

[Combination of anti-EGFR and anti-HER2 antibodies:
hope in pancreatic cancer treatment]

Christel Larbouret, Bruno Robert, Isabelle Teulon, Eric Assénat, David Azria,
André Pèlegri

► **To cite this version:**

Christel Larbouret, Bruno Robert, Isabelle Teulon, Eric Assénat, David Azria, et al.. [Combination of anti-EGFR and anti-HER2 antibodies: hope in pancreatic cancer treatment]. Bulletin du Cancer, John Libbey Eurotext, 2007, 94 (10), pp.860-2. inserm-00192243

HAL Id: inserm-00192243

<https://www.hal.inserm.fr/inserm-00192243>

Submitted on 30 Sep 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Combinaison d'anticorps anti-EGFR et anti-HER2 : un espoir dans le traitement du cancer du pancréas

Combination of anti-EGFR and anti-HER2 antibodies : hope in pancreatic cancer treatment

¹Christel Larbouret, ¹Bruno Robert, ¹Isabelle Teulon, Eric Assénat², ^{1,3}David Azria, ¹André Pèlerin

¹Centre de Recherche en Cancérologie de Montpellier (CRCM); INSERM, U860 Immunociblage et Radiobiologie en Oncologie; Université Montpellier1; CRLC Val d'Aurelle - Paul Lamarque, Montpellier, F-34298, France. ²Département de nutrition et d'oncologie digestive, CRLC Val d'Aurelle-Paul Lamarque, Montpellier, F-34298, France. ³Département de radiothérapie, CRLC Val d'Aurelle-Paul Lamarque, Montpellier, F-34298, France.

Résumé. Le pronostic des tumeurs pancréatiques à un stade localement avancé reste, aujourd'hui encore, très sombre. Les traitements conventionnels de chimiothérapie montrant dans la majorité des cas un effet limité sur la survie globale, le développement de nouvelles thérapies est donc indispensable. Au vu de l'implication des récepteurs des facteurs de croissance et particulièrement des récepteurs EGFR et HER2 dans le développement des tumeurs pancréatiques, il semble pertinent d'envisager de cibler ces molécules dans le cadre d'une immunothérapie. Au cours d'une étude pré-clinique, nous avons montré dans différents types de carcinomes, l'effet thérapeutique *in vivo* de l'association de deux anticorps (Ac) humanisés utilisés en clinique, le matuzumab (Ac anti-EGFR) et le trastuzumab (Ac anti-HER2). Cette association d'Ac a induit un fort ralentissement de la croissance tumorale associé à des réponses complètes dans deux modèles de carcinomes pancréatiques exprimant faiblement HER2 et un modèle ovarien. Suite à ces résultats pré-cliniques une étude clinique de phase II va être initiée dans les cancers du pancréas.

Mot clés : Anticorps monoclonaux, EGFR, HER2, cancer, pancréas

Abstract. Unresectable pancreatic cancer is still an extremely dismal prognosis. The conventional therapy using chemotherapy has no real effect on survival and new treatments are needed. EGFR and HER2 have been reported to be implicated and upregulated in pancreatic cancer tumorigenesis. The use of monoclonal antibodies (mAb) targeting these two receptors seems a relevant strategy for a new therapy. In a pre-clinical study, we demonstrated the therapeutic effect of the combination of two humanized Ab used in clinic, trastuzumab (Ab anti-HER2) and matuzumab (Ab anti-EGFR) *in vivo* in different carcinoma types. This Ab combination induced an important tumoral growth delay associated with some complete responses in two pancreatic carcinoma models expressing low HER2 level and in an ovarian model. Following all these results, a clinical trial is planned in pancreatic cancer.

Key words : monoclonal antibodies, EGFR, HER2, cancer, pancreas

Le cancer du pancréas est responsable de 5000 décès par an en France et se situe au 4^{ème} rang des cancers en terme de mortalité avec un nombre croissant de patients atteints chaque année (+2% chez les hommes, +10% chez les femmes). Ce cancer est de pronostic très sombre, avec un taux de survie à un et cinq ans respectivement inférieur à 20 % et 5%. L'exérèse à visée curative constitue le traitement de référence. Elle ne concerne cependant qu'une minorité des patients : en effet, lors du diagnostic 80 à 95% des tumeurs ne sont pas résécables d'emblée. La chimiothérapie en monothérapie ou combinée est utilisée principalement en situation métastatique mais le taux de réponse et l'impact sur la survie restent très modestes (1). Les travaux de Burris (2) ont montré un avantage thérapeutique de l'utilisation de la gemcitabine en comparaison au fluorouracil et ont conduit à la prescription de la gemcitabine comme traitement de référence dans le cancer du pancréas métastatique ou avancé. La combinaison de la gemcitabine avec d'autres molécules cytotoxiques comme l'irinotecan (3), le fluorouracil (3) ou le cisplatine (4) n'a pas permis d'obtenir des résultats plus satisfaisants. En revanche, les avancées récentes en biologie moléculaire ont permis de mieux caractériser et comprendre le développement des tumeurs pancréatiques et ainsi d'ouvrir de nouvelles perspectives de traitement. La progression du cancer du pancréas serait la conséquence d'une accumulation de modifications génétiques et épigénétiques comprenant une inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs, et une activation ou surexpression des proto oncogènes comme les récepteurs des facteurs de croissance (5). Parmi ces récepteurs, la famille du récepteur à l'EGF comporte quatre types de récepteurs transmembranaires (EGFR ou HER1, HER2, HER3 et HER4).

L'expression ainsi que le rôle crucial dans l'accroissement de la masse tumorale des récepteurs EGFR et HER2 sont bien documentés dans de nombreux types de cancers dont le cancer du pancréas (6-8). Il a été montré dans cette pathologie une corrélation entre la co-expression de l'EGFR et de ses ligands et un mauvais pronostic (9). Une étude récente a

montré que 17% à 33% des adénocarcinomes pancréatiques surexprimaient le récepteur HER2 que ce soit au niveau protéique, génomique ou de l'ARNm (7) et que ce statut HER2 positif était corrélé à une survie plus courte.

Les récepteurs membranaires EGFR et HER2 ont une forte tendance à s'associer entre eux ou avec d'autres membres de la famille en homo- ou hétérodimères suite à la fixation d'un ligand. Les signaux intracellulaires induits par la phosphorylation des tyrosines intracellulaires peuvent être différents selon la composition des dimères et aboutissent à la transcription de gènes impliqués dans la croissance cellulaire, l'inhibition de l'apoptose, l'angiogénèse ou le pouvoir métastatique (10). Récemment, des travaux ont décrit les structures cristallographiques de l'EGFR, de HER2 et de HER3 (11) permettant de mieux comprendre le processus de dimérisation induit par l'interaction ligand-récepteur ainsi que d'expliquer pourquoi HER2 est le partenaire de choix dans la formation des dimères et pourquoi il ne possède pas de ligand. De plus, l'interaction entre les deux récepteurs (EGFR et HER2) a certaines conséquences au niveau cellulaire qui conduisent à prolonger leur activation et leur signalisation comme par exemple, l'inhibition de l'endocytose de l'EGFR (12), l'augmentation du recyclage de l'hétérodimère à la surface cellulaire (13), ou la diminution de la dissociation du ligand EGF de son récepteur (14).

Au vu de leur implication dans la croissance tumorale, les récepteurs EGFR et HER2 constituent des cibles thérapeutiques idéales et il est justifié de les inhiber dans le cadre d'une thérapie anti-cancéreuse. Dans ce but, deux types de molécules ont été développés en clinique : les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) qui agissent au niveau intracellulaire et les anticorps monoclonaux (AcM) dirigés contre le domaine extracellulaire de l'un ou l'autre des récepteurs (15). C'est cette dernière classe de médicaments que nous étudions au laboratoire (16).

Plusieurs AcM ont été approuvés par la Food and Drug Administration (FDA) et l'European Medicines Agency (EMA) et sont aujourd'hui prescrits en clinique. Parmi eux, le trastuzumab, dirigé contre HER2 est utilisé pour le traitement de certains cancers du sein métastatique et le cetuximab, dirigé contre l'EGFR, utilisé en association avec une chimiothérapie dans le cancer du côlon. Dans le traitement du cancer du pancréas, différents protocoles utilisant des anticorps ont été étudiés chez le patient. Dans le cadre d'une étude pilote, l'association du trastuzumab et de la gemcitabine a été bien tolérée mais a montré un bénéfice thérapeutique limité (17). Le cetuximab a également été injecté en association avec la gemcitabine dans une étude de phase II chez des patients atteints de cancer du pancréas avancé. Douze pourcent des patients ont montré une réponse partielle et 63% une stabilisation de la maladie (18). Plus récemment, les résultats obtenus dans une étude de phase III associant la chimiothérapie au cetuximab ont été décevants (19). Un autre anticorps humanisé dirigé contre l'EGFR, le matuzumab, a également montré une activité intéressante dans une étude de phase I chez des patients atteints de cancer du pancréas avancé (20).

C'est dans ce contexte d'évaluation de thérapies ciblées que se place l'étude pré-clinique dans laquelle nous avons associé deux anticorps humanisés dirigés l'un contre l'EGFR (le matuzumab) et l'autre contre HER2 (le trastuzumab) dans le but de perturber la formation des hétérodimères EGFR-HER2 et d'optimiser la réponse thérapeutique dans un modèle pancréatique (Figure 1, A). L'association d'inhibiteurs ciblant ces deux récepteurs a déjà montré des effets bénéfiques en comparaison au traitement avec un seul inhibiteur dans d'autres pathologies (21).

L'association trastuzumab - matuzumab a été évaluée chez des souris immunodéficientes porteuses de carcinomes pancréatiques humains (22). Le traitement a consisté en l'injection par voie intra-péritonéale deux fois par semaine pendant quatre semaines des anticorps soit seul, soit en association. Une inhibition significative de la croissance tumorale ainsi qu'une

rémission complète de certaines tumeurs ont pu être observées dans le groupe de souris traitées avec l'association des deux anticorps. Cet important ralentissement de la croissance tumorale a été obtenu lorsque le traitement a débuté avec des tumeurs de petits volumes mais également avec des tumeurs bien implantées, de gros volume. L'association d'anticorps a montré un effet thérapeutique supérieur à celui obtenu avec des doses quatre fois plus importantes d'anticorps seuls, suggérant une synergie entre le matuzumab et le trastuzumab (Figure 1, B).

Les analyses *in vitro* suggèrent que cet effet thérapeutique passerait par une inhibition de l'activation des récepteurs EGFR et HER2 via leur phosphorylation ainsi qu'une inhibition des voies de signalisations intra-cellulaire de survie et de différenciation respectivement, AKT et MAPK.

L'efficacité thérapeutique de l'association des deux anticorps humanisés trastuzumab-matuzumab a été montrée dans deux modèles de carcinomes pancréatiques mais également dans un modèle de carcinome ovarien, permettant d'envisager le traitement d'autres cancers. Il est important de préciser que les deux modèles de carcinomes pancréatiques choisis en raison de leur faible expression de HER2 auraient a priori été exclus des thérapies anti-HER2. En effet, le trastuzumab a une efficacité thérapeutique bien documentée dans le cancer du sein mais sa prescription est limitée et uniquement autorisée pour les tumeurs sur-exprimant le récepteur HER2.

Au vu des résultats pré-cliniques encourageants obtenus au sein du laboratoire et dans un contexte où il n'existe pas de thérapie convaincante dans le traitement du cancer du pancréas, une étude de phase II est envisagée chez des patients porteurs d'un adénocarcinome pancréatique métastatique après une première ligne de traitement à la gemcitabine.

1. Azria D, Ychou M, Jacot W, Thezenas S, Lemanski C, Senesse P, et al. Treatment of unresectable, locally advanced pancreatic adenocarcinoma with combined radiochemotherapy with 5-fluorouracil and cisplatin. *Pancreas*. 2002;25:360-65
2. Burris HA, 3rd, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, et al. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol*. 1997;15:2403-13
3. Rocha Lima CM, Green MR, Rotche R, Miller WH, Jr., Jeffrey GM, Cisar LA, et al. Irinotecan plus gemcitabine results in no survival advantage compared with gemcitabine monotherapy in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer despite increased tumor response rate. *J Clin Oncol*. 2004;22:3776-83
4. Heinemann V, Quietzsch D, Gieseler F, Gonnermann M, Schonekas H, Rost A, et al. Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:3946-52
5. Li D, Xie K, Wolff R, Abbruzzese JL. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2004;363:1049-57
6. Tobita K, Kijima H, Dowaki S, Kashiwagi H, Ohtani Y, Oida Y, et al. Epidermal growth factor receptor expression in human pancreatic cancer: Significance for liver metastasis. *Int J Mol Med*. 2003;11:305-09
7. Saxby AJ, Nielsen A, Scarlett CJ, Clarkson A, Morey A, Gill A, et al. Assessment of HER-2 status in pancreatic adenocarcinoma: correlation of immunohistochemistry, quantitative real-time RT-PCR, and FISH with aneuploidy and survival. *Am J Surg Pathol*. 2005;29:1125-34
8. Dugan MC, Dergham ST, Kucway R, Singh K, Biernat L, Du W, et al. HER-2/neu expression in pancreatic adenocarcinoma: relation to tumor differentiation and survival. *Pancreas*. 1997;14:229-36

9. Yamanaka Y, Friess H, Kobrin MS, Buchler M, Kunz J, Beger HG, et al. Overexpression of HER2/neu oncogene in human pancreatic carcinoma. *Hum Pathol.* 1993;24:1127-34
10. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer.* 2005;5:341-54
11. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TP, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell.* 2003;12:541-52
12. Wang Z, Zhang L, Yeung TK, Chen X. Endocytosis deficiency of epidermal growth factor (EGF) receptor-ErbB2 heterodimers in response to EGF stimulation. *Mol Biol Cell.* 1999;10:1621-36
13. Baulida J, Kraus MH, Alimandi M, Di Fiore PP, Carpenter G. All ErbB receptors other than the epidermal growth factor receptor are endocytosis impaired. *J Biol Chem.* 1996;271:5251-57.
14. Wilkinson JC, Staros JV. Effect of ErbB2 coexpression on the kinetic interactions of epidermal growth factor with its receptor in intact cells. *Biochemistry.* 2002;41:8-14
15. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:505-16
16. Pèlerin A, Xavier F, Barbet J, Bartholeyns J, Baty D, Buchegger F, et al. Immunociblage des tumeurs : situation et perspectives en 2000. *Bull Cancer.* 2000;87:777-91
17. Safran H, Iannitti D, Ramanathan R, Schwartz JD, Steinhoff M, Nauman C, et al. Herceptin and gemcitabine for metastatic pancreatic cancers that overexpress HER-2/neu. *Cancer Invest.* 2004;22:706-12
18. Xiong HQ, Rosenberg A, LoBuglio A, Schmidt W, Wolff RA, Deutsch J, et al. Cetuximab, a monoclonal antibody targeting the epidermal growth factor receptor, in

combination with gemcitabine for advanced pancreatic cancer: a multicenter phase II Trial. *J Clin Oncol.* 2004;22:2610-16

19. O'Reilly EM, Abou-Alfa GK. Cytotoxic therapy for advanced pancreatic adenocarcinoma. *Semin Oncol.* 2007;34:347-53

20. Graeven U, Kremer B, Sudhoff T, Killing B, Rojo F, Weber D, et al. Phase I study of the humanised anti-EGFR monoclonal antibody matuzumab (EMD 72000) combined with gemcitabine in advanced pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2006;94:1293-99

21. Moulder SL, Yakes FM, Muthuswamy SK, Bianco R, Simpson JF, Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor (HER1) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) inhibits HER2/neu (erbB2)-overexpressing breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 2001;61:8887-95

22. Larbouret C, Robert B, Navarro-Teulon I, Thezenas S, Ladjemi MZ, Morisseau S, et al. In vivo therapeutic synergism of anti-epidermal growth factor receptor and anti-HER2 monoclonal antibodies against pancreatic carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2007;13:3356-62