

# Naissance et développement d'un nouveau radiopharmaceutique, du concept à la clinique

Journée ARRAD 25.11.2022



Association Romande de Radioprotection

[www.arrad.ch](http://www.arrad.ch)



*Unil*  
UNIL | Université de Lausanne



# Plan

## Introduction

- Notions générales
- Etapes du développement d'un radiopharmaceutique

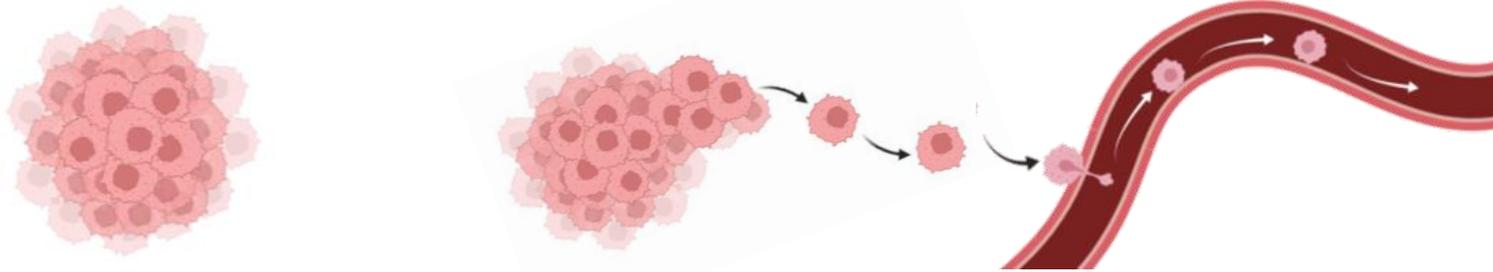
## Focus sur le développement préclinique

## Discussion et perspectives De la préclinique à la clinique

# INTRODUCTION

# Notions générales : Cancer

Cancer prolifération anarchique de cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme



Prise en charge actuelle

LOCALE

Chirurgie



Radiothérapie



SYSTEMIQUE

Chimiothérapie

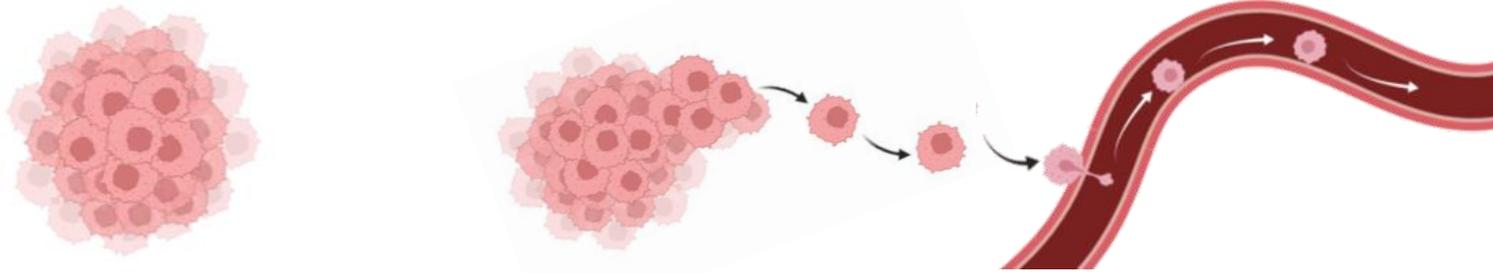


Thérapies ciblées



# Notions générales : Cancer

Cancer prolifération anarchique de cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme



Prise en charge actuelle

LOCALE

Chirurgie



Radiothérapie



SYSTEMIQUE

Chimiothérapie



Thérapies ciblées



**Médecine personnalisée**  
basée sur les caractéristiques  
biologiques spécifiques de la  
tumeur du patient

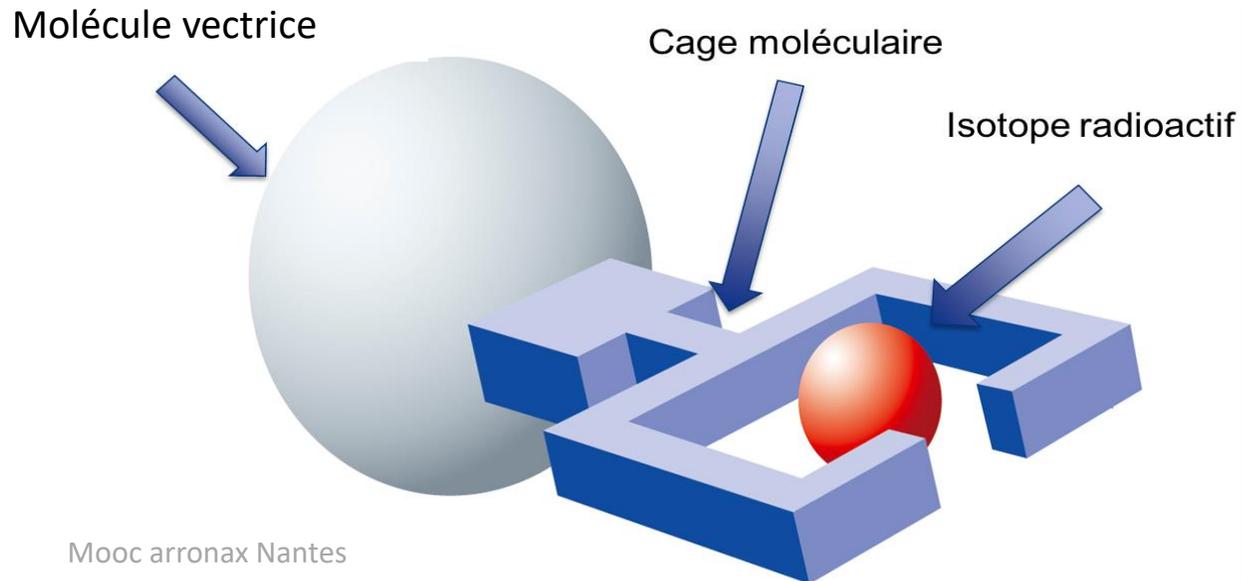
# Notions générales: thérapies ciblées en médecine nucléaire

## Cibles

- Peuvent être des récepteurs présents à la surface de la cellule
- Modifiées de manière qualitative ou quantitative dans les cancers

## Utilisation de médicaments radiopharmaceutiques

- Vecteur : il cible les récepteurs
- Isotope radioactif : fixé sur le vecteur il est à l'origine de l'efficacité thérapeutique



Effet de la radioactivité :

- sur les cellules cancéreuses portant le récepteur
- effet anti tumoral
- sans effet majeur sur les cellules saines

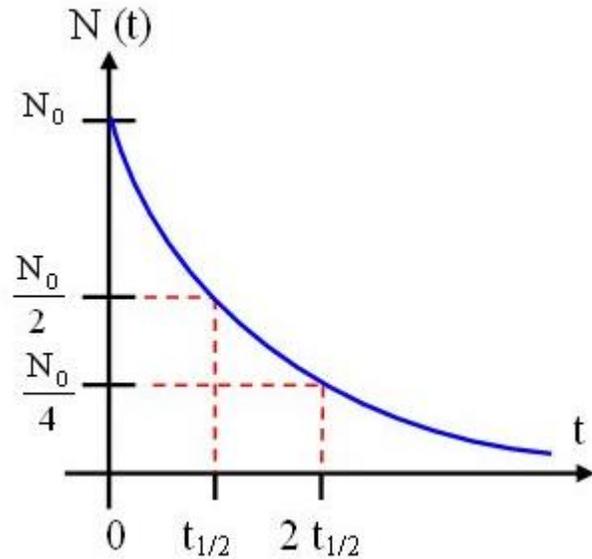


Mooc arronax Nantes

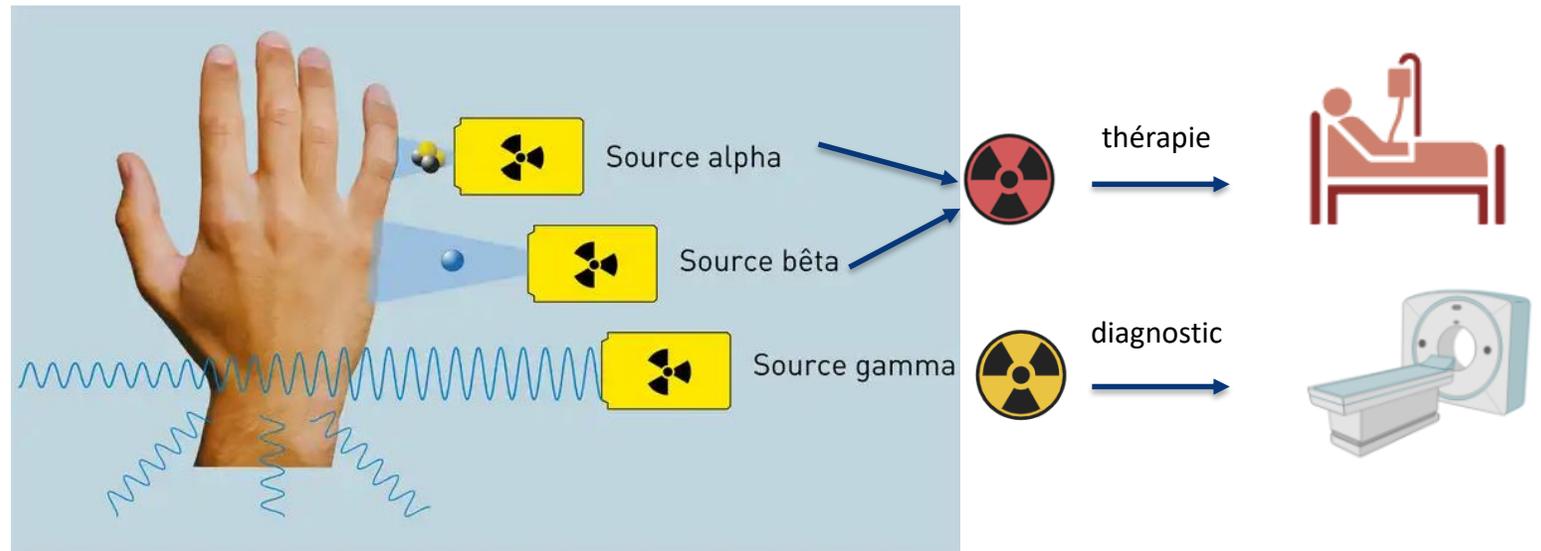
# Notions générales: thérapies ciblées en médecine nucléaire

## Choix de l'isotope radioactif selon

- sa période



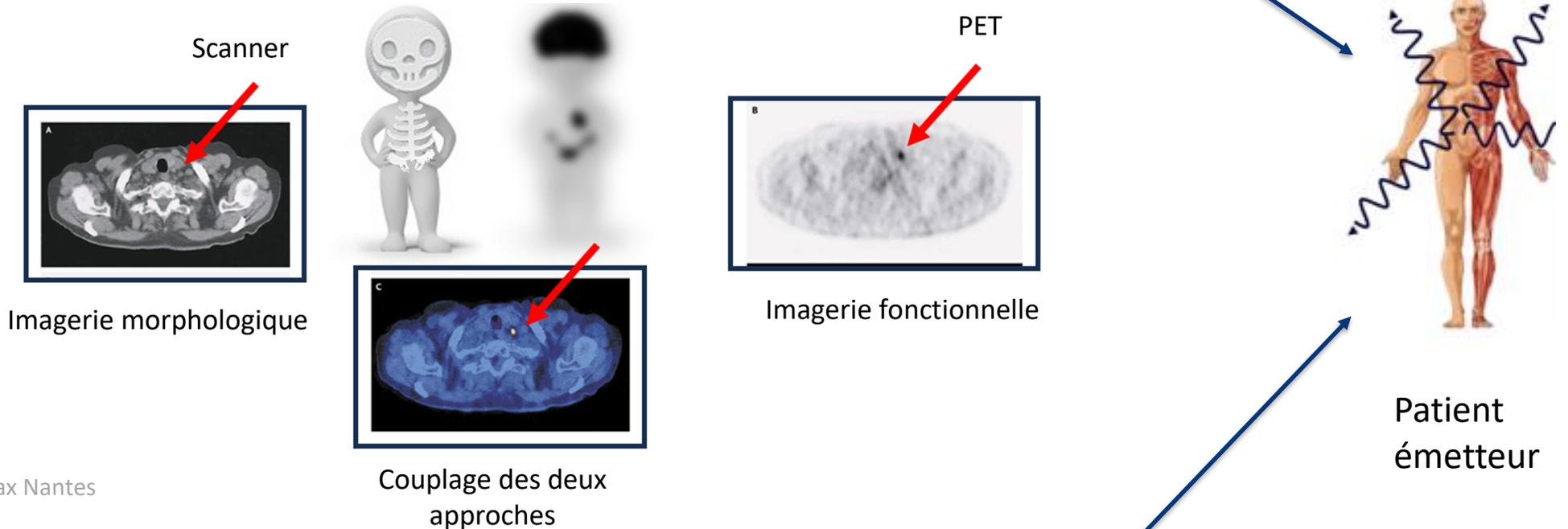
- son type de rayonnement



# Notions générales: thérapies ciblées en médecine nucléaire

## Utilisation diagnostique

- Par scintigraphie
- Par PET (Tomographie d'émission de positons)
- +/- scanner qui permet de localiser précisément les anomalies après fusion avec les images de médecine nucléaire



## Utilisation thérapeutique

- Radiothérapie interne vectorisée

# Notions générales: thérapies ciblées en médecine nucléaire

## Théranostique

- Contraction des termes «thérapeutique» et «diagnostique»
- Combinaison des deux approches



Anticorps vecteur

+

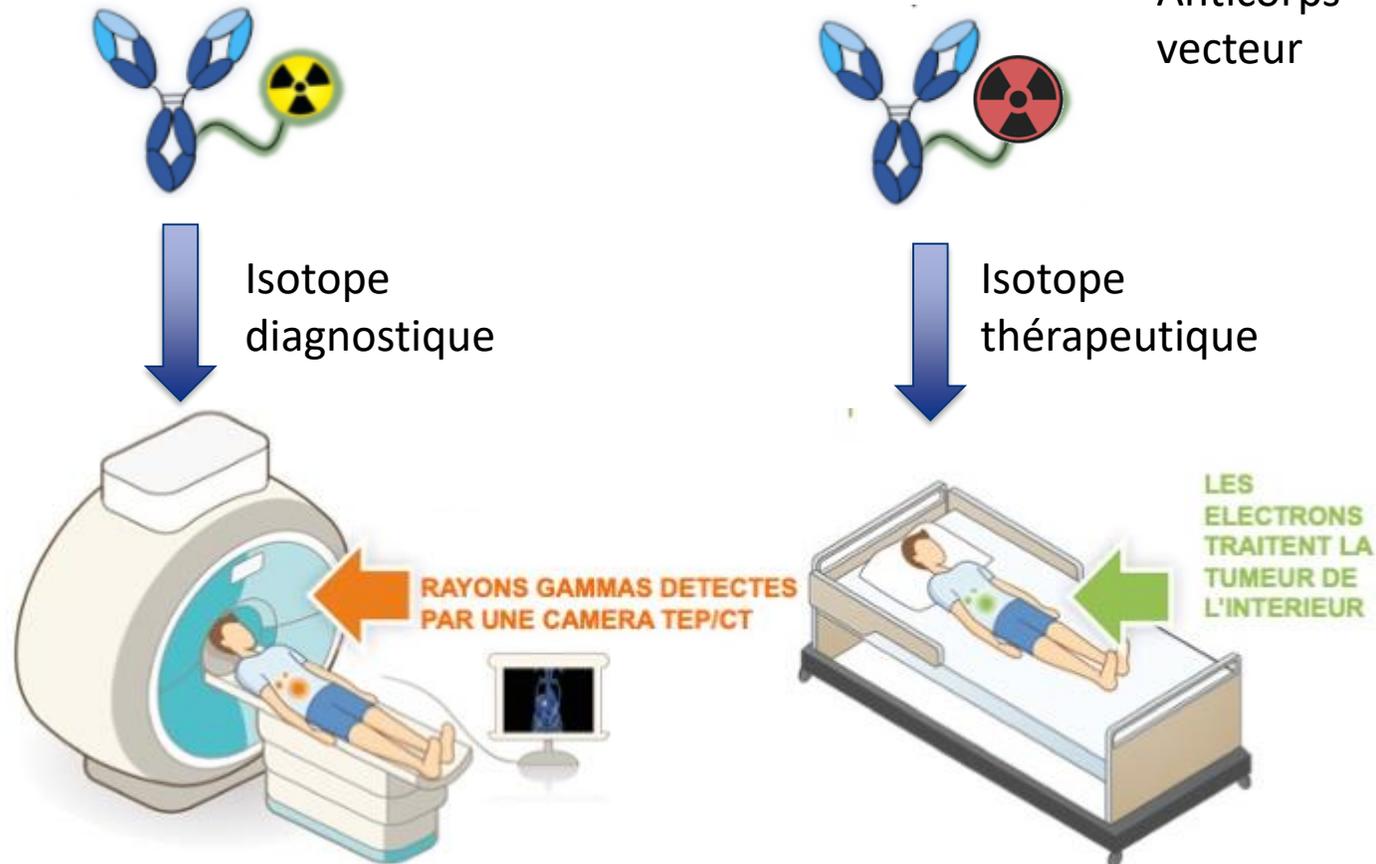


Cage moléculaire

+



Isotope radioactif



Thérapie guidée par l'imagerie

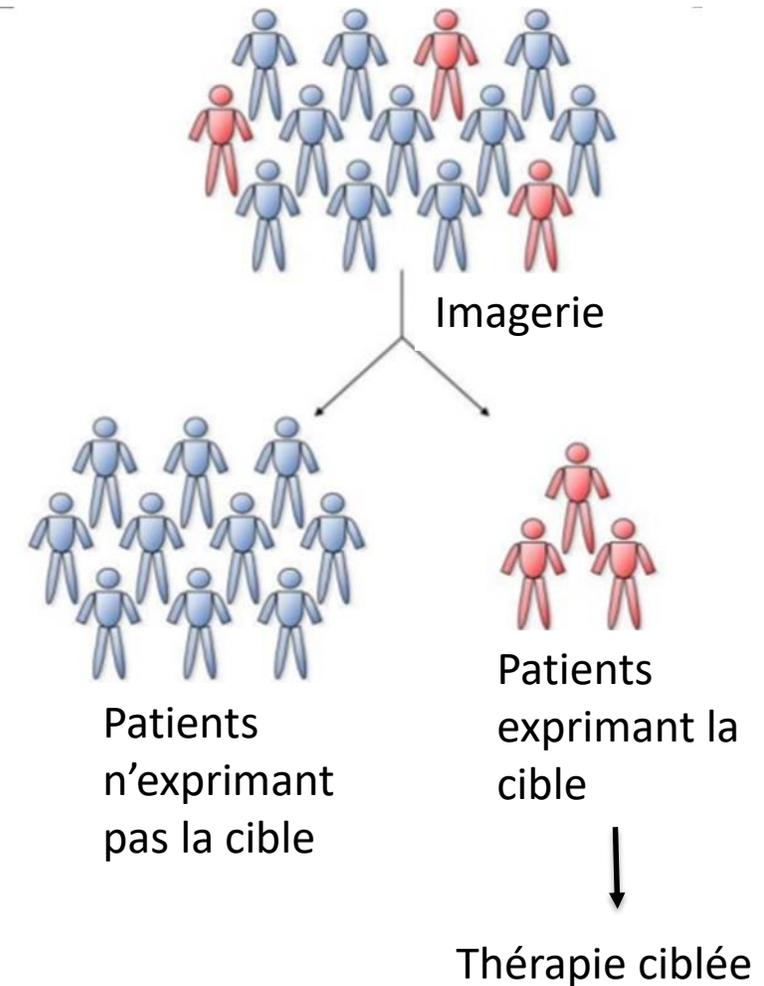
# Notions générales: thérapies ciblées en médecine nucléaire

## Avantages :



- Diagnostic :
  - Identification de la cible sur les cellules cancéreuses
  - Sélection des patients potentiellement répondeurs
- Traitement :
  - Individualisation en regard de la pathologie
  - Ciblage thérapeutique et diminution des effets indésirables pour le patient
  - Suivi de la réponse au traitement

Médecine personnalisée



# Etapes du développement d'un nouveau radiopharmaceutique

Répondre aux besoins cliniques

Prise en charge des neuroblastomes et des sarcomes des tissus mous

Recherche d'une cible adaptée

TEM-1

Phase de développement préclinique

Synthèse du précurseur  
Radiomarquage  
Tests in vitro  
Tests in vivo

Passage vers la clinique

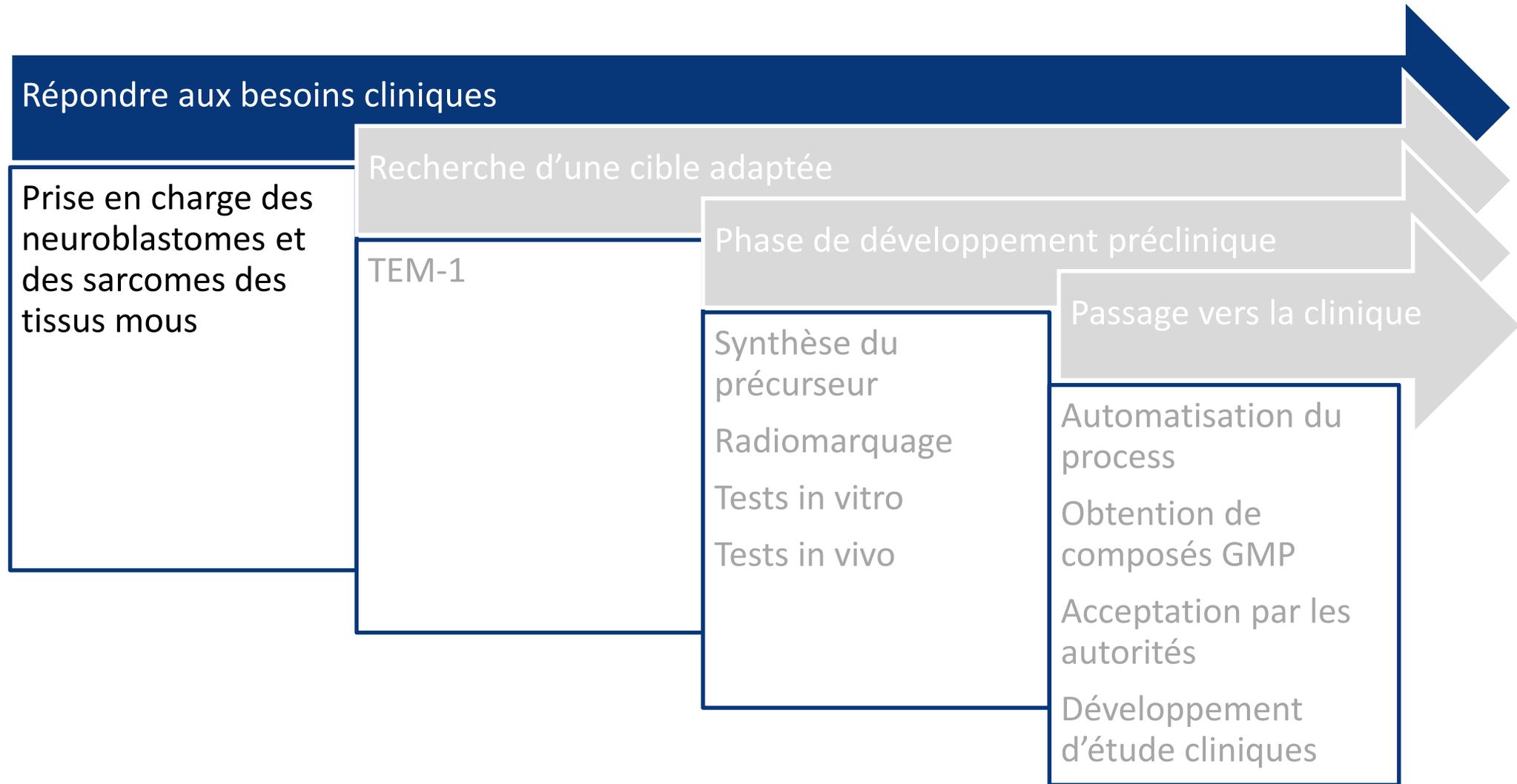
Automatisation du process  
Obtention de composés GMP  
Acceptation par les autorités  
Développement d'étude cliniques

Médecine nucléaire, CHUV, Lausanne

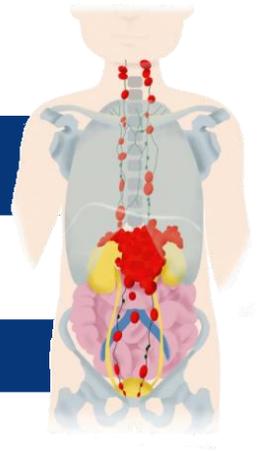
CRCINA, Nantes

Département d'oncologie, CHUV, Lausanne

# Etapas du développement d'un nouveau radiopharmaceutique



# Neuroblastome: Prise en charge



## Tumeur du système nerveux périphérique

- 1ère tumeur solide extra crânienne du jeune enfant

## Différents stades

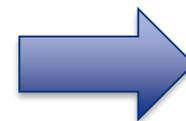
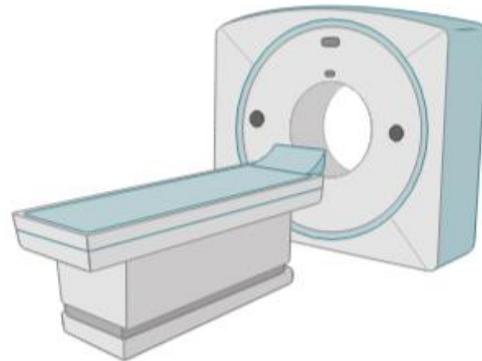
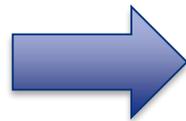
- bas risque



- haut risque avec faible pronostic



## Intérêt de développer une nouvelle approche théranostique

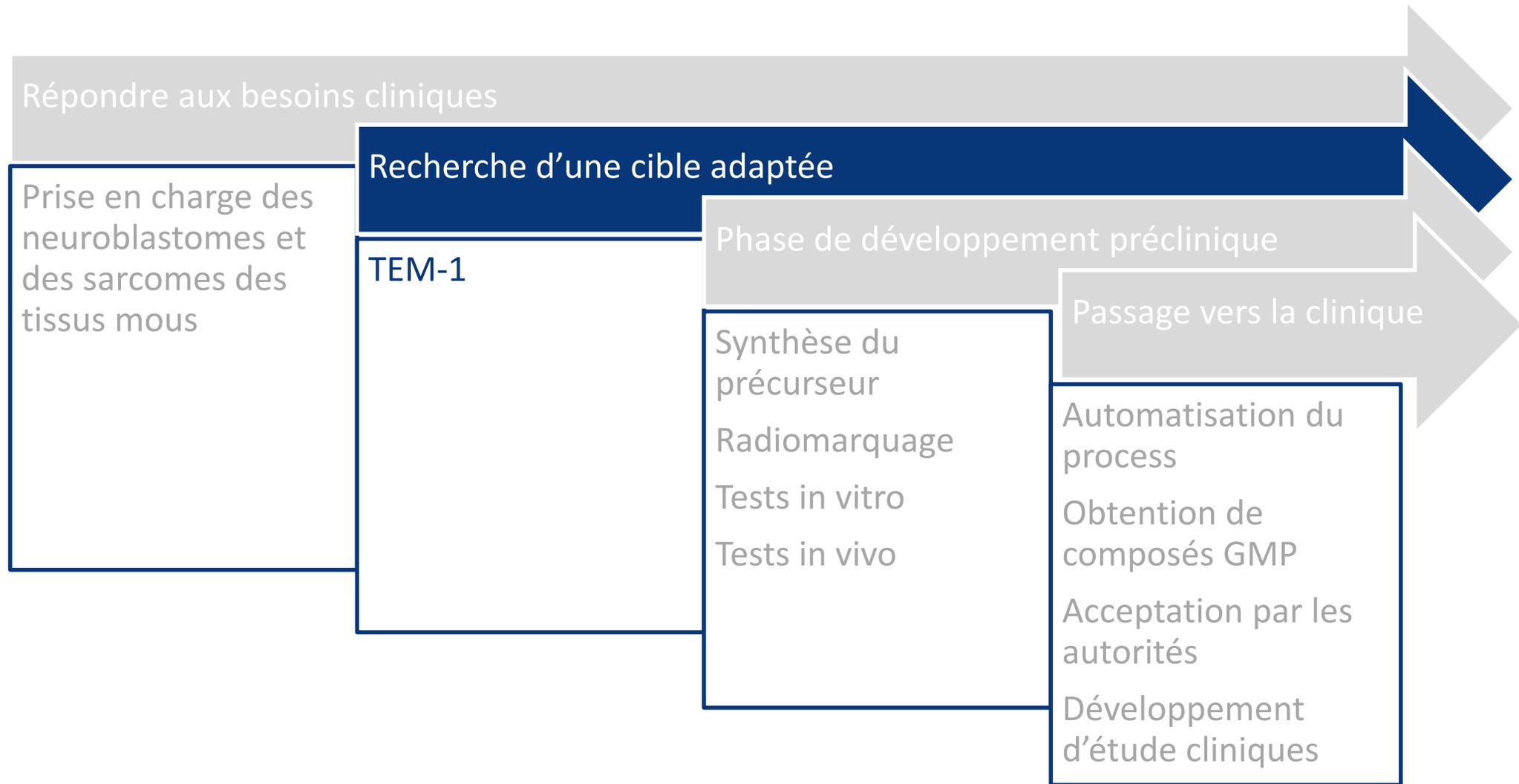


Radio-immunothérapie

Imagerie PET/SCAN

Thérapie personnalisée

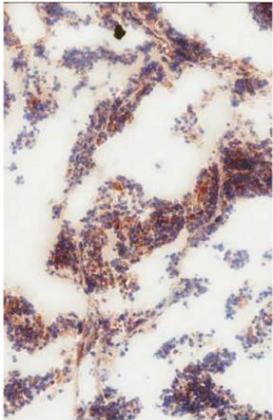
# Etapas du développement d'un nouveau radiopharmaceutique



# Neuroblastome et TEM-1

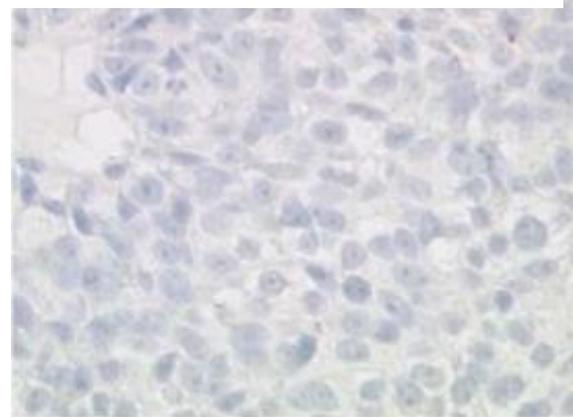
## Expression de TEM-1

- Microenvironnement tumoral
- Cellules tumorales

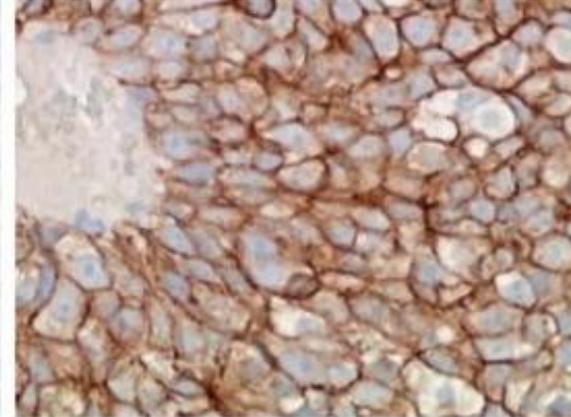


Coupe de neuroblastome humain

Isotype control



Anti-endosialin



Tumeur sous cutanée SK-N-AS

Rouleau et al. IJO 2011

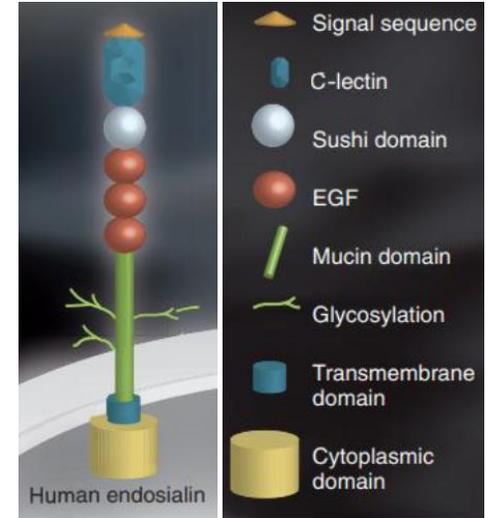
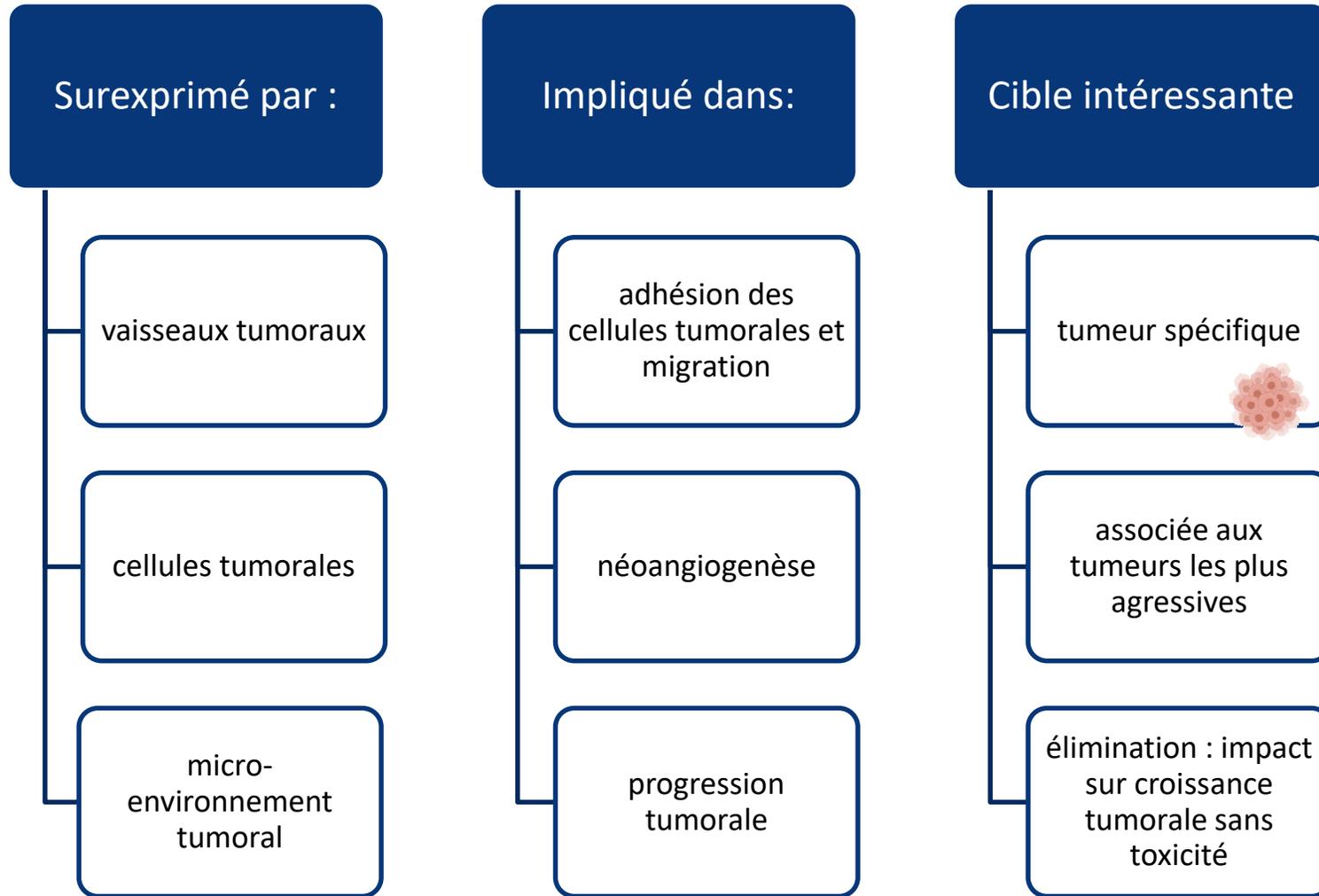
Développement foetal : expression à haut niveau



Adulte : expression limitée au contexte pathologique

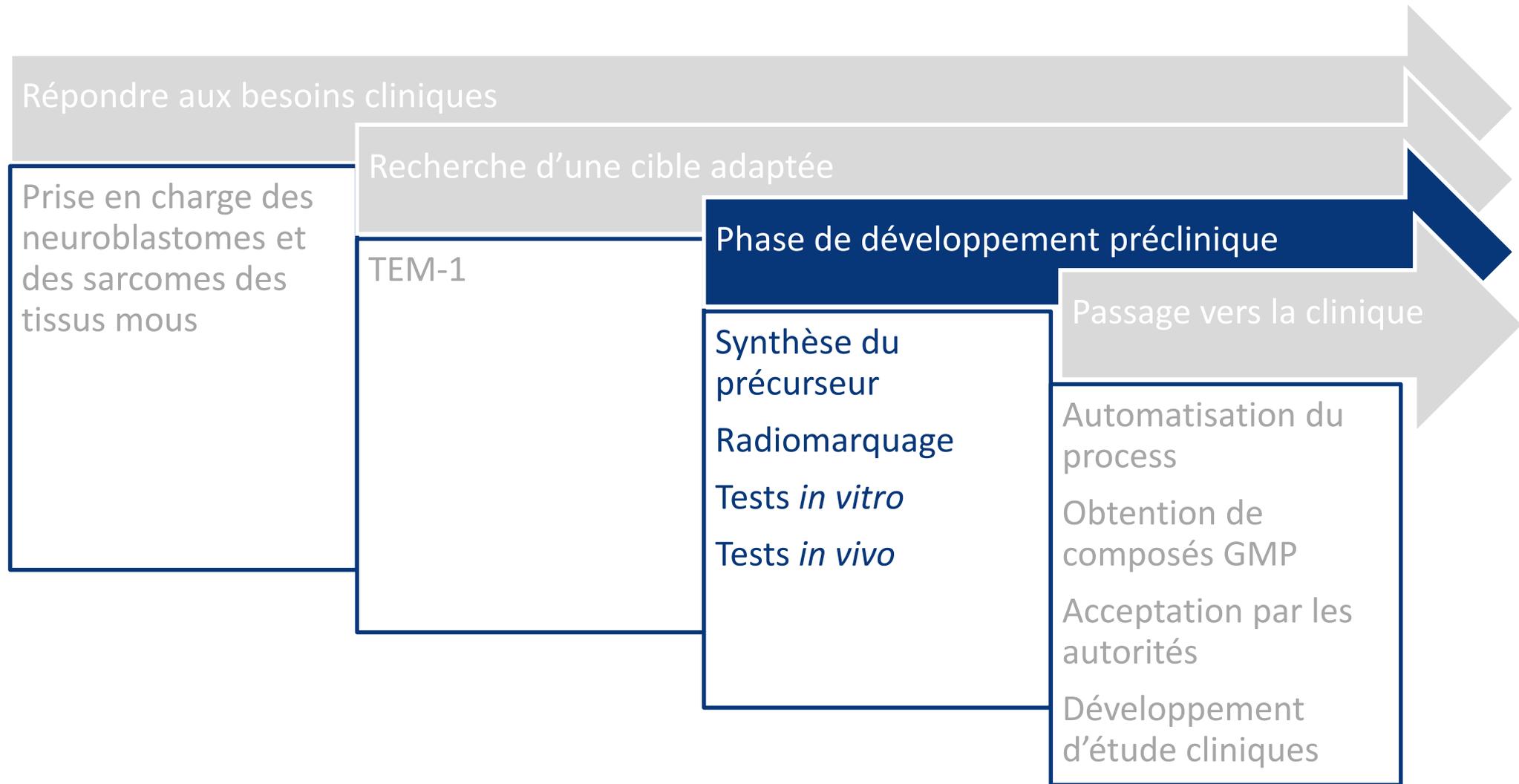


# Tumor Endotelial Marker-1 (TEM-1) : Rôle en oncologie



Bagley et al.  
Biomark Med. 2001

# Etapas du développement d'un nouveau radiopharmaceutique



# FOCUS SUR LE DÉVELOPPEMENT PRÉCLINIQUE

# Chapitre 1 :

## Radiomarquage et étude préclinique du 1C1m-Fc marqué au $^{177}\text{Lu}$

Delage et al. *EJNMMI Research* (2020) 10:98  
<https://doi.org/10.1186/s13550-020-00685-3>

EJNMMI Research

ORIGINAL RESEARCH

Open Access

### $^{177}\text{Lu}$ radiolabeling and preclinical theranostic study of 1C1m-Fc: an anti-TEM- 1 scFv-Fc fusion protein in soft tissue sarcoma



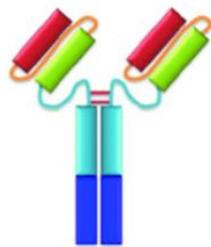
J. A. Delage<sup>1</sup>, A. Faivre-Chauvet<sup>2</sup>, J. K. Fierle<sup>3</sup>, S. Gnesin<sup>4</sup>, N. Schaefer<sup>5</sup>, G. Coukos<sup>6</sup>, S. M. Dunn<sup>3</sup>, D. Viertl<sup>5</sup> and  
J. O. Prior<sup>5\*</sup> 

# Objectif



Développement et étude d'un anticorps radiomarqué au  $^{177}\text{Lu}$  dirigé contre la cible TEM-1 dans un but thérapeutique

# Matériel



Anticorps



Isotope radioactif



Lignées de cellules  
cancéreuses



Modèle animal

Anticorps dirigé contre la cible TEM-1  
Nommé 1C1m-Fc  
Protéine de fusion  
Poids moléculaire intermédiaire  
Meilleure pénétration tumorale  
Gain de stabilité

# Objectif



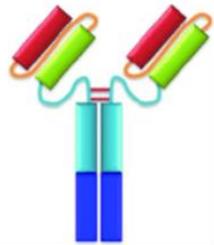
Développement et étude d'un anticorps radiomarqué au  $^{177}\text{Lu}$  dirigé contre la cible TEM-1 dans un but thérapeutique

Isotope Radioactif  
Lutétium 177 :  $^{177}\text{Lu}$



Propriétés thérapeutiques : dépose de l'énergie avec court parcours dans la matière

# Matériel



Anticorps  
1C1m-Fc



Isotope radioactif



Lignées de cellules  
cancéreuses



Modèle animal

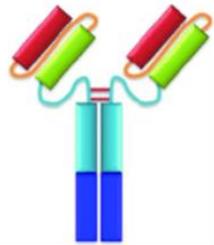
# Objectif



Développement et étude d'un anticorps radiomarqué au <sup>177</sup>Lu dirigé contre la cible TEM-1 dans un but thérapeutique

Lignées cellulaires humaines  
Exprimant la cible TEM-1 + (neuroblastome)  
N'exprimant pas la cible TEM-1 - : contrôle

# Matériel



Anticorps  
1C1m-Fc



Isotope radioactif



Lignées de cellules  
cancéreuses



Modèle animal

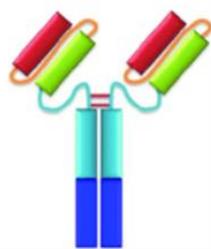
# Objectif



Mise au point d'un anticorps radiomarqué au <sup>177</sup>Lu dirigé contre la cible TEM-1 dans un but thérapeutique

Modèle animal  
Souris femelles immunodéprimées

# Matériel



Anticorps  
1C1m-Fc



Isotope radioactif



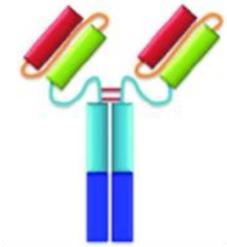
Lignées de cellules  
cancéreuses



Modèle animal

# Tests *in vitro*

**Etape 1 :** combinaison de l'Anticorps avec la cage moléculaire

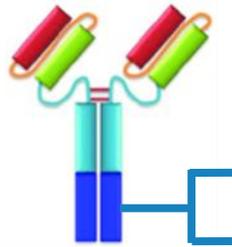


1C1m-Fc  
Anticorps

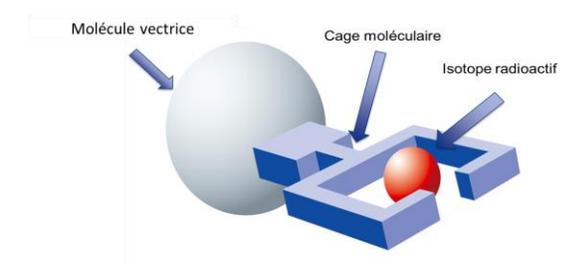
+



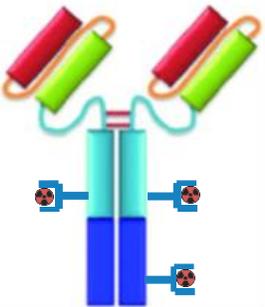
Cage  
chélate :  
DOTA



Anticorps conjugué



**Etape 2 :** Ajout d'un isotope radioactif

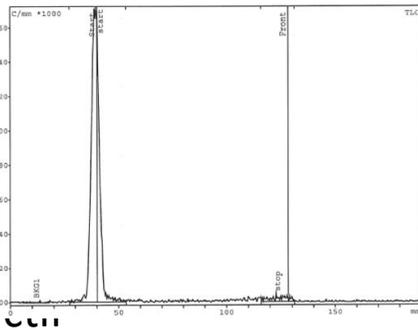


Anticorps conjugué  
3 chélates retenus

+



Isotope  
radioactif

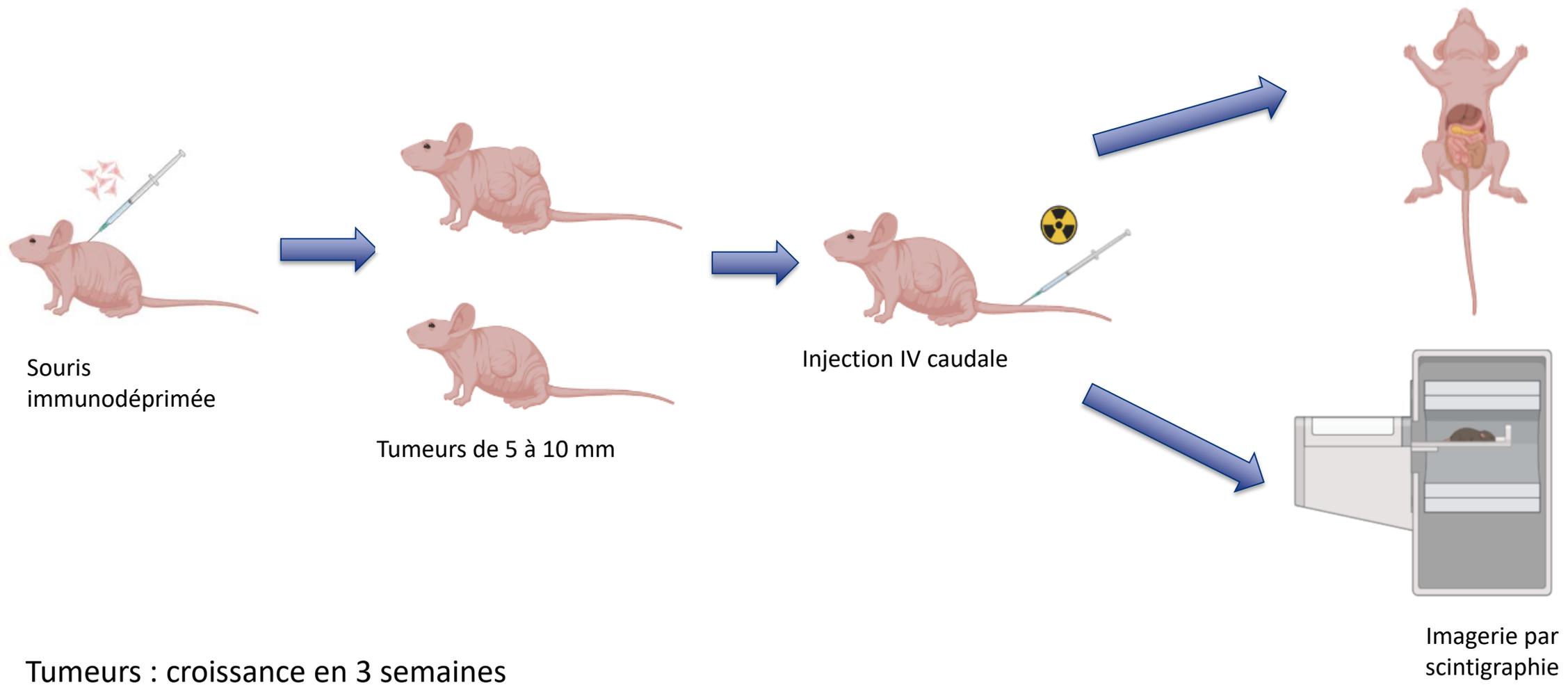


Assure un radiomarquage  
avec une activité suffisante  
Anticorps radiomarqué

**Etape 3 :** validation de notre composé *in vitro*  
Détermination son affinité pour sa cible TEM-1

# Tests *in vivo*

**Xénogreffes** : greffes de souris avec des cellules humaines



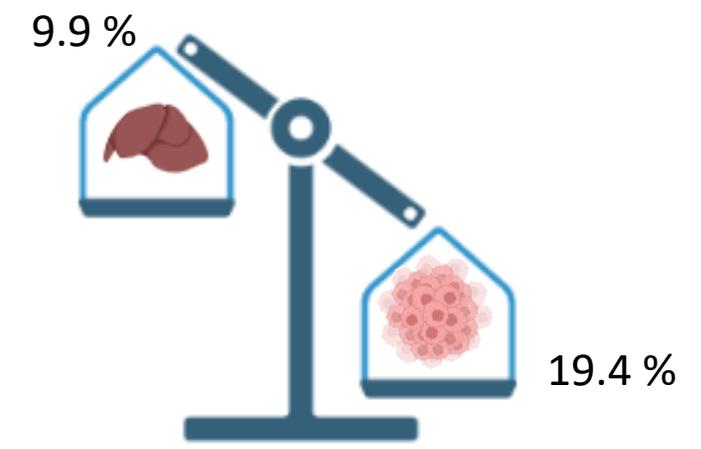
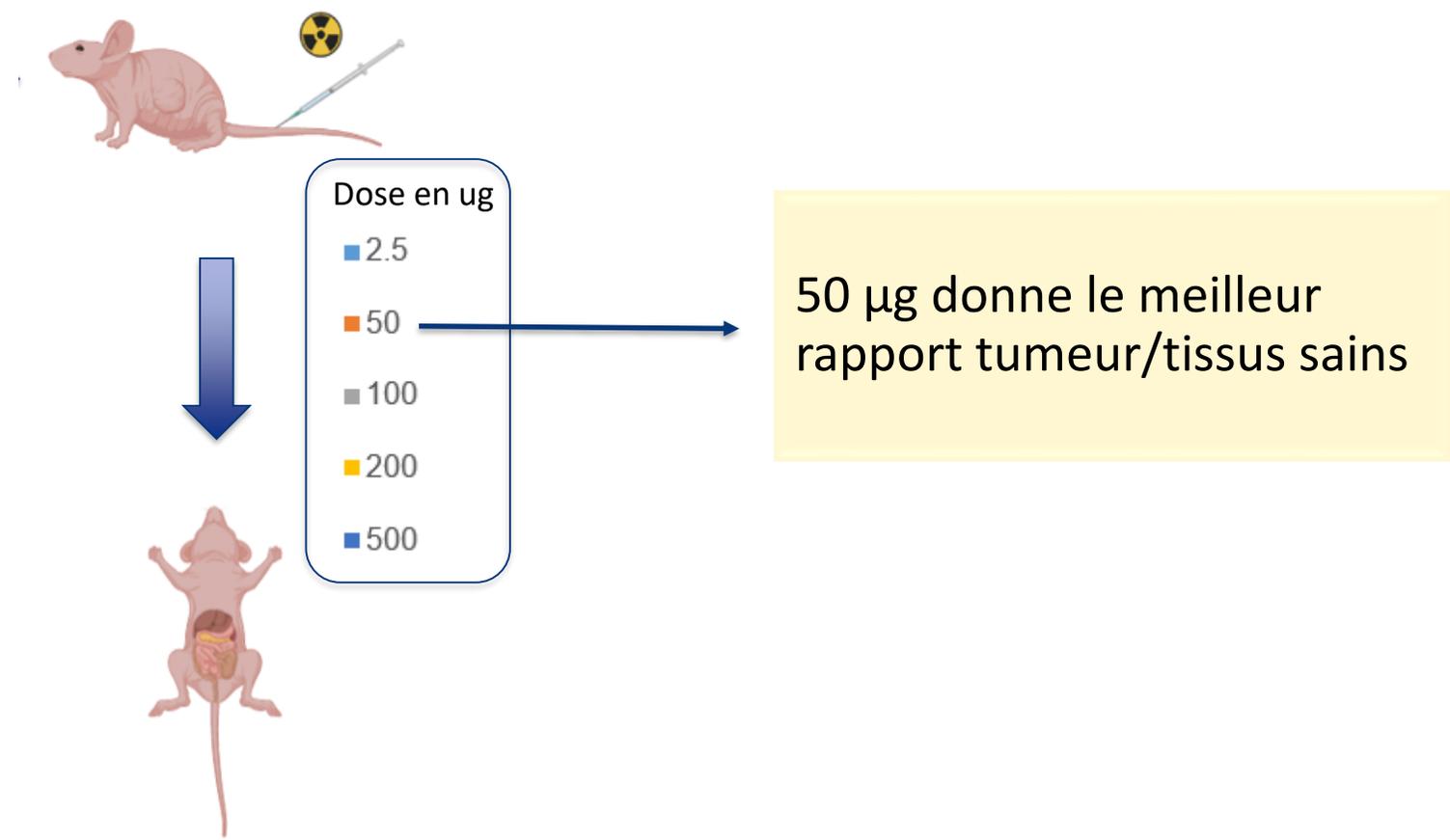
# Tests *in vivo*

## Détermination de la dose d'Anticorps à utiliser (n=3)

Injection de doses croissantes d'Anticorps

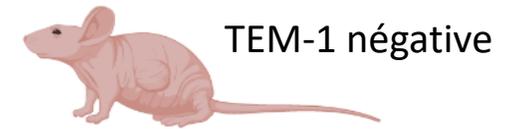
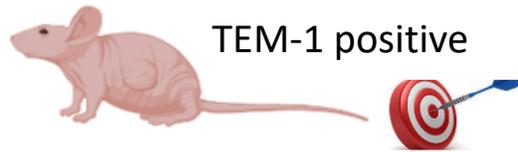
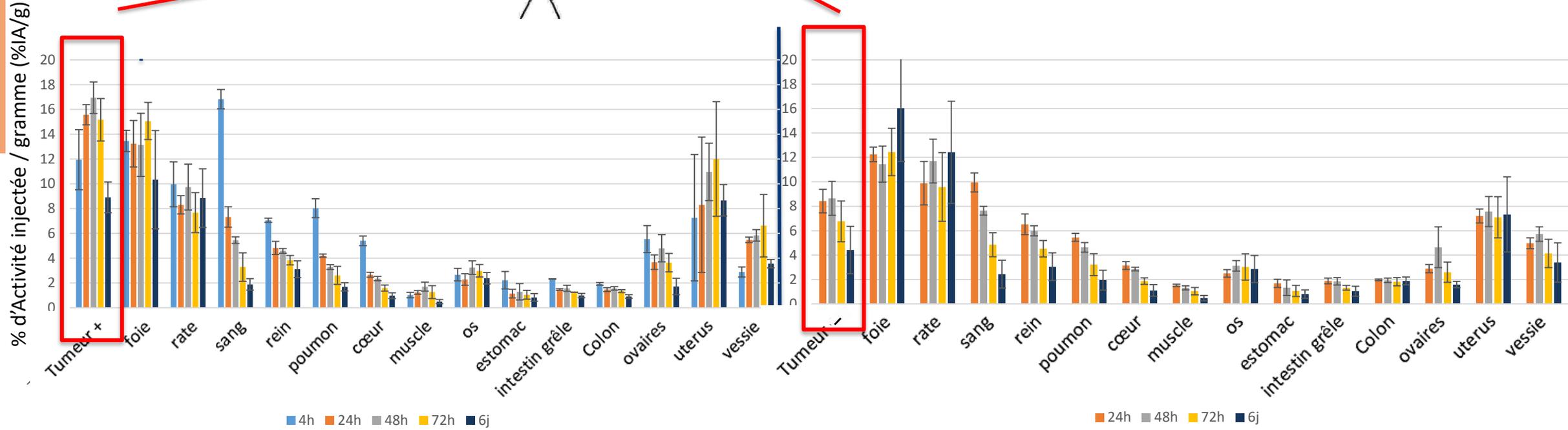
But : avoir le meilleur rapport Tumeur / Tissus Sains

Sacrifice à 24 h et étude de la répartition de la dose selon les organes



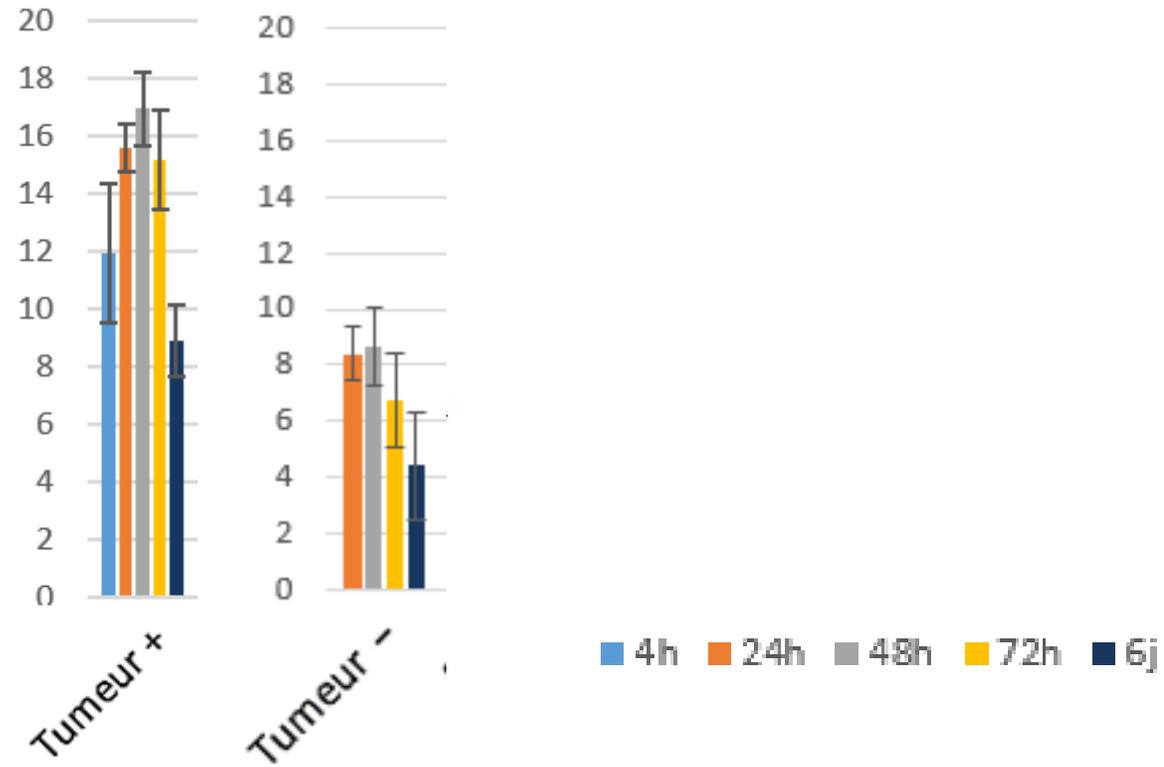
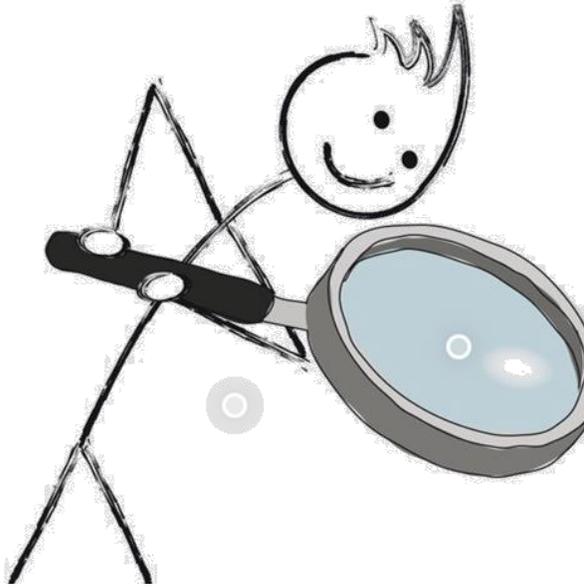
# Tests *in vivo*

## Biodistribution



# Tests *in vivo*

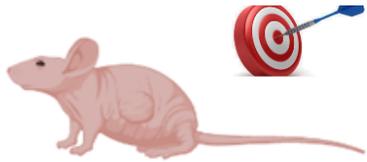
## Biodistribution



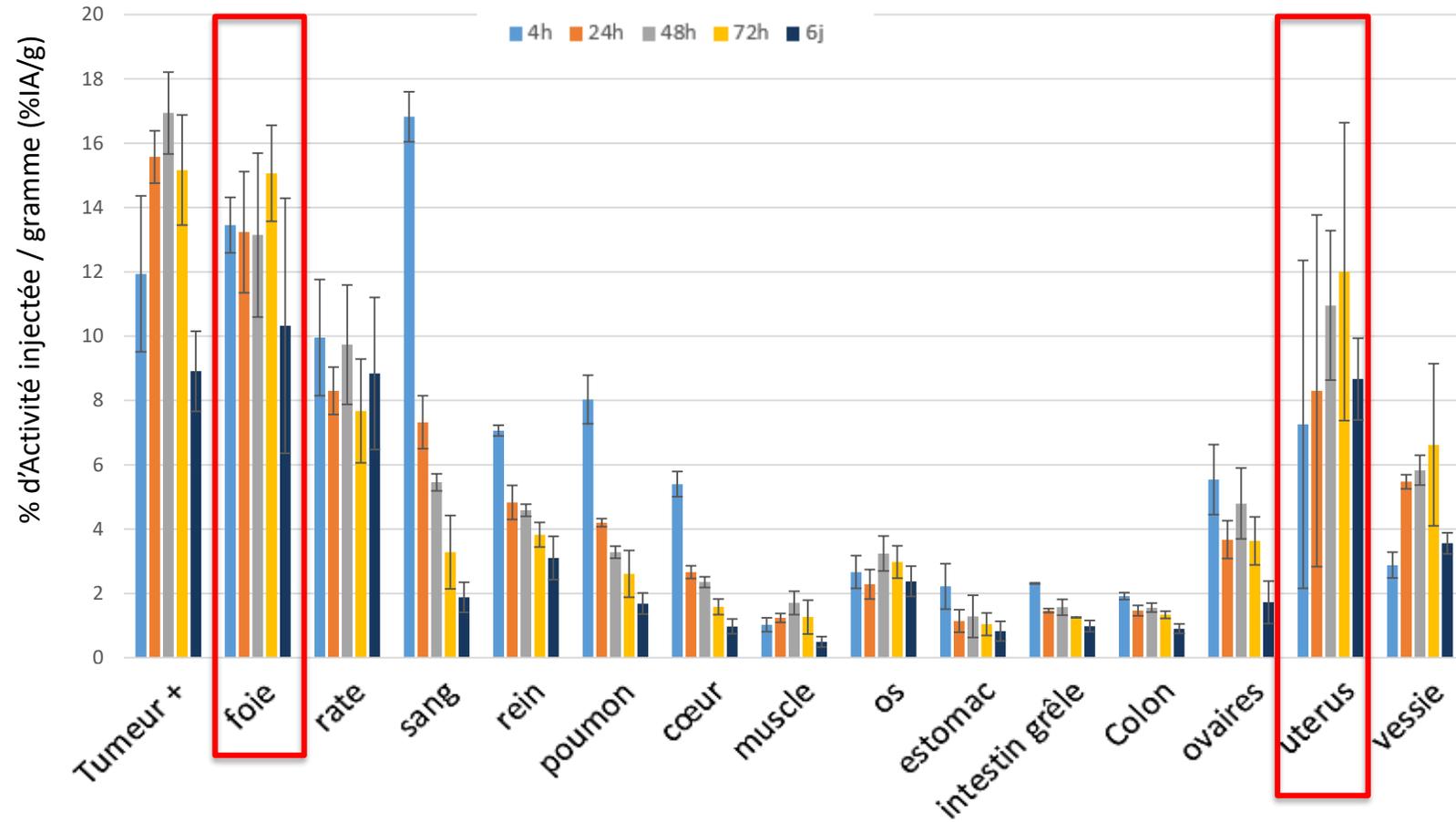
Fixation deux fois plus importante dans la tumeur exprimant la cible

# Tests *in vivo*

## Biodistribution



TEM-1 positive

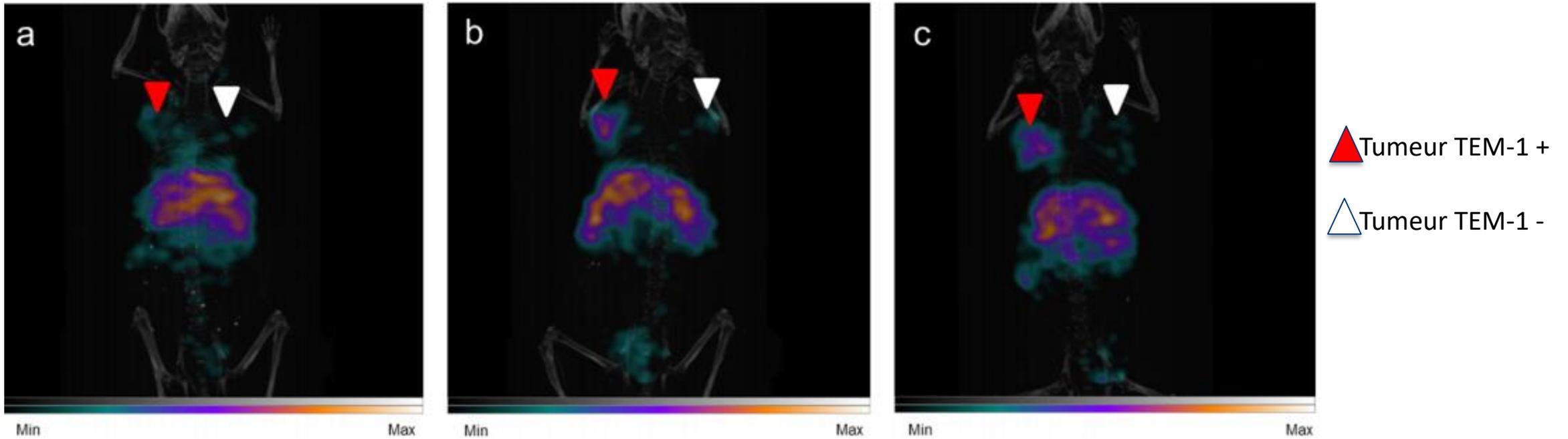


Fixation au niveau du foie et de l'utérus

# Tests *in vivo*



## Imagerie en scintigraphie



Imagerie SPECT/CT du  $^{177}\text{Lu}$ -1C1m-Fc 18.5 MBq  $\pm$  1.8 MBq (a) à 24h, (b) à 48h, (c) à 72h

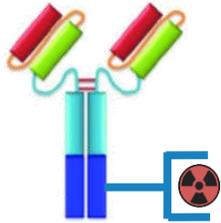
Fixation spécifique sur la cible TEM-1  
 Fixation au niveau du foie

# Discussion/Conclusion

## TEM-1 cible intéressante

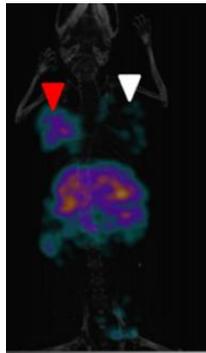


## 1C1m-Fc radiomarcqué au lutetium-177 candidat validé

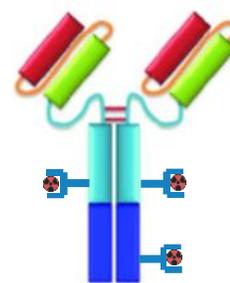


Radiomarquage  
Spécificité pour la tumeur TEM-1 +

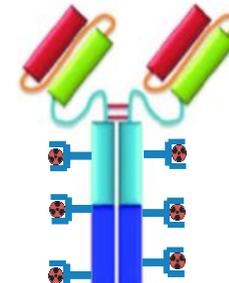
## Fixation hépatique



A explorer et optimiser  
Hypothèse : nombre de cages, chélates



vs



11 %



79 %

# Chapitre 2 :

## Impact du nombre de chélates sur la pharmacocinétique et l'Immunoréactivité du 1Cm-Fc marqué au $^{177}\text{Lu}$



pharmaceutics



Article

### Impact of DOTA Conjugation on Pharmacokinetics and Immunoreactivity of [ $^{177}\text{Lu}$ ]Lu-1C1m-Fc, an Anti TEM-1 Fusion Protein Antibody in a TEM-1 Positive Tumor Mouse Model

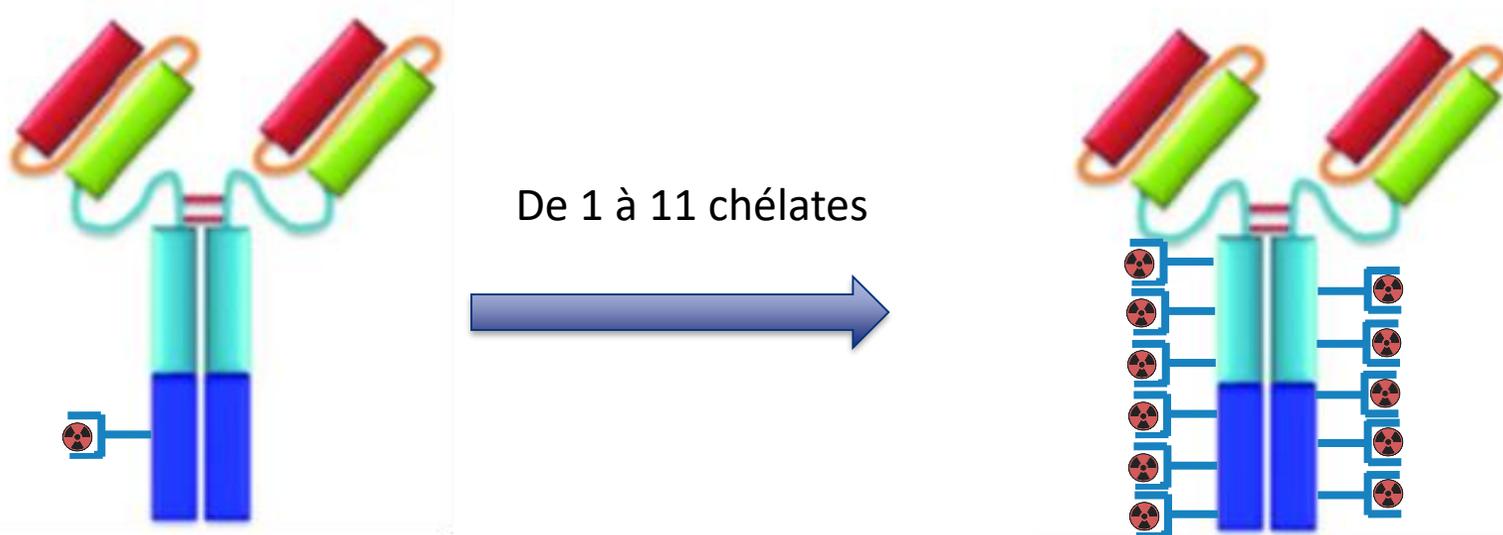
Judith Anna Delage <sup>1,\*</sup>, Alain Faivre-Chauvet <sup>2</sup>, Jacques Barbet <sup>3</sup>, Julie Katrin Fierle <sup>4</sup>, Niklaus Schaefer <sup>5</sup>, George Coukos <sup>6</sup>, David Viertl <sup>5</sup>, Steven Mark Dunn <sup>4</sup>, Silvano Gnesin <sup>7</sup> and John O. Prior <sup>5,\*</sup>

# Objectif



Valider l'hypothèse de l'impact du nombre de cages (chélates) sur le comportement biologique de notre radiopharmaceutique

Anticorps greffé avec un nombre croissant de chélates



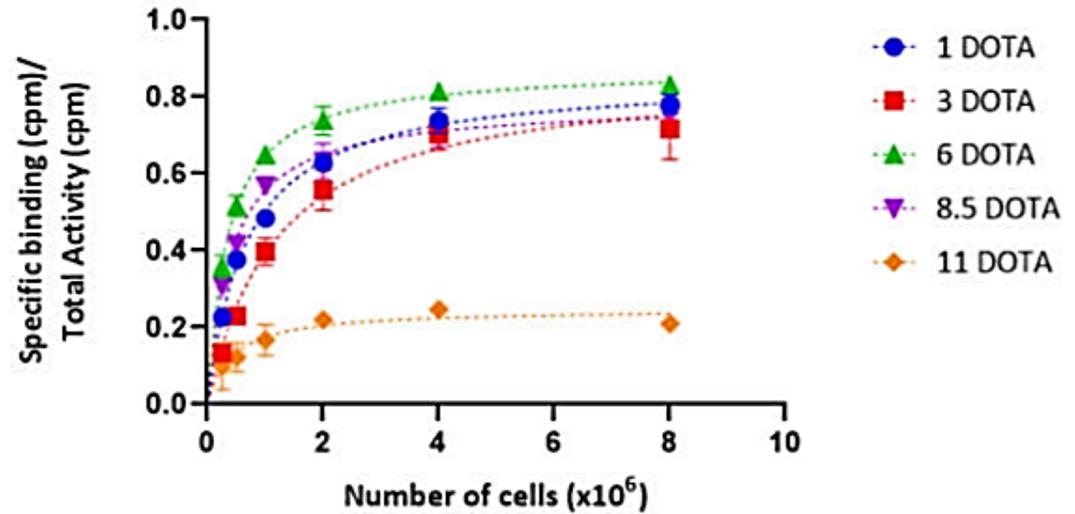
# Tests *in vitro*

## Evaluation de l'immunoréactivité des composés en fonction du nombre de chélates (DOTA)

Mesure du % de fixation de l'anticorps sur la cible

Nombre de DOTA par Immunoréactivité (%)

1C1m-Fc	
1	85.1 ± 1.3
3	86.2 ± 2.7
6	87.5 ± 1.0
8.5	78 ± 1.4
11	24 ± 1.7



Pas différence jusqu'à 8.5 chélates ( $p > 0.068$ )

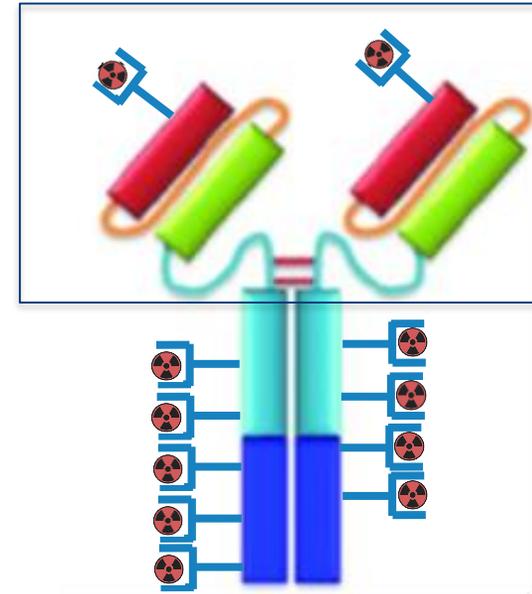
Perte majeure à partir de 11 chélates ( $p < 0.0001$ )

# Tests *in vivo*

## Evaluation de l'immunoréactivité des composés en fonction du nombre de chélates (DOTA)

Mesure du % de fixation de l'anticorps sur la cible

Nombre de DOTA par 1C1m-Fc	Immunoréactivité (%)
1	85.1 ± 1.3
3	86.2 ± 2.7
6	87.5 ± 1.0
8.5	78 ± 1.4
11	24 ± 1.7



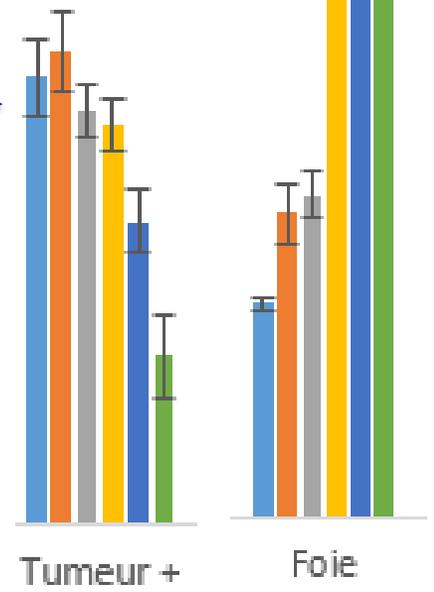
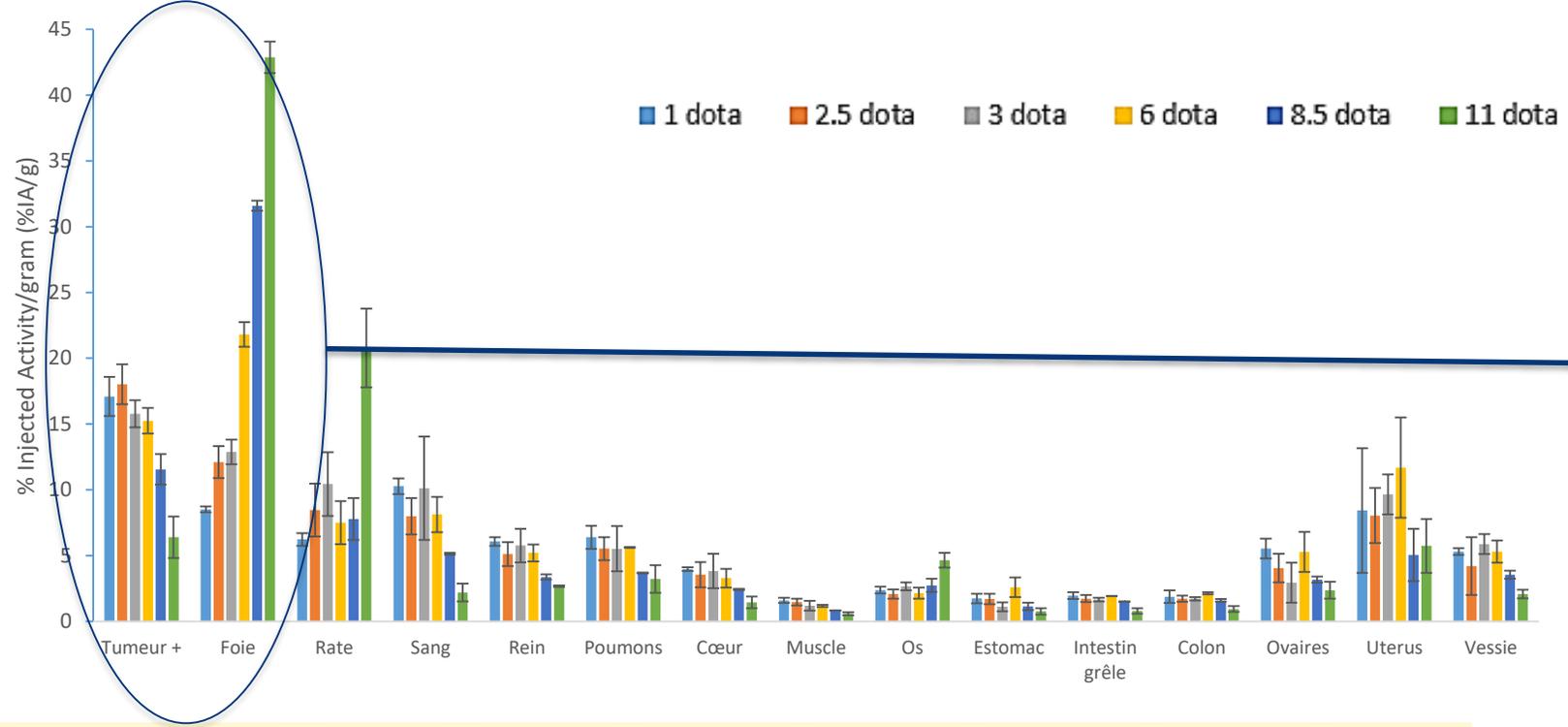
Altération de la zone de reconnaissance de l'Anticorps

Pas différence jusqu'à 8.5 chélates ( $p > 0.068$ )  
 Perte majeure à partir de 11 chélates ( $p < 0.0001$ )

# Tests *in vivo*

## Biodistribution à 24h (n=3)

6 ratios de chélates, souris avec tumeurs TEM-1 + 50 ug d'anticorps

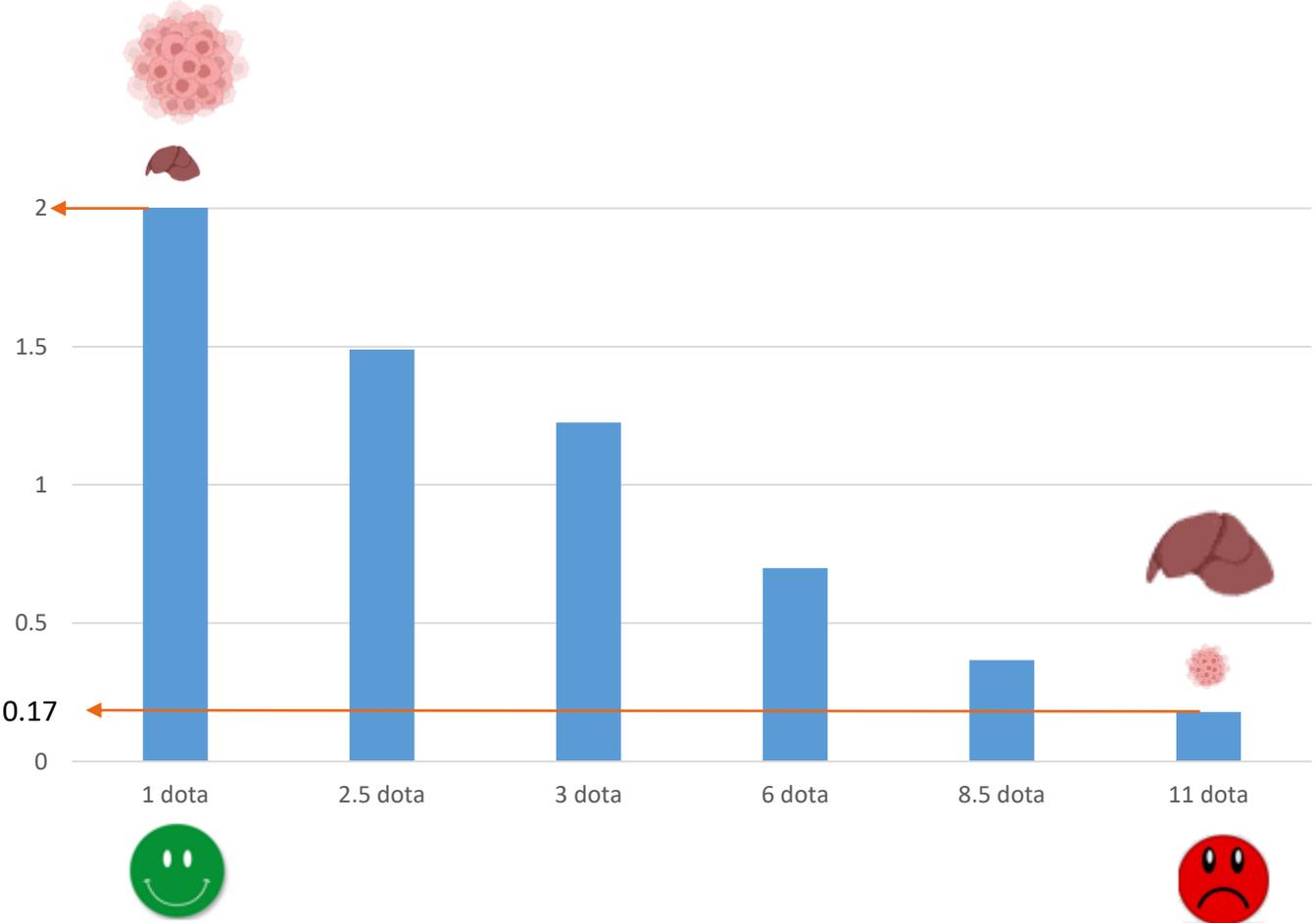


Augmentation du nombre de chélates:  
 - Diminution significative de la fixation tumorale  
 - Augmentation de la fixation hépatique

# Tests *in vivo*

## Evaluation du rapport tumeur/foie en fonction du nombre de chélates

Sacrifice des souris (n=3) à 24 h et biodistribution



Corrélation inverse entre le rapport tumeur/foie et le nombre de chélates  
 Spearman test :  $\rho = -0.99$  ;  $p < 0.0001$

# Discussion/Conclusion

## Validation de notre hypothèse



Impact du nombre de chélates sur

- l'immunoréactivité de notre anticorps
- sa distribution dans l'organisme

## Compréhension primordiale pour le développement de nouveaux radiopharmaceutiques



1ère étude démontrant cet impact

Opportunité d'améliorer la distribution et le contraste en imagerie

Balancer le nombre de chélates le plus faible permettant d'avoir une dose radioactive suffisante

## Validation de notre composé pour la thérapie

Intérêt de développer un composé compagnon pour l'imagerie



# Chapitre 3 :

## Intérêt du 1Cm-Fc marqué au $^{64}\text{Cu}$ pour prédire l'efficacité et la sécurité d'un traitement au $^{177}\text{Lu}$



*Article*

### Copper-64-labeled 1C1m-Fc, a new tool for TEM-1 PET imaging and prediction of Lutetium-177-labeled 1C1m-Fc therapy efficacy and safety

Judith AnnaDelage<sup>1,6\*</sup>, Silvano Gnesin<sup>2</sup>, John O. Prior<sup>3\*</sup>, Jacques Barbet<sup>4</sup>; Patricia Le Saëc<sup>5</sup>, Séverine Marionneau Lambot<sup>5</sup>, Sébastien Gouard<sup>5</sup>, Michel Chereif<sup>5</sup>, Mickael Bourgeois<sup>4</sup>, Niklaus Schaefer<sup>3</sup>, David Viertl<sup>6,7</sup>, Julie Katrin Fierle<sup>8</sup>, Steven Mark Dunn<sup>8</sup>, Alain Faivre-Chauvet<sup>5</sup>

# Objectif



Etudier l'intérêt de notre anticorps marqué au  $^{64}\text{Cu}$  pour l'imagerie du TEM-1 et pour prédire la réponse en thérapie

Isotope Radioactif

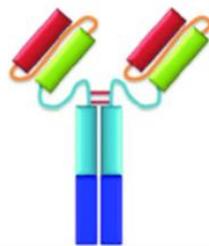
Cuivre 64 :  $^{64}\text{Cu}$

Produit à Nantes

Propriétés diagnostiques : utilisation en PET/SCAN



# Matériel



Anticorps  
1C1m-Fc



Isotope radioactif



Lignées de cellules  
cancéreuses



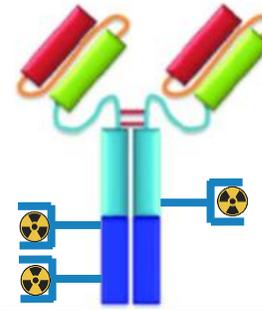
Modèle animal

# Objectif

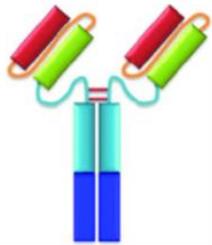


Etudier l'intérêt de notre anticorps marqué au  $^{64}\text{Cu}$  pour l'imagerie du TEM-1 et pour prédire la réponse en thérapie

Mise au point du radiomarquage au  $^{64}\text{Cu}$



# Matériel



Anticorps  
1C1m-Fc



Isotope radioactif



Lignées de cellules  
cancéreuses

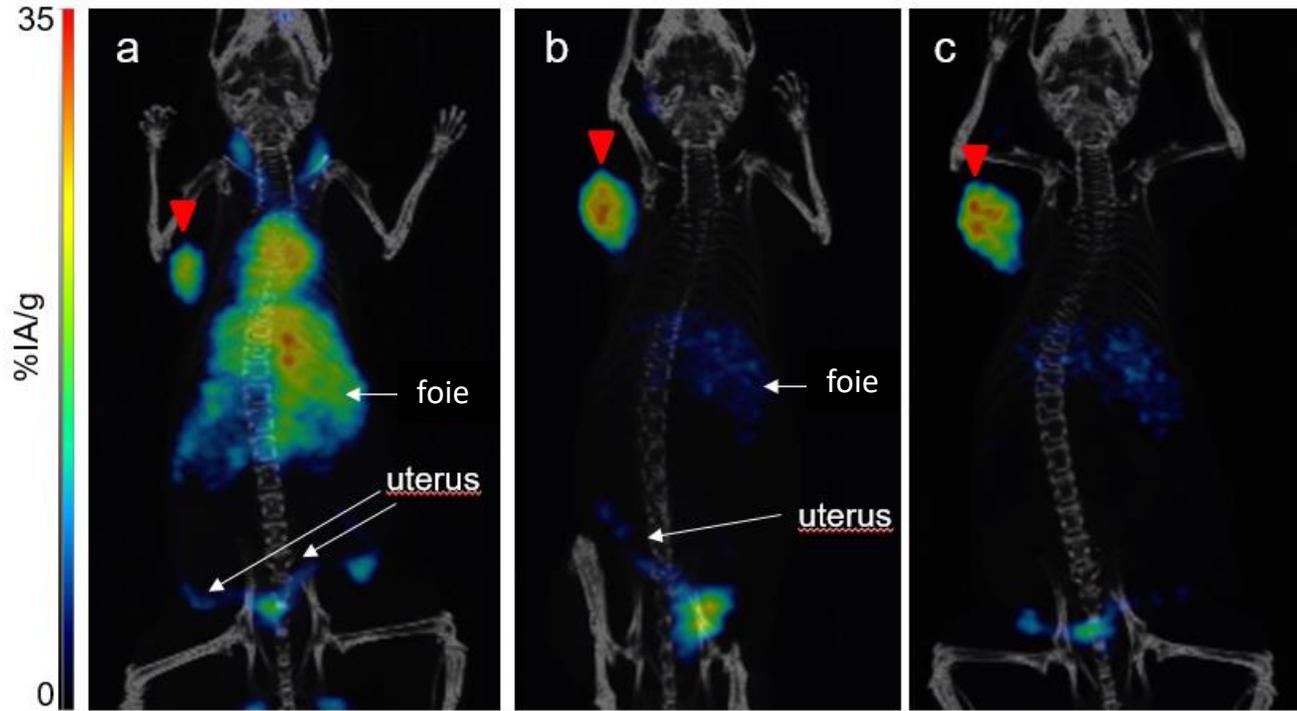


Modèle animal

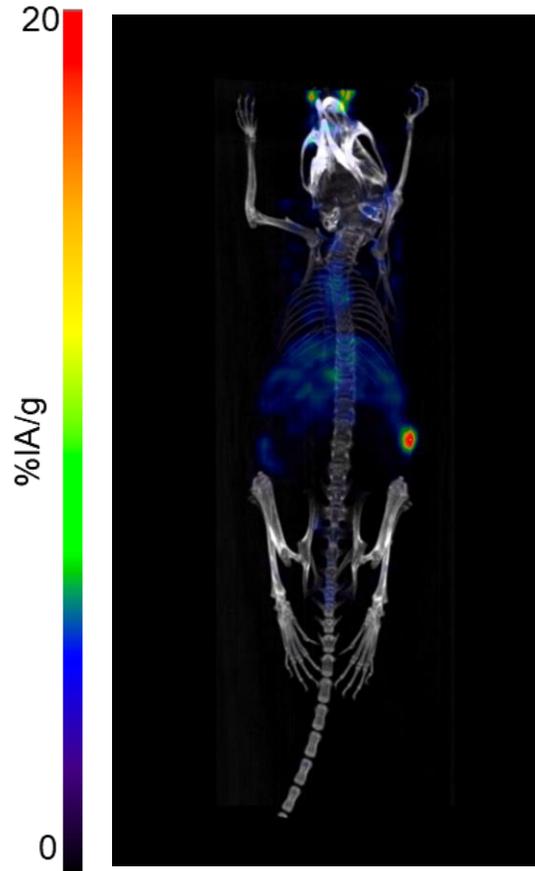
# Tests *in vivo*

## Imagerie PET/SCAN

▼ Tumeur TEM-1 +



Imagerie PET/CT du  $^{64}\text{Cu}$ -1C1m-Fc 6 MBq  $\pm$  0.3 MBq (a) à 4h, (b) à 24h, (c) à 48h

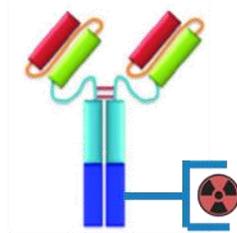


Imagerie à 24h 7.4 MBq double tumeur

Images de haute qualité

# Discussion/Conclusion

## 1C1m-Fc radiomarqué au cuivre-64 candidat validé



Radiomarquage  
Spécificité pour la cible

## Intérêt en imagerie

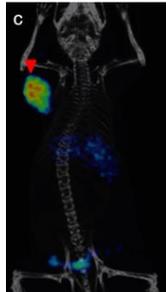
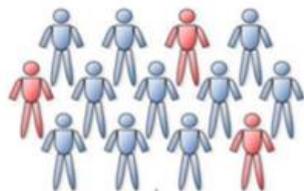


Image PET scan de haute qualité

## Intérêt de notre anticorps radiomarqué au <sup>64</sup>Cu pour une approche théranostique



Pour sélectionner les patients répondeurs  
Pour donner une première estimation de la toxicité de la thérapie

# DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

# Points mis en évidence par ce projet

## Intérêt de la nouvelle protéine de fusion 1C1m-Fc

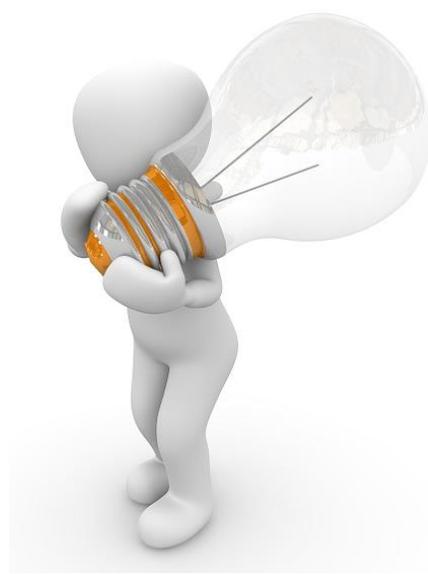
- Spécificité pour la cible TEM-1

## Mise en évidence de l'impact du nombre de chélates

- Intérêt majeur pour améliorer la biodistribution et le contraste en imagerie des radiopharmaceutiques

## Validation du ciblage de TEM-1 par le couple $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$

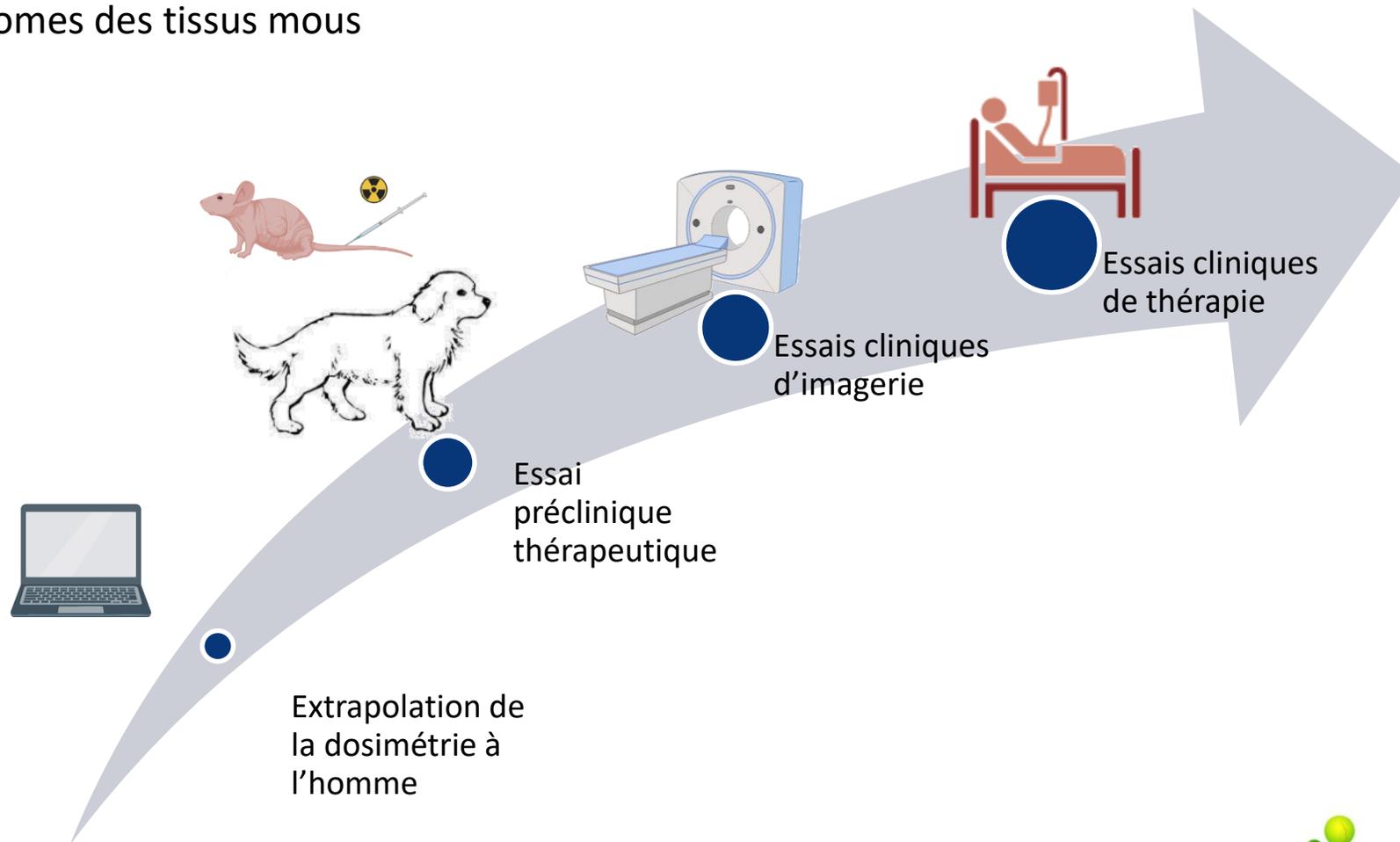
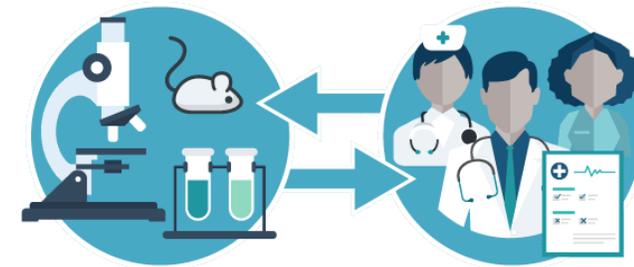
- Images PET/scan de haute qualité au Cuivre-64
- Intérêt thérapeutique du Lutetium-177 après évaluation au Cuivre-64



# Du préclinique à la clinique

Mise en application d'une nouvelle approche clinique pour les cancers de mauvais pronostic exprimant TEM-1 :

- Neuroblastomes
- Sarcomes des tissus mous



# Remerciements

## **Service de médecine nucléaire et d'imagerie moléculaire, CHUV**

Professeur John PRIOR  
Professeur Niklaus SCHAEFER  
Docteur Silvano GNESIN

## **Ludwig Institute for Cancer Research**

Professeur George COUKOS  
Docteur Steven DUNN  
Docteur Julie FIERLE

## **Translational Radiopharmaceutical Sciences Group, CHUV**

Docteur David VIERTL  
Professeure Margret SCHOTELLIUS

## **Service de pharmacie, CHUV**

Professeur SADEGHIPOUR

## **Equipe 13, unité 1232 CRCINA Nantes**

Professeur Alain FAIVRE-CHAUVET  
Professeur Michel CHEREL  
Sébastien GOUARD  
Docteur Séverine MARIONNEAU-LAMBOT  
Patricia REMAUD LE-SAEC

## **GIP Arronax Nantes**

Docteur Jacques BARBET

## **Laboratoire de radiopharmacie, CHUV**

Kilian CASAGRANDE	Marcia CERQUEIRA
Julien COSTES	Samuel ERISMANN
Thomas BAUMGARTNER	Cédric NOE
Joelle CAPUTO	Caroline POZZA
Joelle de FIGUEIREDO	Catarina TEXEIRA
Olivier FABRE	Emilie URBANIAK
Philippe HOULMANN	