales, excepté pour les localisations parenchymateuses pulmonaires de petite taille. La deuxième phase de l'étude, en cours, permettra de vérifier si ces premières conclusions sont confirmées.

L'analyse intermédiaire de l'efficacité thérapeutique de la PRIT sur le CBP ne montre qu'un très faible taux de réponses, qui s'explique aisément par les très faibles doses effectives reçues par les tumeurs. Nous espérons que la seconde partie de l'étude en escalade de dose nous permettra d'obtenir une efficacité thérapeutique plus importante. En effet, cette escalade de dose se fera en 4 paliers avec des activités allant de 1.85 GBq/m² à 4.1 GBq/m² pour le palier le plus élevé. Même si les résultats de cette première phase nous font penser que la dose tumorale restera très faible au premier palier (activité injectée d'environ 3.5 GBq pour un individu moyen), cette escalade très progressive se justifie par la toxicité hématologique potentielle de la PRIT qui représentait, malgré le pré-ciblage et même en l'absence d'envahissement ostéo-médullaire métastatique, le facteur limitant de nos études de PRIT antérieures. Les résultats de notre étude dosimétrique démontrent que 5GBq d'activité injectée délivrerait 1 à 1,5 Gy à la moelle osseuse et que la dose seuil de 2Gy à la moelle osseuse serait donc presque atteinte dès le 3^{ème} palier (1.68 Gy pour 5.6 GBq injectés).

Enfin, les résultats de nos 2 études démontrent l'intérêt d'une prémédication systématique par corticoïdes et anti-histaminiques pour réduire l'immunogénicité immédiate et retardée du TF2.

5.2 Perspectives :

La sensibilité moindre de l'immuno-TEP pour les localisations pulmonaires parfois millimétriques et l'amélioration de la fixation tumorale constatée sur les images enregistrées à 120 minutes dans certaines cohortes suggère, malgré une excellente sensibilité, que la technique est encore perfectible.

L'enregistrement des images immuno-TEP était effectuée en « respiration spontanée » à 60 comme à 120 min. Malgré les améliorations techniques des nouvelles caméras TEP, l'on sait, de part notre expérience avec le FDG, que la fixation des nodules pulmonaires infra-centimétriques est sous-estimée du fait de l'effet de volume partiel lié à l'amplitude des mouvements respiratoires. Même si l'impact thérapeutique n'est pas prouvé, le gating respiratoire permet de réduire le seuil de détectabilité des nodules pulmonaires de petit taille en TEP au FDG (117,118). Il serait aisé d'appliquer cette technique de gating respiratoire à l'immuno-TEP et ainsi de compléter notre examen par l'acquisition d'un step supplémentaire sur le thorax en synchronisation respiratoire. Il

s'agit là d'une solution simple et peu coûteuse qui permettrait peut-être d'améliorer la sensibilité de l'immuno-TEP pour la détection des nodules pulmonaires.

Nous avons également évoqué l'amélioration potentielle du rapport fixation tumorale/bruit de fond vasculaire, par l'acquisition d'images d'immuno-TEP plus tardives. La $\frac{1}{2}$ vie courte du ^{68}Ga ne permettant l'enregistrement d'images qu'à 60 et 120 min, le marquage de l'IMP288 avec un émetteur de positons à $\frac{1}{2}$ vie plus longue comme par exemple le ^{64}Cu pourrait être testé.

Récemment, deux études cliniques ont démontré la faisabilité et l'intérêt potentiel de l'immuno-TEP utilisant le ^{64}Cu -DOTA-trastuzumab chez des femmes porteuses de cancers de sein HER2+ métastatiques (88,113). Des images étaient enregistrées 24 puis 48 h après l'injection. D'après l'analyse des images et des données pharmacocinétiques, le contraste était optimal sur les images enregistrées à 48 h. Tamura et al. concluaient néanmoins que les activités non spécifiques sanguines, cardiaques et hépatiques gênaient l'interprétation et évoquaient l'intérêt potentiel de l'utilisation de fragments d'AcM, de plus petite taille et d'élimination plus rapide qu'une IgG complète pour diminuer l'activité circulante et les activités sanguine et cardiaque. En revanche, Mortimer et al. dont le travail n'incluait que des patientes « naïves » de trastuzumab démontraient que la fixation hépatique de ^{64}Cu -trastuzumab était réduite de 75 à 80% par l'administration d'une dose « froide » de trastuzumab. En revanche, cette pré-dose de trastuzumab « froid » multipliait par 2 le bruit de fond vasculaire gênant l'interprétation des images au niveau du médiastin.

Compte-tenu d'une clairance très rapide et d'une fixation hépatique moindre que les Ac directement marqués, le pré-ciblage utilisant le système TF2/IMP288 serait potentiellement favorable à l'obtention d'une imagerie de bonne qualité avec un marquage par le ^{64}Cu .

Un autre avantage du ^{64}Cu serait son utilisation théranostique dans le contexte d'une RIT au ^{67}Cu . En effet, le ^{67}Cu présente des caractéristiques favorables pour la RIT avec une demi-vie de 3,4 jours adaptées à la pharmacocinétique des AcM et des émissions de particules bêta⁻ d'énergie comparable à celle de ^{131}I et du ^{177}Lu . De plus, l'énergie et l'intensité que peut délivrer le cyclotron Arronax permettraient de produire ce radionucléide.

C'est d'ailleurs dans ce contexte théranostique que l'immuno-TEP anti-ACE aura sans doute le plus d'intérêt clinique. En effet, la validation en routine de cette nouvelle modalité d'imagerie sera vraisemblablement compliquée du fait d'un coût relativement élevé de production des AcBs. En revanche, et dans le contexte actuel de médecine personnalisée, l'immuno-TEP pré-ciblée anti-ACE pourrait remplacer l'IS pour sélectionner les patients porteurs de tumeurs exprimant l'antigène

candidat à une RIT. Par extension, cette nouvelle approche par immuno-TEP pourra donc être utilisée dans une approche théranostique ou diagnostic compagnon pour sélectionner les patients avant une RIT utilisant le même système de pré-ciblage ou que tout autre agent thérapeutique ciblant le même antigène : anticorps nu, conjugué anticorps médicament cytotoxique, anticorps marqué.

La très faible efficacité thérapeutique de la PRIT mise en évidence dans cette étude confirme la nécessité de poursuivre les recherches afin d'optimiser cette approche thérapeutique chez les patients porteurs de tumeurs solides avec des masses tumorales souvent volumineuses. Ainsi dans un premier temps, le remplacement du ^{177}Lu par ^{90}Y et l'administration fractionnée de la PRIT, envisageable du fait de la faible immunogénicité du TF2 après prémédication, permettrait probablement d'améliorer les doses absorbées par les tumeurs et ainsi l'efficacité thérapeutique. En effet, la haute énergie et le parcours tissulaire de ^{90}Y sont plus favorables que ceux du ^{177}Lu pour le traitement des tumeurs de taille moyenne. De plus, il est apparu que la fixation tumorale de la radioactivité avec ce système de préciblage décroît lentement avec le temps. Un radionucléide avec une durée de vie plus courte que celle du lutétium 177 (6,7 jours), comme l'yttrium 90 (demi-vie : 2,7 jours) serait plus favorable. Par ailleurs, l'administration fractionnée permettrait d'administrer des activités cumulées plus importantes qu'une seule injection. Ces 2 voies d'optimisation potentielles seront évaluées dans notre protocole « RITcolon » en cours de recrutement. Il s'agit d'une étude de PRIT qui utilise le même système TF2/IMP288 marqué cette fois-ci à ^{90}Y et administré en 2 fractions, à 8 jours d'intervalle, chez des patients porteurs de CCR exprimant l'ACE en rechute ou progression après plusieurs lignes thérapeutiques de chimio-immunothérapie.

Enfin dans le futur, une autre voie d'optimisation potentielle pourrait être le marquage de l'IMP288 avec des émetteurs alpha à $\frac{1}{2}$ vie courte comme le bismuth 213 ou l'astate 211. En effet, l'équipe d'immunomedics, en collaboration avec l'équipe hollandaise de Nimègue, a démontré très récemment au congrès de l'EANM 2015 à Hambourg, la faisabilité de la PRIT avec le complexe TF2/IMP288 marqué au bismuth 213 dans un modèle murin de CCR (119). Ils démontrent dans ce travail qu'une activité de 12 MBq de bismuth 213 permet d'obtenir une efficacité tumorale au moins identique à celle obtenue avec la dose maximale théorique de 60 MBq de ^{177}Lu , avec toutefois une toxicité qu'il faudra maîtriser. Si l'utilisation du bismuth 213 permet d'administrer des activités nettement plus faibles que les émetteurs bêta – du fait d'une plus haute énergie, le faible parcours dans la matière de ces émetteurs alpha impliquerait, dans de futures études, de cibler la maladie résiduelle et donc de proposer l'alpha-PRIT en situation adjuvante de façon concomitante ou immédiatement après un traitement ayant permis de réduire la masse tumorale. En revanche, nos études précliniques et les résultats des études d'immuno-TEP avec le gallium 68 montrent que,

même si les cinétiques de fixation tumorales sont rapides, des radionucléides avec une durée de vie plus longues que le bismuth 213 (demi-vie : 46 minutes), comme l'astate 211 (demi-vie : 7,2 h), seraient plus efficaces.

Bibliographie

1. Chang C-H, Sharkey RM, Rossi EA, Karacay H, McBride W, Hansen HJ, et al. Molecular advances in pretargeting radioimmunotherapy with bispecific antibodies. *Mol Cancer Ther.* mai 2002;1(7):553-63.
2. Jain M, Venkatraman G, Batra SK. Optimization of radioimmunotherapy of solid tumors: biological impediments and their modulation. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 mars 2007;13(5):1374-82.
3. Goldenberg DM, Chang C-H, Sharkey RM, Rossi EA, Karacay H, McBride W, et al. Radioimmunotherapy: is avidin-biotin pretargeting the preferred choice among pretargeting methods? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* mai 2003;30(5):777-80.
4. Mårtensson L, Nilsson R, Ohlsson T, Sjögren H-O, Strand S-E, Tennvall J. Improved tumor targeting and decreased normal tissue accumulation through extracorporeal affinity adsorption in a two-step pretargeting strategy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2007;13(18 Pt 2):5572s - 5576s.
5. Mirallié E, Sai-Maurel C, Faivre-Chauvet A, Regenet N, Chang C-H, Goldenberg DM, et al. Improved pretargeted delivery of radiolabelled hapten to human tumour xenograft in mice by avidin chase of circulating bispecific antibody. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* août 2005;32(8):901-9.
6. Li G-P, Zhang H, Zhu C-M, Zhang J, Jiang X-F. Avidin-biotin system pretargeting radioimmunoimaging and radioimmunotherapy and its application in mouse model of human colon carcinoma. *World J Gastroenterol WJG.* 28 oct 2005;11(40):6288-94.
7. Axworthy DB, Reno JM, Hylarides MD, Mallett RW, Theodore LJ, Gustavson LM, et al. Cure of human carcinoma xenografts by a single dose of pretargeted yttrium-90 with negligible toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15 févr 2000;97(4):1802-7.
8. Knox SJ, Goris ML, Tempero M, Weiden PL, Gentner L, Breitz H, et al. Phase II trial of yttrium-90-DOTA-biotin pretargeted by NR-LU-10 antibody/streptavidin in patients with metastatic colon cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* févr 2000;6(2):406-14.
9. Barbet J, Kraeber-Bodéré F, Vuillez JP, Gautherot E, Rouvier E, Chatal JF. Pretargeting with the affinity enhancement system for radioimmunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm.* juin 1999;14(3):153-66.
10. Le Doussal JM, Gruaz-Guyon A, Martin M, Gautherot E, Delaage M, Barbet J. Targeting of indium 111-labeled bivalent hapten to human melanoma mediated by bispecific monoclonal antibody conjugates: imaging of tumors hosted in nude mice. *Cancer Res.* 1 juin 1990;50(11):3445-52.
11. Boerman OC, Kranenborg MH, Oosterwijk E, Griffiths GL, McBride WJ, Oyen WJ, et al. Pretargeting of renal cell carcinoma: improved tumor targeting with a bivalent chelate. *Cancer Res.* 1 sept 1999;59(17):4400-5.

12. Le Doussal JM, Martin M, Gautherot E, Delaage M, Barbet J. In vitro and in vivo targeting of radiolabeled monovalent and divalent haptens with dual specificity monoclonal antibody conjugates: enhanced divalent hapten affinity for cell-bound antibody conjugate. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 1989;30(8):1358-66.
13. Goodwin DA, Meares CF, McTigue M, Chaovapong W, Diamanti CI, Ransone CH, et al. Pretargeted immunoscintigraphy: effect of hapten valency on murine tumor uptake. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* nov 1992;33(11):2006-13.
14. Hosono M, Hosono MN, Kraeber-Bodéré F, Devys A, Thédrez P, Faivre-Chauvet A, et al. Two-step targeting and dosimetry for small cell lung cancer xenograft with anti-NCAM/antihistamine bispecific antibody and radioiodinated bivalent hapten. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juill 1999;40(7):1216-21.
15. Kraeber-Bodéré F, Faivre-Chauvet A, Saï-Maurel C, Gautherot E, Fiche M, Campion L, et al. Bispecific antibody and bivalent hapten radioimmunotherapy in CEA-producing medullary thyroid cancer xenograft. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* janv 1999;40(1):198-204.
16. Devys A, Thédrez P, Gautherot E, Faivre-Chauvet A, Saï-Maurel C, Rouvier E, et al. Comparative targeting of human colon-carcinoma multicell spheroids using one- and two-step (bispecific antibody) techniques. *Int J Cancer J Int Cancer.* 17 sept 1996;67(6):883-91.
17. Frampas E, Maurel C, Remaud-Le Saëc P, Mauxion T, Faivre-Chauvet A, Davodeau F, et al. Pretargeted radioimmunotherapy of colorectal cancer metastases: models and pharmacokinetics predict influence of the physical and radiochemical properties of the radionuclide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* déc 2011;38(12):2153-64.
18. Sharkey RM, Karacay H, Cardillo TM, Chang C-H, McBride WJ, Rossi EA, et al. Improving the delivery of radionuclides for imaging and therapy of cancer using pretargeting methods. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 oct 2005;11(19 Pt 2):7109s - 7121s.
19. Peltier P, Curtet C, Chatal JF, Le Doussal JM, Daniel G, Aillet G, et al. Radioimmunodetection of medullary thyroid cancer using a bispecific anti-CEA/anti-indium-DTPA antibody and an indium-111-labeled DTPA dimer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 1993;34(8):1267-73.
20. Le Doussal JM, Chetanneau A, Gruaz-Guyon A, Martin M, Gautherot E, Lehur PA, et al. Bispecific monoclonal antibody-mediated targeting of an indium-111-labeled DTPA dimer to primary colorectal tumors: pharmacokinetics, biodistribution, scintigraphy and immune response. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* oct 1993;34(10):1662-71.
21. Vuillez JP, Kraeber-Bodéré F, Moro D, Bardiès M, Douillard JY, Gautherot E, et al. Radioimmunotherapy of small cell lung carcinoma with the two-step method using a bispecific anti-carcinoembryonic antigen/anti-diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) antibody and iodine-131 Di-DTPA hapten: results of a phase I/II trial. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* oct 1999;5(10 Suppl):3259s - 3267s.
22. Barbet J, Peltier P, Bardet S, Vuillez JP, Bachelot I, Denet S, et al. Radioimmunodetection of medullary thyroid carcinoma using indium-111 bivalent hapten and anti-CEA x anti-DTPA-indium bispecific antibody. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juill 1998;39(7):1172-8.

23. Janevik-Ivanovska E, Gautherot E, Hillairet de Boisferon M, Cohen M, Milhaud G, Tartar A, et al. Bivalent hapten-bearing peptides designed for iodine-131 pretargeted radioimmunotherapy. *Bioconjug Chem.* août 1997;8(4):526-33.
24. Sharkey RM, McBride WJ, Karacay H, Chang K, Griffiths GL, Hansen HJ, et al. A universal pretargeting system for cancer detection and therapy using bispecific antibody. *Cancer Res.* 15 janv 2003;63(2):354-63.
25. Sharkey RM, Karacay H, Vallabhajosula S, McBride WJ, Rossi EA, Chang C-H, et al. Metastatic human colonic carcinoma: molecular imaging with pretargeted SPECT and PET in a mouse model. *Radiology.* févr 2008;246(2):497-507.
26. Griffiths GL, Chang C-H, McBride WJ, Rossi EA, Sheerin A, Tejada GR, et al. Reagents and methods for PET using bispecific antibody pretargeting and 68Ga-radiolabeled bivalent hapten-peptide-chelate conjugates. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* janv 2004;45(1):30-9.
27. McBride WJ, Sharkey RM, Karacay H, D'Souza CA, Rossi EA, Laverman P, et al. A novel method of 18F radiolabeling for PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 2009;50(6):991-8.
28. Schoffelen R, Sharkey RM, Goldenberg DM, Franssen G, McBride WJ, Rossi EA, et al. Pretargeted immuno-positron emission tomography imaging of carcinoembryonic antigen-expressing tumors with a bispecific antibody and a 68Ga- and 18F-labeled hapten peptide in mice with human tumor xenografts. *Mol Cancer Ther.* avr 2010;9(4):1019-27.
29. Karacay H, Sharkey RM, Gold DV, Ragland DR, McBride WJ, Rossi EA, et al. Pretargeted radioimmunotherapy of pancreatic cancer xenografts: TF10-90Y-IMP-288 alone and combined with gemcitabine. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* déc 2009;50(12):2008-16.
30. Schoffelen R, van der Graaf WTA, Franssen G, Sharkey RM, Goldenberg DM, McBride WJ, et al. Pretargeted 177Lu radioimmunotherapy of carcinoembryonic antigen-expressing human colonic tumors in mice. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* nov 2010;51(11):1780-7.
31. Goldenberg DM, Chatal J-F, Barbet J, Boerman O, Sharkey RM. Cancer Imaging and Therapy with Bispecific Antibody Pretargeting. *Update Cancer Ther.* mars 2007;2(1):19-31.
32. Rossi EA, Goldenberg DM, Cardillo TM, McBride WJ, Sharkey RM, Chang C-H. Stably tethered multifunctional structures of defined composition made by the dock and lock method for use in cancer targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 mai 2006;103(18):6841-6.
33. Sharkey RM, Rossi EA, McBride WJ, Chang C-H, Goldenberg DM. Recombinant bispecific monoclonal antibodies prepared by the dock-and-lock strategy for pretargeted radioimmunotherapy. *Semin Nucl Med.* mai 2010;40(3):190-203.
34. Chang C-H, Rossi EA, Goldenberg DM. The dock and lock method: a novel platform technology for building multivalent, multifunctional structures of defined composition with retained bioactivity. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2007;13(18 Pt 2):5586s - 5591s.
35. Goldenberg DM. Targeted therapy of cancer with radiolabeled antibodies. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* mai 2002;43(5):693-713.

36. Pouget J-P, Navarro-Teulon I, Bardiès M, Chouin N, Cartron G, Pèlerin A, et al. Clinical radioimmunotherapy--the role of radiobiology. *Nat Rev Clin Oncol*. déc 2011;8(12):720-34.
37. Chatal J-F, Davodeau F, Cherel M, Barbet J. Different ways to improve the clinical effectiveness of radioimmunotherapy in solid tumors. *J Cancer Res Ther*. sept 2009;5 Suppl 1:S36-40.
38. Barbet J, Bardiès M, Bourgeois M, Chatal J-F, Chérel M, Davodeau F, et al. Radiolabeled antibodies for cancer imaging and therapy. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2012;907:681-97.
39. Witzig TE, Molina A, Gordon LI, Emmanouilides C, Schilder RJ, Flinn IW, et al. Long-term responses in patients with recurring or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma treated with yttrium 90 ibritumomab tiuxetan. *Cancer*. 1 mai 2007;109(9):1804-10.
40. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Botto B, Rohatiner AZS, Salles G, et al. 90Yttrium-ibritumomab tiuxetan consolidation of first remission in advanced-stage follicular non-Hodgkin lymphoma: updated results after a median follow-up of 7.3 years from the International, Randomized, Phase III First-Line Indolent trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juin 2013;31(16):1977-83.
41. Shimoni A, Avivi I, Rowe JM, Yeshurun M, Levi I, Or R, et al. A randomized study comparing yttrium-90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin) and high-dose BEAM chemotherapy versus BEAM alone as the conditioning regimen before autologous stem cell transplantation in patients with aggressive lymphoma. *Cancer*. 1 oct 2012;118(19):4706-14.
42. Vose JM, Carter S, Burns LJ, Ayala E, Press OW, Moskowitz CH, et al. Phase III randomized study of rituximab/carmustine, etoposide, cytarabine, and melphalan (BEAM) compared with iodine-131 tositumomab/BEAM with autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma: results from the BMT CTN 0401 trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mai 2013;31(13):1662-8.
43. Smith MR, Li H, Gordon L, Gascoyne RD, Paietta E, Forero-Torres A, et al. Phase II study of rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone immunochemotherapy followed by yttrium-90-ibritumomab tiuxetan in untreated mantle-cell lymphoma: Eastern Cooperative Oncology Group Study E1499. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 sept 2012;30(25):3119-26.
44. Press OW, Unger JM, Rimsza LM, Friedberg JW, LeBlanc M, Czuczman MS, et al. Phase III randomized intergroup trial of CHOP plus rituximab compared with CHOP chemotherapy plus (131)iodine-tositumomab for previously untreated follicular non-Hodgkin lymphoma: SWOG S0016. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 janv 2013;31(3):314-20.
45. Morschhauser F, Kraeber-Bodéré F, Wegener WA, Harousseau J-L, Petillon M-O, Huglo D, et al. High rates of durable responses with anti-CD22 fractionated radioimmunotherapy: results of a multicenter, phase I/II study in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 août 2010;28(23):3709-16.
46. Chevallier P, Bodet-Milin C, Robillard N, Eugene T, Menard A, Le Houerou C, et al. BCR-ABL1 molecular remission after 90Y-epiratuzumab tetraxetan radioimmunotherapy in CD22+ Ph+ B-ALL: proof of principle. *Eur J Haematol*. déc 2013;91(6):552-6.

47. Rousseau C, Ferrer L, Supiot S, Bardiès M, Davodeau F, Faivre-Chauvet A, et al. Dosimetry results suggest feasibility of radioimmunotherapy using anti-CD138 (B-B4) antibody in multiple myeloma patients. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med.* juin 2012;33(3):679-88.
48. Chérel M, Gouard S, Gaschet J, Sai-Maurel C, Bruchertseifer F, Morgenstern A, et al. 213Bi radioimmunotherapy with an anti-mCD138 monoclonal antibody in a murine model of multiple myeloma. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* sept 2013;54(9):1597-604.
49. Juweid ME, Sharkey RM, Behr T, Swayne LC, Dunn R, Siegel J, et al. Radioimmunotherapy of patients with small-volume tumors using iodine-131-labeled anti-CEA monoclonal antibody NP-4 F(ab')₂. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* sept 1996;37(9):1504-10.
50. Schlumberger M, Challeton C, De Vathaire F, Travagli JP, Gardet P, Lumbroso JD, et al. Radioactive iodine treatment and external radiotherapy for lung and bone metastases from thyroid carcinoma. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* avr 1996;37(4):598-605.
51. Jain RK, Baxter LT. Mechanisms of heterogeneous distribution of monoclonal antibodies and other macromolecules in tumors: significance of elevated interstitial pressure. *Cancer Res.* 15 déc 1988;48(24 Pt 1):7022-32.
52. Chatal JF, Saccavini JC, Gestin JF, Thédrez P, Curtet C, Kremer M, et al. Biodistribution of indium-111-labeled OC 125 monoclonal antibody intraperitoneally injected into patients operated on for ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 1 juin 1989;49(11):3087-94.
53. Brown JM, Giaccia AJ. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. *Cancer Res.* 1 avr 1998;58(7):1408-16.
54. Tagawa ST, Milowsky MI, Morris M, Vallabhajosula S, Christos P, Akhtar NH, et al. Phase II study of lutetium-177 labeled anti-prostate-specific membrane antigen (PSMA) monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2013;19(18):5182-91.
55. Ocean AJ, Pennington KL, Guarino MJ, Sheikh A, Bekaii-Saab T, Serafini AN, et al. Fractionated Radioimmunotherapy With 90Y-Clivatuzumab Tetraxetan and Low-Dose Gemcitabine Is Active in Advanced Pancreatic Cancer. *Cancer.* 15 nov 2012;118(22):5497-506.
56. Gold P, Freedman SO. DEMONSTRATION OF TUMOR-SPECIFIC ANTIGENS IN HUMAN COLONIC CARCINOMATA BY IMMUNOLOGICAL TOLERANCE AND ABSORPTION TECHNIQUES. *J Exp Med.* 1 mars 1965;121:439-62.
57. Paxton RJ, Mooser G, Pande H, Lee TD, Shively JE. Sequence analysis of carcinoembryonic antigen: identification of glycosylation sites and homology with the immunoglobulin supergene family. *Proc Natl Acad Sci U S A.* févr 1987;84(4):920-4.
58. Behr TM, Sharkey RM, Juweid MI, Dunn RM, Ying Z, Zhang C-H, et al. Factors Influencing the Pharmacokinetics, Dosimetry, and Diagnostic Accuracy of Radioimmunodetection and Radioimmunotherapy of Carcinoembryonic Antigen-expressing Tumors. *Cancer Res.* 15 avr 1996;56(8):1805-16.

59. Siegel JA, Pawlyk DA, Lee RE, Sasso NL, Horowitz JA, Sharkey RM, et al. Tumor, red marrow, and organ dosimetry for 131I-labeled anti-carcinoembryonic antigen monoclonal antibody. *Cancer Res.* 1 févr 1990;50(3 Suppl):1039s - 1042s.
60. Behr TM, Sharkey RM, Juweid ME, Dunn RM, Vagg RC, Ying Z, et al. Phase I/II clinical radioimmunotherapy with an iodine-131-labeled anti-carcinoembryonic antigen murine monoclonal antibody IgG. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 1997;38(6):858-70.
61. Sharkey RM, Gold DV, Aninipot R, Vagg R, Ballance C, Newman ES, et al. Comparison of tumor targeting in nude mice by murine monoclonal antibodies directed against different human colorectal cancer antigens. *Cancer Res.* 1 févr 1990;50(3 Suppl):828s - 834s.
62. Buchegger F, Pèlegri A, Delaloye B, Bischof-Delaloye A, Mach JP. Iodine-131-labeled MAb F(ab')₂ fragments are more efficient and less toxic than intact anti-CEA antibodies in radioimmunotherapy of large human colon carcinoma grafted in nude mice. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 1990;31(6):1035-44.
63. Koppe MJ, Bleichrodt RP, Oyen WJG, Boerman OC. Radioimmunotherapy and colorectal cancer. *Br J Surg.* mars 2005;92(3):264-76.
64. Ychou M, Pelegrin A, Faurous P, Robert B, Saccavini JC, Guerreau D, et al. Phase-I/II radioimmunotherapy study with Iodine-131-labeled anti-CEA monoclonal antibody F6 F(ab')₂ in patients with non-resectable liver metastases from colorectal cancer. *Int J Cancer J Int Cancer.* 9 févr 1998;75(4):615-9.
65. Liersch T, Meller J, Kulle B, Behr TM, Markus P, Langer C, et al. Phase II trial of carcinoembryonic antigen radioimmunotherapy with 131I-labetuzumab after salvage resection of colorectal metastases in the liver: five-year safety and efficacy results. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 sept 2005;23(27):6763-70.
66. Kraeber-Bodéré F, Bardet S, Hoefnagel CA, Vieira MR, Vuillez JP, Murat A, et al. Radioimmunotherapy in medullary thyroid cancer using bispecific antibody and iodine 131-labeled bivalent hapten: preliminary results of a phase I/II clinical trial. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* oct 1999;5(10 Suppl):3190s - 3198s.
67. Mirallié E, Vuillez JP, Bardet S, Frampas E, Dupas B, Ferrer L, et al. High frequency of bone/bone marrow involvement in advanced medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* févr 2005;90(2):779-88.
68. Kraeber-Bodéré F, Faivre-Chauvet A, Ferrer L, Vuillez J-P, Brard P-Y, Rousseau C, et al. Pharmacokinetics and dosimetry studies for optimization of anti-carcinoembryonic antigen x anti-hapten bispecific antibody-mediated pretargeting of Iodine-131-labeled hapten in a phase I radioimmunotherapy trial. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 sept 2003;9(10 Pt 2):3973S - 81S.
69. Kraeber-Bodéré F, Rousseau C, Bodet-Milin C, Ferrer L, Faivre-Chauvet A, Campion L, et al. Targeting, toxicity, and efficacy of 2-step, pretargeted radioimmunotherapy using a chimeric bispecific antibody and 131I-labeled bivalent hapten in a phase I optimization clinical trial. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* févr 2006;47(2):247-55.

70. Chatal J-F, Campion L, Kraeber-Bodéré F, Bardet S, Vuillez J-P, Charbonnel B, et al. Survival improvement in patients with medullary thyroid carcinoma who undergo pretargeted anti-carcinoembryonic-antigen radioimmunotherapy: a collaborative study with the French Endocrine Tumor Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 avr 2006;24(11):1705-11.
71. Barbet J, Campion L, Kraeber-Bodéré F, Chatal J-F, GTE Study Group. Prognostic impact of serum calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling-times in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. nov 2005;90(11):6077-84.
72. Salaun P-Y, Campion L, Bournaud C, Faivre-Chauvet A, Vuillez J-P, Taieb D, et al. Phase II trial of anticarcinoembryonic antigen pretargeted radioimmunotherapy in progressive metastatic medullary thyroid carcinoma: biomarker response and survival improvement. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. août 2012;53(8):1185-92.
73. Schoffelen R, Boerman OC, Goldenberg DM, Sharkey RM, van Herpen CML, Franssen GM, et al. Development of an imaging-guided CEA-pretargeted radionuclide treatment of advanced colorectal cancer: first clinical results. *Br J Cancer*. 20 août 2013;109(4):934-42.
74. Schoffelen R, Woliner-van der Weg W, Visser EP, Goldenberg DM, Sharkey RM, McBride WJ, et al. Predictive patient-specific dosimetry and individualized dosing of pretargeted radioimmunotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. août 2014;41(8):1593-602.
75. Knowles SM, Wu AM. Advances in immuno-positron emission tomography: antibodies for molecular imaging in oncology. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 nov 2012;30(31):3884-92.
76. Moses WW. Recent Advances and Future Advances in Time-of-Flight PET. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect Accel Spectrometers Detect Assoc Equip*. 1 oct 2007;580(2):919-24.
77. Lewellen TK. Recent developments in PET detector technology. *Phys Med Biol*. 7 sept 2008;53(17):R287-317.
78. Wu AM. Antibodies and antimatter: the resurgence of immuno-PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. janv 2009;50(1):2-5.
79. van Dongen GAMS, Visser GWM, Lub-de Hooge MN, de Vries EG, Perk LR. Immuno-PET: a navigator in monoclonal antibody development and applications. *The Oncologist*. déc 2007;12(12):1379-89.
80. McBride WJ, Zanzonico P, Sharkey RM, Norén C, Karacay H, Rossi EA, et al. Bispecific antibody pretargeting PET (immunoPET) with an 124I-labeled hapten-peptide. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. oct 2006;47(10):1678-88.
81. Boerman OC, Oyen WJG. Immuno-PET of cancer: a revival of antibody imaging. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. août 2011;52(8):1171-2.
82. Freudenberg LS, Antoch G, Jentzen W, Pink R, Knust J, Görges R, et al. Value of (124)I-PET/CT in staging of patients with differentiated thyroid cancer. *Eur Radiol*. nov 2004;14(11):2092-8.

83. Pandit-Taskar N, O'Donoghue JA, Durack JC, Lyashchenko SK, Cheal SM, Beylergil V, et al. A Phase I/II Study for Analytic Validation of ⁸⁹Zr-J591 ImmunoPET as a Molecular Imaging Agent for Metastatic Prostate Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 14 juill 2015;
84. Rousseau C, Ruellan AL, Bernardeau K, Kraeber-Bodéré F, Gouard S, Loussouarn D, et al. Syndecan-1 antigen, a promising new target for triple-negative breast cancer immuno-PET and radioimmunotherapy. A preclinical study on MDA-MB-468 xenograft tumors. *EJNMMI Res.* 2011;1(1):20.
85. Perk LR, Visser OJ, Stigter-van Walsum M, Vosjan MJWD, Visser GWM, Zijlstra JM, et al. Preparation and evaluation of (⁸⁹Zr-Zevalin for monitoring of (⁹⁰Y-Zevalin biodistribution with positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* nov 2006;33(11):1337-45.
86. Baum RP, Prasad V, Müller D, Schuchardt C, Orlova A, Wennborg A, et al. Molecular imaging of HER2-expressing malignant tumors in breast cancer patients using synthetic ¹¹¹In- or ⁶⁸Ga-labeled affibody molecules. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 2010;51(6):892-7.
87. Dijkers EC, Oude Munnink TH, Kosterink JG, Brouwers AH, Jager PL, de Jong JR, et al. Biodistribution of ⁸⁹Zr-trastuzumab and PET imaging of HER2-positive lesions in patients with metastatic breast cancer. *Clin Pharmacol Ther.* mai 2010;87(5):586-92.
88. Tamura K, Kurihara H, Yonemori K, Tsuda H, Suzuki J, Kono Y, et al. ⁶⁴Cu-DOTA-trastuzumab PET imaging in patients with HER2-positive breast cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* nov 2013;54(11):1869-75.
89. Lumbroso J, Berche C, Mach JP, Rougier P, Aubry F, Buchegger F, et al. [Use of tomographic scintigraphy with radio-labelled monoclonal antibodies for detecting human digestive cancers and medullary cancers of the thyroid]. *Bull Cancer (Paris).* 1983;70(2):96-102.
90. Curtet C, Vuillez JP, Daniel G, Aillet G, Chetanneau A, Visset J, et al. Feasibility study of radioimmunoguided surgery of colorectal carcinomas using indium-111 CEA-specific monoclonal antibody. *Eur J Nucl Med.* 1990;17(6-8):299-304.
91. Vuillez JP, Moro D, Brambilla E, Brichon PY, Ferretti G, Saccavini JC, et al. Immunoscintigraphy using ¹¹¹In-labelled F(ab')₂ fragments of anti-carcinoembryonic antigen (CEA) monoclonal antibody for staging of non-small cell lung carcinoma. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 1994;30A(8):1089-92.
92. Oudoux A, Salaun P-Y, Bournaud C, Campion L, Ansquer C, Rousseau C, et al. Sensitivity and prognostic value of positron emission tomography with F-18-fluorodeoxyglucose and sensitivity of immunoscintigraphy in patients with medullary thyroid carcinoma treated with anticarcinoembryonic antigen-targeted radioimmunotherapy. *J Clin Endocrinol Metab.* déc 2007;92(12):4590-7.
93. Schuhmacher J, Kaul S, Klivényi G, Junkermann H, Magener A, Henze M, et al. Immunoscintigraphy with positron emission tomography: gallium-68 chelate imaging of breast cancer pretargeted with bispecific anti-MUC1/anti-Ga chelate antibodies. *Cancer Res.* 1 mai 2001;61(9):3712-7.

94. van Rij CM, Lütje S, Frielink C, Sharkey RM, Goldenberg DM, Franssen GM, et al. Pretargeted immuno-PET and radioimmunotherapy of prostate cancer with an anti-TROP-2 x anti-HSG bispecific antibody. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. sept 2013;40(9):1377-83.
95. van Rij CM, Frielink C, Goldenberg DM, Sharkey RM, Franssen GM, Lütje S, et al. Pretargeted immunoPET of prostate cancer with an anti-TROP-2 x anti-HSG bispecific antibody in mice with PC3 xenografts. *Mol Imaging Biol MIB Off Publ Acad Mol Imaging*. févr 2015;17(1):94-101.
96. Mendelsohn G, Wells SA, Baylin SB. Relationship of tissue carcinoembryonic antigen and calcitonin to tumor virulence in medullary thyroid carcinoma. An immunohistochemical study in early, localized, and virulent disseminated stages of disease. *Cancer*. 15 août 1984;54(4):657-62.
97. Yao YZ. [CEA in lung cancer: CEA immunohistochemical study of 150 cases]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi Chin J Tuberc Respir Dis*. juin 1990;13(3):133-5, 189.
98. Karagiannis TC. Comparison of different classes of radionuclides for potential use in radioimmunotherapy. *Hell J Nucl Med*. août 2007;10(2):82-8.
99. Sharkey RM, Karacay H, Richel H, McBride WJ, Rossi EA, Chang K, et al. Optimizing bispecific antibody pretargeting for use in radioimmunotherapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 sept 2003;9(10 Pt 2):3897S - 913S.
100. Kikinis R, Pieper S. 3D Slicer as a tool for interactive brain tumor segmentation. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf*. 2011;2011:6982-4.
101. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. janv 2009;45(2):228-47.
102. Lavielle M, Mentré F. Estimation of population pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. avr 2007;34(2):229-49.
103. Marsh DJ, Learoyd DL, Robinson BG. Medullary thyroid carcinoma: recent advances and management update. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. oct 1995;5(5):407-24.
104. Machens A, Schneyer U, Holzhausen H-J, Dralle H. Prospects of remission in medullary thyroid carcinoma according to basal calcitonin level. *J Clin Endocrinol Metab*. avr 2005;90(4):2029-34.
105. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. juin 2015;25(6):567-610.
106. Salaun P-Y, Campion L, Ansquer C, Frampas E, Mathieu C, Robin P, et al. ¹⁸F-FDG PET predicts survival after pretargeted radioimmunotherapy in patients with progressive metastatic medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. août 2014;41(8):1501-10.

107. Karacay H, Brard P-Y, Sharkey RM, Chang C-H, Rossi EA, McBride WJ, et al. Therapeutic advantage of pretargeted radioimmunotherapy using a recombinant bispecific antibody in a human colon cancer xenograft. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 nov 2005;11(21):7879-85.
108. Sharkey RM, Karacay H, McBride WJ, Rossi EA, Chang C-H, Goldenberg DM. Bispecific antibody pretargeting of radionuclides for immuno single-photon emission computed tomography and immuno positron emission tomography molecular imaging: an update. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2007;13(18 Pt 2):5577s - 5585s.
109. Kayani I, Bomanji JB, Groves A, Conway G, Gacinovic S, Win T, et al. Functional imaging of neuroendocrine tumors with combined PET/CT using 68Ga-DOTATATE (DOTA-DPhe1,Tyr3-octreotate) and 18F-FDG. *Cancer.* juin 2008;112(11):2447-55.
110. Putzer D, Gabriel M, Henninger B, Kendler D, Uprimny C, Dobrozemsky G, et al. Bone metastases in patients with neuroendocrine tumor: 68Ga-DOTA-Tyr3-octreotide PET in comparison to CT and bone scintigraphy. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 2009;50(8):1214-21.
111. Schoffelen R, van der Graaf WT, Sharkey RM, Franssen GM, McBride WJ, Chang C-H, et al. Pretargeted immuno-PET of CEA-expressing intraperitoneal human colonic tumor xenografts: a new sensitive detection method. *EJNMMI Res.* 2012;2:5.
112. Dijkers ECF, Kosterink JGW, Rademaker AP, Perk LR, van Dongen GAMS, Bart J, et al. Development and characterization of clinical-grade 89Zr-trastuzumab for HER2/neu immunoPET imaging. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 2009;50(6):974-81.
113. Mortimer JE, Bading JR, Colcher DM, Conti PS, Frankel PH, Carroll MI, et al. Functional imaging of human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer using (64)Cu-DOTA-trastuzumab PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* janv 2014;55(1):23-9.
114. Janjigian YY, Viola-Villegas N, Holland JP, Divilov V, Carlin SD, Gomes-DaGama EM, et al. Monitoring afatinib treatment in HER2-positive gastric cancer with 18F-FDG and 89Zr-trastuzumab PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juin 2013;54(6):936-43.
115. Starodub AN, Ocean AJ, Shah MA, Guarino MJ, Picozzi VJ, Vahdat LT, et al. First-in-Human Trial of a Novel Anti-Trop-2 Antibody-SN-38 Conjugate, Sacituzumab Govitecan, for the Treatment of Diverse Metastatic Solid Tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 sept 2015;21(17):3870-8.
116. van Rij CM, Frielink C, Goldenberg DM, Sharkey RM, Lütje S, McBride WJ, et al. Pretargeted Radioimmunotherapy of Prostate Cancer with an Anti-TROP-2×Anti-HSG Bispecific Antibody and a (177)Lu-Labeled Peptide. *Cancer Biother Radiopharm.* oct 2014;29(8):323-9.
117. Grootjans W, Hermsen R, der Heijden EHF van, Schuurbijs-Siebers OCJ, Visser EP, Oyen WJG, et al. The impact of respiratory gated positron emission tomography on clinical staging and management of patients with lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth.* nov 2015;90(2):217-23.

118. Farid K, Poullias X, Alifano M, Regnard J-F, Servois V, Caillat-Vigneron N, et al. Respiratory-gated imaging in metabolic evaluation of small solitary pulmonary nodules: 18F-FDG PET/CT and correlation with histology. Nucl Med Commun. juill 2015;36(7):722-7.
119. Heskamp S, Hernandez R, Molkenboer-Kuenen JD., Essler M, Bruchertseifer F, Morgenstern A, et al. Alpha- versus beta-emitting particles for pretargeted radioimmunotherapy of CEA-expressing human colon cancer xenografts. In Hambourg, Allemagne;

Thèse de Doctorat

Caroline BODET-MILIN

Titre de thèse Optimisation clinique du pré-ciblage utilisant l'anticorps anti-ACE humanisé trivalent TF2 et le haptène bivalent IMP288 dans 2 modèles de tumeurs exprimant l'ACE, pour une application thérapeutique en radioimmunothérapie et pour une application en imagerie par émission de positon appelée immuno-TEP.

Title of thesis

Optimization of the pretargeting system using the anti-CEA bispecific antibody TF2 and the IMP288 bivalent hapten in 2 models of CEA-expressing tumors using pharmacokinetic and imaging data obtained in a phase I/II RIT study and in a phase I/II PET imaging study.

Résumé

Notre équipe a largement contribué à l'optimisation et à la validation du préciblage dans différents modèles précliniques et cliniques de tumeurs exprimant l'ACE. Des réactifs de nouvelle génération utilisant l'anticorps bispécifique anti-ACE humanisé TF2 et haptène IMP288 sont disponibles et accessibles pour un transfert en clinique mais nécessitent une phase d'optimisation afin de déterminer les paramètres essentiels qui interfèrent dans ce système : les doses molaires de TF2 et d'IMP288, le ratio TF2/IMP288 et le délai de préciblage. L'objectif principal de ce travail de thèse était d'optimiser l'utilisation clinique du système TF2/IMP288 dans 2 modèles de tumeurs exprimant l'ACE à partir des données pharmacocinétiques et des données d'imagerie obtenues dans le cadre d'une étude de RIT et d'une étude d'imagerie par immunoTEP. Les résultats préliminaires de l'essai de RIT de phase I/II utilisant le TF2 et le ¹⁷⁷Lu-IMP288 dans 3 cohortes de 3 patients porteurs de cancers pulmonaires en rechute et exprimant l'ACE, nous ont permis de définir le schéma optimal d'administration du couple TF2/IMP288 en thérapie et de démontrer qu'à ratios molaires TF2/IMP288 identiques, les données obtenues à la phase pré-thérapeutique avec l'¹¹¹In-IMP288 étaient prédictives de celles obtenues à la phase thérapeutique avec le ¹⁷⁷Lu-IMP288. Les résultats obtenus dans 5 cohortes de 3 patients inclus dans l'essai de phase I/II utilisant le système TF2/⁶⁸Ga-IMP288 pour l'immunoTEP des patients atteints de récurrences de CMT nous ont permis de démontrer la faisabilité de cette nouvelle approche d'imagerie et de déterminer le schéma optimal d'administration du couple TF2/IMP288 pour l'imagerie.

Mots clés

Pré-ciblage, Radioimmunothérapie, Immuno-TEP,
Antigène carcino-embryonnaire, immunociblage tumoral

Abstract

Our team contributed to the optimization and validation of pretargeting using bispecific antibodies and radiolabeled haptens in various preclinical and clinical models of CEA-expressing tumors. The new generation of anti-CEA bispecific antibody (bsMAb) TF2 and IMP288 bivalent hapten are available and accessible for transfer to clinical applications but require optimization step to determine the optimal pre-targeting scheme including the molar doses of TF2 and IMP288, the TF2/IMP288 ratio and the pretargeting delay. The main objective of this work was to optimize the clinical use of the TF2/IMP288 system in 2 models of CEA-expressing tumors using pharmacokinetic and imaging data obtained in a RIT study and in an imaging PET study (immunoPET). The preliminary results obtained from the prospective multicentric pretargeted-RIT phase I/II optimization study using TF2 and ¹⁷⁷Lu-IMP288 in patients with CEA-expressing relapsing lung tumours allowed us to determine the optimal bsMAb dose and pre-targeting delay for therapeutic application and to confirm the accuracy of ¹¹¹In-labeled images to predict ¹⁷⁷Lu-IMP288 distribution and to estimate absorbed doses to major organs and tumors. The preliminary results obtained from the phase I/II immunoPET trial using TF2 and ⁶⁸Ga-IMP288 in 5 cohorts of 3 patients with progressive MTC allowed us to demonstrate the feasibility of this new imaging approach and to define the optimal pre-targeting scheme for immuno-PET applications.

Key Words

Pre-targeting, Radioimmunotherapy, Immuno-PET,
Carcinoembryonic antigen, tumor immunotargeting



Pharmacokinetics and Dosimetry Studies for Optimization of Pretargeted Radioimmunotherapy in CEA-Expressing Advanced Lung Cancer Patients

Caroline Bodet-Milin^{1,2*}, Ludovic Ferrer^{2,3,4}, Aurore Rauscher^{2,3}, Damien Masson⁵, Latifa Rbah-Vidal⁶, Alain Faivre-Chauvet^{1,2}, Evelyne Cerato¹, Caroline Rousseau^{2,3}, José Hureauux⁶, Olivier Couturier⁷, Pierre-Yves Salaün⁸, David M. Goldenberg^{9,10}, Robert M. Sharkey¹⁰, Françoise Kraeber-Bodéré^{1,2,3} and Jacques Barbet^{2,11}

¹ Department of Nuclear Medicine, University Hospital Nantes, Nantes, France, ² CNRS UMR 6299, Centre Régional de Recherche en Cancérologie Nantes/Angers (CRCNA), INSERM U892, Nantes, France, ³ Department of Nuclear Medicine, ICO Cancer Centre, Saint-Herblain, France, ⁴ Physics Unit, ICO Cancer Centre, Saint-Herblain, France, ⁵ Department of Biochemistry, University Hospital Nantes, Nantes, France, ⁶ Department of Pneumology, University Hospital Angers, Angers, France, ⁷ Department of Nuclear Medicine, University Hospital Angers, Angers, France, ⁸ Department of Nuclear Medicine, University Hospital Brest, Brest, France, ⁹ IBC Pharmaceuticals, Inc., Morris Plains, NJ, USA, ¹⁰ Immunomedics, Inc., Morris Plains, NJ, USA, ¹¹ GIP Arronax, Saint-Herblain, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Jean-Pierre Pouget,
INSERM, France

Reviewed by:

Thierry Stora,
CERN, Switzerland
Michael Lassmann,
University of Würzburg, Germany

*Correspondence:

Caroline Bodet-Milin
cbodetmilin@gmail.com

Specialty section:

This article was submitted to
Nuclear Medicine,
a section of the journal
Frontiers in Medicine

Received: 16 July 2015

Accepted: 09 November 2015

Published: 27 November 2015

Citation:

Bodet-Milin C, Ferrer L, Rauscher A, Masson D, Rbah-Vidal L, Faivre-Chauvet A, Cerato E, Rousseau C, Hureauux J, Couturier O, Salaün P-Y, Goldenberg DM, Sharkey RM, Kraeber-Bodéré F and Barbet J (2015) Pharmacokinetics and Dosimetry Studies for Optimization of Pretargeted Radioimmunotherapy in CEA-Expressing Advanced Lung Cancer Patients. *Front. Med.* 2:84. doi: 10.3389/fmed.2015.00084

Objectives: A phase I pretargeted radioimmunotherapy trial (EudractCT 200800603096) was designed in patients with metastatic lung cancer expressing carcinoembryonic antigen (CEA) to optimize bispecific antibody and labeled peptide doses, as well as the delay between their injections.

Methods: Three cohorts of three patients received the anti-CEA × anti-histamine-succinyl-glycine (HSG)-humanized trivalent bispecific antibody (TF2) and the IMP288 bivalent HSG peptide. Patients underwent a pretherapeutic imaging session S1 (44 or 88 nmol/m² of TF2 followed by 4.4 nmol/m², 185 MBq, of ¹¹¹In-labeled IMP288) and, 1–2 weeks later, a therapy session S2 (240 or 480 nmol/m² of TF2 followed by 24 nmol/m², 1.1 GBq/m², of ¹⁷⁷Lu-labeled IMP288). The pretargeting delay was 24 or 48 h. The dose schedule was defined based on preclinical TF2 pharmacokinetic (PK) studies, on our previous clinical data using the previous anti-CEA-pretargeting system, and on clinical results observed in the first patients injected using the same system in Netherlands.

Results: TF2 PK was represented by a two-compartment model in which the central compartment volume (V_c) was linearly dependent on the patient's surface area. PK was remarkably similar, with a clearance of 0.33 ± 0.03 L/h/m². ¹¹¹In- and ¹⁷⁷Lu-IMP288 PK was also well represented by a two-compartment model. IMP288 PK was faster (clearance 1.4–3.3 L/h). The V_c was proportional to body surface area, and IMP288 clearance depended on the molar ratio of injected IMP288 to circulating TF2 at the time of IMP288 injection. Modeling of image quantification confirmed the dependence of IMP288 kinetics on circulating TF2, but tumor activity PK was variable. Organ-absorbed doses were not significantly different in the three cohorts, but the tumor dose was significantly higher with the higher molar doses of TF2 (*p* < 0.002). S1 imaging predicted absorbed doses calculated in S2.

Conclusion: The best dosing parameters corresponded to the shorter pretargeting delay and to the highest TF2 molar doses. S1 imaging session accurately predicted PK as well as absorbed doses of S2, thus potentially allowing for patient selection and dose optimization.

Trial Registration: ClinicalTrials.gov NCT01221675 (EudractCT 200800603096).

Keywords: lung cancer, radioimmunotherapy, pretargeting, pharmacokinetics, scintigraphy, SPECT, SPECT/CT, dosimetry

INTRODUCTION

Radioimmunotherapy (RAIT) is a molecular targeted therapy whereby irradiation from radionuclides is delivered to target tumors using monoclonal antibodies (mAb) directed to tumor antigens. RIT delivers a heterogeneous low dose-rate irradiation with an efficacy demonstrated in hematological malignancies sensitive to radiation therapy (1). In solid tumors, more resistant to radiation and less accessible to large molecules, such as mAb, clinical efficacy remains limited and fractionated injections, combination of RAIT with chemotherapy, as well as pretargeting approaches, are being studied to improve antitumor efficacy (2).

Pretargeted RAIT (pRAIT) was originally designed to improve the therapeutic index (tumor-to-normal tissue ratios) and to deliver increased absorbed doses to tumors, as compared to directly radiolabeled antibodies or antibody fragments (3, 4). pRAIT may be achieved in several different ways. Here, a bispecific mAb (BsmAb) is administered, followed a few days later by a radiolabeled bivalent hapten. With this technology, the radioactive bivalent hapten binds avidly to the BsmAb attached to the cell surface, whereas the nontargeted radioactive hapten clears from the circulation through the kidneys. RAIT using directly radiolabeled anti-carcinoembryonic antigen (CEA) mAb has shown promising clinical results in metastatic medullary thyroid carcinoma (MTC) and metastatic colon cancer (5, 6), but pretargeting of CEA-expressing tumors has demonstrated a more favorable therapeutic index and antitumor efficacy in preclinical MTC and colorectal cancer (CRC) models (7, 8) and clinical feasibility in MTC and small-cell lung cancer (SCLC) (9, 10). Two phase I clinical trials assessing

anti-CEA \times anti-diethylene-triamine-pentaacetic acid (DTPA)-indium BsmAb (murine F6 \times 734 and chimeric hMN14 \times 734 BsmAb) with ^{131}I -labeled di-DTPA-indium hapten showed encouraging therapeutic results in patients with progressive metastatic MTC, with a significantly improved overall survival for intermediate- and high-risk patients (11). However, murine and chimeric BsmAb (human/mouse) used in these studies induced in a high rate of immunization and 26% human antihuman antibody (HAHA) or human antimouse antibody (HAMA) detection, as reported by Salaün et al. (12).

New generation humanized, recombinant, trivalent BsmAb (anti-CEA TF2) and histamine-succinyl-glycine (HSG) peptides have thus been developed (13). TF2, composed of a humanized anti-HSG Fab fragment derived from the 679 anti-HSG mAb and two humanized anti-CEA Fab fragments derived from the hMN14 mAb (labetuzumab; Immunomedics, Inc.) by the dock-and-lock procedure, should reduce immunogenicity and facilitate repeated injections (14, 15). Moreover, the HSG peptide, IMP288, allows facile and stable labeling with different radiometals, such as ^{177}Lu and ^{90}Y , having favorable physical features that could improve pRAIT efficacy. However, Schoffelen et al. (16) have shown that doses and pretargeting delays must be entirely revisited with the dock-and-lock BsmAb because of the very different pharmacokinetic (PK) properties of these new agents, as compared to the chemically coupled Fab fragments used previously (17).

A phase I/II clinical trial was designed to optimize and assess, in CEA-expressing lung cancer patients, the new generation pretargeting reagents, i.e., the anti-CEA \times anti-HSG TF2 BsmAb, and the radiolabeled IMP288 HSG peptide. The clinical protocol includes two parts: the first part aims at optimizing BsmAb and peptide molar doses and administration schedules for pRAIT in three cohorts of three patients, using detailed PK and dosimetry analyses, and the second part aims at determining the maximum tolerated dose of pRAIT using escalated peptide activities and the parameters optimized in the first study part. In the two parts of the study, the IMP288 peptide is radiolabeled with indium-111 for pretherapeutic imaging and lutetium-177 for therapy. Here, we report the results of the optimization part of the study, performed in three cohorts of patients receiving different doses of BsmAb and peptide, the ratio of BsmAb and peptide molar doses being kept constant between the imaging and therapy sessions, as suggested by Schoffelen et al. (16). A population PK approach was used to model the serum kinetics of the BsmAb and of the radiolabeled hapten for the two sessions. Whole body (WB) planar scintigraphy and single photon emission computed tomography (SPECT)

Abbreviations: ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; BSA, body surface area; BsmAb, bispecific monoclonal antibody(ies); CEA, carcinoembryonic antigen; Cl, clearance; CRC, colorectal cancer; CT, computed tomography; DOTA, 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid; DTPA, diethylene-triamine-pentaacetic acid; EGFR, epidermal growth factor receptor; FDG-PET, positron emission computed tomography using ^{18}F -fluorodeoxy-glucose; HAHA, human antihuman antibody; HAMA, human antimouse antibody; HSG, histamine-succinyl-glycine; mAb, monoclonal antibody(ies); MR, molar ratio of injected hapten to the amount of TF2 present in the patients' serum; MTC, medullary thyroid carcinoma; NSCLC, non-small-cell lung cancer; PET, positron emission computed tomography; PK, pharmacokinetic(s); pRAIT, pretargeted radioimmunotherapy; RAIT, radioimmunotherapy; SCLC, small-cell lung cancer; SD, standard deviation; SPECT, single photon emission computed tomography; TF2, anti-CEA \times anti-HSG bispecific monoclonal antibody; Vc, central compartment volume; WB, whole body.

allowed the description of the biodistribution of the radiolabeled peptide and quantitative imaging analyses. Dosimetry assessment was performed together with population PK analysis of the time–activity curves.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The target population was male or female 18 years of age with histological diagnosis of CEA-positive lung cancer including

- small-cell lung cancer who are in partial response or who failed after at least two lines of standard radiation and/or chemotherapy;
- non-small-cell lung cancer (NSCLC) without activating mutation of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and who failed after at least one line of chemotherapy.

Only patients with CEA serum level ≥ 10 ng/mL or CEA expression by tissues staining, with at least one known tumor site detected by computed tomography (CT) and positron emission CT using ^{18}F -fluoro-deoxy-glucose (FDG-PET), were eligible for the study. All patients had an Eastern Cooperative Oncology Group performance ≤ 2 or Karnofsky performance status $\geq 60\%$ and a minimum life expectancy of 3 months. For entry into the study, patients were required to be at least 4 weeks beyond any major surgery, external radiotherapy, chemotherapy, immunotherapy, or angiogenesis inhibitor therapy. The patients were required to have normal levels of transaminases (AST and ALT $\leq 2.5 \times$ the upper limit of normal), total bilirubin level ≤ 30 mmol/L, creatinine ($\leq 2.5 \times$ the upper limit of normal), neutrophils $\geq 1,500/\text{mL}$, and platelets $\geq 100,000/\text{mL}$. Pregnant or breast-feeding women were excluded, as were premenopausal women not willing to practice adequate birth control methods during the study and for 3 months afterward. Patients with another known type of intercurrent cancer, uncontrolled diabetes, or a psychiatric disorder were also excluded.

All patients gave informed written consent in accordance with institutional guidelines, including the Declaration of Helsinki. The trial was approved by the responsible ethics committee and registered at ClinicalTrials.gov NCT01221675 (EudractCT 200800603096).

Investigational Products and Labeling

The trivalent TF2-humanized mAb and the IMP288 peptide, which bears two HSG groups (hapten) recognized by the 679 mAb

and one 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA) moiety (13, 18), were prepared suitable for human use by Immunomedics, Inc. (Morris Plains, NJ, USA). IMP288 (146 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in acetate buffer) was labeled with 185 MBq of ^{111}In (Mallinckrodt Medical B.V., Petten, Netherlands) for the imaging sessions. IMP288 (24 mol/ m^2) was labeled with 1.1 GBq/ m^2 of ^{177}Lu (IDB Radiopharmacy B.V., Baarle-Nassau, Netherlands) for the therapy sessions. The radiochemical purity, determined using high performance liquid chromatography (Eckert Ziegler, Germany) using a C18 column (ACE 15 cm \times 3 mm, France) and a gradient of trifluoroacetic acid (0.1% in water) and acetonitrile was greater than 90% ($94.5 \pm 2.2\%$) for ^{111}In -IMP288 and greater than 99.0% ($99.5 \pm 0.4\%$) for ^{177}Lu -IMP288. TF2 was diluted in 250 mL 0.9% NaCl and administered by i.v. infusion over a period of 30–60 min. ^{111}In - or ^{177}Lu -IMP288 was diluted in 50 mL of 0.9% NaCl in water and administered by i.v. infusion over a period of 30 min. Median-specific activities were 24 MBq/nmol (range 16–30) for ^{111}In -IMP288 and 47 (range 45–53) for ^{177}Lu -IMP288.

Study Design and Treatment

Three different pretargeting conditions were examined in three cohorts of three patients (Table 1). All patients underwent a pretherapy imaging session (S1) using TF2 and ^{111}In -labeled IMP288 injections before a therapy session (S2). In the first cohort (C1), patients received 7 mg/ m^2 (44 nmol/ m^2) of TF2 followed 48 h later by 4.4 nmol/ m^2 of IMP288 labeled with 185 MBq of ^{111}In in S1 and 37.5 mg/ m^2 (240 nmol/ m^2) of TF2 followed 48 h later by 24 nmol/ m^2 of IMP288 labeled with 1.1 GBq/ m^2 of ^{177}Lu in S2. Only patients with successful tumor targeting in S1 were eligible to participate in S2. In the second cohort (C2), TF2 doses were increased from 7 (44 nmol/ m^2) to 14 mg/ m^2 (88 nmol/ m^2) in S1 and from 37.5 (240 nmol/ m^2) to 75 mg/ m^2 (480 nmol/ m^2) in S2, whereas IMP doses, ^{111}In and ^{177}Lu activities, and the pretargeting delay remained identical that in C1. In the third cohort (C3), patients received the same TF2 and IMP doses and the same ^{111}In and ^{177}Lu activities than in C2 but with a lower pretargeting interval (24H instead of 48H). For each cohort of patients, TF2 and IMP288 were administered using the same pretargeting interval and the same TF2/IMP288 molar ratio in S1 and S2.

Six French centers were allowed to include and treat patients in this multicentric study: Nantes University Hospital Nuclear Medicine Department, Nantes ICO Cancer Centre Nuclear Medicine Department, Brest University Hospital Nuclear Medicine Department, Angers University Hospital

TABLE 1 | Dosing scheme.

| | S1: pretherapy imaging session | | | S2: therapy session | | |
|------------|--|-----------|-----------------------------------|---|-----------|--|
| | TF2 dose | Delay (h) | ^{111}In -IMP288 | TF2 dose | Delay (h) | ^{177}Lu -IMP288 |
| Cohort I | 7 mg/ m^2 44 nmol/ m^2 | 48 | 185 MBq 4.4 nmol/ m^2 | 37.5 mg/ m^2 240 nmol/ m^2 | 48 | 1.1 GBq/ m^2 24 nmol/ m^2 |
| Cohort II | 14 mg/ m^2 88 nmol/ m^2 | 48 | 185 MBq 4.4 nmol/ m^2 | 75 mg/ m^2 480 nmol/ m^2 | 48 | 1.1 GBq/ m^2 24 nmol/ m^2 |
| Cohort III | 14 mg/ m^2 88 nmol/ m^2 | 24 | 185 MBq 4.4 nmol/ m^2 | 75 mg/ m^2 480 nmol/ m^2 | 24 | 1.1 GBq/ m^2 24 nmol/ m^2 |

Nuclear Medicine Department, Clermont-Ferrand University Hospital Nuclear Medicine department, and Grenoble University Hospital Nuclear Medicine Department.

Safety was assessed during infusions by monitoring vital signs, physical examination, and adverse events. Patients were premedicated with antihistamine (xyzall®) and corticosteroid (intravenous dexamethasone) before each TF2 and peptide infusion.

NCI Common Toxicity Criteria Version 3.0 were used to evaluate toxicity. Total WBC and lymphocytes were monitored and reported every week until 8 weeks post-¹⁷⁷Lu-IMP288 injection or until platelet (>100 g/L without transfusion), hemoglobin (>10 g/dl without transfusion), and leukocyte (>2 g/L) recovery. Assessment of hematological toxicity was only based on hemoglobin level (Hgb), absolute neutrophil counts, and platelet counts. Biochemical tests including serum creatinine, creatinine clearance, AST, ALT, total bilirubin, alkaline phosphatase, calcium, phosphorus, uric acid, sodium, potassium, and serum electrophoresis were performed 4 weeks, 8 weeks, and then every 3 months after pRAIT.

Assessment of response was based on physical examination, CEA serum level, CT and FDG-PET performed 4 weeks after pRAIT, at 3 months, and then every 3 months until progression. Responses were scored according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST 1.0) (19).

Human antihuman antibody was determined within 2 days of the second TF2 infusion, then 4 weeks, 8 weeks, and 3 months after the last TF2 infusion using an ELISA method. The detection limit for positive HAHA was 50 ng/mL.

Pharmacokinetics

Blood samples were collected in separator tubes for serum collection at the following times after TF2 injection and after administration of ¹¹¹In-IMP288 or ¹⁷⁷Lu-IMP288: before the beginning of the infusion, 5 min before the end of the infusion, then 5 min, 1 h, 2–4 h, 24 h, and then at four other times over 7 days. Blood samples were collected for all patients during S1 and S2. Serum samples (at least 1 mL) were prepared from blood samples and stored frozen. TF2 concentrations were determined using an ELISA (Immunomedics), as described previously (18). The indium-111 or lutetium-177 activity in each serum sample was determined by counting 0.1–0.2 mL of serum in a calibrated gamma counter. Counting was performed immediately after the end of each blood collection series and corrected for radioactive decay.

Modeling of the serum concentration PK was performed using a two-compartment model for the bispecific antibody (TF2) and two or three compartment models for the radiolabeled hapten (IMP288), using a population PK software package,

TABLE 2 | ¹¹¹In and ¹⁷⁷Lu system sensitivities for both types of gamma cameras in all centers.

| System sensitivity (counts/MBq s) | | |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
| Crystal thickness | ¹¹¹ In | ¹⁷⁷ Lu |
| 3/8" | 170 ± 2 | 15 ± 2 |
| 5/8" | 230 ± 2 | 18 ± 2 |

developed in the laboratory and validated against Monolix (20). Patients' body surface areas (BSAs) were used as covariables. In the hapten PK analyses, several covariables were tested to represent the effect of TF2 on the kinetics of IMP288. Finally, the molar ratio of injected hapten to the amount of TF2 present in the patients' serum (MR), calculated as the concentration of TF2 extrapolated to the time of hapten injection multiplied by the central compartment volume (Vc) obtained in the TF2 PK analysis, was the covariable used to take the effect of TF2 on IMP288 PK into account. Since the addition of a third compartment did not improve data fitting, two-compartment models were used. Parameters for the two-compartment model of serum kinetics for both TF2 and IMP288 were the transfer rates ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), the elimination rate (k_{el}), and the Vc per BSA unit (volume/m²). The Vc was a dependent parameter (Vc = volume/m² × patient BSA). For the serum IMP288 PK, clearance was calculated as $A_s \times MR^{B_s}$, MR being the ratio of the number of moles of injected IMP288 to the number of moles of TF2 present in the circulation at the time of IMP288 injection, A_s and B_s being two adjustable parameters, and k_{el} was calculated as clearance/Vc.

For the WB IMP288 kinetics, the activity calculated from WB images was modeled as the sum of the central and distribution compartments with adjustable transfer rates ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$) and two additional adjustable parameters, A_{WB} and B_{WB} , used to calculate the elimination rate: $k_{el} = A_{WB} \times MR^{B_{WB}}$.

For the PK analysis of tissue distribution from image quantification, the WB kinetics was used as an input function, and the IMP288 distribution in tissues of interest was modeled using a tissue-specific distribution compartment and a fraction of the activity in the central compartment. The on and off rate constants, k_{on} and k_{off} , and the fraction of activity (fraction) were adjustable parameters.

TABLE 3 | Characteristics of patients.

| | |
|---|-------------------|
| Median age | 65 (53–80) |
| Male/female | 7/2 |
| Histological type | 6 SCLC/3 NSCLC |
| Karnofsky index | |
| 90–100 | 5 |
| 70–80 | 2 |
| 60–70 | 2 |
| Median CEA plasma level (min–max) | 79 ng/mL (10–388) |
| Prior treatment | |
| Chemotherapy | 100% |
| Radiotherapy | 67% |
| Surgery | 33% |
| Tyrosine kinase inhibitors | 11% |
| Site of disease | |
| Lung | 78% |
| Mediastinum | 78% |
| Liver | 56% |
| Pancreas | 22% |
| Adrenal | 33% |
| Infradiaphragmatic nodes | 33% |
| Bone | 11% |
| Muscle | 11% |
| Brain | 11% |
| Median delay from initial diagnosis (min–max) | 25 months (10–64) |

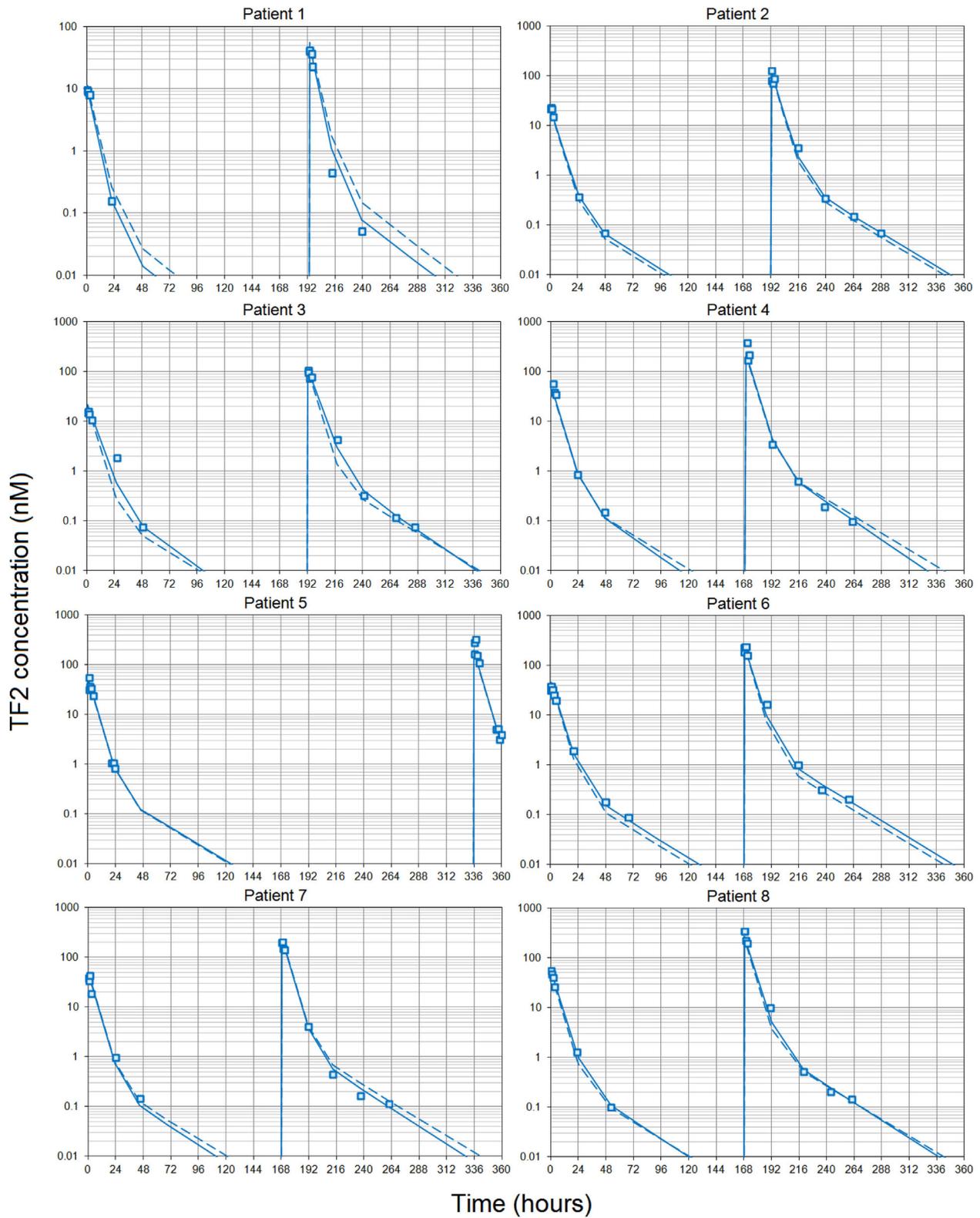


FIGURE 1 | Pharmacokinetics of the bispecific antibody TF2. Each patient received two infusions of TF2 at 7 or 8 days intervals (except patient 5). Blood samples were collected at selected time intervals during and after each infusion and centrifuges. TF2 concentrations were measured using a specific ELISA. The pharmacokinetics was then modeled using a two-compartment model and a population approach. Data collected after both infusions were fitted using a single set of parameters. Results (open squares) are plotted as a semilog plot with the population (dashed lines) and individual (solid lines) fitted curves.

Scintigraphy

All imaging centers were equipped with the same model of SPECT/CT gamma-camera (Symbia T/T2, Siemens). For pretherapeutic and therapeutic imaging sessions, three to five images were scheduled from 1 h to 7 days after radiopharmaceutical injection depending on the patient's ability to sustain imaging procedures. Each imaging session consisted of WB emission scan ($256 \times 1,024$ pixels) and tomographic acquisitions (128×128 pixels, 2×32 projections, and 30–45 s per projection). Each scans or tomographic acquisitions were performed using medium energy collimators. Due to expected low level of detected counts, especially at late time points, energy windows were centered on the two major peaks (15% width). In order to correct for Compton scattering (21), two energy windows (4% width) adjacent to each main peak were simultaneously acquired. CT scans (120 kVp, 100 mAs) were acquired in order to derive CT attenuation maps. Tomographic procedures consisted of two acquisitions to cover patients from lungs to pelvic area.

At an initial stage, as involved centers were equipped with thin ($3/8''$) or thick ($5/8''$) crystals, system planar sensitivity was evaluated for these two types of equipment for ^{111}In and ^{177}Lu sources of known activity (~ 200 and 900 MBq, respectively) poured in a thin cylinder plate (Table 2). As tomographic reconstructions accounted for point response function of the collimator, this feature was characterized by the full width of half-maximum of point source images at different distances from collimator plate. Gamma cameras and dose calibrator quality controls were performed in accordance to each institution procedures (no crosscalibration). Particular attention was given to patient alignment for each imaging session to help image registration during processing.

Dosimetry

Quantitative imaging was performed on tomographic reconstructions (OSEM 30 iterations, eight subsets) taking into account attenuation, Compton scattering (correction performed

on projections), and collimator response corrections as expressed in international guidelines (22). Initial estimated system sensitivity reported in Table 2 was used to translate detected count into activity for ^{111}In and ^{177}Lu acquisitions.

Patients' organ masses were derived from automatic or manual CT images segmentation performed with 3D Slicer (23) software. Trabecular bones in L2–L4 lumbar vertebrae were also segmented in order to evaluate bone marrow-absorbed dose (24). Tumor volumes were segmented on emission-reconstructed images and performed on images where the tumor-to-background ratio was visually designed as optimum. Tumor labeled volumes were subsequently exported as DICOM-RT structure set and integrated into the patient labeled-organs images after registration.

In order to obtain time-activity curves for volumes of interest, labeled images were registered against CT images performed at every imaging session using the MedInria software (25). Then, organ time-activity curves were adjusted with nls package of R software (26) using mono- or biexponential functions depending on the number of time points available to perform the regression analysis and submitted to a population PK analysis using the laboratory software package.

To estimate patient's organ-absorbed doses at pretherapeutic and therapeutic stages, MIRD S factors were scaled by patient organ masses. Time integration of fitted functions was calculated to derive cumulated activities at both sessions. Estimations at pretherapeutic were scaled to take into account the difference between physical half-lives of both radionuclides.

Statistics

Organ effective periods estimated at S1 and S2, as well as tumor- and organ-absorbed doses for each schedule, were compared using the Wilcoxon statistical test.

For each patient, Spearman statistical tests were conducted to evaluate whether S1-absorbed doses were able to predict absorbed doses during S2.

TABLE 4 | Two-compartment population analysis of TF2 pharmacokinetics.

| Parameter ^a | $k_{2,1}$ (h ⁻¹) | $k_{1,2}$ (h ⁻¹) | k_{el} (h ⁻¹) | Volume/m ² (L/m ²) | Vc (L) | Clearance (L/h) |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---|--------|-----------------|
| Population values | | | | | | |
| Estimation | 0.034 | 0.0075 | 0.182 | 1.86 | NA | NA |
| SD | 0.002 | 0.0005 | 0.003 | 0.04 | NA | NA |
| Individual values | | | | | | |
| Patient 1 | 0.033 | 0.0062 | 0.194 | 2.00 | 4.01 | 0.78 |
| Patient 2 | 0.033 | 0.0080 | 0.177 | 1.82 | 2.71 | 0.48 |
| Patient 3 | 0.036 | 0.0081 | 0.169 | 1.83 | 4.93 | 0.84 |
| Patient 4 | 0.036 | 0.0071 | 0.182 | 1.80 | 3.33 | 0.61 |
| Patient 5 | 0.034 | 0.0075 | 0.1.83 | 1.81 | 3.05 | 0.56 |
| Patient 6 | 0.033 | 0.0085 | 0.174 | 1.84 | 3.20 | 0.56 |
| Patient 7 | 0.035 | 0.0068 | 0.183 | 1.92 | 3.73 | 0.68 |
| Patient 8 | 0.035 | 0.0073 | 0.177 | 1.77 | 3.45 | 0.61 |
| Mean ^b | 0.034 | 0.074 | 0.180 | 1.85 | 3.52 | 0.64 |
| SD | 0.001 | 0.001 | 0.007 | 0.07 | 0.69 | 0.12 |
| CV (%) | 5.5 | 14.5 | 9.0 | 7.7 | 21.4 | 20.1 |

^aThe transfer rates ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), the elimination rate (k_{el}), and the central compartment volume per body surface area unit (m^2) were adjusted to a two-compartment model. The central compartment volume was a dependent parameter ($Vc = \text{volume}/m^2 \times \text{patient body surface area}$) as well as clearance ($\text{clearance} = Vc \times k_{el}$).

^bThe mean, SD, and CV for each parameter were calculated from individual estimations. Note the low interindividual variability and the lower CV of the adjusted volume per square meter compared to that of the actual central compartment volumes (Vc).

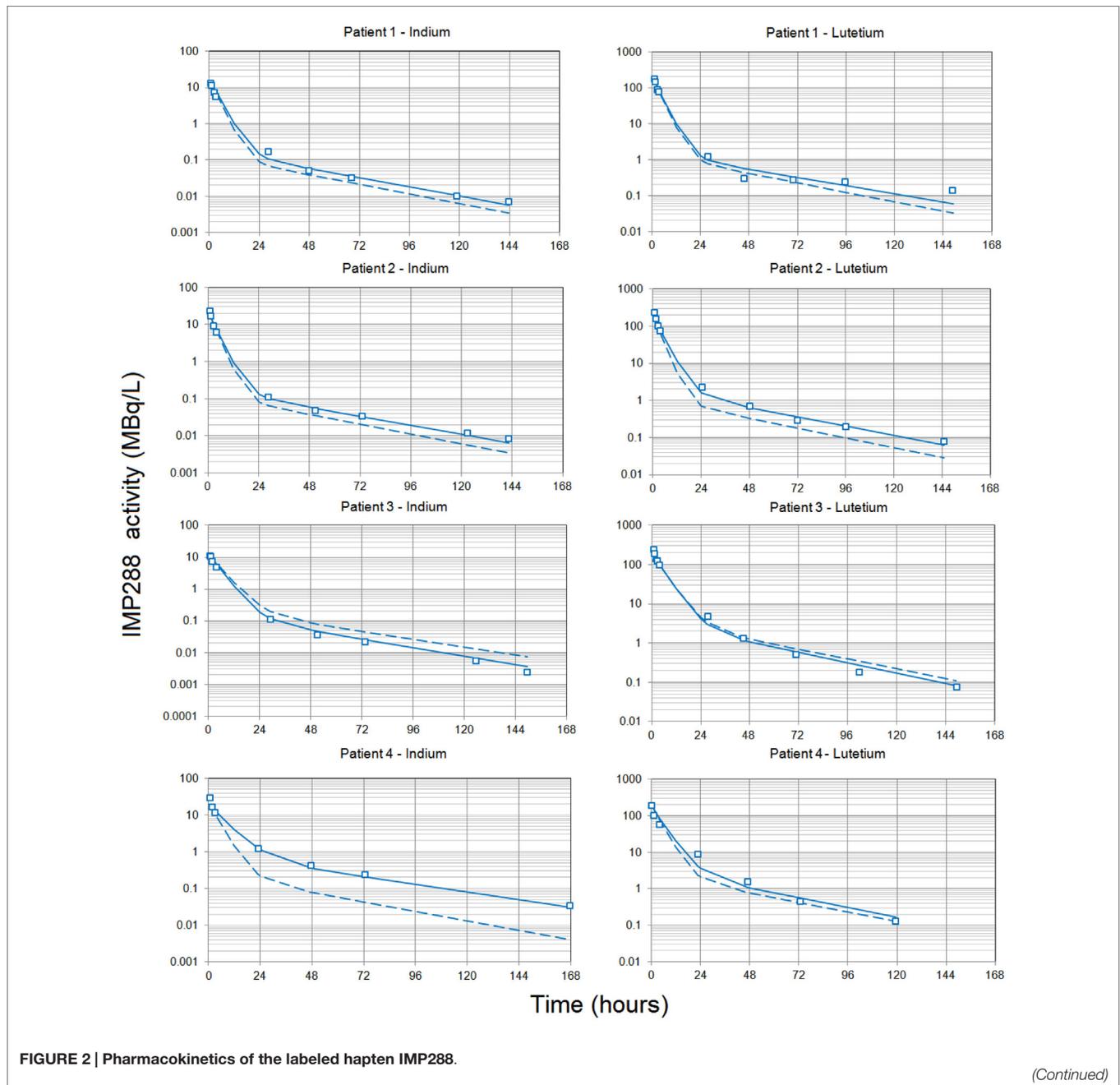
RESULTS

Patient Characteristics and Therapy Results

Ten patients were included in the study between June 2011 and September 2014 (one patient included in Brest, two patients in Angers, two patients in Nantes University Hospital, and five patients in Nantes ICO Cancer Centre) and nine were treated; one on the five patients included in Nantes ICO Cancer Centre died between the inclusion and the beginning of the study. Characteristics of the nine treated patients are summarized in **Table 3**. All patients received 185 MBq of ¹¹¹In-IMP288 for the pretherapeutic session S1 and a median activity of 2,147 MBq

(1,641–3,026 MBq) of ¹⁷⁷Lu-IMP288 for the therapeutic session S2, one or 2 weeks later. None of the nine patients experienced an anaphylactic reaction during TF2 or peptide infusion. One patient died 5 days after pRAIT (not considered treatment related) and was not evaluable for PK analysis, dosimetry, toxicity, or response assessment.

Bone marrow toxicity was mild in most patients (grade 1 thrombocytopenia in 2/9 patients). Only one patient experienced grade 2 anemia 3 months after ¹⁷⁷Lu administration. Three patients with liver metastases showed transaminase enzymes (AST and ALT) elevation during the follow-up, which was deemed to be disease-related, since the three patients had progression of liver metastases on CT and FDG-PET registered 4 weeks after pRAIT.



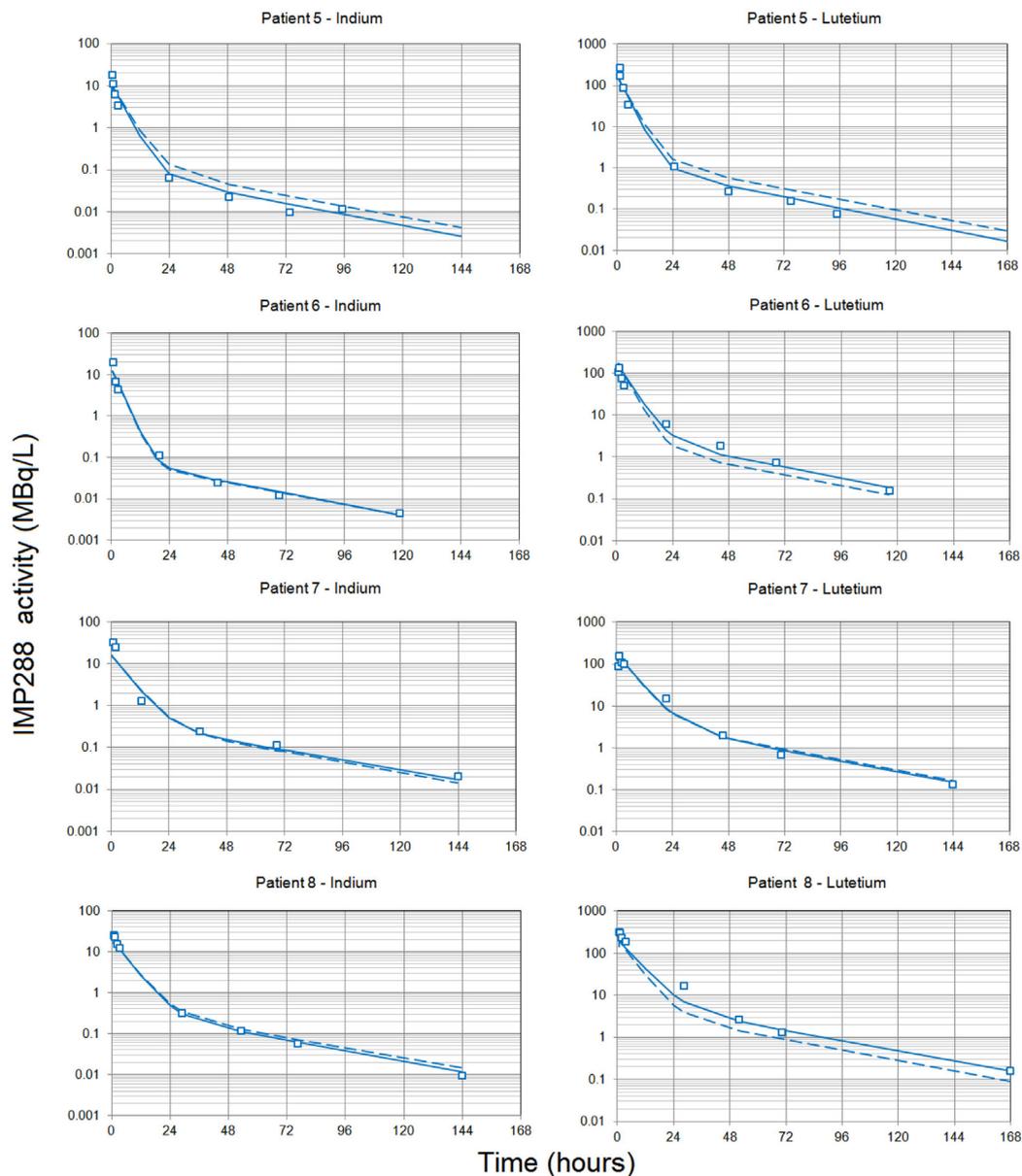


FIGURE 2 | Continued

Each patient received TF2 infusions then 24 or 48 h after each infusion, they received an infusion of IMP288 labeled with indium-111 after the first TF2 infusion or labeled with lutetium-177 after the second. Blood samples were collected at selected time intervals during and after each infusion, centrifuged, and counted. Indium-111 counts were corrected to match lutetium-177 radioactive half-life, and the figure shows IMP288 activity concentrations. The pharmacokinetics was modeled using a two-compartment model and a population approach. Results (open squares) are plotted as a semilog plot with the population (dashed lines) and individual (solid lines) fitted curves.

None of the patients showed biological signs or symptoms of renal toxicity.

According to RECIST criteria based on FDG-PET and CT data, two patients were considered as stable at 4 weeks post-pRAIT but progressive at 3 months. The six others patients were progressive as soon as 4 weeks after pRAIT.

Human antihuman antibody elevation was detected in 1/8 patients, 1 month after the second TF2 infusion, gradually decreasing from 2,966 ng/mL at 4 weeks to 969 ng/mL in the follow-up period of 3 months.

TF2 Pharmacokinetics

Simultaneous modeling of the two TF2 infusions for the eight patients who completed both S1 and S2 sessions using a two-compartment model showed that the PK was consistent between the two infusions, even if they were given at different TF2 molar doses (**Figure 1**). The use of population PK and the simultaneous modeling of the S1 and S2 TF2 infusions surmounted the problem of the limited sensitivity of the ELISA (**Table 4**). The small differences observed between the population and the individual fits showed that interindividual variability was quite

TABLE 5 | Two-compartment population analysis of IMP288 pharmacokinetics.

| Parameter ^a | $k_{2,1}$ (h ⁻¹) | $k_{1,2}$ (h ⁻¹) | A_s | B_s | MR | k_{el} (h ⁻¹) | Volume/m ² (L/m ²) | Vc (L) | Clearance (L/h) |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|-------|-------|-----------------------------|---|--------|-----------------|
| Population values | | | | | | | | | |
| Estimation | 0.027 | 0.019 | 1.42 | 0.182 | NA | NA | 6.38 | NA | NA |
| SD | 0.001 | 0.002 | 0.07 | 0.012 | NA | NA | 0.27 | NA | NA |
| Individual values | | | | | | | | | |
| Patient 1, indium | 0.027 | 0.021 | 1.35 | 0.169 | 124.2 | 0.226 | 6.69 | 13.4 | 3.04 |
| Patient 1, lutetium | 0.024 | 0.021 | 1.37 | 0.172 | 125.5 | 0.241 | 6.50 | 13.1 | 3.15 |
| Patient 2, indium | 0.026 | 0.023 | 1.31 | 0.167 | 40.7 | 0.250 | 6.54 | 9.7 | 2.43 |
| Patient 2, lutetium | 0.027 | 0.022 | 1.22 | 0.156 | 40.1 | 0.219 | 6.63 | 9.9 | 2.16 |
| Patient 3, indium | 0.028 | 0.015 | 1.53 | 0.199 | 35.7 | 0.185 | 6.23 | 16.8 | 3.11 |
| Patient 3, lutetium | 0.028 | 0.017 | 1.43 | 0.183 | 37.8 | 0.165 | 6.25 | 16.8 | 2.78 |
| Patient 4, indium | 0.026 | 0.026 | 0.92 | 0.141 | 22.6 | 0.112 | 6.90 | 12.7 | 1.43 |
| Patient 4, lutetium | 0.029 | 0.019 | 1.29 | 0.167 | 22.0 | 0.173 | 6.78 | 12.5 | 2.17 |
| Patient 5, indium | 0.027 | 0.017 | 1.53 | 0.196 | 22.5 | 0.235 | 6.15 | 12.0 | 2.82 |
| Patient 5, lutetium | 0.028 | 0.017 | 1.52 | 0.196 | 31.1 | 0.249 | 6.13 | 11.9 | 2.97 |
| Patient 6, indium | 0.027 | 0.019 | 1.41 | 0.179 | 109.0 | 0.291 | 6.44 | 11.2 | 3.25 |
| Patient 6, lutetium | 0.028 | 0.021 | 1.31 | 0.170 | 18.8 | 0.179 | 6.93 | 12.0 | 2.15 |
| Patient 7, indium | 0.027 | 0.022 | 1.41 | 0.181 | 3.3 | 0.146 | 6.21 | 12.0 | 1.76 |
| Patient 7, lutetium | 0.028 | 0.018 | 1.41 | 0.181 | 3.2 | 0.137 | 6.54 | 12.7 | 1.74 |
| Patient 8, indium | 0.028 | 0.018 | 1.44 | 0.182 | 2.3 | 0.161 | 6.18 | 10.4 | 1.68 |
| Patient 8, lutetium | 0.028 | 0.020 | 1.16 | 0.174 | 2.5 | 0.124 | 6.49 | 10.9 | 1.36 |
| Mean ^b | 0.027 | 0.020 | 1.35 | 0.176 | | 0.193 | 6.47 | 12.4 | 2.37 |
| SD | 0.001 | 0.003 | 0.16 | 0.015 | | 0.052 | 0.27 | 2.0 | 0.65 |
| CV (%) | 4.5 | 14.3 | 11.5 | 8.6 | | 27.0 | 4.1 | 16.4 | 27.5 |

^aThe transfer rates ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), the central compartment volume per body surface area unit (m²), and the two parameters A and B were adjusted using a two-compartment model. Estimations of the population adjusted parameters are given together with their estimated SD. The central compartment volume was a dependent parameter ($V_c = \text{volume}/\text{m}^2 \times \text{patient body surface area}$). Clearance was calculated as $A_s \times MR^{BS}$, MR being the ratio of the number of moles of injected IMP288 to the number of moles of TF2 present in the circulation at the time of IMP288 injection and the elimination constant k_{el} as $\text{clearance}/V_c$.

^bThe mean, SD, and CV for each parameters were calculated from individual estimations.

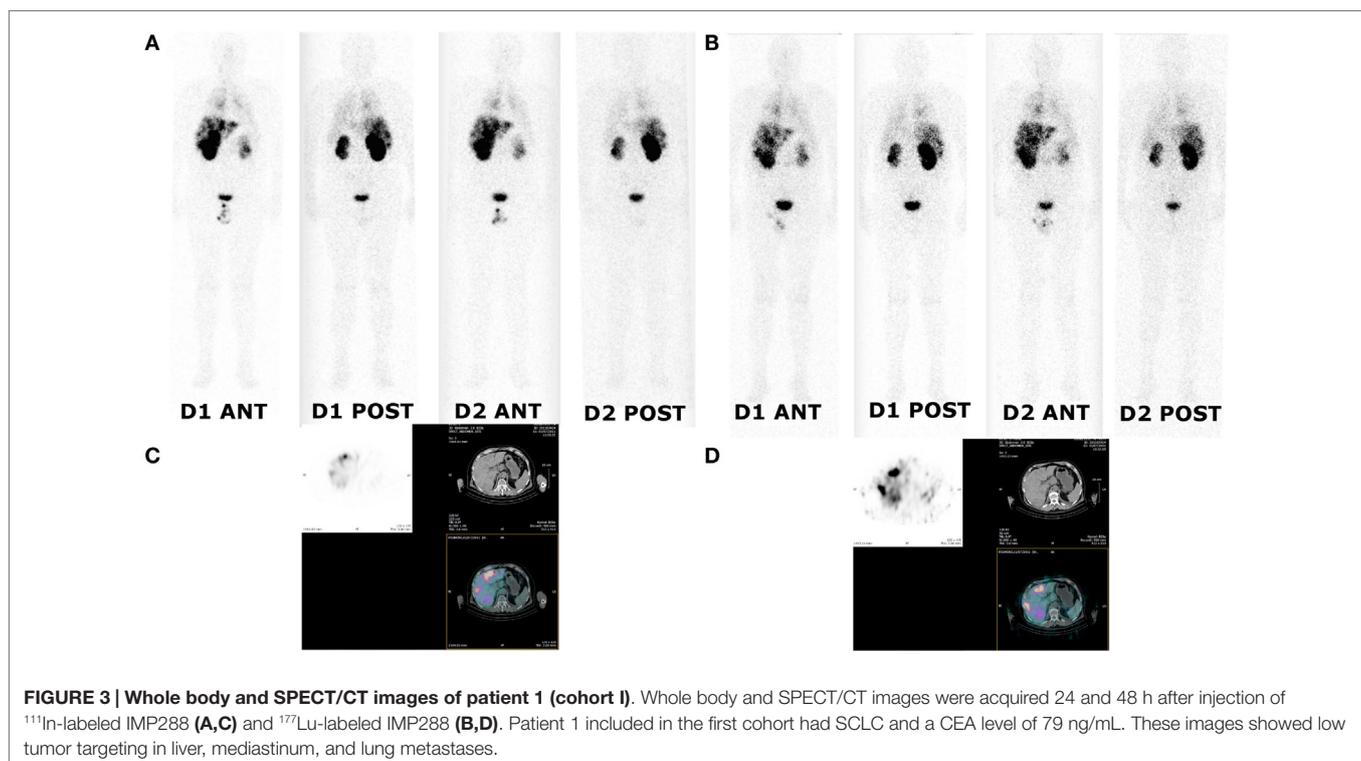


FIGURE 3 | Whole body and SPECT/CT images of patient 1 (cohort I). Whole body and SPECT/CT images were acquired 24 and 48 h after injection of ¹¹¹In-labeled IMP288 (A,C) and ¹⁷⁷Lu-labeled IMP288 (B,D). Patient 1 included in the first cohort had SCLC and a CEA level of 79 ng/mL. These images showed low tumor targeting in liver, mediastinum, and lung metastases.

small. The serum kinetics was rather fast with mean alpha half-lives of 3.7 ± 0.1 h and beta half-lives of 21.3 ± 0.7 h, with very low interindividual variability (3.2 and 3.3%, respectively). Mean serum clearance was 0.64 ± 0.12 L/h, and the use of BSA as a covariable (by setting $V_c = VBA \times BSA$) reduced the coefficient of variation of the V_c from 19 to 4.0% for the estimated parameter (VBA). This observation validates *a posteriori* the dosing scheme of the dose escalation on a BSA basis (44/88 nmol/m² for S1 and 240/480 nmol/m² for S2).

IMP288 Pharmacokinetics

Modeling the kinetics of the hapten was complicated by the necessity to take into account the effect of the residual bispecific antibody in serum at the time of hapten administration, which binds the hapten and modulates its clearance. To compare the PK of IMP288 labeled with indium-111 and with lutetium-177, indium activities were corrected for radioactive decay and transformed into equivalent lutetium-177 counts, assuming similar PK for IMP288 labeled with the two radionuclides (16). Then, the time-activity curves were fitted individually for all patients to a two-compartment model, which gave a good visual fit, not significantly improved by a third compartment according to the Akaike criterion (not shown). In a second step, the relationship between IMP288 PK and the pretargeting conditions was tested by plotting the estimated clearance or the V_c against the concentration of TF2 at the time of IMP288 injection (interpolated from the fitted TF2 concentration curves), or the amount of TF2 present in the circulation at the time of IMP288 (calculated as TF2 concentration \times TF2 V_c), or the molar ratio of injected IMP288 to the amount of TF2 in the circulation (MR). Indeed, in the circulation, TF2 binds the IMP288 hapten and slows its

clearance. It seems logical that the lower the excess of IMP288 relative to TF2, the larger the trapping of IMP288 in the circulation by the bispecific antibody, and hence, the slower its clearance. The correlation based on a power relationship was found to be better between clearance and MR, which was used thereafter as a covariable in the population analysis.

A population PK analysis was then performed on all 16 available kinetics, using BSA and MR as covariables. The larger interindividual variability in the IMP288 than in TF2 kinetics, with mean alpha half-lives of 3.4 ± 0.8 h and beta half-lives of 28.9 ± 2.1 h (corresponding to CV of 24 and 7.3%, respectively), could be explained in part by the influence of TF2 predose. The IMP288-indium-111 kinetics for patient 4 appeared as an outlier (**Figure 2**) but was not excluded from the analysis. The PK of the hapten is known to depend on the presence of TF2 in body fluids, and a strong correlation had been described earlier between IMP288 blood residence time and the concentration of TF2 blood concentrations at the time of peptide injection (16). Since the individual fitting analysis pointed to a relationship between hapten clearance and MR, MR was introduced in the population analysis as a covariable, and IMP288 clearance was calculated as $CI = A_b \times MR^{B_b}$ and k_{el} as clearance/ V_c (**Table 5**). Parameter adjustment finally gave clearance (L/h) = $1.33 \times MR^{0.18}$ ($R^2 = 0.66$). As expected, IMP288 clearance was higher than that of TF2, varying from 1.36 to 3.25 L/h, depending on MR, thus on the pretargeting conditions.

Since IMP288 kinetics were primarily driven by MR, and given the low interindividual variability of TF2 kinetics, pretargeting parameters (i.e., molar injected doses of TF2 and IMP288 and pretargeting delay) are expected to control the hapten kinetics. This means that the kinetics of the therapeutic session may be predicted

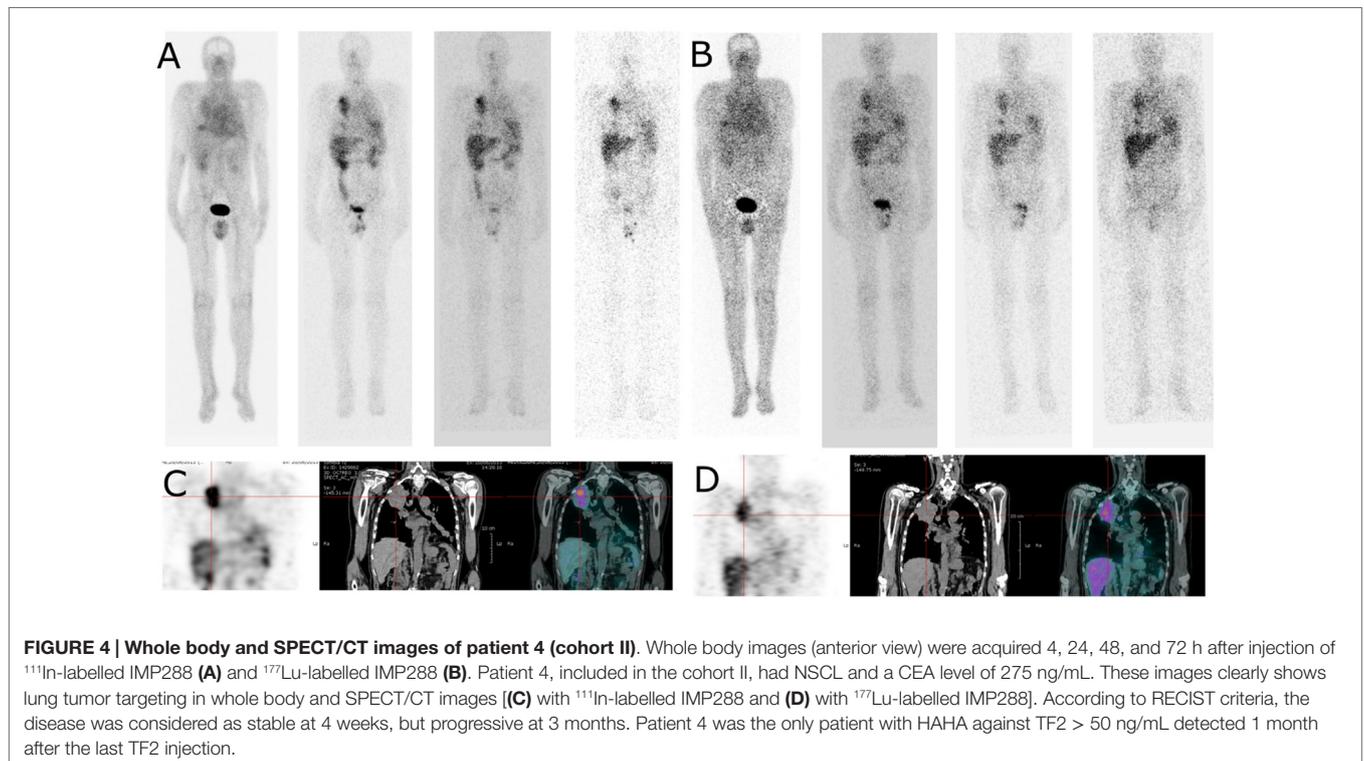


TABLE 6 | Two-compartment population analysis of whole body IMP288 activity pharmacokinetics.

| Parameter ^a | $k_{2,1}$ (h ⁻¹) | $k_{1,2}$ (h ⁻¹) | A_{WB} | B_{WB} | MR | k_{el} (h ⁻¹) |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------|----------|----------|-------|-----------------------------|
| Population values | | | | | | |
| Estimation | 0.0163 | 0.0096 | 0.105 | 0.14 | NA | NA |
| SD | 0.0014 | 0.0009 | 0.004 | 0.01 | NA | NA |
| Individual values | | | | | | |
| Patient 1, indium | 0.0152 | 0.0101 | 0.097 | 0.13 | 124.2 | 0.18 |
| Patient 1, lutetium | 0.0177 | 0.0094 | 0.110 | 0.15 | 125.5 | 0.23 |
| Patient 2, indium | 0.0126 | 0.0100 | 0.104 | 0.14 | 40.7 | 0.18 |
| Patient 2, lutetium | 0.0138 | 0.0101 | 0.115 | 0.16 | 40.1 | 0.21 |
| Patient 3, indium | 0.0178 | 0.0090 | 0.115 | 0.16 | 35.7 | 0.20 |
| Patient 3, lutetium | 0.0197 | 0.0085 | 0.121 | 0.17 | 37.8 | 0.23 |
| Patient 4, indium | 0.0136 | 0.0099 | 0.097 | 0.14 | 22.6 | 0.15 |
| Patient 4, lutetium | 0.0166 | 0.0099 | 0.089 | 0.13 | 22.0 | 0.13 |
| Patient 5, indium | 0.0146 | 0.0104 | 0.098 | 0.14 | 22.5 | 0.15 |
| Patient 5, lutetium | 0.0165 | 0.0102 | 0.083 | 0.12 | 31.1 | 0.13 |
| Patient 6, indium | 0.0141 | 0.0101 | 0.071 | 0.11 | 109.0 | 0.12 |
| Patient 6, lutetium | 0.0166 | 0.0098 | 0.091 | 0.13 | 18.8 | 0.13 |
| Patient 7, indium | 0.0143 | 0.0101 | 0.102 | 0.14 | 3.3 | 0.12 |
| Patient 7, lutetium | 0.0191 | 0.0090 | 0.070 | 0.13 | 3.2 | 0.08 |
| Patient 8, indium | 0.0141 | 0.0100 | 0.110 | 0.15 | 2.3 | 0.12 |
| Patient 8, lutetium | 0.0190 | 0.0090 | 0.098 | 0.14 | 2.5 | 0.11 |
| Mean ^b | 0.0160 | 0.0097 | 0.098 | 0.14 | | 0.15 |
| SD | 0.0022 | 0.0006 | 0.015 | 0.02 | | 0.04 |
| CV (%) | 13.9 | 5.8 | 15.2 | 11.6 | | 29.0 |

^aWhole body (WB) activity kinetics was modeled as the sum of the activities in a central compartment and a distribution compartment with transfer rates ($k_{2,1}$ and $k_{1,2}$), and two parameters A and B as adjustable parameters; the elimination constant k_{el} was calculated as $k_{el} = k_{1,2} + k_{2,1} \cdot MR$, MR being the ratio of the number of moles of injected IMP288 to the number of moles of TF2 present in the circulation at the time of IMP288 injection. Estimations of the population adjusted parameters are given together with their estimated SD.

^bThe mean, SD, and CV for each parameter were calculated from individual estimations.

by the imaging session, in spite of the fact that absolute molar doses of the reagents are different, which will be confirmed hereafter.

Scintigraphy and Quantitative Analyses

Images registered after ¹¹¹In-labeled IMP288 showed targeting of all known tumors in all patients. WB scintigraphy and SPECT/CT images recorded after S1 and S2 were concordant (example of patients included in C1 and C2 are shown in **Figures 3** and **4**) even if tumor targeting visually appeared to be better in S2 than in S1 images, due to the higher levels of administered activity.

Reconstructed tomographic images were quantified and indium-111 counts were also corrected for radioactive decay to allow for comparison with the lutetium-177 data. A two-compartment model was used to describe the kinetics of WB counts (**Table 6**). The mean alpha half-life was 4.3 ± 1.1 h and beta half-life 80 ± 7 h, corresponding to a relatively large interindividual variability (25 and 9%, respectively).

The activity in the organs was modeled by a fraction of the activity in the central compartment plus an organ-specific distribution compartment, as described in the literature (27). Then the kinetics of activities in all regions of interest (WB, right and left lungs, liver, right and left kidneys, spleen, heart, whole aorta, and tumor), for all eight patients and for the two sessions, was fitted simultaneously by a population analysis. As in the serum kinetics analysis, the rate constant of elimination (k_{el}) from the central compartment was set as a power function of MR, and tissue weights were introduced in the analysis. A reasonable fit was

obtained, except for tumors, for which variations in on rates and off rates were too large to consider a population PK analysis and were thus adjusted individually. This analysis demonstrated the consistency of the measured activities and a relationship between WB clearance, and MR was again observed [k_{el} (1/h) = $0.095 MR^{0.15}$], but with a lower correlation coefficient ($R^2 = 0.45$) than in the serum count analysis.

This analysis showed that tissue uptake, on an organ weight basis, as assessed by the organ compartment volume, was higher in kidneys and liver, as expected, intermediate in lungs and spleen, and lower in aorta and heart, whereas the fractions of activity in fast equilibrium with the central compartment was similar in all tissues, including tumors (**Table 7**). Tumor uptake was variable and higher in patients 4, 5, 6 (C1), and 7 (C2).

Dosimetry

The PK modeling of image data was completed by a classical dosimetry study performed as described in Section “Materials and Methods.” **Figures 5** and **6** present organ-absorbed doses normalized by injected activity estimated at S1 and S2. Considering cohort categorization, no significant differences in organ-absorbed doses estimated from both sessions were observed, as shown by Wilcoxon tests ($p > 0.05$). At the patient level, normalized organ-absorbed doses at S1 were also compared against those estimated at S2, using the Spearman test. Spearman’s rho and corresponding p -value are reported in **Table 8** and showed a good correlation between organs-absorbed doses estimated at both sessions.

TABLE 7 | Population analysis of IMP288 activity distribution.

| Parameter ^a | k_{on} (1/h $\times 10^3$) | k_{off} (1/h $\times 10^2$) | Fraction (L/kg $\times 10^2$) |
|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Lung | 1.06 \pm 0.06 | 1.17 \pm 0.06 | 3.38 \pm 0.19 |
| Liver | 1.45 \pm 0.11 | 1.14 \pm 0.08 | 2.33 \pm 0.21 |
| Kidneys | 4.35 \pm 0.28 | 2.22 \pm 0.08 | 5.91 \pm 0.37 |
| Spleen | 1.48 \pm 0.11 | 1.30 \pm 0.08 | 2.21 \pm 0.19 |
| Heart | 0.45 \pm 0.04 | 0.94 \pm 0.09 | 3.08 \pm 0.21 |
| Aorta | 0.61 \pm 0.05 | 1.04 \pm 0.09 | 3.66 \pm 0.26 |
| Tumor | | | 2.70 \pm 0.26 |

^aIMP288 distribution in tissues of interest was modeled using a tissue-specific distribution compartment and a fraction of the activity in the central compartment; the on and off rate constants, k_{on} and k_{off} , and the fraction of activity (fraction) were adjustable parameters using the central compartment of the whole body kinetics as the input function.

For all patients, 24 tumors were delineated on reconstructed SPECT or CT images. They were mostly located in lungs (37%) and liver (29%). Median tumor mass was 19.3 g (1.1–1,364 g). Median normalized tumor-absorbed doses in the three cohorts ranged from 0.05 to 0.25 mGy/MBq in S1 and from 0.10 to 0.54 mGy/MBq in S2. Extreme normalized tumor-absorbed doses for each cohort ranged from 0.02 to 0.12 mGy/MBq in S1 and from 0.52 to 1.08 mGy/MBq in S2. These absorbed doses not appeared to be significantly different as shown by a Wilcoxon test conducted on previous values ($p > 0.13$). Nevertheless, a Spearman test conducted on previous data showed a good correlation ($\rho = 0.85$, $p < 10^{-15}$) between tumor-absorbed doses estimated at both sessions.

Kruskal–Wallis tests were performed to compare organ-absorbed doses at each different dosage level and for both sessions. Statistical tests did not exhibit significant difference between groups for organs ($p > 0.07$). The same analysis was conducted on tumor-absorbed doses and showed significantly higher tumor-absorbed doses in patients included in cohort II or III than in cohort I ($p < 0.002$) as illustrated by **Figure 6**.

DISCUSSION

The main objectives of this study were to assess whether an imaging session may be predictive of absorbed doses in therapy (IMP288 labeled with indium-111 in the imaging session and with lutetium-177 in the therapy session) and to find the best pretargeting parameters (molar doses of TF2 and IMP288 and pretargeting delay) for cancer therapy. The imaging sessions were performed using molar doses 5.4 times lower than in the therapy session, to reduce exposure of the patients to the pretargeting reagents. This was assumed feasible without compromising the predictive character of the imaging session, based on the earlier preclinical assessment of the compounds and in view of the results obtained by Schoffelen et al. (16). It was, however, important to confirm this result in a different clinical setting.

To this end, PK modeling of TF2 serum concentration kinetics, IMP288 serum activity kinetics (adjusted to the physical half-life of lutetium-177 to allow comparisons), and of IMP288 activities measured by SPECT in WB and regions of interest corresponding to major tissues and tumors was performed using a population PK

modeling software developed in our laboratory (available upon request) that allowed for simultaneous multicompartiment and multitissue analyses. The population approach allowed a more consistent modeling of data, ensuring convergence of parameter estimations even in cases where the number of data points was small due to assay sensitivity (TF2) or number of imaging sessions. In addition, the population approach allowed us to confirm that calculating individual TF2 or hapten doses on the basis of BSA reduced the variability of circulating TF2 concentrations and also allowed us to define a relationship between circulating TF2 concentrations at the time of hapten administration and the kinetics of the hapten. This relationship is complex, but it is expected that TF2 binds the hapten in the circulation and slows down its clearance, as already observed in many preclinical studies and in earlier clinical studies with chemically coupled bispecific antibodies (17).

The population PK analyses showed that molar ratios and time intervals must be kept constant, but that there is no need to perform the imaging and therapy sessions with the same molar doses, in order to obtain comparable hapten serum and tissue uptake kinetics in both imaging and therapy sessions. Indeed, quantitative assessment of the images showed that not only the serum kinetics, but also the distribution of activity in normal tissues and tumors in the therapy session may be predicted from the imaging session, as shown by the very high degree of correlation obtained. Being able to predict dosimetry, and avoiding treatment of patients whose tumor lesions do not bind the activity, using a low dose, pretherapy, imaging session, according to the theranostic approach, is a significant advantage in clinical practice.

The very different PK behavior of TF2 as compared to chemically coupled BsmAb requires pretargeting optimization studies. The pretargeting parameters must be finely tuned to avoid high circulating activities, detrimental to normal tissue dosimetry in therapy, and background in imaging, while keeping tumor uptake as high as possible. In this study, in spite of the small number of patients in each cohort, some conclusions can be drawn. In cohort I, comparatively low doses of TF2 were administered (7 and 37.5 mg/m²) with a delay of 48 h. This results in a fast clearance of the hapten and a low tumor uptake. In cohort II, the higher doses of TF2 (14 and 75 mg/m²) resulted in slower clearance of activity and significantly increased tumor uptake. Reduction of the delay to 24 h further increased the amount of TF2 present in the circulation and tissues at the time of hapten injection but did not significantly increased tumor uptake over cohort III, probably because of the high observed variability and because lutetium-177 data were available for only two patients.

Although serum and organ PK showed a correlation between MR and clearance, it must be noted that between cohort I and cohort III, clearance is only reduced by a factor of approximately two. In contrast, a significant difference in tumor-absorbed doses is found between cohort I and cohorts II and III, showing that increase of the TF2 dose and reduction of the pretargeting delay had a positive impact on tumor uptake without increasing significantly the doses delivered to normal tissues.

In line with the dosimetry assessment, hematological toxicity was quite limited, and non-hematological toxicity was observed only in liver involved with tumor in three cases. To further increase

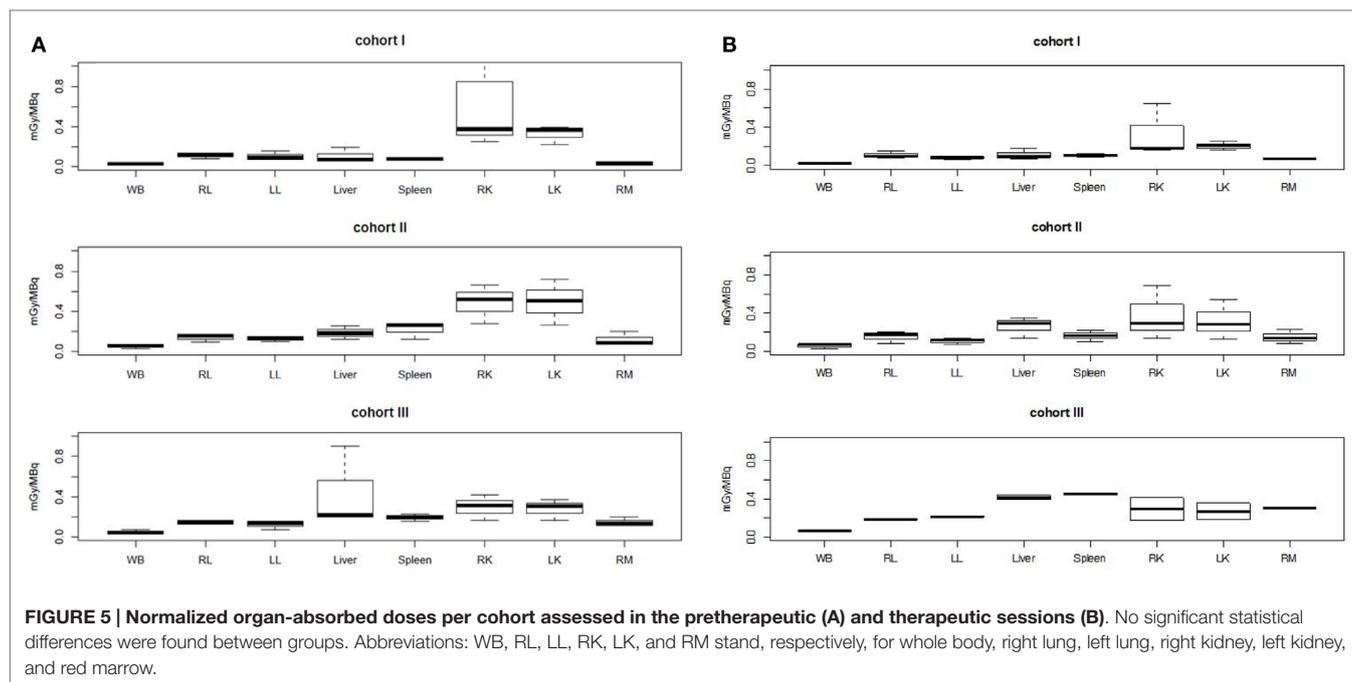


FIGURE 5 | Normalized organ-absorbed doses per cohort assessed in the pretherapeutic (A) and therapeutic sessions (B). No significant statistical differences were found between groups. Abbreviations: WB, RL, LL, RK, LK, and RM stand, respectively, for whole body, right lung, left lung, right kidney, left kidney, and red marrow.

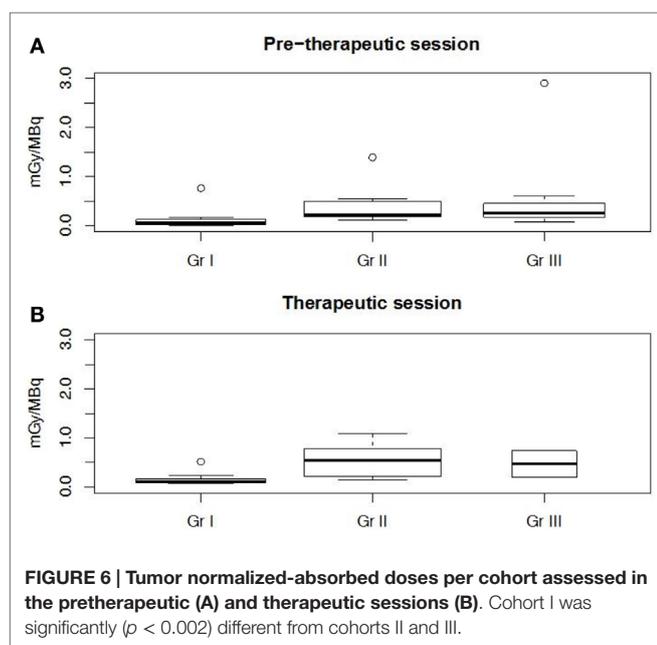


FIGURE 6 | Tumor normalized-absorbed doses per cohort assessed in the pretherapeutic (A) and therapeutic sessions (B). Cohort I was significantly ($p < 0.002$) different from cohorts II and III.

tumor-absorbed doses, the shorter pretargeting delay of 24 h thus appears superior to 48 h. Since in preclinical models (28), shorter delays started to increase the doses delivered to normal tissues, this 24-h delay may be considered optimal. On the other hand, increasing the administered amount of TF2 could be problematic in terms of cost, even if there is no indication of tumor binding site saturation. Thus, to improve treatment efficacy, which was minimal in this optimization study with only two cases of disease stabilization for short periods of time, the injected activity should

be increased for the second part of the study, which is planned with an activity escalation. Indeed, it was not expected that a single therapy cycle would be sufficient to deliver therapeutic doses that would show tumor shrinkage.

It has been shown that pretargeting performance strongly depends on the injected hapten to BsmAb molar ratio which should be kept as small as possible (1:20 or 1:40), as in this study. Then the hapten should be labeled to a high specific activity in order to target enough activity for therapy. This specific activity issue and the fact that tumor accretion is slower but significantly reversible make the use of shorter half-life and higher intrinsic toxicity radionuclides, such as yttrium-90, preferable to that of lutetium-177. The use of pairs of beta + /beta-emitting radionuclides (e.g., $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$) could also be a promising theragnostic approach with a same distribution both for dosimetry imaging using immunoPET and therapy. Short half-life alpha-emitting radionuclides, such as bismuth-213 or astatine-211, could also be considered.

Finally, the immune response and the number of patient developing human antibody against TF2 were lower than described previously by Schoffelen and coworkers (16) in a population of patients with CRCs, and grade 2 acute infusion reactions were observed in one-third (7/21) of the patients during the second TF2 infusion. These immune reactions were attenuated by adding antihistamine and corticosteroid premedications before the second TF2 infusion but did not disappear (immune response occurred in 2/5 premedicated patients). In our study, all patients were premedicated with an antihistamine and corticosteroid before each TF2 and peptide infusion, and none of them presented immune response symptoms. Moreover, Schoffelen and coworkers (16) described an immunization rate of 50% with HAAH against TF2 detected in 11/21 patients as soon as 1 week after the

TABLE 8 | Spearman tests for the correlation between organ-absorbed doses estimated during pretherapeutic and therapeutic sessions^a.

| Spearman test | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Rho | 0.986 | 0.827 | 0.904 | 0.725 | 0.918 | 0.836 | 0.891 | 0.727 |
| p-Value | 0.000 | 0.031 | 0.000 | 0.007 | 0.000 | 0.003 | 0.001 | 0.015 |

^aPatient 9 was not able to sustain therapeutic imaging session due to an altered condition.

second infusion gradually increasing in the follow-up period of 8 weeks. HAHA against TF2 > 50 ng/mL was detected in only one of our eight patients evaluated, starting 1 month after the second TF2 infusion and gradually decreasing in the follow-up period of 3 months. If the use of an antiallergic premedication partially explained the absence of immune reactions at the time of second injection of TF2 in our study, this did not explain the lower number of patients developing HAHA. The explanation did not come from the TF2 injection schemes which were identical or from the TF2 doses that were close. Our main hypothesis to explain this discrepancy could reside in the different histological types of tumors included in the two studies. While in the two studies, patients have already been treated with multiple lines of treatment, relapsing lung cancer is often more aggressive than relapsing CRC. This could explain poorer general conditions (7/9 patients died in the year following the study) and thus a more compromised immune system. It may also be that metastatic NSCLC patients are more heavily pretreated with cytotoxic chemotherapy than patients

with metastatic CRC, and this needs to be evaluated. In any case, the low immunogenicity and the low toxicity observed should offer the possibility of administering several courses of treatment to deliver tumor-killing irradiation levels.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been supported in part by grants from the French National Agency for Research, called “Investissements d’Avenir” IRON Labex n° ANR-11-LABX-0018-01 and ArronaxPlus Equipex n° ANR-11-EQPX-0004; the proprietary TF2 and IMP288 reagents were provided by Immunomedics, Inc., and IBC Pharmaceuticals, Inc.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2015.00084>

REFERENCES

- Larson SM, Carrasquillo JA, Cheung NK, Press OW. Radioimmunotherapy of human tumours. *Nat Rev Cancer* (2015) **15**(6):347–60. doi:10.1038/nrc3925
- Kraeber-Bodéré F, Bodet-Milin C, Rousseau C, Eugène T, Pallardy A, Frampas E, et al. Radioimmunoconjugates for the treatment of cancer. *Semin Oncol* (2014) **41**(5):613–22. doi:10.1053/j.seminoncol.2014.07.004
- Barbet J, Kraeber-Bodéré F, Vuillez JP, Gautherot E, Rouvier E, Chatal JF. Pretargeting with the affinity enhancement system for radioimmunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm* (1999) **14**(3):153–66. doi:10.1089/cbr.1999.14.153
- Goldenberg DM, Sharkey RM, Paganelli G, Barbet J, Chatal JF. Antibody pretargeting advances cancer radioimmunodetection and radioimmunotherapy. *J Clin Oncol* (2006) **24**(5):823–34. doi:10.1200/JCO.2005.03.8471
- Juweid M, Sharkey RM, Behr T, Swayne LC, Herskovic T, Pereira M, et al. Radioimmunotherapy of medullary thyroid cancer with iodine-131-labeled anti-CEA antibodies. *J Nucl Med* (1996) **37**(6):905–11.
- Liersch T, Meller J, Kulle B, Behr TM, Markus P, Langer C, et al. Phase II trial of carcinoembryonic antigen radioimmunotherapy with ¹³¹I-labetuzumab after salvage resection of colorectal metastases in the liver: five-year safety and efficacy results. *J Clin Oncol* (2005) **23**(27):6763–70. doi:10.1200/JCO.2005.18.622
- Kraeber-Bodéré F, Faivre-Chauvet A, Saï-Maurel C, Gautherot E, Fiche M, Campion L, et al. Bispecific antibody and bivalent hapten radioimmunotherapy in CEA-producing medullary thyroid cancer xenograft. *J Nucl Med* (1999) **40**(1):198–204.
- Gautherot E, Rouvier E, Daniel L, Loucif E, Bouhou J, Manetti C, et al. Pretargeted radioimmunotherapy of human colorectal xenografts with bispecific antibody and ¹³¹I-labeled bivalent hapten. *J Nucl Med* (2000) **41**(3):480–7.
- Kraeber-Bodéré F, Bardet S, Hoefnagel CA, Vieira MR, Vuillez JP, Murat A, et al. Radioimmunotherapy in medullary thyroid cancer using bispecific antibody and iodine 131-labeled bivalent hapten: preliminary results of a phase II clinical trial. *Clin Cancer Res* (1999) **5**(10 Suppl):3190s–8s.
- Vuillez JP, Kraeber-Bodéré F, Moro D, Bardiès M, Douillard JY, Gautherot E, et al. Radioimmunotherapy of small cell lung carcinoma with the two-step method using a bispecific anti-carcinoembryonic antigen/anti-diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) antibody and iodine-131 Di-DTPA hapten: results of a phase I/II trial. *Clin Cancer Res* (1999) **5**(10 Suppl):3259s–67s.
- Chatal JF, Campion L, Kraeber-Bodéré F, Bardet S, Vuillez JP, Charbonnel B, et al. Survival improvement in patients with medullary thyroid carcinoma who undergo pretargeted anti-carcinoembryonic-antigen radioimmunotherapy: a collaborative study with the French endocrine tumor group. *J Clin Oncol* (2006) **24**(11):1705–11. doi:10.1200/JCO.2005.04.4917
- Salaün PY, Campion L, Bournaud C, Faivre-Chauvet A, Vuillez JP, Taieb D, et al. Phase II trial of anticarcinoembryonic antigen pretargeted radioimmunotherapy in progressive metastatic medullary thyroid carcinoma: biomarker response and survival improvement. *J Nucl Med* (2012) **53**(8):1185–92. doi:10.2967/jnumed.111.101865
- Rossi EA, Goldenberg DM, Cardillo TM, McBride WJ, Sharkey RM, Chang CH. Stably tethered multifunctional structures of defined composition made by the dock and lock method for use in cancer targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2006) **103**(18):6841–6. doi:10.1073/pnas.0600982103
- Goldenberg DM, Rossi EA, Sharkey RM, McBride WJ, Chang CH. Multifunctional antibodies by the dock-and-lock method for improved cancer imaging and therapy by pretargeting. *J Nucl Med* (2008) **49**(1):158–63. doi:10.2967/jnumed.107.046185
- Sharkey RM, Rossi EA, McBride WJ, Chang CH, Goldenberg DM. Recombinant bispecific monoclonal antibodies prepared by the dock-and-lock strategy for pretargeted radioimmunotherapy. *Semin Nucl Med* (2010) **40**(3):190–203. doi:10.1053/j.semnuclmed.2009.12.002
- Schoffelen R, Woliner-van der Weg W, Visser EP, Goldenberg DM, Sharkey RM, McBride WJ, et al. Predictive patient-specific dosimetry and individualized dosing of pretargeted radioimmunotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2014) **41**(8):1593–602. doi:10.1007/s00259-014-2742-6
- Kraeber-Bodéré F, Faivre-Chauvet A, Ferrer L, Vuillez JP, Brard PY, Rousseau C, et al. Pharmacokinetics and dosimetry studies for optimization of

- anti-carcinoembryonic antigen x anti-hapten bispecific antibody-mediated pretargeting of Iodine-131-labeled hapten in a phase I radioimmunotherapy trial. *Clin Cancer Res* (2003) **9**(10 Pt 2):3973S–81S.
18. McBride WJ, Zanzonico P, Sharkey RM, Norén C, Karacay H, Rossi EA, et al. Bispecific antibody pretargeting PET (immunoPET) with an 124I-labeled hapten-peptide. *J Nucl Med* (2006) **47**(10):1678–88.
 19. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* (2009) **45**(2):228–47. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026
 20. Lavielle M, Mentré F. Estimation of population pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* (2007) **34**(2):229–49. doi:10.1007/s10928-006-9043-z
 21. Ogawa K, Harata Y, Ichihara T, Kubo A, Hashimoto SA. Practical method for position-dependent Compton-scatter correction in single photon emission CT. *IEEE Trans Med Imaging* (1991) **10**:408–12. doi:10.1109/42.97591
 22. Dewaraja YK, Frey EC, Sgouros G, Brill AB, Roberson P, Zanzonico PB, et al. MIRD pamphlet No. 23: quantitative SPECT for patient-specific 3-dimensional dosimetry in internal radionuclide therapy. *J Nucl Med* (2012) **53**(8):1310–25. doi:10.2967/jnumed.111.100123
 23. Kikinis R, Pieper S. 3D Slicer as a tool for interactive brain tumor segmentation. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* (2011) **2011**:6982–4. doi:10.1109/IEMBS.2011.6091765
 24. Ferrer L, Kraeber-Bodéré F, Bodet-Milin C, Rousseau C, Le Gouill S, Wegener WA, et al. Three methods assessing red marrow dosimetry in lymphoma patients treated with radioimmunotherapy. *Cancer* (2010) **116**(4 Suppl):1093–100. doi:10.1002/cncr.24797
 25. Toussaint N, Souplet J-C, Fillard P. MedINRIA: medical image navigation and research tool by INRIA. *Proc. of MICCAI '07 Workshop on Interaction in Medical Image Analysis and Visualization*. Brisbane, QLD (2007).
 26. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Available from: <http://www.R-project.org/>
 27. Lammertsma AA, Bench CJ, Hume SP, Osman S, Gunn K, Brooks DJ, et al. Comparison of methods for analysis of clinical [¹¹C]raclopride studies. *J Cereb BloodFlowMetab* (1996) **16**(1):42–52. doi:10.1097/00004647-199601000-00005
 28. Frampas E, Maurel C, Remaud-Le Saëc P, Mauxion T, Faivre-Chauvet A, Davodeau F, et al. Pretargeted radioimmunotherapy of colorectal cancer metastases: models and pharmacokinetics predict influence of the physical and radiochemical properties of the radionuclide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2011) **38**(12):2153–64. doi:10.1007/s00259-011-1903-0

Conflict of Interest Statement: The proprietary TF2 and IMP288 reagents were provided by Immunomedics, Inc., and IBC Pharmaceuticals, Inc. (Dr. David M. Goldenberg and Robert M. Sharkey).

Copyright © 2015 Bodet-Milin, Ferrer, Rauscher, Masson, Rbah-Vidal, Faivre-Chauvet, Cerato, Rousseau, Hureaux, Couturier, Salain, Goldenberg, Sharkey, Kraeber-Bodéré and Barbet. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Thèse de Doctorat

Caroline BODET-MILIN

Titre de thèse Optimisation clinique du pré-ciblage utilisant l'anticorps anti-ACE humanisé trivalent TF2 et le haptène bivalent IMP288 dans 2 modèles de tumeurs exprimant l'ACE, pour une application thérapeutique en radioimmunothérapie et pour une application en imagerie par émission de positon appelée immuno-TEP.

Title of thesis

Optimization of the pretargeting system using the anti-CEA bispecific antibody TF2 and the IMP288 bivalent hapten in 2 models of CEA-expressing tumors using pharmacokinetic and imaging data obtained in a phase I/II RIT study and in a phase I/II PET imaging study.

Résumé

Notre équipe a largement contribué à l'optimisation et à la validation du préciblage dans différents modèles précliniques et cliniques de tumeurs exprimant l'ACE. Des réactifs de nouvelle génération utilisant l'anticorps bispécifique anti-ACE humanisé TF2 et haptène IMP288 sont disponibles et accessibles pour un transfert en clinique mais nécessitent une phase d'optimisation afin de déterminer les paramètres essentiels qui interfèrent dans ce système : les doses molaires de TF2 et d'IMP288, le ratio TF2/IMP288 et le délai de préciblage. L'objectif principal de ce travail de thèse était d'optimiser l'utilisation clinique du système TF2/IMP288 dans 2 modèles de tumeurs exprimant l'ACE à partir des données pharmacocinétiques et des données d'imagerie obtenues dans le cadre d'une étude de RIT et d'une étude d'imagerie par immunoTEP. Les résultats préliminaires de l'essai de RIT de phase I/II utilisant le TF2 et le ¹⁷⁷Lu-IMP288 dans 3 cohortes de 3 patients porteurs de cancers pulmonaires en rechute et exprimant l'ACE, nous ont permis de définir le schéma optimal d'administration du couple TF2/IMP288 en thérapie et de démontrer qu'à ratios molaires TF2/IMP288 identiques, les données obtenues à la phase pré-thérapeutique avec l'¹¹¹In-IMP288 étaient prédictives de celles obtenues à la phase thérapeutique avec le ¹⁷⁷Lu-IMP288. Les résultats obtenus dans 5 cohortes de 3 patients inclus dans l'essai de phase I/II utilisant le système TF2/⁶⁸Ga-IMP288 pour l'immunoTEP des patients atteints de récurrences de CMT nous ont permis de démontrer la faisabilité de cette nouvelle approche d'imagerie et de déterminer le schéma optimal d'administration du couple TF2/IMP288 pour l'imagerie.

Mots clés

Pré-ciblage, Radioimmunothérapie, Immuno-TEP,
Antigène carcino-embryonnaire, immunociblage tumoral

Abstract

Our team contributed to the optimization and validation of pretargeting using bispecific antibodies and radiolabeled haptens in various preclinical and clinical models of CEA-expressing tumors. The new generation of anti-CEA bispecific antibody (bsMAb) TF2 and IMP288 bivalent hapten are available and accessible for transfer to clinical applications but require optimization step to determine the optimal pre-targeting scheme including the molar doses of TF2 and IMP288, the TF2/IMP288 ratio and the pretargeting delay. The main objective of this work was to optimize the clinical use of the TF2/IMP288 system in 2 models of CEA-expressing tumors using pharmacokinetic and imaging data obtained in a RIT study and in an imaging PET study (immunoPET). The preliminary results obtained from the prospective multicentric pretargeted-RIT phase I/II optimization study using TF2 and ¹⁷⁷Lu-IMP288 in patients with CEA-expressing relapsing lung tumours allowed us to determine the optimal bsMAb dose and pre-targeting delay for therapeutic application and to confirm the accuracy of ¹¹¹In-labeled images to predict ¹⁷⁷Lu-IMP288 distribution and to estimate absorbed doses to major organs and tumors. The preliminary results obtained from the phase I/II immunoPET trial using TF2 and ⁶⁸Ga-IMP288 in 5 cohorts of 3 patients with progressive MTC allowed us to demonstrate the feasibility of this new imaging approach and to define the optimal pre-targeting scheme for immuno-PET applications.

Key Words

Pre-targeting, Radioimmunotherapy, Immuno-PET,
Carcinoembryonic antigen, tumor immunotargeting