

The background features a complex arrangement of light gray geometric shapes on a white background. These shapes include rectangles, triangles, and rounded forms, some of which are partially cut off by the edges of the page. A large, bold, dark gray number '7' is positioned in the upper right quadrant. The overall aesthetic is modern and minimalist.

7

SAMENVATTING, DISCUSSIE EN VOORUITZICHTEN

In dit proefschrift worden de mogelijkheden van radioimmunoscintigrafie (RIS) en radioimmunotherapie (RIT) beschreven in klinische studies bij patiënten met een hoofd-halsplaveiselcelcarcinoom (HHPCC). Het plaveiselcelcarcinoom is de meest voorkomende maligne tumor in het hoofd-halsgebied en ontstaat voornamelijk (>95%) in het slijmvlies van mondholte, keelholte en strottenhoofd. De geschatte wereldwijde incidentie van HHPCC betrof in 2002 meer dan 563.000 gevallen en meer dan 301.000 personen overleden aan de ziekte (1). In alle studies die in dit proefschrift beschreven worden, werd gebruik gemaakt van monoklonale antilichamen (MAbs) gericht tegen CD44v6, een “target” antigeen met hoge selectieve expressie in HHPCC.

In de introductie (**Hoofdstuk 1**) van dit proefschrift wordt een overzicht gegeven van de huidige diagnostische en therapeutische mogelijkheden bij HHPCC, terwijl ook de mogelijkheden, voorwaarden en beperkingen van RIS en RIT voor toepassing bij HHPCC behandeld worden. Studies met MAbs die gericht zijn tegen HHPCC-geassocieerde antigenen zoals CD44v6, worden in meer detail uitvoeriger belicht. Tot slot worden ook nieuwe diagnostische en therapeutische strategieën behandeld.

Eén van de beperkingen die in eerdere klinische RIT studies ondervonden werden met chimere MAbs (cMAbs) gericht tegen CD44v6 was het optreden van immunogeniciteit. Humane antilichaam reacties gericht tegen het toegediende MAb kunnen leiden tot allergische reacties zoals anafylaxie, en kan ook een snelle klaring van het MAb tot gevolg hebben, met name bij herhaalde toedieningen. In het geval van RIT, zal dit leiden tot een verminderde opname van het radioimmunoconjugaat in de tumor. In **Hoofdstuk 2** worden de resultaten gepresenteerd van een fase I stralingsdosis-escalatie RIT studie bij HHPCC patiënten met het anti-CD44v6 gehumaniseerde MAb bivatuzumab, ook BIWA 4 genoemd, gelabeld met het therapeutische radionuclide rhenium-186 (^{186}Re). In deze studie werd de veiligheid, maximaal tolerabele dosis (MTD), immunogeniciteit en de therapeutische mogelijkheden van het radioimmunoconjugaat bepaald bij 20 patiënten met een incurabel recidief en/of gemetastaseerd HHPCC. Alle patiënten ontvingen een eenmalige toediening van ^{186}Re -bivatuzumab in een stralingsdosis-escalatie schema van 0,74, 1,11, 1,48, 1,85 en 2,22 GBq/m². De MTD werd vastgesteld op 1,85 GBq/m², op welk niveau dosislimiterende myelotoxiciteit optrad bij 1 van de 6 patiënten. Drie maanden na de eerste toediening ontvingen 3 patiënten een tweede toediening van 1,85 GBq/m². Zowel de eerste als tweede toediening werden goed verdragen en tumor-targeting was in alle gevallen goed, zoals te zien op de planaire en tomografische afbeeldingen van het hoofd-halsgebied. Figuur 1 laat een voorbeeld van een γ -camera afbeelding zien van een HHPCC patiënt die ^{186}Re -gelabeld anti-CD44v6 MAb ontving. De enige significante toxiciteit die optrad was

dosis-limiterende myelotoxiciteit in de vorm van trombo- en leukocytopenie. CTC graad 4 myelotoxiciteit werd waargenomen bij 2 patiënten in de dosisgroep van 2,22 GBq/m². Orale mucositis werd gezien bij een klein gedeelte van de patiënten: CTC graad 2 bij 2 van de 6 patiënten binnen de dosisgroep van 1,85 GBq/m² en bij 3 van de 5 patiënten binnen de dosisgroep van 2,22 GBq/m². Twee van de 3 patiënten die een tweede toediening ontvingen, ontwikkelden orale mucositis na beide toedieningen. Er werd na de tweede toediening geen verergering van de orale mucositis waargenomen ten opzichte van de eerste toediening. Alle patiënten hadden eerder radiotherapie ondergaan, die in sommige gevallen met ernstige mucositis gepaard was gegaan. Het is mogelijk dat bij patiënten die eerder radiotherapie ondergaan hebben, de orale mucositis na RIT verergerd.

Eén patiënt binnen de 1,11 GBq/m² dosisgroep werd 5 dagen na de start van RIT in het ziekenhuis opgenomen in verband met onverklaarbare insulsten. Gedurende de opname, 8 dagen na de start van RIT, ontstond angioneurotisch oedeem met reversibele respiratoire insufficiëntie. De patiënt werd 11 dagen na de start van RIT uit het ziekenhuis ontslagen. 22 dagen na de start van RIT werd zij thuis dood aangetroffen. Bij nader onderzoek werd er geen oorzakelijk verband gevonden tussen de antilichaamtoediening en het overlijden, maar deze mogelijkheid kon ook niet worden uitgesloten. Analyse van serum van de patiënt liet zien dat er geen anti-bivatuzumab respons (HAHA) opgetreden was.

Bij 3 van de 6 patiënten die op MTD niveau behandeld waren, werd stabiele ziekte waargenomen met een duur van 6 tot 21 weken. Wat betreft immunogeniciteit werd er bij slechts 2 van de 20 patiënten (10%) een HAHA respons waargenomen, terwijl in een eerdere vergelijkbare studie met het anti-CD44v6 cMAb U36 een humane anti-U36 respons (HACA) waargenomen werd in 5 van de 12 (42%) HHPCC patiënten (2). Bovendien werden er geen HAHA responsen waargenomen in 3 andere radioimmunosintigrafie-biodistributie studies waarbij ^{99m}Tc-bivatuzumab toegediend werd aan in totaal 28 patiënten met HHPCC (n = 10), niet-kleincellig longcarcinoom (n = 9) en borstcarcinoom (n=9)(3,4). Uit deze studies werd geconcludeerd dat therapie met ¹⁸⁶Re-bivatuzumab veilig is, ook als er een tweede toediening gegeven wordt.

Het feit dat er anti-tumor effecten gezien werden bij patiënten met grote tumoren, biedt mogelijkheden voor verdere ontwikkeling van RIT met een eenmalige of meervoudige toediening van ¹⁸⁶Re-labeled bivatuzumab. Er werden geen objectieve responsen gezien in deze patiënten met incurabel HHPCC. Een beter resultaat met dit radioimmunoconjugaat is te verwachten in een adjuvante setting, kort na chirurgie bij patiënten met minimale residuale HHPCC. Dergelijke patiënten hebben een verhoogd risico op het ontwikkelen van metastasen op afstand. Het feit dat de opname van MAb's hoger is in HHPCC tumoren met een klein volume (1 cm³) dan in HHPCC tumoren met een groot volume (50 cm³),

ondersteunt de verdere ontwikkeling van RIT voor adjuvante, ‘targeted’ therapie voor minimale residuale HHPCC (5). Een andere mogelijkheid om de effectiviteit van RIT te verhogen, is door de beenmergtoxiciteit tegen te gaan met behulp van autoloog bloed of beenmergtransplantatie. Een eerdere RIT studie bij HHPCC toonde aan dat re-infusie van “granulocyte colony-stimulating factor” (G-CSF) gestimuleerd autoloog volbloed het mogelijk maakt om de MTD te verhogen en daarmee mogelijk ook de anti-tumor effecten te verbeteren (6). Verhoging van de effectiviteit van RIT kan mogelijk ook bewerkstelligd worden door RIT te combineren met andere “targeted” therapieën welke van zichzelf geen of een zeer lage myelotoxiciteit veroorzaken. Als vervolg op toepassingen waarbij anti-EGFR MABs worden gecombineerd met radiotherapie bij lokaal vergevorderd HHPCC (7), zou het ook aantrekkelijk kunnen zijn om anti-EGFR MABs te combineren met RIT. De combinatie van RIT met het EGFR blokkerende MAb 425 vertoonde een additioneel therapeutisch effect in preklinische studie met HHPCC xenograft-dragende naakte muizen (8).

De data verkregen in de fase I stralingsdosis-escalatie RIT studie met ^{186}Re -bivatuzumab bij HHPCC patiënten, werden ook gebruikt voor dosimetrie analyses, zoals beschreven in **Hoofdstuk 3**. “Total body” scintigrafie werd gebruikt om de hoeveelheid radioactiviteit in bepaalde organen en gebieden vast te stellen. De verblijftijden in deze organen en gebieden werden berekend en vervolgens ingevoerd in het MIRDOSE3 programma om op die manier de geabsorbeerde doses te verkrijgen. Alleen voor het beenmerg ging dat anders. De beenmergdosis werd berekend op basis van de verblijftijd van het radioimmunoconjugaat in het bloed (9). Eénentwintig scintigrafie studies in 18 patiënten werden gebruikt voor de dosimetrie analyses (5 bij vrouwen en 16 bij mannen). De data van de 3 patiënten die 3 maanden na de eerste toediening een tweede toediening van $1,85 \text{ GBq/m}^2$ ontvingen, zijn bij deze 21 studies inbegrepen. De gemiddelde beenmergdosis was $0,49 \pm 0,03 \text{ mGy/MBq}$ voor mannen en $0,64 \pm 0,03 \text{ mGy/MBq}$ voor vrouwen. De nieren bleken de hoogste geabsorbeerde dosis te krijgen (gemiddelde dosis in mannen $1,61 \pm 0,75 \text{ mGy/MBq}$; gemiddelde dosis in vrouwen $2,15 \pm 0,95 \text{ mGy/MBq}$). De maximale stralingsdosis voor de nieren in de totale patiëntengroep was 11 Gy, waarvan niet wordt verwacht dat het tot niertoxiciteit zal leiden. De tumordoses, omgerekend naar het MTD-niveau van $1,85 \text{ GBq/m}^2$, bedroeg 3,8 tot 76,4 Gy, met een mediane dosis van 12,4 Gy. Er werd een goede correlatie ($r = -0,79$) gevonden tussen de hoeveelheid radioactiviteit die per kg lichaamsgewicht toegediend werd en de maximale daling van het aantal trombo- en leukocyten (“nadir”).

Op basis van het voorgaande kan geconcludeerd worden dat RIT met ^{186}Re -bivatuzumab veilig is. ^{186}Re -Bivatuzumab heeft een lage immunogeniciteit, waardoor meervoudige toediening mogelijk is. De enige geobserveerde toxiciteit in deze studie was myelotoxiciteit die veroorzaakt werd door het circulerend

radioimmunoconjugaat. In sommige patiënten werd daarnaast een milde vorm van mucositis gezien. Dosimetrie analyses toonden aan dat deze vorm van therapie ook veilig is voor wat betreft de stralingsbelasting van normale organen. Bij de patiënten die op het hoogste dosis-niveau behandeld werden, werden consequent anti-tumor effecten waargenomen. Er zullen echter hogere geabsorbeerde doses (>60 Gy) dienen te worden bereikt, voordat objectieve responsen verwacht mogen worden van RIT als monotherapie.

Selectieve tumor-targeting met bivatuzumab zoals gedemonstreerd in de eerder beschreven RIT studies heeft ook het gebruik van dit MAb bij andere therapeutische benaderingen gestimuleerd. Ondanks de veelbelovende resultaten, zijn bij het grootschalig gebruik van radioimmunoconjugaten problemen te verwachten voor wat betreft logistiek en stralingsveiligheid. Het weglaten van de radioactiviteit zou een oplossing voor deze problemen kunnen bieden, en daarom werd er door de sponsor van de bivatuzumab RIT studie een anti-CD44v6 antilichaam-toxine conjugaat ontwikkeld bestaande uit bivatuzumab en mertansine. Het gebruik van antilichaam-toxine conjugaten is bijzonder aantrekkelijk, omdat hiervan geen beenmergtoxiciteit te verwachten is, waardoor perspectieven kunnen ontstaan voor combinatietherapie met conventionele chemotherapie.

Bivatuzumab mertansine is een tumor-geactiveerd “prodrug” conjugaat, bestaande uit het supertoxische mertansine (DM1) dat covalent gekoppeld is aan bivatuzumab. Mertansine is een toxine dat aangrijpt op de microtubuli van de cel. Na binding van het conjugaat aan CD44v6, kan internalisatie van het complex plaatsvinden, waarna door klieving van de antilichaam-mertansine disulfidebruggen de mertansine moleculen intracellulair vrijkomen. In een studie beschreven door Tjink et al. (10), werd de veiligheid, MTD, farmacokinetiek, immunogeniciteit en preliminaire effectiviteit van bivatuzumab-mertansine vastgesteld na 3 wekelijkse i.v. toedieningen aan HHPCC patiënten. In deze studie werd geen toxiciteit waargenomen, die toegeschreven kon worden aan vrij mertansine dat ten gevolge van deconjugatie in de circulatie kan ontstaan. Er werden ook geen aanwijzingen gevonden voor aspecifieke opname van het conjugaat door CD44v6-negatieve weefsels. De voornaamste toxiciteit van bivatuzumab-mertansine ontstond in de huid, waarschijnlijk ten gevolge van CD44v6 expressie in dit weefsel (kruis-activiteit). De meerderheid van de huidreacties was reversibel. Echter, bij 1 patiënt die met een dosis van 140 mg/m² behandeld was, ontstond een fatale conjugaat-gerelateerde complicatie op, in de vorm van toxische epidermale necrolyse. De toxiciteit werd waarschijnlijk veroorzaakt door de kruis-activiteit van bivatuzumab met keratinocyten in de huid. Er werd geen relatie tussen conjugaatdosis en toxiciteit gevonden en het is daarom moeilijk te voorspellen wanneer ernstige huidtoxiciteit kan

ontstaan. Daarom werd besloten om de verdere klinische ontwikkeling van bivatuzumab-mertansine stop te zetten. Op basis van deze studie en andere parallelle studies met bivatuzumab-mertansine, kan geconcludeerd worden dat strikte tumor-selectieve expressie van het target-antigeen vereist is als men supertoxische antilichaam-toxine conjugaten wil gebruiken voor therapie. Deze conclusie geldt weliswaar voor benaderingen waarbij gebruik gemaakt wordt van supertoxische toxines zoals mertansine, maar is mogelijk niet van toepassing bij benaderingen zoals RIT. In 3 RIT studies met ^{186}Re -gelabeld anti-CD44v6 MAbs U36 en bivatuzumab met in totaal 45 toedieningen (2,6,11), werden slechts bij 1 patiënt reversibele huidreacties gezien 8 dagen na de start van RIT. Deze huidreacties bestonden uit angioneurotisch oedeem (CTC graad 3) en urticaria (CTC graad 3). Dit verschil in toxiciteit tussen CD44v6-specifieke RIT (^{186}Re) conjugaten en CD44v6-specifieke mertansine conjugaten kan verklaard worden door de volgende aspecten: ten eerste, de stralingsafgifte met ^{186}Re verloopt relatief traag ten gevolge van de lange halfwaardetijd van 89 uur van deze β -straler. Ten tweede, de energie en dracht (5 mm) van de β -emissie van ^{186}Re zijn ideaal voor bestraling van kleine tot middelgrote tumoren (0,5 – 1 cm). (12) Door deze eigenschappen is de huidtoxiciteit bij RIT laag, omdat een groot deel van de stralingsenergie buiten de huid, en dan met name buiten de basaallaag van de huid, terecht komt.

Bovengenoemde studies laten zien dat selectieve “targeting” van tumoren met MAbs ten behoeve van therapie mogelijk is en dat “imaging” van MAbs mogelijk een waardevol hulpmiddel kan zijn om de opname van het MAb in tumor en normale organen af te beelden en te kwantificeren. Voor dit doel kan het gebruik van “imaging” met een γ -camera informatief zijn, alhoewel er veel ruimte is voor verbeteringen zoals weergegeven in Figuur 1. Zo laten de afbeeldingen in Figuur 1 weinig details zien van de organen. Het feit dat de tumor in Figuur 1 veel groter lijkt dan deze in werkelijkheid is, heeft te maken met de beperkte resolutie. Er zijn geen anatomische details zichtbaar. Maar het meest belangrijk: nauwkeurige kwantificering van de MAb distributie is lastig met SPECT, en daarom werd er voor gekozen om de mogelijkheden van positron emissie tomografie (PET) voor MAb “imaging” te gaan onderzoeken.

In **Hoofdstuk 4** wordt onderzocht of immuno-PET, de combinatie van PET met MAbs, geschikt is om tumordetectie te verbeteren en om MAb-gebaseerde therapie te begeleiden. De langlevende positron emitter zirconium-89 (^{89}Zr) heeft ideale fysische karakteristieken voor immuno-PET met intacte MAbs, maar was nooit eerder toegepast in een klinische setting. In een fase I studie zoals gepresenteerd in dit proefschrift, werden de diagnostische mogelijkheden van immuno-PET met ^{89}Zr -gelabeld chimeer anti-CD44v6 MAb (cMAb) U36 geëvalueerd in 20 patiënten met HHPCC. Deze patiënten hadden een groot risico

op het ontwikkelen van lymfekliermetastasen en derhalve was er voor hen een halsklierdissectie met of zonder resectie van de primaire tumor gepland. Alle patiënten ontvingen 75 MBq ^{89}Zr -cMAb U36. Alle patiënten ondergingen een CT-scan en/of MRI-scan en immuno-PET voorafgaande aan de chirurgie. Zes patiënten ondergingen ook PET met ^{18}F -fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG-PET). Immuno-PET scans werden verricht tot 144 uur na toediening. Diagnostische bevindingen werden geregistreerd per halszijde (links of rechts) en per lymfeklierniveau (6 niveaus per zijde), en vergeleken met de histopathologische uitslag. Immuno-PET detecteerde alle primaire tumoren ($n = 17$) en de lymfekliermetastasen in 18 van de 25 positieve niveaus (sensitiviteit 72%) en in 11 van de 15 positieve zijdes (sensitiviteit 73%). Interpretatie van immuno-PET was correct in 112 van de 121 geopereerde niveaus (nauwkeurigheid 93%) en in 19 van de 25 geopereerde zijdes (nauwkeurigheid 76%). Vergeleken met de γ -camera afbeeldingen in Figuur 1, zijn de ^{89}Zr immuno-PET afbeeldingen gedetailleerder en zijn de organen en tumor beter zichtbaar (Figuur 2). Voor CT/MRI werd per niveau en per zijde een sensitiviteit van respectievelijk 60% en 73% en een nauwkeurigheid van respectievelijk 90% en 80% gevonden. In 6 patiënten met 7 tumor-positieve hals niveaus en zijdes, vertoonden immuno-PET en FDG-PET vergelijkbare diagnostische resultaten. In deze studie werd aangetoond dat immuno-PET met ^{89}Zr -cMAb U36 op zijn minst even goed is als CT/MRI voor het detecteren van HHPCC lymfekliermetastasen. De toekomstige toepassing van PET/CT zal naar verwachting de interpretatie van de afbeeldingen vergemakkelijken.

De verkregen gegevens van de fase I immuno-PET studie met ^{89}Zr -gelabeld cMAb bij patiënten met HHPCC werden ook gebruikt voor dosimetrie en analyse van de veiligheid zoals beschreven in **Hoofdstuk 5**. Biodistributie van het radioimmunoconjugaat werd geëvalueerd door middel van radioactiviteitsmetingen in bloed, beenmerg en in biopten die uit het chirurgisch preparaat op 168 uur na de toediening verkregen werden. Opname van het radioimmunoconjugaat in tumoren en organen werd gekwantificeerd door het definiëren van “volumes of interest” op basis de immuno-PET afbeeldingen. De verblijftijd van het conjugaat in tumoren en organen werd berekend en ingevoerd in het software programma OLINDA/EXM 1.0, om zo de geabsorbeerde doses te kunnen bepalen. De beenmergdosis werd berekend op basis van de verblijftijd van het conjugaat in het perifere bloed (13). Toediening van ^{89}Zr -cMAb U36 werd goed verdragen door alle patiënten en bijwerkingen werden niet waargenomen. Bij 2 patiënten werd een HACA respons aangetoond, maar zonder dat dit effect had op de klaring van het radioimmunoconjugaat uit het lichaam. Kwantificering van “blood-pool” activiteit in de linker ventrikel van het hart op basis van de PET images, toonde een goede overeenkomst met de activiteit gemeten in de

afgenomen bloedmonsters (gemiddelde afwijking $0,2 \pm 16,9\%$), behalve voor zwaarlijvige patiënten (>100 kg). De gemiddelde beenmergdosis was $0,07 \pm 0,02$ mSv/MBq bij mannen en $0,09 \pm 0,01$ mSv/MBq bij vrouwen. Het normale orgaan met de hoogste geabsorbeerde dosis was de lever (gemiddelde dosis bij mannen $96,49 \pm 21,02$ mSv; bij vrouwen $105,26 \pm 16,25$ mSv), gevolgd door de nieren, schildklier, longen en milt. De gemiddelde effectieve dosis was $0,53 \pm 0,03$ mSv bij mannen en $0,66 \pm 0,03$ mSv/MBq bij vrouwen. Uitscheiding via de urine was laag met een gemiddelde uitscheiding van $2,59 \pm 1,89$ %ID ^{89}Zr gedurende de eerste 72 uur na toediening. De gemiddelde effectieve dosis voor het hele lichaam was $0,53 \pm 0,03$ mSv/MBq bij mannen en $0,66 \pm 0,03$ mSv/MBq bij vrouwen. Kwantificering van MAb opname in tumoren toonde een goede overeenkomst tussen %ID/g afgeleid van bioptgegevens 168 uur na toediening en afgeleid van PET data 144 uur na toediening, met iets lagere waarden voor PET (gemiddelde afwijking $-8,4\% \pm 34,5\%$).

Concluderend, laten de resultaten van deze “first-in-human” immuno-PET studie met ^{89}Zr -gelabeld cMAb U36 in HHPCC patiënten zien dat ^{89}Zr -immuno-PET op zijn minst net zo geschikt is voor het detecteren van de primaire tumor en lymfkliermetastasen als CT en MRI. ^{89}Zr -immuno-PET is een nieuwe niet-invasieve kwantitatieve diagnostische modaliteit, die toegepast kan worden in MAb-onderzoek, bijvoorbeeld voor het selecteren van nieuwe veelbelovende therapeutische MAbs en ook voor het selecteren van de patiënten die de grootste kans hebben op baat van een specifieke MAb behandeling.

Ondanks veelbelovende klinische resultaten is het duidelijk dat de effectiviteit van de meeste door de FDA goedgekeurde MAbs nog steeds beperkt is, en dat slechts een gedeelte van de patiënten baat heeft van therapie. Daarnaast zijn de kosten van MAb-therapie zeer hoog. De vraag is hoe de effectiviteit van MAb-therapie verbeterd kan worden en hoe de meest geschikte patiënten geïdentificeerd kunnen worden. Met andere woorden: wanneer, hoe en voor wie moet antilichaam-gebaseerde therapie worden toegepast? Wij verwachten dat kwantitatieve beeldvorming van MAbs met immuno-PET een belangrijk hulpmiddel kan worden tijdens de diverse stadia van MAb-ontwikkeling en toepassing. Bij “first-in-human” klinische studies met nieuwe MAbs is het belangrijk om informatie te verkrijgen over de ideale MAb-dosering die tot optimale tumor targeting leidt (bijv. verzadiging van receptoren), over de opname in belangrijke normale organen om toxiciteit te voorkomen (althoewel immuno-PET niet in staat is gebleken om de huidtoxiciteit te voorspellen die door bivatuzumab-mertansine werd veroorzaakt), en over de variaties in farmacokinetiek en “tumor targeting” tussen patiënten onderling. MAb-gebaseerde beeldvorming kan mogelijk deze informatie op een efficiënte en

veilige manier geven. Bovendien kan deze informatie met minder patiënten verkregen worden, en zullen ook minder patiënten met een suboptimale dosis behandeld worden. Deze benadering is met name aantrekkelijk wanneer het te onderzoeken MAb is gericht tegen een nieuw “tumor target” dat nog niet eerder gevalideerd is in een klinische studie. Kwantitatieve MAb-gebaseerde beeldvorming kan mogelijk ook toegepast worden om tot een optimaal gebruik te komen van MAb's die reeds door de FDA zijn goedgekeurd. In de huidige praktijk worden vaak weefselanalyses verricht om target-expressie te bevestigen en om patiënten voor MAb-therapie te selecteren. Patiënten met gemetastaseerd mammacarcinoom bijvoorbeeld, komen alleen in aanmerking voor therapie met het “anti-human epidermal growth factor receptor-2” (HER2) MAb trastuzumab wanneer er in een biopsie van de tumor met behulp van immunohistochemie of fluorescentie in situ hybridisatie eiwit-overexpressie of genamplificatie is aangetoond (in 20 - 30% van de patiënten). Het is echter twijfelachtig of op basis van één biopsie een representatief overzicht van de in vivo HER2 expressie status verkregen kan worden, omdat de expressie van een antigeen binnen één tumor heterogeen kan zijn en er bovendien ook expressieverschillen tussen de primaire tumor en metastasen op kunnen treden. Beeldvorming voorafgaand aan de feitelijke therapie (pretherapie “imaging”) zou van additionele waarde kunnen zijn voor de patiëntselectie, omdat het gebruikt kan worden om niet-invasief, kwantitatief en zelfs in verloop van de tijd (4-dimensionaal), de targetexpressie en MAb ophoping in alle tumorlaesies en normale weefsels vast te stellen. Deze informatie is waarschijnlijk bijzonder relevant in het geval MAb-therapie gecombineerd wordt met andere behandelingsmodaliteiten zoals chemo- en radiotherapie, om zo de routes te vinden die tot maximale synergie leiden. In de ideale situatie wordt tevens topografische informatie over de tumoruitbreiding verkregen zoals met PET/CT, om zo de homogeniteit van MAb tumoraccumulatie te kunnen beoordelen. Tot nu, werd antilichaam-imaging met name toegepast in de aanloop tot RIT, voor dosimetrische voorspellingen (14). In deze setting is kwantitatieve beeldvorming bijzonder aantrekkelijk vanwege het smalle therapeutische venster van RIT, waarbij met name beenmergtoxiciteit dosislimiterend is.

Op basis van de bemoedigende bevindingen met immuno-PET zoals beschreven in dit proefschrift, zijn recent meerdere klinische studies met ⁸⁹Zr-gelabelde MAb's gestart, waarvan één met ⁸⁹Zr-trastuzumab voor de beoordeling van de HER2 expressie status en voor detectie van HER2-positieve tumorlaesies in patiënten met mammacarcinoom. Preliminaire resultaten van de eerste patiënten in deze studie (15) toonden uitstekende tumoropname van het radioimmunoconjugaat en een beter oplossendvermogen vergeleken met eerdere SPECT studies met ¹¹¹In-trastuzumab (16). In andere immuno-PET studies met

bijvoorbeeld ^{89}Zr -gelabeld bevacizumab, cetuximab en ibritumomab tiuxetan, werden veelbelovende resultaten behaald bij de niet-invasieve evaluatie van MAb-opname en therapieplanning (17,18,19). Het is te verwachten dat er meer van dergelijke studies zullen volgen, ook studies met HHPCC patiënten.

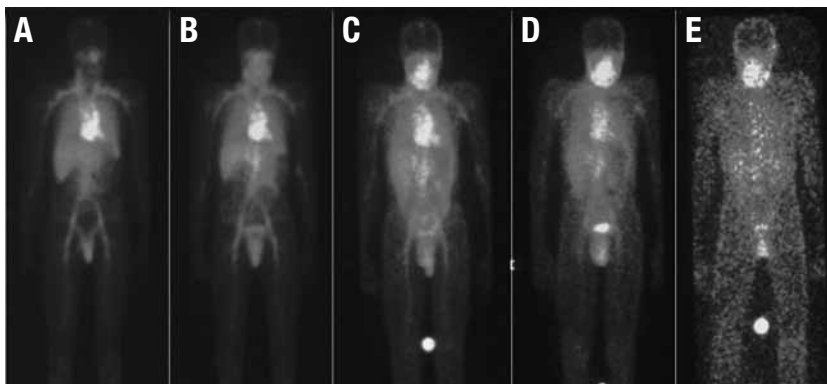


FIGURE 1.

γ -camera afbeeldingen van een patiënt met een tumor in de orofarynx. De scans werden verricht 1 (A), 24 (B), 72 (C), 144 (D), en 312 (E) uur na toediening van ^{186}Re -labeled cMAb U36. Direct na injectie bevindt het MAb zich in de "blood-pool". Relatieve opname van het radioimmunoconjugaat in de tumor neemt toe met de tijd, terwijl de tumor beter zichtbaar wordt op latere tijdstippen.

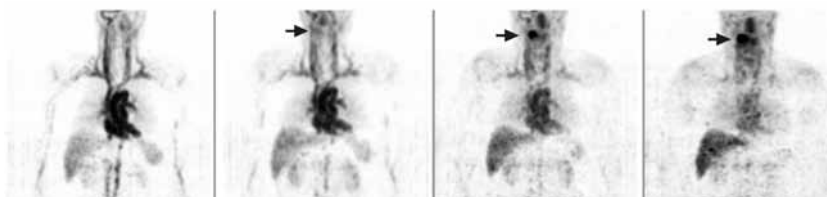


FIGURE 2.

^{89}Zr immuno-PET afbeeldingen van patiënt met een tumor rechts in de orofarynx (aangegeven door pijlen), gerangschikt (van links naar rechts) 1, 24, 72, en 144 uur na injectie. Circulerend ^{89}Zr -cmAb U36 in het hart, opname in organen en verhoogde opname in tijd van ^{89}Zr -cmAb U36 in de tumor is zichtbaar.

REFERENTIES

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
2. Colnot DR, Quak JJ, Roos JC, van Lingen A, Wilhelm AJ, van Kamp GJ, et al. Phase I therapy study of ¹⁸⁶Re-labeled chimeric monoclonal antibody U36 in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Nucl Med* 2000;41:1999-2010.
3. Colnot DR, Roos JC, de Bree R, Wilhelm AJ, Kummer JA, Hanft G, et al. Safety, biodistribution, pharmacokinetics, and immunogenicity of ^{99m}Tc-labeled humanized monoclonal antibody BIWA 4 (bivatuzumab) in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother* 2003;52:576-582.
4. Koppe MJ, Schaijk FG, Roos JC, Leeuwen P, Heider KH, Kuthan H, et al. Safety, pharmacokinetics, immunogenicity, and biodistribution of ¹⁸⁶Re-labeled humanized monoclonal antibody BIWA 4 (bivatuzumab) in patients with early-stage breast cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 2004;19:720-729.
5. de Bree R, Kuik DJ, Quak JJ, Roos JC, van den Brekel MWM, Castelijns JA, et al. The impact of tumour volume and other characteristics on uptake of radiolabeled monoclonal antibodies in tumour tissue of head and neck cancer patients. *Eur J Nucl Med* 1998;25:1562-1565.
6. Colnot DR, Ossenkoppele GJ, Roos JC, Quak JJ, de Bree R, Börjesson PKE, et al. Reinfusion of unprocessed, granulocyte colony-stimulating factor-stimulated whole blood allows dose escalation of ¹⁸⁶Re-labeled chimeric monoclonal antibody U36 radioimmunotherapy in a phase I dose escalation study. *Clin Cancer Res* 2002;8:3401-3406.
7. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006;354:567-578.
8. van Gog FB, Brakenhoff RH, Stigter-van Walsum M, Snow GB, van Dongen GAMS. Perspectives of combined radioimmunotherapy and anti-EGFR antibody therapy for the treatment of residual head and neck cancer. *Int J Cancer* 1998;77:13-18.
9. Shen S, DeNardo GL, Sgouros G, O'Donnell RT, DeNardo SJ. Practical determination of patient-specific marrow dose using radioactivity concentration in blood and body. *J Nucl Med* 1999;40:2102-2106.
10. Tjink BM, Buter J, de Bree R, Giaccone G, Lang MS, Staab A, et al. A phase I dose escalation study with anti-CD44v6 bivatuzumab mertansine in patients with incurable squamous cell carcinoma of the head and neck or esophagus. *Clin Cancer Res* 2006;12:6064-6072.
11. Börjesson PKE, Postema EJ, Roos JC, Colnot DR, Marres HA, van Schie MH, et al. Phase I therapy study with ¹⁸⁶Re-labeled humanized monoclonal antibody BIWA 4 (bivatuzumab) in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:3961S-3972S.

12. Wessels BW, Rogus RD. Radionuclide selection and model absorbed dose calculations for radiolabeled tumor associated antibodies. *Med Phys* 1984;11:638-645.
13. Sgouros G. Bone marrow dosimetry for radioimmunotherapy: Theoretical considerations. *J Nucl Med* 1993;34:689-694.
14. Verel I, Visser GW, van Dongen GA. The promise of immuno-PET in radioimmunotherapy. *J Nucl Med* 2005;46 Suppl 1:164S-171S.
15. Dijkers EC, Lub-de Hooge MN, Kosterink JG, Jager PL, Brouwers AH, Perk LR, et al. Characterization of ^{89}Zr -trastuzumab for clinical HER2 immunoPET imaging. *J Clin Oncol* 2007;25:3508.
16. Perik PJ, Lub-de Hooge MN, Gietema JA, van der Graaf WT, de Korte MA, Jonkman S, et al. Indium-111-labeled trastuzumab scintigraphy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:2276-2282.
17. Nagengast WB, De Vries EG, Hospers GA, Mulder NH, de Jong JR, Hollema H, et al. In vivo VEGF imaging with radiolabeled bevacizumab in a human ovarian tumor xenograft. *J Nucl Med* 2007;48:1313-1319.
18. Aerts HJLW, Dubois L, Perk LR, Vermaelen P, van Dongen GAMS, Wouters BG, et al. Disparity between in vivo EGFR expression and zirconium-89-labeled cetuximab uptake assessed by PET. *J Nucl Med* 2009;50:123-131.
19. Perk LR, Visser OJ, Stigter-Van Walsum M, Vosjan MJ, Visser GW, Zijlstra JM, et al. Preparation and evaluation of ^{89}Zr -Zevalin for monitoring ^{90}Y -Zevalin biodistribution with positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006;33:1337-1345.

