

VU Research Portal

Tumor characterization using radiolabeled anti-cancer drugs in NSCLC patients

Bahce, I.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Bahce, I. (2017). *Tumor characterization using radiolabeled anti-cancer drugs in NSCLC patients*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

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

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Discussie

De studies in dit proefschrift onderzoeken de tumorkenmerken van patiënten met NSCLC d.m.v. PET met radioactief gelabelde doelgerichte geneesmiddelen (*radiolabeled targeting agents*). Meer bepaald wordt er gekeken in hoeverre deze beeldvormende technieken in staat zijn om de gevoeligheid van tumoren voor een behandeling middels deze *targeting agents* te voorspellen. In deze *proof-of-concept* studies werden [¹¹C]erlotinib als TKI-PET *tracer* en [⁸⁹Zr]bevacizumab als immunoPET *tracer* gebruikt. Erlotinib en bevacizumab werden gekozen omdat ze vaak gebruikte middelen zijn in de dagelijkse praktijk.

Hoofdstuk 2

In hoofdstuk 2 wordt een overzicht gegeven van de huidige literatuur over TKI-PET en immunoPET bij NSCLC. In deze *review* werden ook de studies die in dit proefschrift zijn beschreven opgenomen.

Uit deze *review* blijkt dat de TKI-PET studies bij NSCLC patiënten tot nu toe alleen met EGFR-TKIs zijn gedaan. De 2 meest bestudeerde EGFR-TKIs waren [¹¹C]PD153035 en [¹¹C]erlotinib. In preklinisch onderzoek hebben deze *tracers* aangetoond dat tumoren met activerende EGFR-mutaties een hogere opname hadden, wat erop kan duiden dat de toegenomen affiniteit van gemuteerde EGFR moleculen voor TKIs kan worden afgebeeld. In klinische *pilot*-studies kon opname van beide *tracers* in tumoren worden gevisualiseerd en gekwantificeerd, ook werden significante correlaties gevonden tussen hoge tumor *tracer*opname en gevoeligheid voor erlotinib-therapie. Deze *tracers* die gelabeld zijn met koolstof-11 zijn (o.w.v. hun korte halfwaardetijd) niet geschikt voor routinematig gebruik in de dagelijkse klinische praktijk. Om deze beperking te kunnen overkomen werden EGFR-TKI onderzocht die gelabeld zijn met fluor-18, wat een langere halfwaardetijd heeft, bijv. [¹⁸F]F-PEG6-IPOA en [¹⁸F]afatinib. In preklinische studies toonden deze *tracers* een betere signaal/ruis verhouding van de tumor tot de achtergrond dan respectievelijk [¹¹C]PD153035 en [¹¹C]erlotinib. Klinische studies met deze fluor-18 gelabelde *tracers* zijn lopende.

Deze *review* laat ook zien dat er preklinisch immunoPET onderzoek gedaan is met radioactief gelabelde mAbs die gericht zijn tegen bijna alle behandelbare doelwitten in de behandeling van NSCLC, te weten EGFR, VEGF-A, VEGFR2 en PD-1. De expressie van deze *targets* kon middels immunoPET in beeld worden gebracht. Echter, slechts een zeer beperkt aantal klinische immunoPET studies zijn gepubliceerd bij patiënten met NSCLC. Bijna alle klinische studies gebruikten [⁸⁹Zr]bevacizumab en konden aantonen dat de *tracer*opname in tumoren kon worden gevisualiseerd en gekwantificeerd. Verder werden er verschillende

interessante correlaties gevonden tussen [⁸⁹Zr]bevacizumab-opname in de tumor en de klinische uitkomst van bevacizumab-behandelingen, echter, deze waren niet conclusief en blijft de predictieve en prognostische waarde van [⁸⁹Zr]bevacizumab PET nog onduidelijk.

Hoofdstuk 3

De studie in hoofdstuk 3 beschrijft de resultaten van de eerste klinische [¹¹C]erlotinib PET-studie naar de invloed van activerende EGFR mutaties op de opname van [¹¹C]erlotinib in NSCLC tumoren. In deze studie werd a.h.v. de PET data eerst het model bepaald wat het best overeenkwam met het farmacokinetisch gedrag van deze *tracer*, hierbij werd gebruik gemaakt van arteriële bloedsampling en metabolietenanalyse. Deze uitgebreide analyse was nodig om de meest accurate maat voor het kwantificeren van de *tracer*opname te bepalen. In deze studie werden 10 patiënten met NSCLC geïnccludeerd, te weten 5 patiënten met een EGFR exon 19 deletie en 5 zonder. Patiënten werden tweemaal gescand (om de test-retest variabiliteit te beoordelen) op dezelfde dag. Elke scanprocedure omvatte een CT-scan, een dynamische [¹⁵O]H₂O PET-scan (voor het beoordelen van de tumorperfusie) en een dynamische [¹¹C]erlotinib PET-scan.

Het *reversible 2-tissue compartment* model met metaboliet-gecorrigeerde arteriële plasma *input* (2T4k) kwam het best overeen met de PET-data met daarbij het distributievolume (V_T) als beste maat voor het kwantificeren van de [¹¹C]erlotinib-opname in tumoren. Deze studie toonde aan dat de V_T van alle tumoren met een activerende EGFR mutatie significant hoger was dan de V_T van de tumoren zonder activerende mutaties. De V_T -waarden waren goed te reproduceren. De verhoogde *tracer*opname in de gemuteerde groep werd toegeschreven aan de toegenomen specifieke binding door de verhoogde affiniteit van het gemuteerde EGFR voor de TKI. Andere variabelen zoals EGFR expressie of tumorperfusie waren gelijk tussen de groepen en konden het verschil in V_T tussen de groepen niet verklaren. Deze studie toont aan dat TKI-PET de potentie heeft om de specifieke TKI-affiniteit van de receptoren te *imagen*.

Hoofdstuk 4

Hoofdstuk 4 toont de resultaten van een uitgebreide methodologisch onderzoek naar het beste farmacokinetisch model voor [¹¹C]erlotinib. Vergeleken met de vorige studie omvatte deze methodologische studie meer patiënten, bovendien werd de PET-data vergeleken met een groter aantal kinetische modellen en werden er correlaties onderzocht met vereenvoudigde modellen. Dit laatste is nodig voor het kunnen uitvoeren van statische PET scans, bv voor *whole body* (WB) scans. Voor deze methodologische analyse, werd PET-data gebruikt van dynamische [¹⁵O]H₂O

en [¹¹C]erlotinib scans, verkregen bij 17 NSCLC patiënten, waarvan 8 patiënten met en 9 zonder een activerende EGFR mutatie. In 10 van de 17 patiënten, was een retest scan op dezelfde dag beschikbaar. De PET-data werd vergeleken met *1-tissue* en *2-tissue* modellen met reversibele en irreversibele plasma *input*. Daarenboven werden verschillende geavanceerde modellen onderzocht, waaronder varianten zonder correctie voor de metabolieten-fracties in het plasma. Vereenvoudigde modellen zoals *standardized uptake value* (SUV) en *tumor-to-blood ratio* (TBR) werden geëvalueerd voor meerdere scan-intervallen.

Deze methodologische studie toonde aan dat de tracerkinetiek het beste beschreven werd a.h.v. het *reversible 2-tissue* model met metaboliet-ongecorrigeerde arteriële plasma *input* (2T4k-WP). De V_T -waarden geschat volgens 2T4k-WP en 2T4k (van de eerdere studie, Hoofdstuk 3) waren sterk gecorreleerd, ze vertoonden een vergelijkbare test-retest variabiliteit en konden een vergelijkbaar klinisch groeponderscheid maken tussen gemuteerde en niet-gemuteerde tumoren. Op dit laatste punt deed het 2T4k model het niet beter dan het ongecorrigeerde model (2T4k-WP), dit berustte waarschijnlijk op een onzekerheid in de schatting van de ware metabolietenfracties in het plasma. Bij de vereenvoudigde modellen bleken de SUV waarden geen evenwicht te bereiken binnen het tijdsbeloop van de scan en konden daarom niet worden gebruikt. Daarentegen, was TBR genormaliseerd t.o.v. *whole blood* (TBR-WB) in het interval van 40-60 minuten na de injectie (p.i.) best gecorreleerd met V_T (afgeleid van 2T4k-WP). Dit geeft aan dat statische [¹¹C]erlotinib scanprotocols best uitgevoerd worden in het 40-60 minuten p.i. interval met behulp van TBR-WB als kwantitatieve maat voor opname.

Hoofdstuk 5

Hoofdstuk 5 onderzoekt het effect van orale erlotinib-therapie op het farmacokinetisch gedrag van [¹¹C]erlotinib, de [¹¹C]erlotinib-opname in de tumor en de tumorperfusie. Daarnaast is in deze studie (vergelijkbaar met het vorige hoofdstuk) ook gekeken naar de bruikbaarheid van vereenvoudigde modellen (SUV en TBR), waarbij deze keer TBR o.b.v. veneus bloed werd vergeleken met TBR waarden o.b.v. arteriële *input*. Als veneuze bloednames gebruikt kunnen worden i.p.v. arteriële samples, kan de arteriële achterwege gelaten worden.

Tien van de 13 geïnccludeerde patiënten werden 2 maal gescand binnen een periode van 1 à 2 weken, te weten 1 keer met en 1 keer zonder erlotinib-therapie. Elke scanprocedure omvatte een CT-scan, een dynamische [¹⁵O]H₂O PET-scan (tumorperfusie) en een dynamische [¹¹C]erlotinib PET-scan met arteriële en veneuze sampling op 6 tijdstippen. De tracerkinetiek van [¹¹C]erlotinib tijdens

therapie kwam het beste overeen met het 2T4k model met V_T als maat voor *traceropname*. De V_T van de tumor was bij alle patiënten lager tijdens de erlotinib-therapie. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een afname in de beschikbare bindingsplaatsen onder erlotinib-therapie, d.w.z. dat de ATP binding *pockets* van de EGFR-moleculen bezet worden door de overvloedig aanwezige ongelabelde erlotinib-moleculen. Dit effect wordt niet veroorzaakt door veranderingen in de tumorperfusie, omdat deze onveranderd bleef onder erlotinib-therapie.

De analyse van de vereenvoudigde modellen toonde aan dat zowel arteriële als veneuze TBR-waarden in de 40-50 en 50-60 min p.i. intervallen sterk correleerden met V_T -waarden, terwijl deze correlatie niet werd gezien tussen V_T en SUV-waarden. Dit bevestigde de conclusies van het vorige hoofdstuk in een nieuwe dataset. Er werd een sterke correlatie gezien tussen TBR-waarden op basis van arteriële en veneuze samples, echter, de veneuze sampling toonde een lagere opname, dit maakt het direct uitwisselen van veneuze en arteriële TBR-waarden met elkaar niet mogelijk.

Hoofdstuk 6

In hoofdstuk 6 wordt de casus beschreven van een patiënte met een NSCLC tumor met een activerende EGFR-mutatie, die 2 maal een dynamische [^{11}C]erlotinib PET-scans onderging over het beloop van haar ziekte. Haar eerste PET-scan, voorafgaand aan haar behandeling met erlotinib, toonde een homogeen toegenomen *traceropname* in alle delen van de tumor. Hierna startte ze met de erlotinib-therapie en zij bleef vrij van progressie voor 18 maanden. Vervolgens was er ziekteprogressie t.p.v. de primaire tumor en een tweede [^{11}C]erlotinib PET-scan werd gemaakt na het staken van de erlotinib-therapie. Deze PET-scan toonde aan dat de *traceropname* over het geheel van de tumor was afgenomen en dat het opnamepatroon meer heterogeen was geworden. Een biopsie uit een gebied met lage *traceropname* toonde de aanwezigheid aan van de secundaire resistentiemutatie T790M. Deze bevindingen ondersteunen het concept dat TKI-PET de (regionale) tumorgevoeligheid voor TKIs kan *imagen*, waarbij ook nog heterogeniteit kan worden vastgesteld binnenin een tumorlesie. Verder illustreert deze casus dat de gevoeligheid van de tumor over verloop van tijd kan veranderen en dat dit ook in beeld gebracht kan worden met deze techniek.

Hoofdstuk 7

Hoofdstuk 7 beschrijft de eerste klinische immunoPET studie met [^{89}Zr]bevacizumab in een populatie van NSCLC patiënten. In deze studie werden de patiënten na de PET-scan behandeld met bevacizumab en chemotherapie. De studie onderzocht of opname van [^{89}Zr]bevacizumab in de tumor zou kunnen

worden gevisualiseerd en gekwantificeerd. Er werd ook gekeken of deze opname kon worden gecorreleerd met de tumorrespons op de behandeling middels bevacizumab en chemotherapie. Zeven NSCLC patiënten ondergingen 2 statische PET-scans, te weten op dag 4 en 7 na *tracer*injectie. *Tracer*opname in de tumor werd gekwantificeerd d.m.v. SUVpeak. De *tracer*opname in de tumor was gemiddeld ongeveer 4 maal hoger dan in het niet-tumoreus achtergrondweefsel, zowel op dag 4 als op dag 7. Dit betekent dat de tumoren duidelijk zichtbaar waren tegen de niet-tumoreuze achtergrond. Hoewel VEGF-A, de *target* van [⁸⁹Zr]bevacizumab, wordt beschouwd als een vrij circulerende solubele ligand, kon deze studie aantonen dat er verhoogde *tracer*opname was bij de tumor. Dit ondersteunt het idee dat VEGF-A concentraties hoger zijn in de tumorgebieden als gevolg van hoge paracrine expressie en binding aan extracellulaire matrixglycoproteïnen zoals heparansulfaat proteoglycanen en neuropilines. Deze glycoproteïnen fungeren als niet-signalerende co-receptoren die de binding van VEGF aan VEGFR vergemakkelijken. Een ander mogelijk mechanisme is de internalisering van [⁸⁹Zr]bevacizumab in tumorcellen, waarbij de zirconium-89-labels gevangen raken in de lysosomen en een signaal blijven afgeven op de PET-scan. Verder werd er een positieve trend gezien tussen enerzijds de *tracer*opname en anderzijds de *overall survival* en de progressievrije overleving na bevacizumab en chemotherapie. Deze bemoedigende resultaten geven aan dat meer onderzoek nodig is om te bepalen wat de voorspellende waarde is van [⁸⁹Zr]bevacizumab-opname in tumoren voor wat betreft de werkzaamheid van bevacizumab-behandelingen.

Toekomstige aspecten

[¹¹C]erlotinib en TKI-PET

De onderzoeken in dit proefschrift hebben nieuwe informatie opgeleverd m.b.t. [¹¹C]erlotinib-PET. In het kort, er werd aangetoond dat de opname van [¹¹C]erlotinib hoger was bij patiënten met een EGFR-gemuteerde tumor. Tijdens erlotinib-therapie daalde de opname van [¹¹C]erlotinib in de tumor. Het vereenvoudigde model wat het beste correleerde met de V_T -waarden van [¹¹C]erlotinib was de TBR (arterieel en veneus) in het 40 tot 60 min p.i. interval.

TBR biedt het voordeel dat het gebruikt kan worden om *whole body* PET-scans te maken. Echter, het is onduidelijk of TBR voldoende nauwkeurig is om onderscheid te kunnen maken tussen groepen met verschillende gevoeligheden voor erlotinib. Het is ook onduidelijk of TBR voldoende heterogeniteit kan herkennen in de sensitiviteit voor erlotinib tussen tumorlesies en binnenin de tumorlesies.

Er is momenteel een klinische studie lopende in het VUmc om deze onduidelijkheden te onderzoeken. Drie groepen van EGFR-gemuteerde NSCLC patiënten worden geïncubeerd, te weten (1) TKI-naïeve patiënten vooraf aan het starten van een TKI, (2) na ziekteprogressie op een TKI en (3) na een TKI-*holiday* vooraf aan herbehandeling met een TKI. Alleen patiënten met minstens 2 tumorlesies worden geïncubeerd, de respons van elke aparte lesie op de behandeling wordt gevolgd. Alle patiënten ondergaan een *whole body* PET-scan met TBR tussen 40 en 88 min p.i. als maat voor opname. Deze studie zal kunnen beoordelen of TBR de verschillen in erlotinib-gevoeligheid kan onderscheiden tussen verschillende patiëntengroepen en tussen lesies binnen de patiënt.

In de routinematige patiëntenzorg kan [¹¹C]erlotinib-PET gebruikt worden om een eventuele verhoogde gevoeligheid van een tumor voor erlotinib-therapie aan te tonen, bijv. bij patiënten waar geen weefselbewijs voorhanden is om een EGFR mutatie aan te tonen. Een *whole body* [¹¹C]erlotinib-PET kan ook nuttig zijn om residuale erlotinib-gevoeligheid in de diverse lesies op te sporen i.g.v. ziekteprogressie. Echter, het gebruik van *whole body* [¹¹C]erlotinib-PET zal beperkt blijven tot PET-centra die deze tracer kunnen produceren, omdat het transport ervan naar centra op afstand niet mogelijk is vanwege de korte halfwaardetijd van koolstof-11.

Om deze beperking te omzeilen kan fluor-18, een isotoop met een langere halfwaardetijd, worden gebruikt als label voor EGFR-TKI-tracers. Door substitutie van de eigen fluoratoom voor het fluor-18 isotoop kan afatinib worden gelabeld tot de *in vivo* stabiele tracer [¹⁸F]afatinib. Een klinische studie met [¹⁸F]afatinib is momenteel aan de gang in het VUmc. Hierbij worden het optimale farmacokinetisch model, de test-retest variabiliteit, het optimale vereenvoudigd model voor het statisch scannen en het optimale tijdstip voor het statisch scannen beoordeeld. Vier groepen van patiënten worden geïncubeerd, te weten (1) TKI-naïeve patiënten zonder EGFR mutaties (2) TKI-naïeven met EGFR mutaties (3) TKI-resistente patiënten met EGFR en T790M mutaties, en (4) TKI-resistenten met EGFR zonder T790M mutaties. De nauwkeurigheid van de [¹⁸F]afatinib-PET voor het onderscheiden van afatinib-gevoeligheid zal worden beoordeeld tussen deze patiëntengroepen en tussen tumorlesies binnen de patiënt.

Maar naast EGFR dient toekomstig TKI-PET onderzoek zich ook te richten op andere NSCLC *targets* zoals ALK, BRAF, ROS1, RET en MET. Crizotinib is hierbij een zeer interessante kandidaat. Het is een multi-target TKI wat actief is tegen DNA abberaties in ALK, maar ook actief is tegen ROS1 en MET. Theoretisch zou het gelabelde crizotinib bij deze patiënten de kans op respons kunnen voorspellen

ongeacht welke sensibiliserende DNA aberratie er in de tumor gevonden wordt. Deze gedachte illustreert dat deze techniek in potentie een leidraad kan bieden voor de keuze van een TKI-behandeling zonder dat er vooraf moleculaire analyse van de tumor gedaan is of kon worden.

TKI-PET-tracers hebben het potentieel vermogen om in vivo de affiniteit en daarmee de gevoeligheid van een receptor voor de bijbehorende TKI af te beelden. Dit biedt een unieke meerwaarde voor de diagnostiek wat niet kan worden verkregen met een andere techniek. Echter, het vergt nog veel onderzoek om TKI-PET in de routine klinische praktijk te krijgen.

[⁸⁹Zr]bevacizumab en immunoPET

De [⁸⁹Zr]bevacizumab studie in dit proefschrift toonde aan dat de opname van [⁸⁹Zr]bevacizumab in NSCLC tumoren kon worden gevisualiseerd en gekwantificeerd. Hoewel er een bemoedigende positieve trend was tussen enerzijds de *traceropname* en anderzijds de *overall survival* en de progressievrij overleving met bevacizumab en chemotherapie, blijft de voorspellende waarde van tumoropname onduidelijk. In deze studie werden patiënten gescand op 2 tijdstippen, echter, voor toekomstige studies die op één tijdstip zullen scannen moet het optimale tijdstip nog worden bepaald. Verder is het nog onduidelijk of een aanvullende bloedafname nog kan helpen bij de kwantificering van de *traceropname*. Het niveau van VEGF-A in de tumoren werd niet gemeten en dit kon ook niet worden gecorreleerd met tumor *traceropname*.

Er is meer klinisch onderzoek nodig om hierbovengenoemde onduidelijkheden te onderzoeken en m.n. ook de prognostische en predictieve waarde van [⁸⁹Zr]bevacizumab-opname in tumoren te beoordelen.

In de klinische praktijk zou [⁸⁹Zr]bevacizumab-PET een voorspellende biomarker kunnen zijn om subgroepen van patiënten te identificeren die gevoelig zijn voor bevacizumab-therapie.

Mocht [⁸⁹Zr]bevacizumab gevalideerd worden als predictieve marker, kunnen de vele praktische voordelen zoals het feit dat de tracer makkelijk te produceren en stabiel is, dat het makkelijk verzendbaar is naar andere centra en het de mogelijkheid biedt voor whole body scans de implementatie van deze techniek in de klinische praktijk vergemakkelijken.

Echter, het klinische succes van immunoPET zal uiteindelijk afhangen van enerzijds hoe goed een specifieke gelabelde mAb de expressie van diens *target*-moleculen in de tumor kan *imageren* en anderzijds hoe goed het *target*-expressieniveau in de

tumor uiteindelijk de werkzaamheid van de mAb-behandeling kan voorspellen. Dit laatste lijkt veelbelovend voor immunotherapie. De expressie van PD1 en PD-L1 in tumor infiltrerende T-cellen en tumorcellen kunnen voorspellend zijn voor respons op immunotherapie bij patiënten met niet-squamous NSCLC. Indien PD1- of PD-L1-expressie succesvol gereflecteerd kan worden door immunoPET zou dit een nuttige, noninvasieve methode kunnen zijn voor *whole body* scanning wat over het ziektebeloop vaker herhaald kan worden en wat leidend kan zijn voor het nemen van behandelbeslissingen rondom immunotherapie. Dit zou in toekomstige immunoPET studies onderzocht moeten worden.