Jornada de actualización sobre Cáncer de Pulmón y Osteosarcoma

QF. María Emilia Tejería

BC. María Elena Cardoso

24 de Junio de 2017



Osteosarcoma

To read any part of the part of

Es el tumor primario óseo sólido más frecuente.

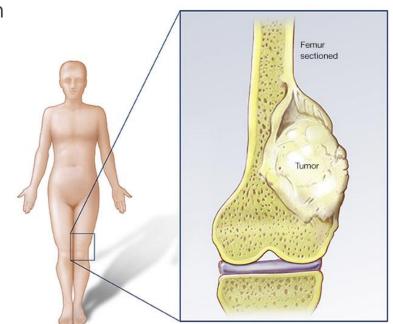
Constituyendo aproximadamente un 20% de los sarcomas primarios de hueso (Dahlin 1986).

Cada año se diagnostican de 400 a 1000 casos nuevos en Estados Unidos(Marina 2004, Gibbs 2001).

Incidencia de 3/1.000.000 en la población general.

Es con mucho una enfermedad de la edad juvenil.

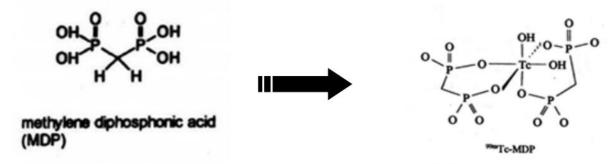
Más del 75% de los casos aparecen en pacientes menores de 25 años (Mirra 1989).



Radiofármacos utilizados

99mTc-MDP

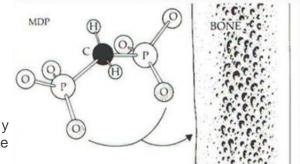


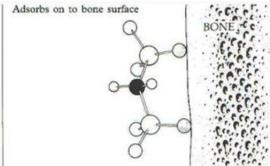


Los bifosfonatos marcados con ^{99m}Tc se acumulan en zonas osteogénicas activas.

Los complejos de ^{99m}Tc-Metilen difosfonato contienen uno o dos áto mos de Tc unidos a oxígeno de 2 o mas moléculas de fosfonato.

Se unen estrechamente a la matriz ósea mediante un proceso de quimioadsorción a la superficie de los cristales de hidroxiapatita.





99mTc-MDP imágenes planares (anteriores de todo el cuerpo del paciente posteriores) con osteosarcoma en el fémur medio izquierdo.

Radiofármacos utilizados

¹⁸F-FDG

2-Fluoro-2-desoxi-D-glucosa

Análogo de glucosa

Permite la detección del tumor primario y sitios de metá stasis mediante la visualización del aumento del consumo de glucosa por parte del tejido maligno.

Evaluar: recurrencia, respuesta al tratamiento.

¹⁸F-FDG-PET vs SPECT (^{99m}Tc Bisfosfonatos)

- Mayor sensibilidad diagnóstica del 18F-FDG para las metástasis osteolíticas
- Mayor Especificidad
- •93% vs 73%
- Combinados: 100%

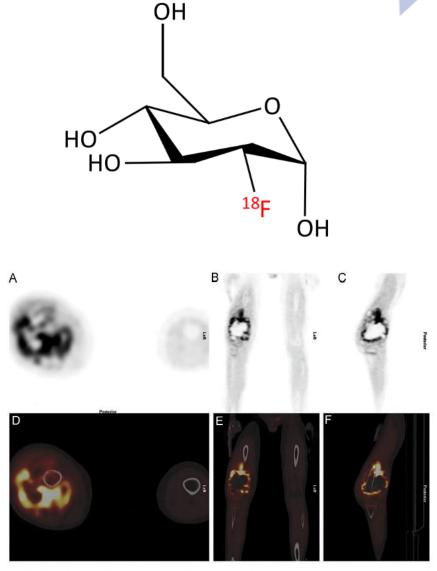
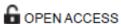


Figure 1 A 12-year-old boy with osteosarcoma of the right femur. Top row: PET images in transverse (A), coronal (B), and sagittal planes (C) demonstrating an FDG-avid, destructive osseous lesion with an associated soft tissue mass in the distal right femur involving the epiphysis and extending to the joint space. Central necrosis is present within the lesion. Bottom row: Fused PET and CT images at same levels (D-F).

¿Qué están investigando?







Citation: Westrøm S, Bønsdorff TB, Abbas N, Bruland ØS, Jonasdottir TJ, Mælandsmo GM, et al. (2016) Evaluation of CD146 as Target for Radioimmunotherapy against Osteosarcoma. PLoS ONE 11(10): e0165382. doi:10.1371/journal. pone.0165382

Editor: Salvatore V Pizzo, Duke University School of Medicine, UNITED STATES

Received: December 16, 2015

Accepted: October 11, 2016

Published: October 24, 2016

Copyright: © 2016 Westrøm et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper.

Funding: This study was funded by: Innovation Norway (www.innovasjonnorge.no, OLBOR-2012/109827, Recipient: TBB), the Norwegian Research Council (www.forskningsradet.no, grant numbers 235531 and 237661, Recipients: TJJ and SW, respectively) and Oncoinvent AS (www.oncoinvent.com). The funder provided support in the form of salaries for authors [SW, TBB, NA, ØSB, TJJ, RHL], but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to

RESEARCH ARTICLE

Evaluation of CD146 as Target for Radioimmunotherapy against Osteosarcoma

Sara Westrøm^{1,2,3}, Tina B. Bønsdorff¹, Nasir Abbas¹, Øyvind S. Bruland^{3,4}, Thora J. Jonasdottir¹, Gunhild M. Mælandsmo², Roy H. Larsen⁵*

1 Oncoinvent AS, Oslo, Norway, 2 Department of Tumor Biology, Institute for Cancer Research, The Norwegian Radium Hospital, Oslo University Hospital, Oslo, Norway, 3 Institute of Clinical Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway, 4 Department of Oncology, The Norwegian Radium Hospital, Oslo University Hospital, Oslo, Norway, 5 Sciencons AS, Oslo, Norway

Background

Osteosarcoma is a rare form of cancer but with a substantial need for new active drugs. There is a particular need for targeted therapies to combat metastatic disease. One possible approach is to use an antibody drug conjugate or an antibody radionuclide conjugate to target the osteosarcoma metastases and circulating tumor cells. Herein we have evaluated a radiolabeled monoclonal antibody targeting CD146 both *in vitro* and *in vivo*.

Methods and Results

A murine monoclonal anti-CD146 IgG1 isotype antibody, named OI-3, was developed along with recombinant chimeric versions with human IgG1 or human IgG3 Fc sequences. Using flow cytometry, selective binding of OI-3 to human osteosarcoma cell lines OHS, KPDX and Saos-2 was confirmed. The results confirm a higher expression level of CD146 on human osteosarcoma cells than HER2 and EGFR; antigens targeted by commercially available therapeutic antibodies. The biodistribution of ¹²⁵I-labeled OI-3 antibody variants was compared with ¹²⁵I-labeled chimeric anti-EGFR antibody cetuximab in nude mice with subcutaneous OHS osteosarcoma xenografts. OI-3 was able to target CD146 expressing tumors *in vivo* and showed improved tumor to tissue targeting ratios compared with cetuximab. Subsequently, the three OI-3 variants were conjugated with p-SCN-Bn-DOTA and labeled with a more therapeutically relevant radionuclide, ¹⁷⁷Lu, and their biodistributions were studied in the nude mouse model. The ¹⁷⁷Lu-labeled OI-3 variants were stable and had therapeutically relevant biodistribution profiles. Dosimetry estimates showed higher absorbed radiation dose to tumor than all other tissues after administration of the chimeric IgG1 OI-3 variant.

Conclusion

Our results indicate that CD146 can be targeted in vivo by the radiolabeled OI-3 antibodies.

Background

Osteosarcoma is a rare form of cancer but with a substantial need for new active drugs. There is a particular need for targeted therapies to combat metastatic disease. One possible approach is to use an antibody drug conjugate or an antibody radionuclide conjugate to target the osteosarcoma metastases and circulating tumor cells. Herein we have evaluated a radiolabeled monoclonal antibody targeting CD146 both *in vitro* and *in vivo*.

Methods and Results

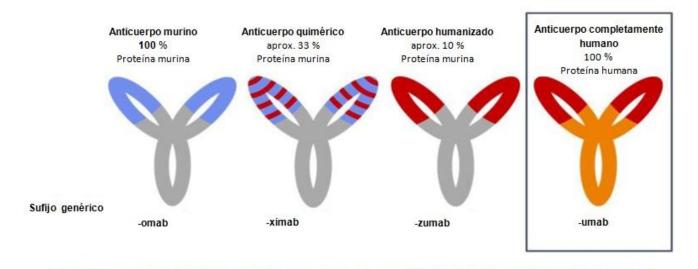
A murine monoclonal anti-CD146 IgG1 isotype antibody, named OI-3, was developed along with recombinant chimeric versions with human IgG1 or human IgG3 Fc sequences. Using flow cytometry, selective binding of OI-3 to human osteosarcoma cell lines OHS, KPDX and Saos-2 was confirmed. The results confirm a higher expression level of CD146 on human osteosarcoma cells than HER2 and EGFR; antigens targeted by commercially available therapeutic antibodies. The biodistribution of 1251-labeled O1-3 antibody variants was compared with 125I-labeled chimeric anti-EGFR antibody cetuximab in nude mice with subcutaneous OHS osteosarcoma xenografts. OI-3 was able to target CD146 expressing tumors in vivo and showed improved tumor to tissue targeting ratios compared with cetuximab. Subsequently, the three OI-3 variants were conjugated with p-SCN-Bn-DOTA and labeled with a more therapeutically relevant radionuclide, ¹⁷⁷Lu, and their biodistributions were studied in the nude mouse model. The 177 Lu-labeled OI-3 variants were stable and had therapeutically relevant biodistribution profiles. Dosimetry estimates showed higher absorbed radiation dose to tumor than all other tissues after administration of the chimeric IgG1 OI-3 variant.

Conclusion

Our results indicate that CD146 can be targeted in vivo by the radiolabeled OI-3 antibodies.

Anticuerpos

- •Los anticuerpos monoclonales pueden mostrar actividad antitumoral, sin embargo podemos potenciar s u acción antitumoral su es conjugado con: drogas, toxinas, RN.
- •Antigeno: Es una glicoproteína de superficie celular que se encuentra elevada en distintos tumores (melanoma, cáncer mama, próstata, hígado, OS)
- •Está asociado a promoción de angiogénesis y desarrollo vascular.
- Anticuerpo murino monoclonal IgG1. Denominación del Anticuerpo: OI-3.
- •También se trabajó con las variantes quiméricas: Anticuerpo CHOI-3.1 (IgG1) y CHOI-3.3 (IgG3).



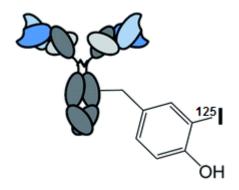
Marcado

Radionucleidos utilizados:

125

Tiempo de semidesintegración: 59,4 días

Gamma: 35 keV



La iodación se lleva a cabo en posiciones orto al grupo hidroxilo.

PRQ: 65-90%

Actividad específica: 20-50 MBq/mg.

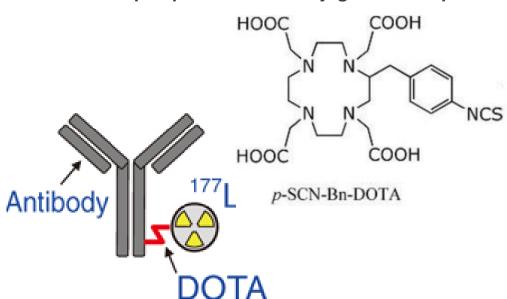
No se va a hablar de sus resultados

¹⁷⁷Lu

Tiempo de semidesintegración: 6,65 días

 $E\beta$ -max = 0,5 MeV

Anticuerpos previamente conjugados con quelante:



- Previa conjugación del Ac (2 horas)
- •Reacción de marcación:15-45min pH=5,5-6,0 a 37°C
- •PRQ posterior a purificación> 96%

Ensayos realizados



Medida de la expresión de CD146 por citometría de flujo. (OHS)

- Confirman expresión por citometría de flujo del Ag en: OHS, Saos-2,KPDX.
- CD146 tiene mayor expresión que EGFR y HER2.

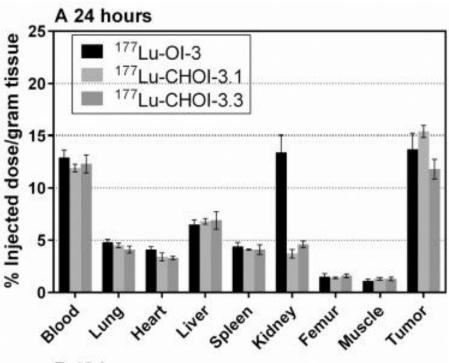
Medida de la inmunoreactividad

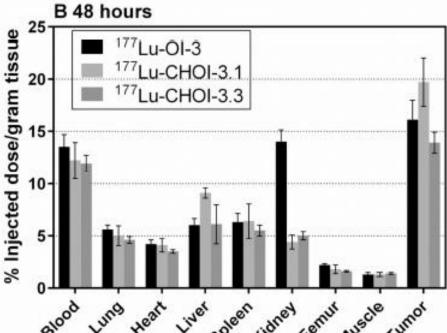
• Fracción de Ac unido menos a fracción de unión no específica> 50%

Afinidad

Biodistribución en animales portadores de tumor. (OHS)

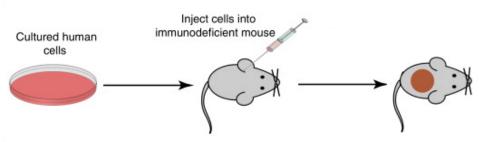
Dosimetría.





Biodistribución de las variantes ¹⁷⁷Lu-OI-3 en ratones portadores de xenoinjertos de OHS.

Ratones nude atimicos Tumor subcutáneo en flanco trasero Inyección iv vena cola



A los 2 tiempos tengo %DI/gTumor >Normal Ac murino en riñón %DI/g fémur bajo 177Lu 3+ Alta Estabilidad in vivo

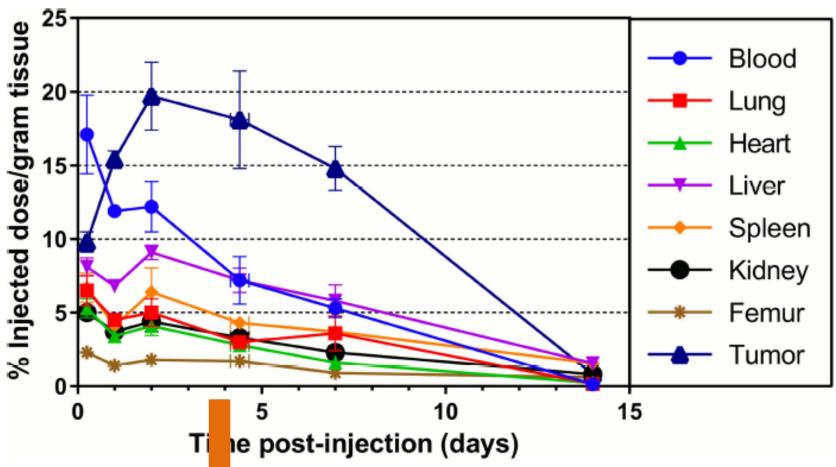


Fig 5. Biodistribution of ¹⁷⁷L CHOI-3.1 in mice bearing OHS xenografts. Biodistribution of ¹⁷⁷Lu-labeled chimeric OI-3 in tissues of interest in OHS xenograft-carrying nude mice. At each time point from three to er of tumors ranging from five to twelve per group. Straight lines have been drawn to bars correspond to the standard error of the mean.

doi:10.1371/journal.pone.0165382.

Captación máxima: 2-4 días

⁹⁰Y 2,7 días

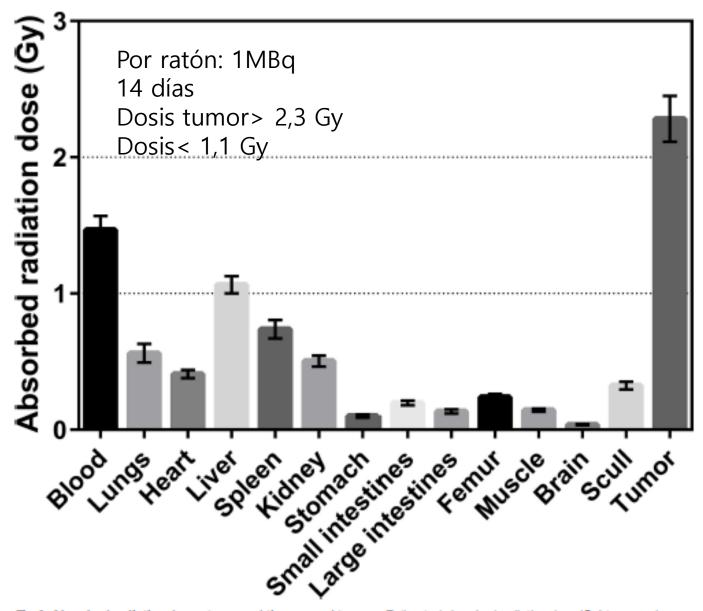


Fig 6. Absorbed radiation doses to normal tissues and tumors. Estimated absorbed radiation dose (Gy) to normal tissues and tumors for nude mice with OHS osteosarcoma xenografts after intravenous injection of ¹⁷⁷Lu-labeled chimeric OI-3 IgG1 isotype antibody (CHOI-3.1). The data were normalized to an injected activity of 1 MBq per mouse. Error bars correspond to standard deviation.

Conclusiones

CD146 tiene una expresión significativa en la línea de células OHS y xenoinjerto haciendo CD146 un objetivo potencial para la inmunoterapia y la radioinmunoterapia.

Los anticuerpos marcados poseen una alta estabilidad in vivo.

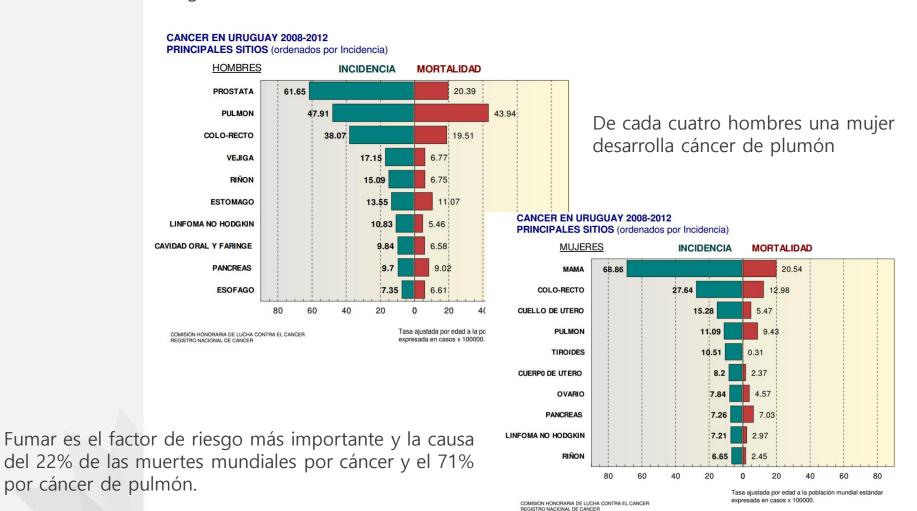
La captación tumoral en ratones desnudos fue prometedora

Se observó una radiación sustancialmente más alta a los tejidos tumorales frente a tejidos normales en el modelo de ratones desnudos.

Los resultados justifican una evaluación adicional de 177Lu-EO-3 marcado como un candidato potencial para Radioinmunoterapia contra OS metastásico y otros cánceres que expresan CD146.

Cáncer de Pulmón

El cáncer de pulmón es el que causa mayor mortalidad en hombres, mientras que el más frecuente es el de próstata. En las mujeres, el cáncer de mama ocupa el primer lugar tanto en incidencia como en mortalidad.



Cáncer de Pulmón



Radiografía simple frontal y lateral

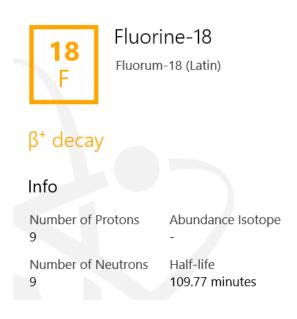


Sin embargo, lesiones nodulares pequeñas menores de 2.0 cm de diámetro, opacidades focales de baja densidad o procesos parenquimatosos en determinadas localizaciones anatómicas que pasan con frecuencia desapercibidas

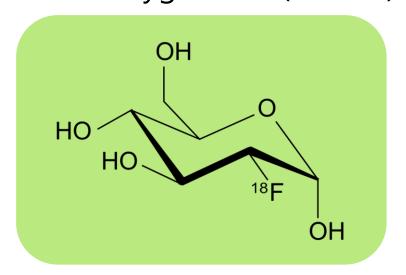


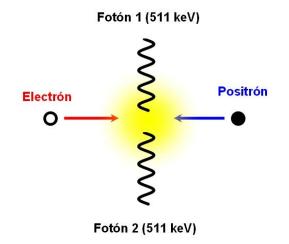
La tomografía computada de tórax, ocasionalmente la resonancia magnética y el PET-CT son utilizados actualmente en el diagnóstico, etapificación, pronóstico y evaluación de los resultados terapéuticos en cáncer de pulmón

Cáncer de Pulmón



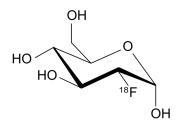
¹⁸F-desoxyglucosa (18FDG)





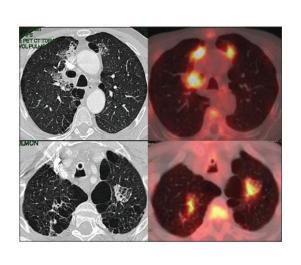
La distribución de 18FDG es un buen reflejo de la distribución en el consumo y fosforilación de la glucosa en las células del cuerpo.

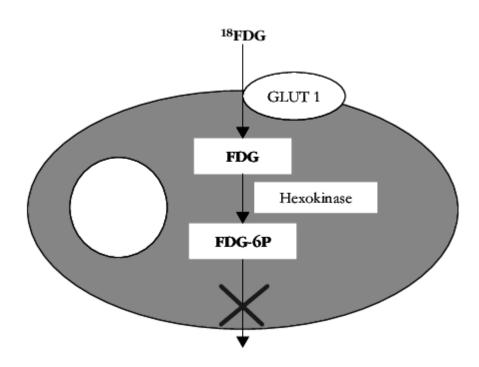
¹⁸F-desoxyglucosa (18FDG)



Una vez que ingresa la 18 FDG a la célula se produce la fosforilación de la misma impidiendo que sea liberada al medio.

El oxígeno 2 de la molécula de glucosa es necesario para continuar el proceso de glucólisis, por lo que, la FDG no puede ser metabolizada en las células y por ello la FDG-6-fosfato formada no entra en la ruta glicolítica.





¿Qué están investigando?

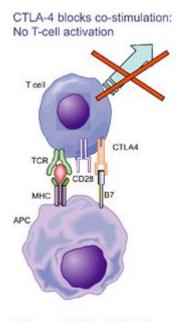




ImmunoPET of CTLA-4 expression in murine models of non-small cell lung cancer

Emily Ehlerding³, Christopher England², Hector Valdovinos⁵, Dawei Jiang¹, Robert Nickles⁴ and Weibo Cai²

Ipilimumab marcado con 64Cu



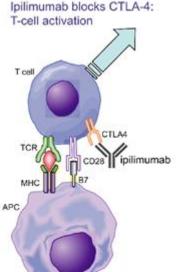
El receptor CTLA-4 se expresa en la superficie de las células T y en algunas células tumorales



Es el blanco del anticuerpo monoclonal aprobado clínicamente ipilimumab



Cuando se bloquea el CTLA-4, aumenta la respuesta del sistema inmunitario ante las células tumorales. La droga funciona para activar las células T, de modo que puedan multiplicarse y atacar a las células tumorales.



Ipilimumab marcado con ⁶⁴Cu



Copper-64

Cuprum-64 (Latin)

β⁺ decay

Info

Number of Protons

Abundance Isotope

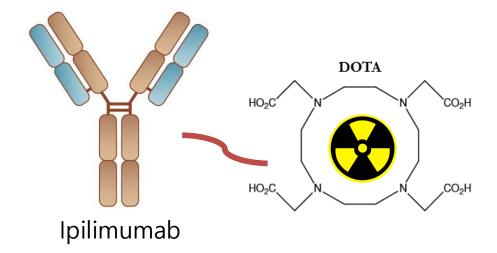
29

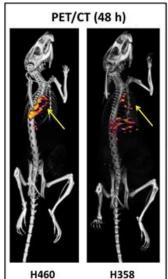
Number of Neutrons

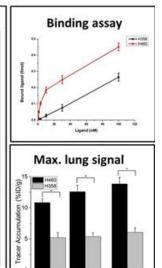
35

Half-life 12.7 hours

Main Decay Mode β* decay







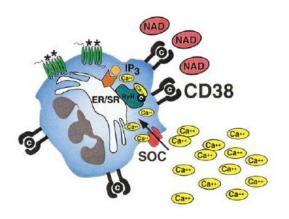
4 24 Time after injection (h) ⁶⁴Cu-DOTA-ipilimumab mostró una acumulación mejorada y persistente en los tejidos que expresan CTLA-4, lo que permitirá a los investigadores más información sobre las terapias dirigidas a CTLA-4 en el futuro



PET imaging of CD38 expression in non-small cell lung cancer xenografts

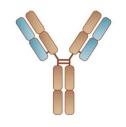
Emily Ehlerding⁴, Christopher England², Dawei Jiang¹, Stephen Graves³, Todd Barnhart and Weibo Cai²

Daratumumab marcado con 89Zr



El antígeno CD38 se expresa en condiciones normales en la superficie de varios tipos de células del sistema inmune (leucocitos), incluyendo los linfocitos CD4+, linfocitos CD 8+, células plasmáticas y células NK. Se sobreexpresa en determinadas células malignas





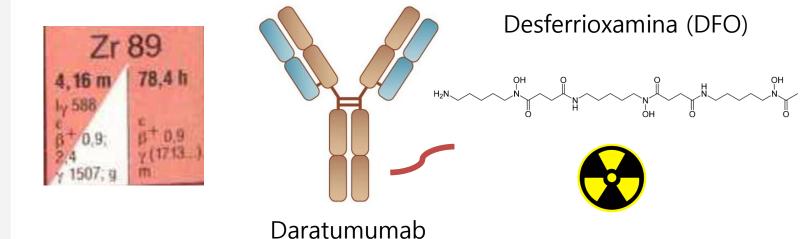
Es el blanco del anticuerpo monoclonal Daratumumab





Su expresión o ausencia puede ofrecer un valor pronóstico interesante

Daratumumab marcado con 89Zr



⁸⁹Zr-DFO-Daratumab tiene potencial para la obtención de imágenes del antígeno CD38 en tumores malignos, ayudando a la estadificación del paciente y a ver la distribución de los CD38 en los tumores.

Referencias

- 1.Rosenberg AE. Bone, joints and soft tissue tumors. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editors. Robins and cotran pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2010. p. 1203-56.
- 2. Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, editors. World Health Organization, classification of tumours: Pathology and genetics of tumors of soft tissue and bone. Lyon: IARC Press; 2013.
- 3.Humanhealth.iaea.org. (2017). *Human Health Campus Chemical Principles of Radiolabelling*. [online] Available at: https://humanhealth.iaea.org/HHW/Radioph armacy/VirRad/Radiolabelling_with_99mTc/chemical_processes/index.html [Acces o: 18 Jun. 2017].
- 4. WestrømS, Bønsdorff TB, Abbas N,Bruland ØS, Jonasdottir TJ, Mñlandsmo GM, et al.(2016) Evaluation of CD146 as Target for Radioimmunotherapy against Os teosarcoma. PLoS ONE 11(10): e0165382. doi:10.1371/journal.pone.0165382



Gracias por su atención!!!