

IN 2019 NAAR VERWACHTING DE EERSTE KLINISCHE STUDIES MET TRASTUZUMAB-LX-AF

Nieuwe generatie antibody drug conjugates op komst

Antibody drug conjugates (ADC's) zijn 'slimme bommen' die hun dodelijke lading uitsluitend afleveren bij de tumorcellen. Op papier ten minste. In de praktijk blijkt de eerste generatie ADC's, waaronder ado-trastuzumab-emtansine (T-DM1) en brentuximab vedotin, voor verbetering vatbaar. Prof. dr. Guus van Dongen, hoogleraar Medische beeldvorming aan het VU medisch centrum, ontwikkelde samen met het Nederlandse farmaceutische bedrijf LinXis een techniek die leidt tot stabielere en wellicht effectievere ADC's.

Een paar jaar geleden kwam het middel T-DM1 op de markt. Dit is het 'slimme broertje' van trastuzumab; een antilichaam gericht tegen het eiwit HER2, dat in groten getale voorkomt op sommige mammacarcinomen. Het 'slimme' van T-DM1 zit 'm erin dat ieder molecuul trastuzumab is voorzien van een stuk of vier moleculen emtansine. Emtansine is een zeer krachtige tubulineremmer; een middel dat voorkomt dat de cel een cytoskelet kan opbouwen. Aangezien alle lichaamscellen gevoelig zijn voor het zeer potente emtansine, is het middel in pure vorm niet te gebruiken als geneesmiddel. Door de emtansinemoleculen te koppelen aan trastuzumab, krijgen ze echter een soort TomTom mee. Trastuzumab zorgt ervoor dat de emtansinemoleculen uitsluitend terechtkomen in de HER2-bevattende tumorcellen. T-DM1 heeft daardoor een dubbele werking: het pakt de HER2-positieve tumorcellen zowel aan via het blokkeren van de

HER2-afhankelijke signaalroute als door het verstoren van de opbouw van het cytoskelet in de tumorcel. Een vergelijkbaar principe gaat op voor brentuximab vedotin. Dit middel is geregistreerd voor de behandeling van gerecidiveerd of refractair Hodgkin-lymfoom en gerecidiveerd of refractair anaplastisch grootcellig lymfoom. In dit geval gaat het om de tubulineremmer monomethylauristatine E, die gekoppeld is aan een antilichaam gericht tegen CD30 – een eiwit dat in verhoogde mate tot expressie komt bij deze lymfomen.

Lastige tak van sport

'Het koppelen van zo'n zeer toxisch molecuul aan een antilichaam is een aparte en lastige tak van sport', stelt Van Dongen. 'Het luistert allemaal heel nauw. Om te beginnen moet het antilichaam na de koppeling aan het chemotherapeuticum zijn specificiteit behouden voor het tumoreiwit waartegen het is gericht. Je moet ook voorkomen dat het ADC direct in de lever wordt afgebroken of snel door de nieren wordt uitgescheiden. Ten slotte moet de koppeling tussen antilichaam en chemotherapeuticum verbreken als het ADC eenmaal op de plaats van bestemming is aangekomen, in de tumorcel dus, anders kan het chemotherapeuticum zijn werk niet doen. En, overbodig eigenlijk om te zeggen, de uitgangproducten moeten natuurlijk goed zijn. Het antilichaam moet selectief genoeg zijn en het chemotherapeuticum moet effectief zijn. Toch zijn er veel studies met ADC's noodgedwongen voortijdig gestopt doordat het antilichaam niet specifiek genoeg bleek of dat er te veel bijwerkingen ontstonden doordat het chemotherapeuticum te vroeg losliet.'

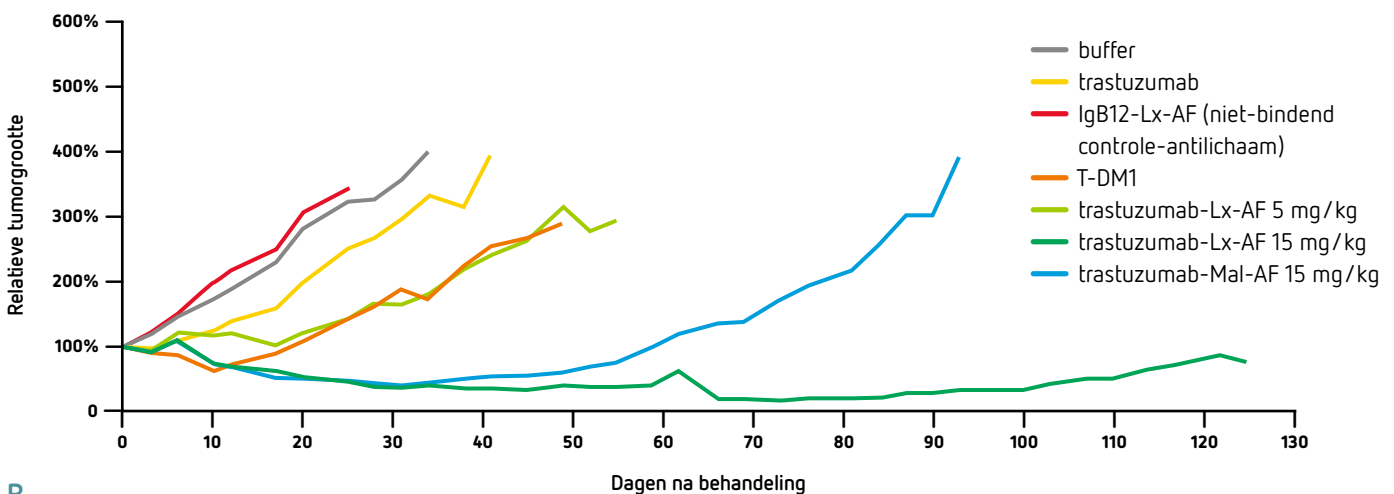
Cruciaal voor klinische werking

Het specialistische karakter van het maken van ADC's heeft ertoe geleid dat er tot voor kort maar enkele firma's waren die zich hiermee bezig hielden, vertelt Van Dongen. 'Die monopoliepositie maakt dat er weinig innovatie heeft plaatsgevonden op het terrein van het maken van ADC's. Alle ADC's die momenteel worden onderzocht, een stuk of zestig tegen diverse tumortypen, maken bijvoorbeeld gebruik van dezelfde twee

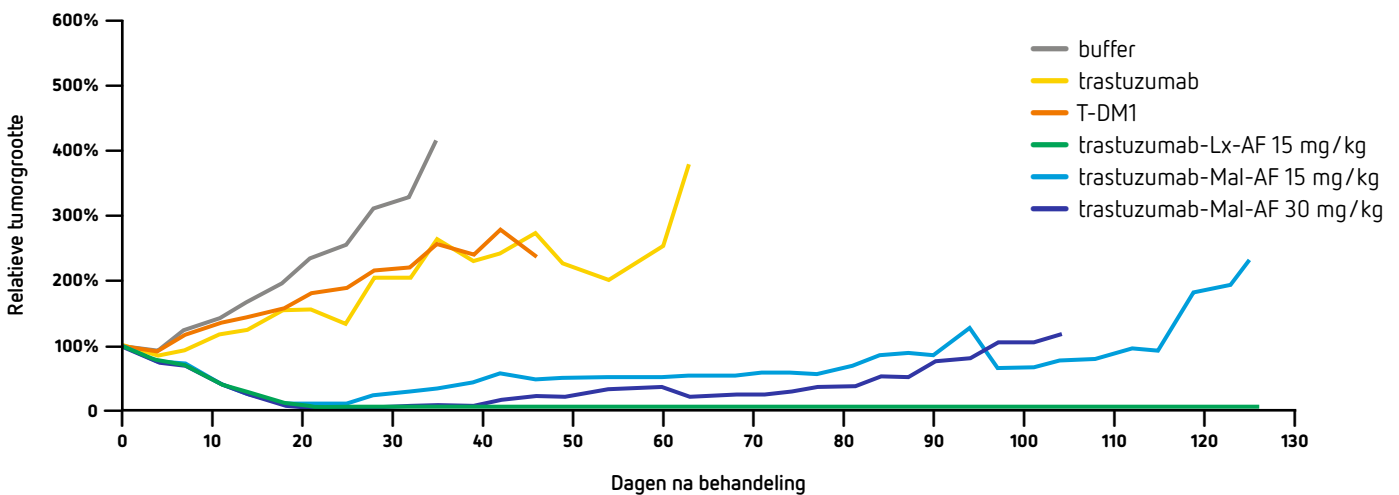
EFFECTIVITEIT ADC'S

Therapeutische effectiviteit van verschillende ADC's op de groei van xenografts in muizen: tumor met HER2-overexpressie (A) en trastuzumab-resistente, HER2-positieve tumor (B).

A



B



Bron: Cancer Res 2017;77(2):257-67

zogeneten *linkers*; de moleculen die het chemotherapeuticum koppelen aan het antilichaam.'

Deze *linkers*, legt Van Dongen uit, zijn cruciaal voor de klinische werking van de ADC's. 'De *linker* bepaalt de stabiliteit van het conjugaat tijdens zijn reis door het lichaam naar het doelwit. Het chemotherapeuticum moet natuurlijk niet al in het bloed loslaten van het antilichaam want dan komt het ook terecht in gezonde cellen. Metingen met T-DM1 hebben laten zien dat een deel van de emtansinemoleculen al van het trastuzumab heeft losgelaten voordat het bij de tumorcellen is aanbeland. De *linker* bepaalt ook hoe het chemotherapeuticum loslaat van het antilichaam als het eenmaal door de tumorcel is opgenomen. Bij zowel T-DM1 als brentuximab komt het chemotherapeuticum

in zijn pure vorm vrij in de cel. Dat betekent dat het, na het afsterven van de tumorcel, weer vrijkomt en kan worden opgenomen door nabijgelegen cellen. Ook kunnen membraanpompen het chemotherapeuticum uit de nog intacte tumorcel pompen, waarna naburige cellen het kunnen opnemen. Zolang dat ook tumorcellen zijn, is dat natuurlijk niet erg, maar als dat gezonde cellen zijn is dat natuurlijk niet gunstig.'

Nieuwe generatie linker

Wie streeft naar innovatie op het gebied van ADC-ontwikkeling doet er dus verstandig aan om op zoek te gaan naar een nieuw type *linker*. En dat is wat LinXis samen met Van Dongen en zijn collega's van de afdeling Radiologie en Nucleaire →



Prof. dr. G.A.M.S. van Dongen studeerde moleculaire biologie aan de Universiteit Utrecht waar hij ook promoveerde. Sinds 1989 is hij verbonden aan het VU medisch centrum, waar hij zich vooral bezighoudt met het zichtbaar maken van tumorcellen en *targeted drugs* zoals antilichamen, ADC's en TKI's in het lichaam. In 2002 werd hij benoemd tot hoogleraar Hoofd-halsoncologie en in 2012 tot hoogleraar

Medische beeldvorming. Momenteel is hij projectleider van het VUmc Imaging Center Amsterdam, dat met steun van de Europese Unie, de provincie Noord-Holland en de gemeente Amsterdam wordt gebouwd, naar verwachting in 2019 zal worden geopend en zich zal richten op het gebruik van radiochemie en imaging bij geneesmiddelenontwikkeling.

'Als we *in vivo* goed hebben bevestigd dat Lx als los molecuul niet toxisch is, hoeven we dat later niet meer voor iedere ADC die we ermee maken aan te tonen'

Geneeskunde van het VUmc en de afdeling Bioanalytische Chemie van de Vrije Universiteit de afgelopen jaren heeft gedaan. 'Daarbij kwam LinXis uit op ethyleendiamineplatinum; een molecuul dat sterk lijkt op het cytostaticum cisplatine', vertelt hij. 'Dit molecuul, dat we kortweg Lx noemen, blijkt zeer geschikt om antilichamen en chemotherapeutica aan elkaar te koppelen. Daarbij bindt Lx keurig aan het Fc-deel van het antilichaam, waardoor de specifieke bindingscapaciteit van het antilichaam voor HER2 intact blijft. De koppeling tussen Lx en de diverse chemotherapeutica leidt bovendien tot zeer stabiele moleculen die je als halffabricaten op de plank kunt leggen. Dat is in commercieel opzicht natuurlijk handig. Als iemand aanklopt met een specifiek antilichaam, kun je van dat antilichaam snel een ADC maken.' Met deze nieuwe *linker* maakt LinXis samen met de groep van Van Dongen nu een 'nieuwe generatie ADC's', met als eerste een ADC bestaande uit trastuzumab, Lx en het chemotherapeuticum auristatine F (AF). De eigenschappen van dit 'nieuwe generatie ADC' vergeleken zij met die van het originele T-DM1 en met trastuzumab waaraan AF is gekoppeld met behulp van maleimide, de 'eerste generatie' *linker* die wordt gebruikt in brentuximab vedotin. 'We konden allereerst *in vitro* en *in vivo*, dat wil zeggen in muizen, aantonen dat het gebruik van Lx leidt tot een ADC dat in humaan serum zeer stabiel is. *In vivo* onderzochten we de stabiliteit door het antilichaam en het chemotherapeuticum elk met een andere isotoop te labelen. We zagen vervolgens dat de isotopen keurig bij elkaar bleven in het muizenlichaam. Trastuzumab-Lx-AF hoopte zich *in vivo* keurig op in de tumorcellen.'

Specifieke werking

Hierna vergeleek Van Dongen in gekweekte mammacarcinoomcellijnen de antitumorwerking van de verschillende ADC's. 'We zagen dat de drie ADC's een ongeveer even krachtige tumordodende werking hebben op tumorcellen die veel HER2 tot expressie brengen. De werking van trastuzumab-Lx-AF is echter veel specifiekere dan die van trastuzumab-Mal-AF en van

T-DM1, bleek uit de proeven met tumorcellen die geen HER2 tot expressie brengen. Trastuzumab-Lx-AF heeft nagenoeg geen invloed op deze cellen, terwijl trastuzumab-Mal-AF en T-DM1 wel een celdodende werking hebben op deze cellen, zij het bij hogere concentraties dan nodig is voor cellen met veel HER2-expressie. Een mogelijke verklaring is dat trastuzumab-Mal-AF en T-DM1 minder stabiel zijn. De vrijgekomen moleculen van het chemotherapeuticum kunnen door de cellen worden opgenomen, ook als zij geen HER2 dragen. Lx en Lx-AF hebben *in vitro* geen celdodende werking doordat zij niet door cellen kunnen worden opgenomen. Ook kunnen Lx en Lx-AF, na opname door de tumorcel, de intacte cel niet meer verlaten. We verwachten dat dit het veiligheidsprofiel van ADC's op basis van Lx *in vivo* ten goede zal komen.'

Onverwacht, maar zeer interessant, is ten slotte de bevinding dat trastuzumab-Lx-AF zowel *in vitro* als in muizen met een xenotransplantaat ook in staat is trastuzumab-resistente (HER2-positieve) cellen te doden, veel beter dan trastuzumab-Mal-AF en T-DM1. 'Hoe dit komt, weten we nog niet. We zoeken dit nu verder uit.'

Eerste klinische studies

Al met al, concludeert Van Dongen, biedt Lx een goede basis voor de ontwikkeling van een nieuwe generatie ADC's. 'De technologie wordt inmiddels met volle kracht verder ontwikkeld door het bedrijf LinXis. We zijn nu druk bezig trastuzumab-Lx-AF naar de kliniek te brengen. Daarvoor moeten we nog enkele toxiciteitsstudies uitvoeren. Als we bijvoorbeeld *in vivo* goed hebben bevestigd dat Lx als los molecuul niet toxisch is, hoeven we dat later niet meer voor iedere ADC die we ermee maken aan te tonen. Daarnaast is LinXis bezig met het verwerven van de financiering voor de verdere ontwikkeling. Ik verwacht dat we in 2019 de eerste klinische studies met trastuzumab-Lx-AF kunnen starten. Dat middel moet de *proof of principle* voor deze nieuwe generatie ADC's worden. Verloopt dit allemaal succesvol, dan moeten we vervolgens afwachten of we met deze ADC's tegen de huidige hype van de *immune checkpoint inhibitors* kunnen opboksen. Of dat ze beide nodig blijken', besluit hij met een glimlach. ←

Literatuur

- Waalboer DCJ, Muns JA, Sijbrandi NJ, et al. Platinum (II) as bifunctional linker in antibody-drug conjugate formation: coupling of an NBD fluorophore to monoclonal antibody trastuzumab as a model. *ChemMedChem* 2015;10(5):797-803.
- Sijbrandi NJ, Merkul E, Muns JA, et al. A novel platinum(II)-based bifunctional ADC linker benchmarked using 89Zr-desferal and auristatin F-conjugated trastuzumab. *Cancer Res* 2017;77(2):257-67.