

Ontwikkeling van nieuwe anti-kankermedicijnen

*geïllustreerd adhv Ibrutinib (Imbruvica)
ter behandeling van B-cel maligniteiten,
o.a. chronische lymfatische leukemie (CLL) en mantelcellymfoom (MCL)*

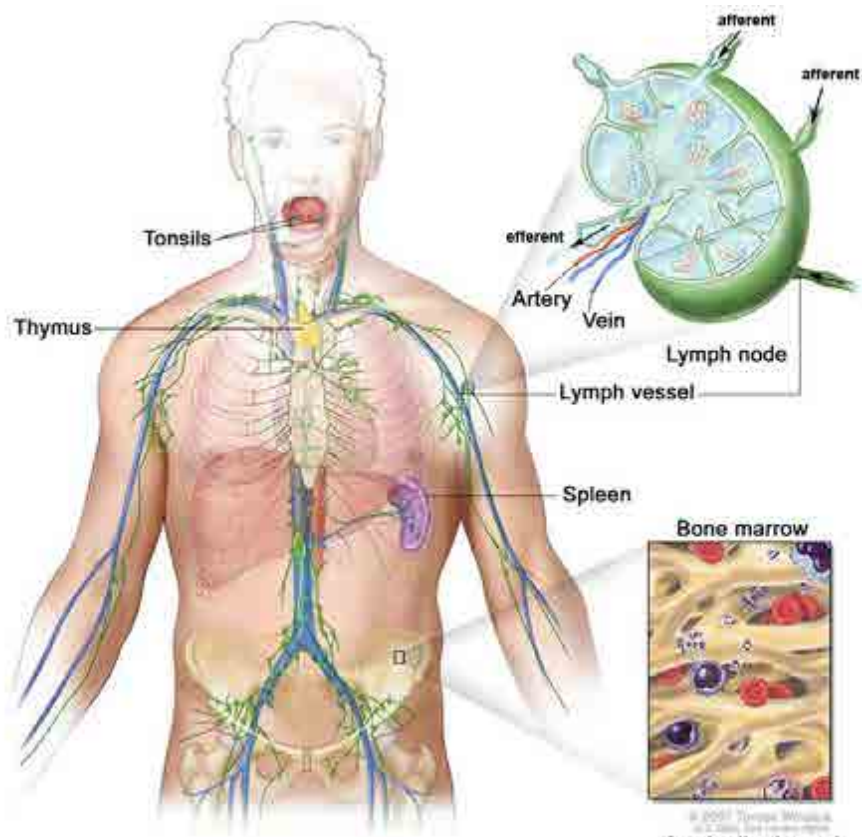
Marcel Spaargaren

*Immuno- and Hematopathology
Department of Pathology
Academic Medical Center
The Netherlands*

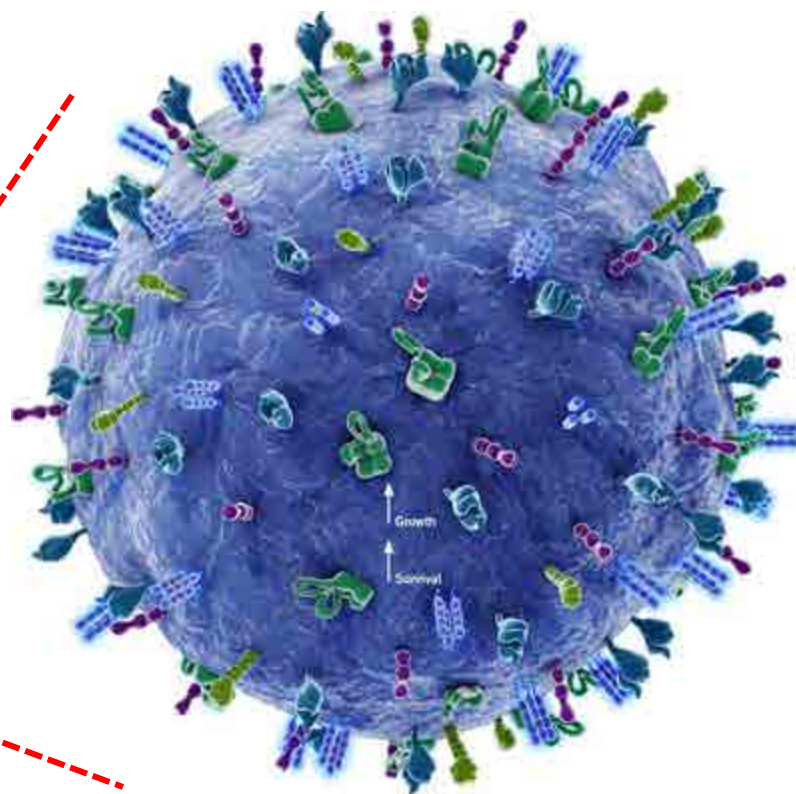
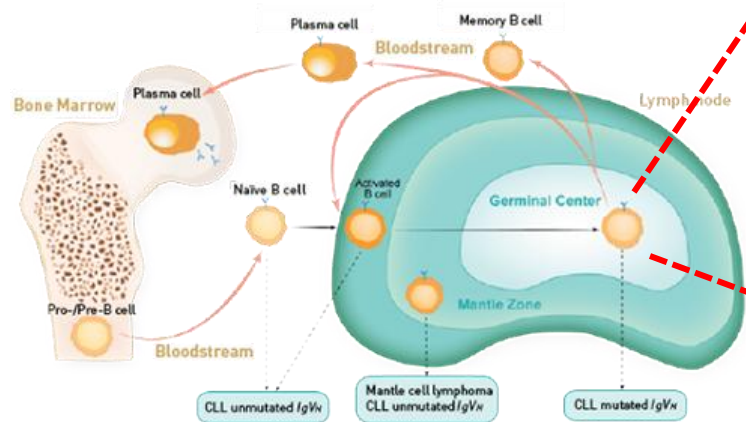


Pathology



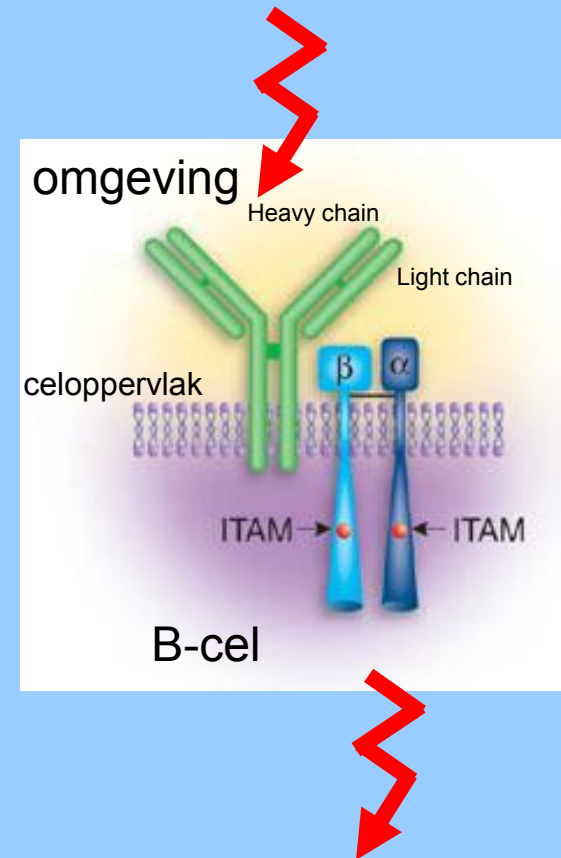


© 2008 Thieme Medical Publishers, Inc. All rights reserved. Not for educational use only

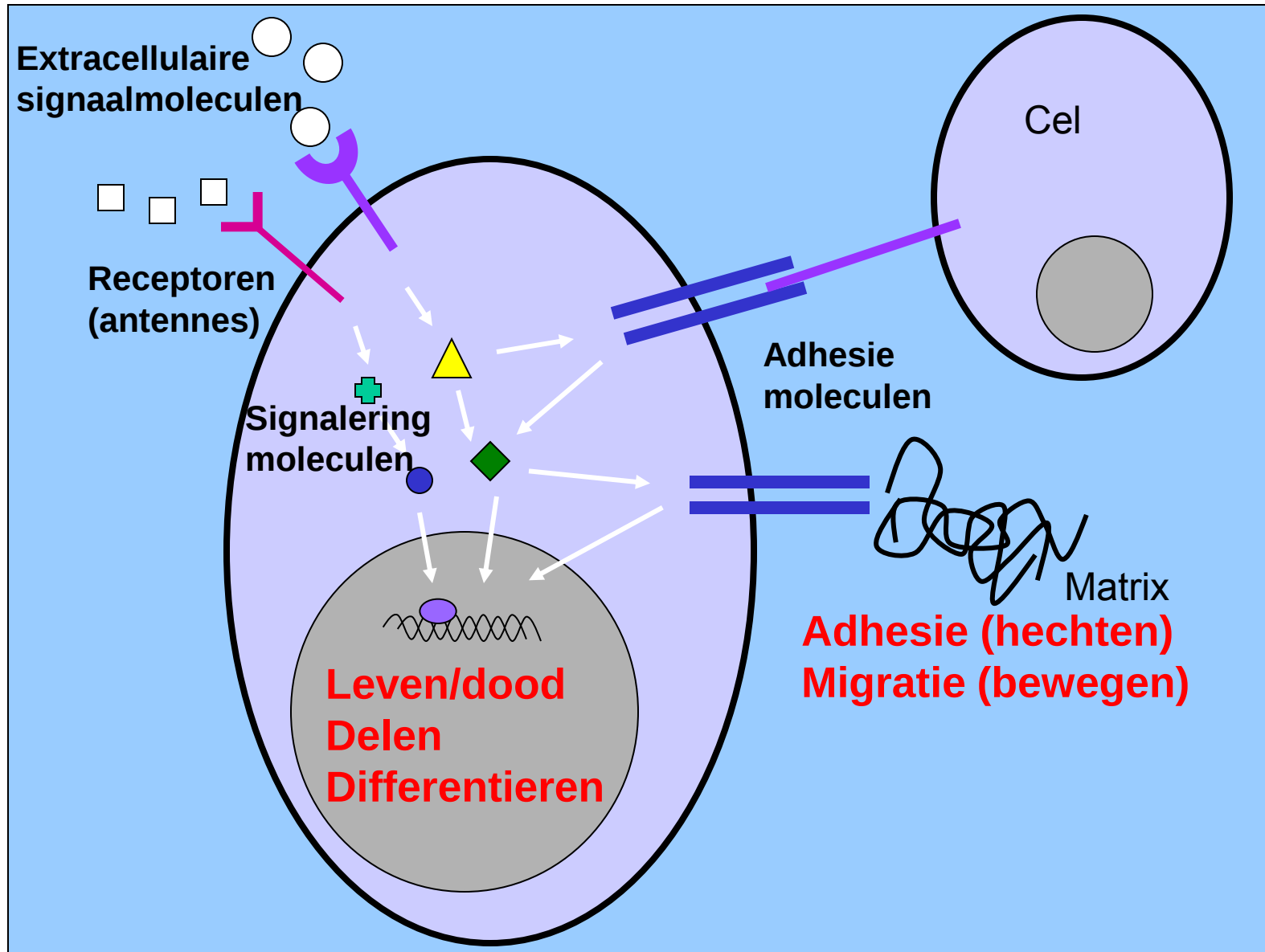


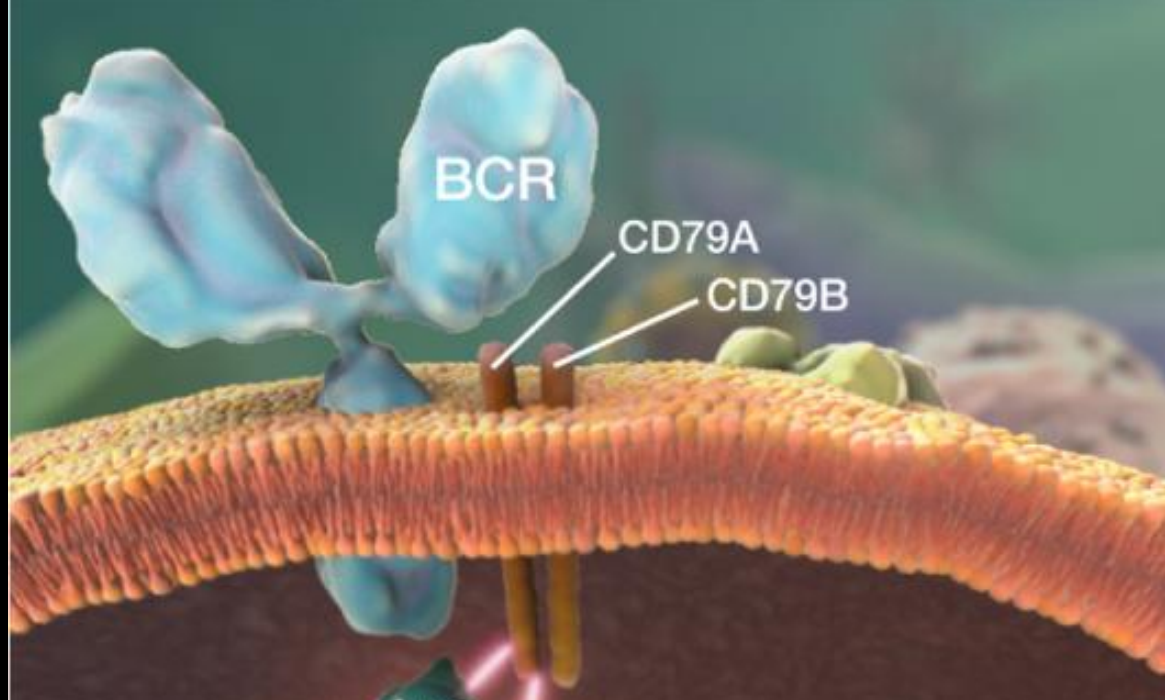
De B-cel antigen-receptor (BCR)

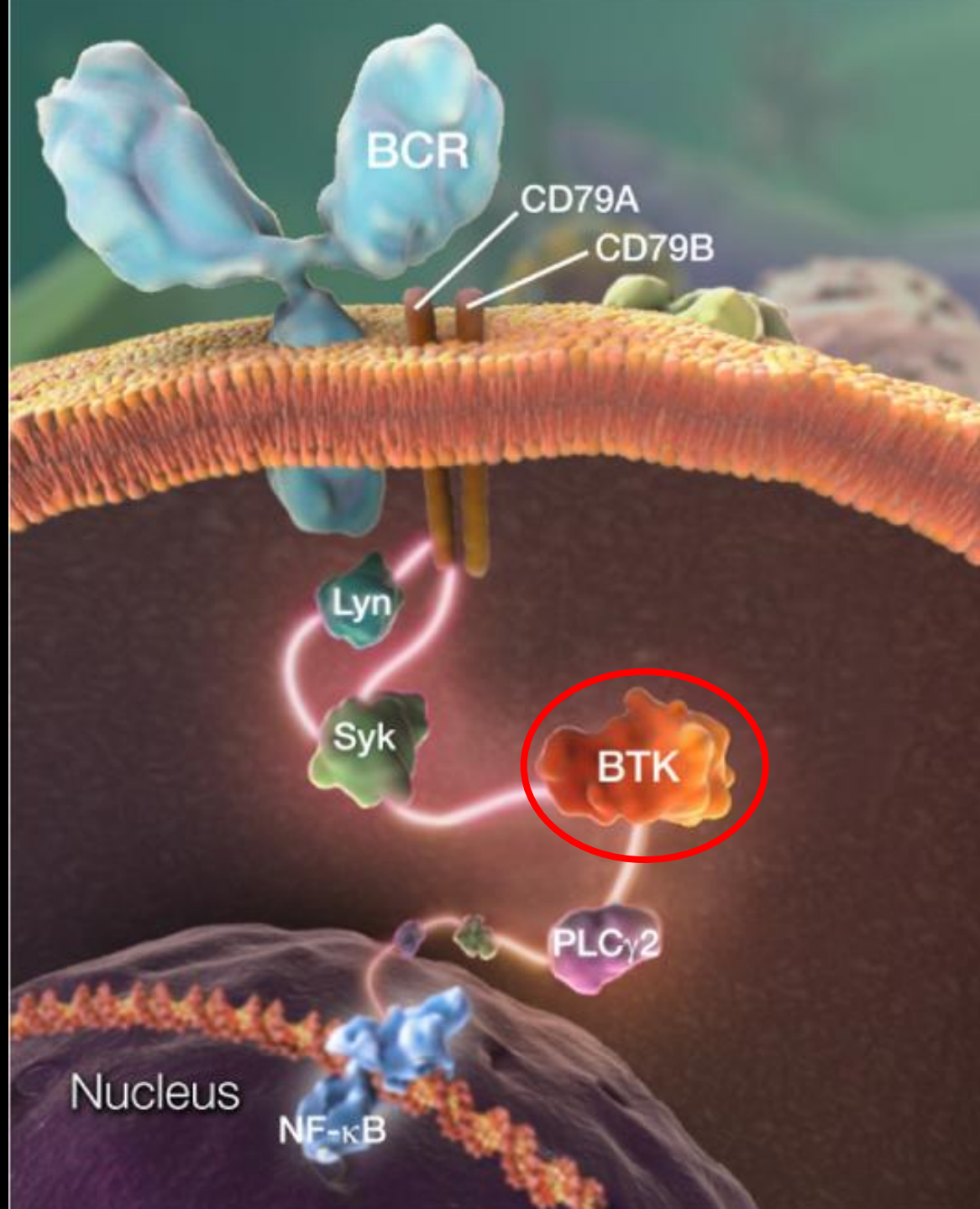
- Antilichaam-molekuul als receptor (antenne) op het celoppervlak
- Ontvangt een signaal van buiten en geeft het in de cel door (signaal-transductie), waardoor die cel bijvoorbeeld gaat delen



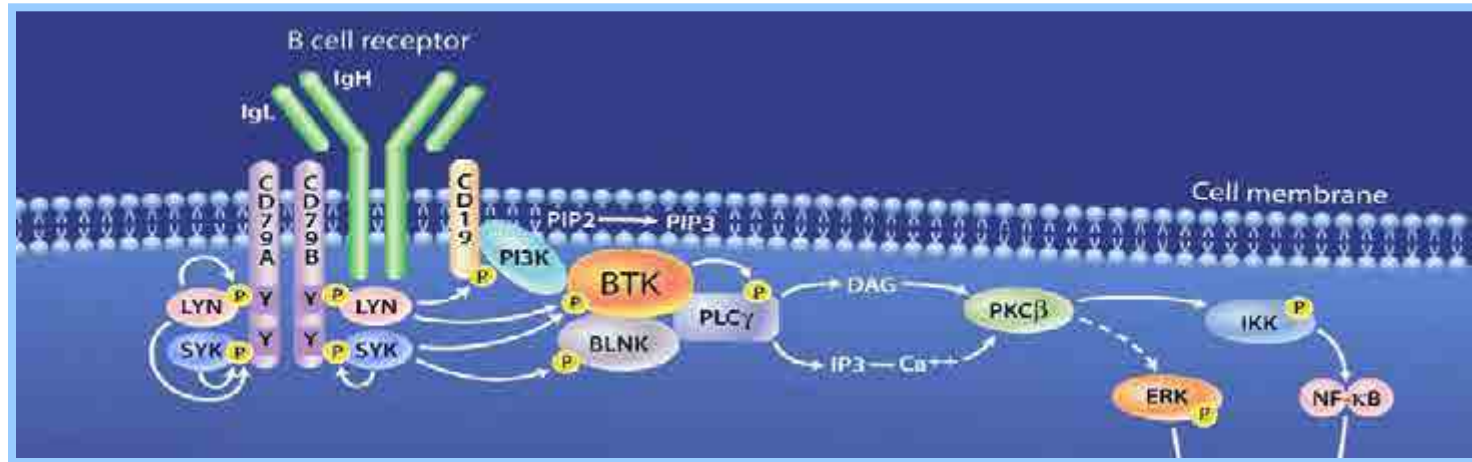
Wat is signaal-transductie?







Bruton's tyrosine kinase (BTK): een cruciale B-cel specifieke kinase en een veelbelovend therapeutisch target



- 1) BCR signaling is vereist voor de groei (deling en overleving) van de meeste kwaadaardige B cellen
- 2) BTK is een cruciale “schakel” voor BCR signaling
- 3) BTK is cruciaal voor B cellen maar niet voor andere cellen (XLA; niet lethaal): **BTK remmers zijn waarschijnlijk klinisch veilig!!**

Werkzaamheid van Btk remmers in diermodellen van autoimmuunziekten en lymfomen

PNAS | July 20, 2010 | vol. 107

Ibrutinib

The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy

Lee A. Honigberg^{a,1}, Ashley M. Smith^{a,1}, Mint Sirisawad^a, Erik Verner^a, David Loury^a, Betty Chang^a, Shyr Li^{b,c}, Zhengying Pan^{b,d}, Douglas H. Thamm^e, Richard A. Miller^{a,f}, and Joseph J. Buggy^{a,2}

^aPharmacyclics, Sunnyvale, CA 94085-4521; ^bCelera Genomics, South San Francisco, CA 94080; ^cExelixis, South San Francisco, CA 94080; ^dPeking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen City 518055, China; ^eColorado State University Animal Cancer Center, Fort Collins, CO 80523; and ^fStanford University Medical Center, Stanford, CA 94305



NATURE CHEMICAL BIOLOGY | VOL 7 | JANUARY 2011

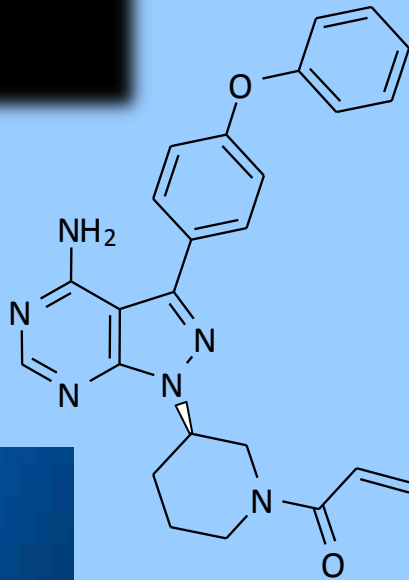
Specific Btk inhibition suppresses B cell- and myeloid cell-mediated arthritis

Julie A Di Paolo^{1,2,3}, Tao Huang^{2,4}, Mercedes Balazs², James Barbosa^{5,13}, Kai H Barck³, Brandon J Bravo⁴, Richard A D Carano⁴, James Darrow^{6,13}, Douglas R Davies⁴, Laura E DeForge⁷, Lauri Diehl⁸, Ronald Ferrando⁴, Steven L Gallion^{9,13}, Anthony M Giannetti⁴, Peter Gribbling², Vincent Hurez^{2,13}, Sarah G Hymowitz¹⁰, Randall Jones¹³, Jeffrey E Kropf^{5,13}, Wyne P Lee², Patricia M Maciejewski¹³, Scott A Mitchell¹³, Hong Rong¹³, Bart L Staker⁶, J Andrew Whitney¹³, Sherry Yeh⁷, Wendy B Young¹¹, Christine Yu¹⁰, Juan Zhang², Karin Reif^{2*} & Kevin S Currie^{5,13*}



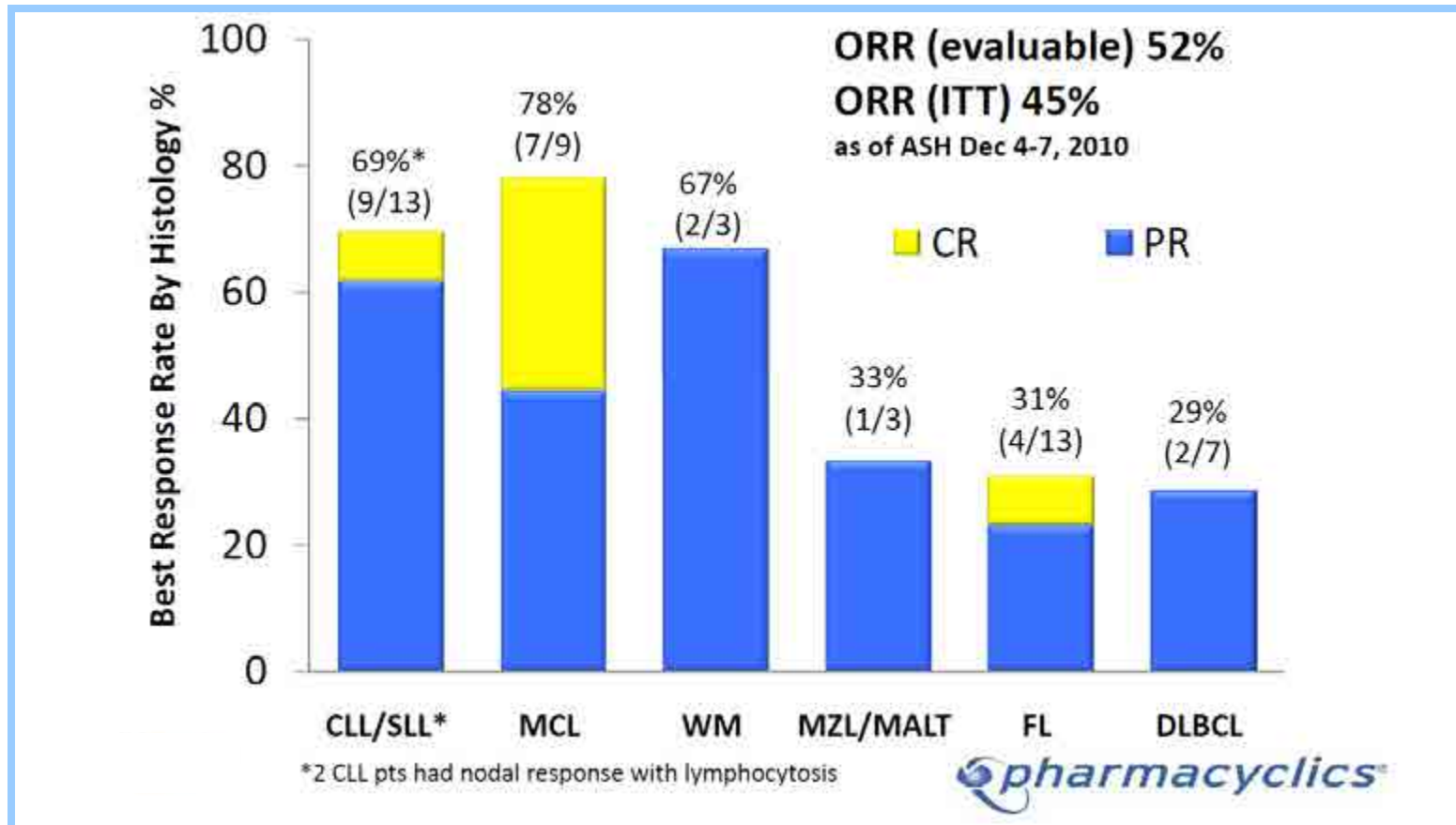
Ibrutinib:

een nieuwe BTK remmer met veelbelovende klinische activiteit in *lymfoom patienten*



- Bindt specifiek en irreversibel aan BTK
- Potente en selectieve BTK remming ($IC_{50} = 0.5 \text{ nM}$)
- Orale, eenmaal dagelijkse, inname resulteert in 24-uurs remming (1 pil per dag!)
- Veilig in > 180 patienten (in 2012), nauwelijks bijwerkingen (placebo-achtig; niet toxisch)
- Goede klinisch responsen in patienten met MCL, CLL, FL, DLBCL!!

Fase 1 klinische studie met indrukwekkende respons in *relapse/refractory* lymfoom patiënten (n=48)

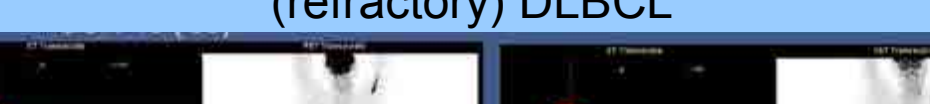


(Fowler et al, ASH 2010; Advani et al., J. Clin. Oncol. 2012)

Figure 1: Axial lymph nodes decrease after 1 month treatment with PCI-32765.

The figure displays two PET/CT scans of a patient, comparing the baseline (left) and post-treatment (right) states. The left scan, dated 19-Aug-2009, shows a large, bright, irregularly shaped mass in the upper abdomen, indicating significant lymph node involvement. The right scan, dated 22-Sep-2009, shows a significantly smaller and less intense mass in the same region, indicating a decrease in lymph node size and metabolic activity after one month of treatment with PCI-32765. The text "Axial lymph nodes decrease after 1 month treatment with PCI-32765" is overlaid on the right scan.

(refractory) DLBCL



PET/CT pre-treatment

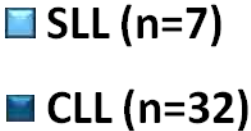
PET/CT post-treatment

MCL (low dose)

Baseline PET Scan

Re-staging PET scan after two cycles of therapy

fase 1A (8 maanden) en fase 1B (2 maanden)



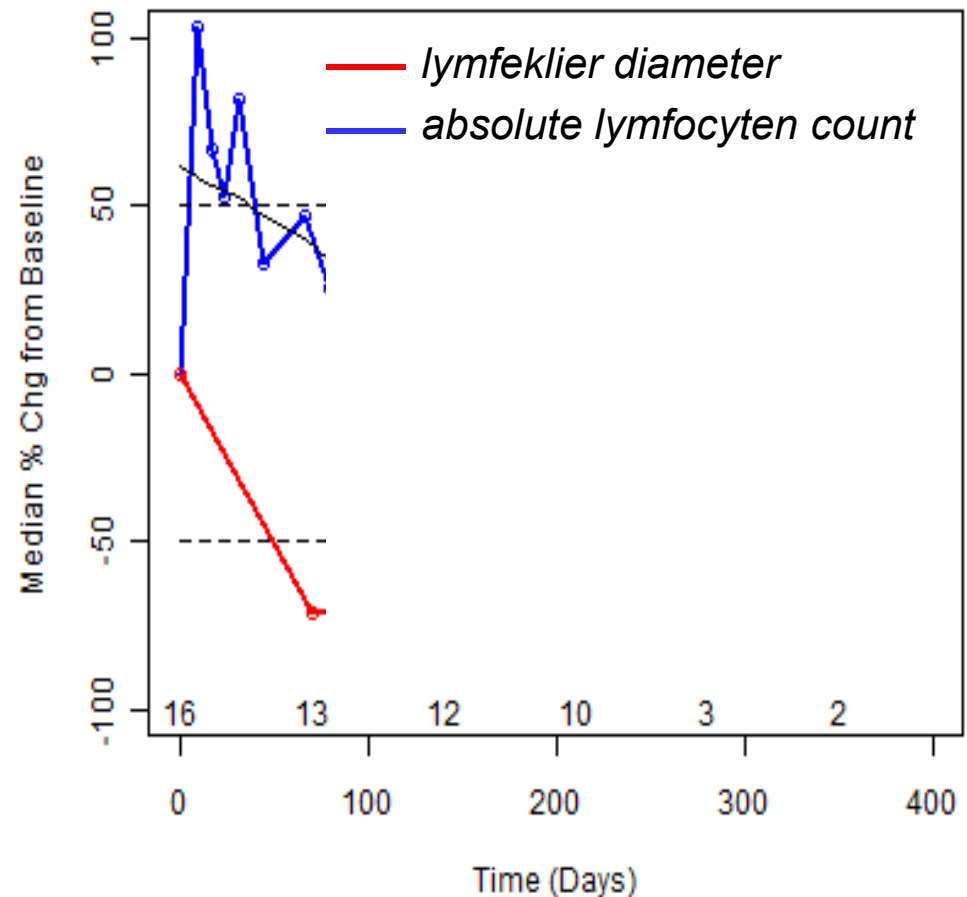
87%

Echter: afname van lymfeklierzwellings gaat gepaard met een toename van het aantal kwaadaardige cellen in het bloed (= lymfocytose)!!!??

Eerste resultaten fase 1a CLL patienten (n=16):

- Snelle afname van de **lymfeklierzwellings**
- Initiële toename van **maligne cellen in het bloed!?**

Dus: afname van lymfeklierzwellings komt niet doordat de cellen (direct) gedood worden!



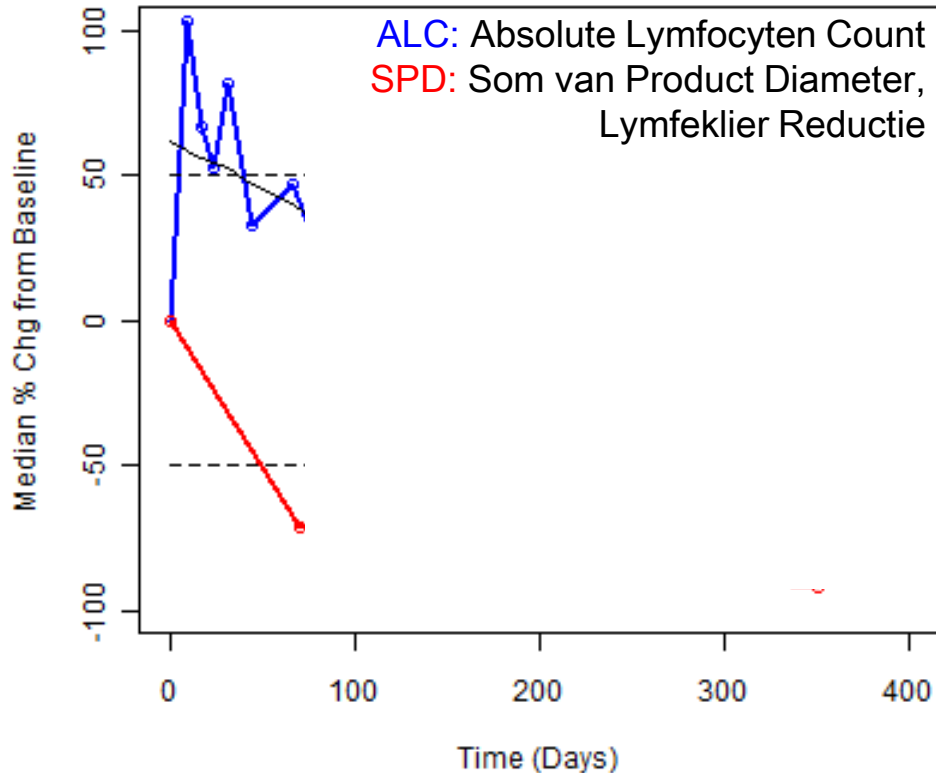
Een toename in het aantal maligne cellen in het bloed is een teken dat de ziekte verergert!



*Desalniettemin, na slechts een paar dagen voelden de patienten zich juist **beter** en vertoonden ze een indrukwekkende **afname in de lymfeklierzwellings**!!!!*

Onverwachte respons in CLL: lymfocytose

Phase I trial: CLL patients treated with Ibrutinib



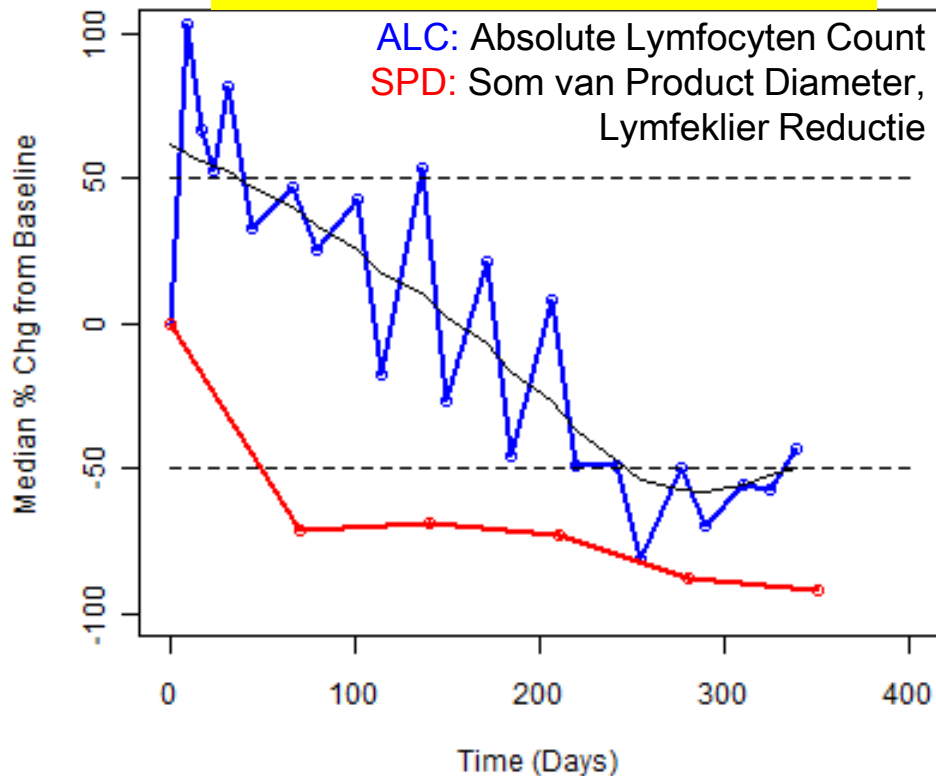
- Snelle afname van de **lymfeklierzwellling**
- Initiële toename van **maligne cellen in het bloed!?** (=lymfocytose)

Dus: afname van lymfeklierzwellling komt niet doordat de cellen (direct) gedood worden!!

Onverwachte respons in CLL: lymfocytose

Phase I trial: CLL patients treated with Ibrutinib

4 weken wel / 1 week niet

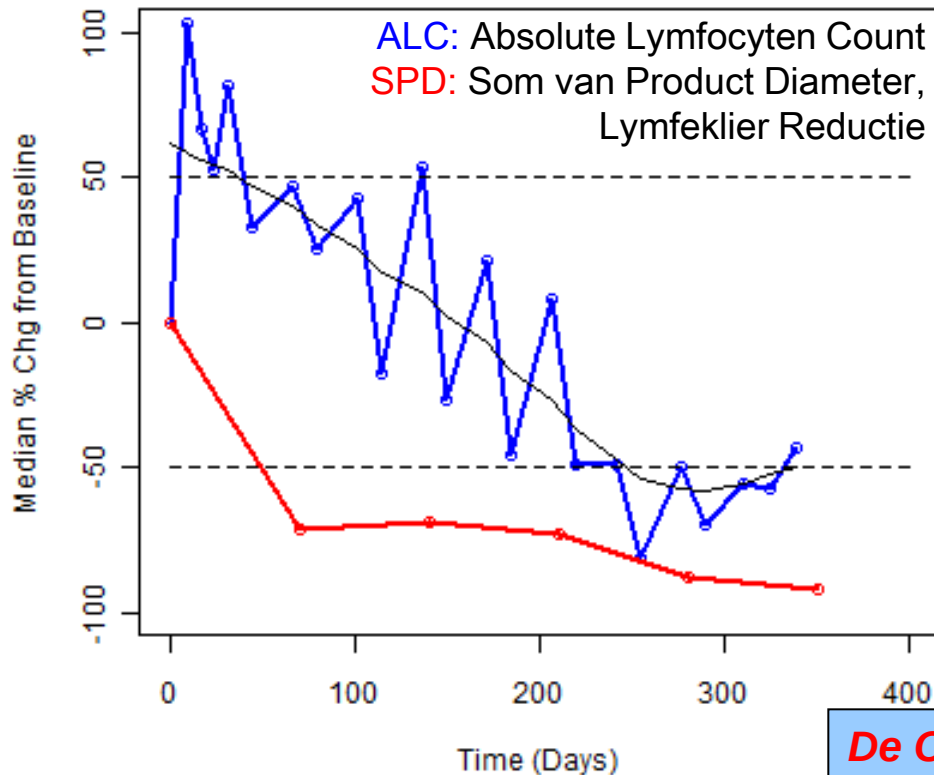


- Snelle afname van de **lymfeklierzwellings**
- Initiele **lymfocytose**
Dus: LK reductie niet door direct doodgaan van de cellen
- Graduele afname van ALC, tot onder begin-niveau
- Zaagtand patroon van ALC, reflecteert 28d/7d regiem*

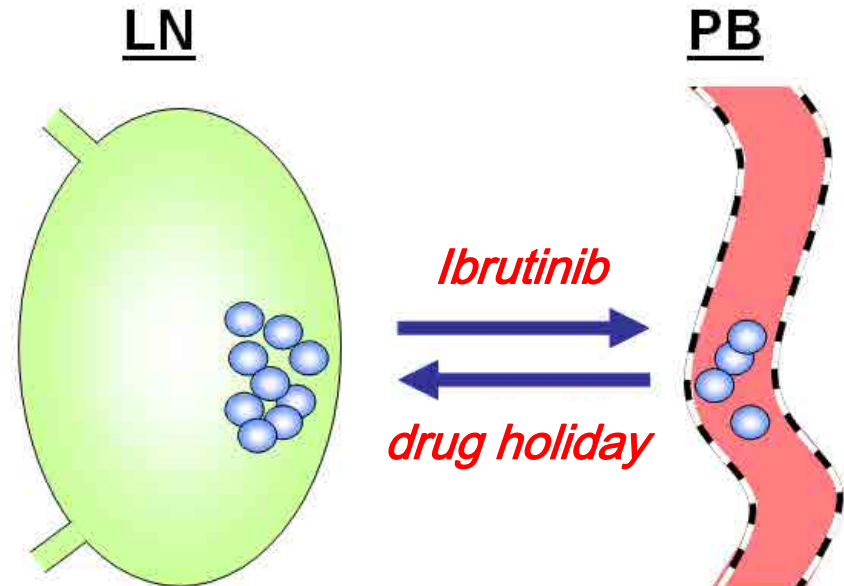
Onverwachte respons in CLL: lymfocytose is reversibel tijdens therapie-onderbreking

Phase I trial: CLL patients treated with Ibrutinib

4 weken wel / 1 week niet



Model

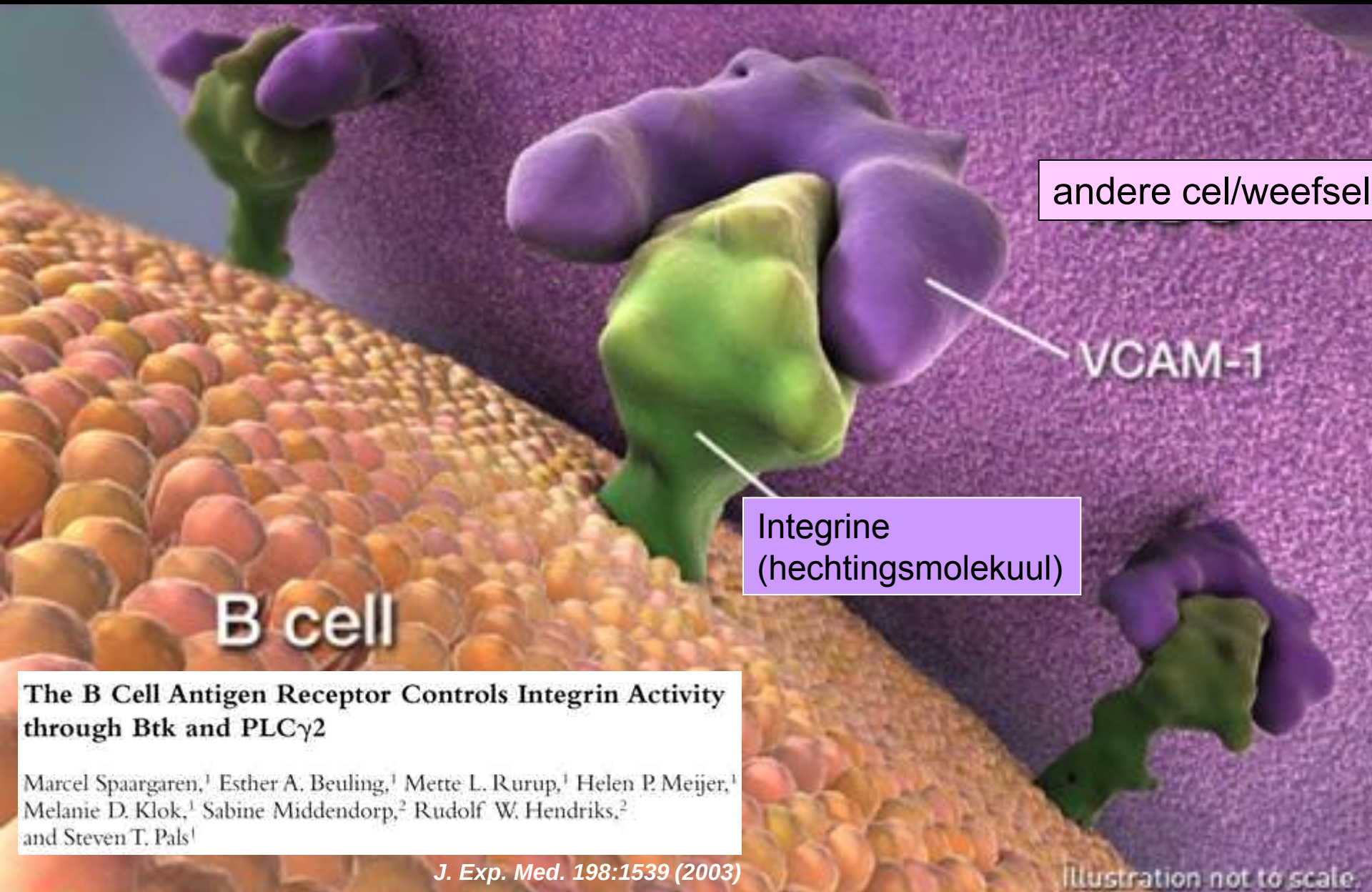


De CLL cellen worden dus niet direct gedood!!

Hoe komt dit???



BTK reguleert de adhesie (hechting) van B cellen aan andere cellen/weefsels



B cell

andere cel/weefsel

VCAM-1

Integrine
(hechtingsmolekuul)

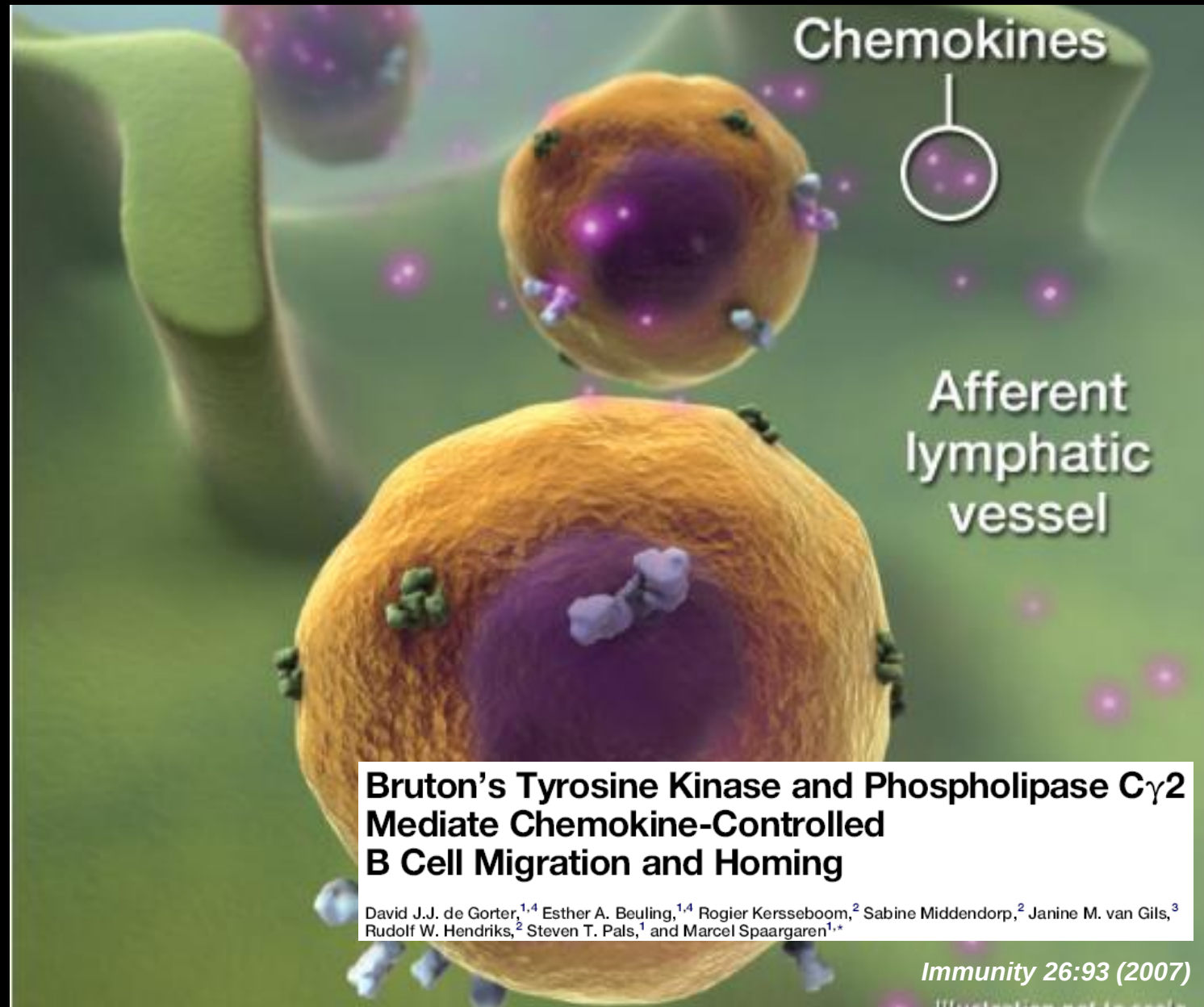
The B Cell Antigen Receptor Controls Integrin Activity through Btk and PLC γ 2

Marcel Spaargaren,¹ Esther A. Beuling,¹ Mette L. Rurup,¹ Helen P. Meijer,¹ Melanie D. Klok,¹ Sabine Middendorp,² Rudolf W. Hendriks,² and Steven T. Pals¹

J. Exp. Med. 198:1539 (2003)

Illustration not to scale.

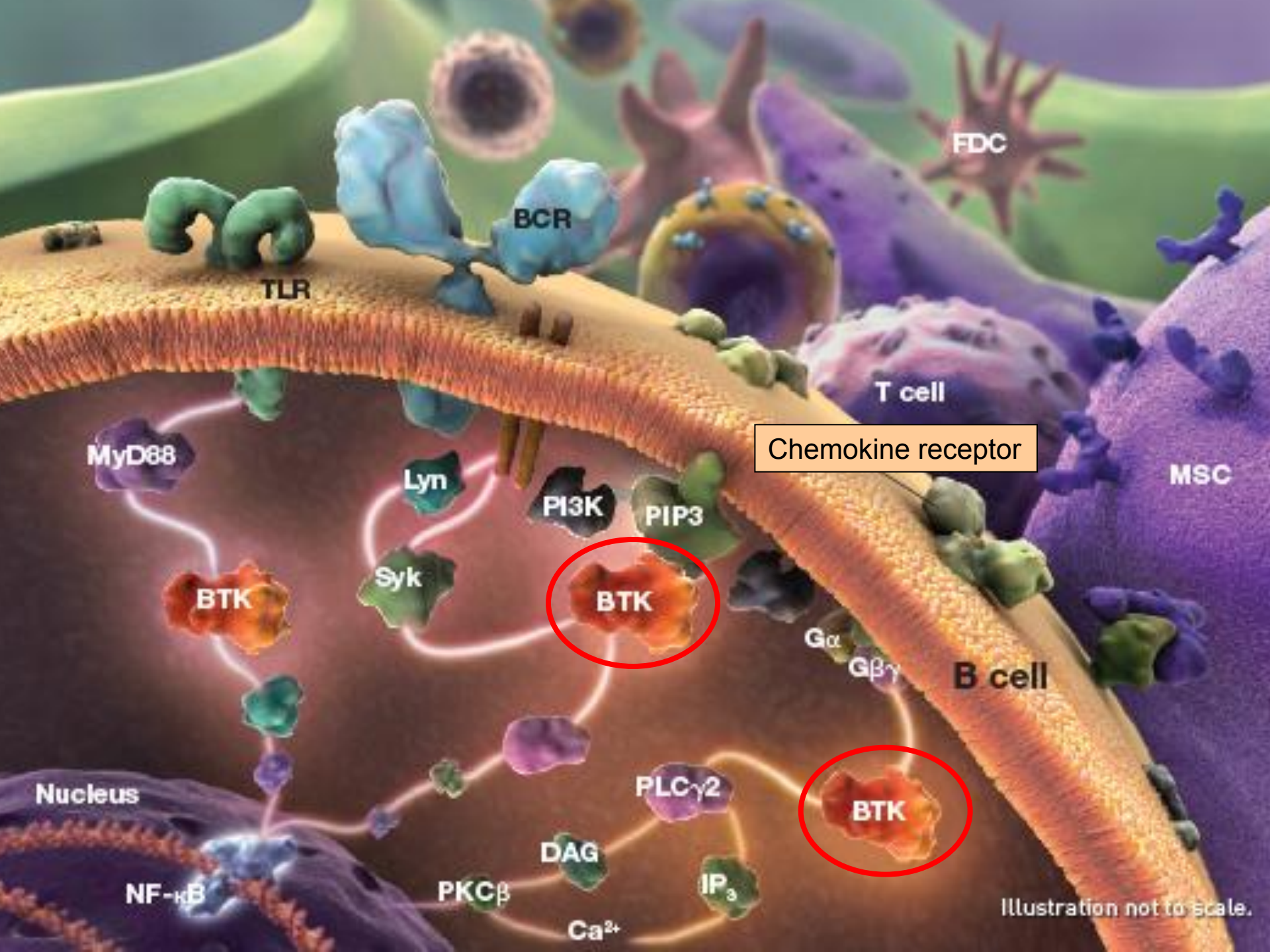
... en BTK reguleert ook migratie (reizen) van B cellen tussen het bloed en het lymfevatensysteem



Bruton's Tyrosine Kinase and Phospholipase C γ 2 Mediate Chemokine-Controlled B Cell Migration and Homing

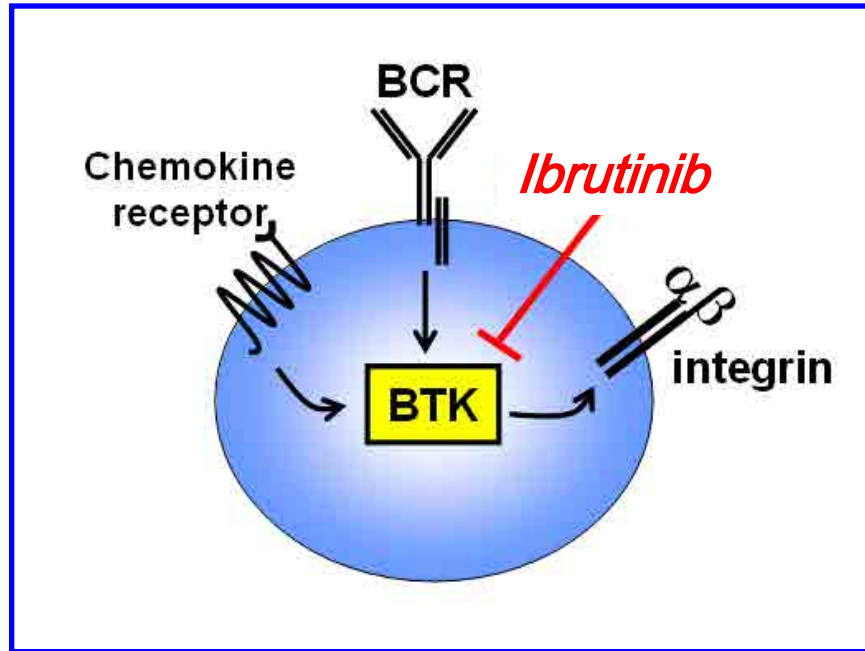
David J.J. de Gorter,^{1,4} Esther A. Beuling,^{1,4} Rogier Kersseboom,² Sabine Middendorp,² Janine M. van Gils,³ Rudolf W. Hendriks,² Steven T. Pals,¹ and Marcel Spaargaren^{1,*}

Immunity 26:93 (2007)





Ibrutinib remt de BCR- en chemokine-gereguleerde adhesie en migratie van CLL cellen

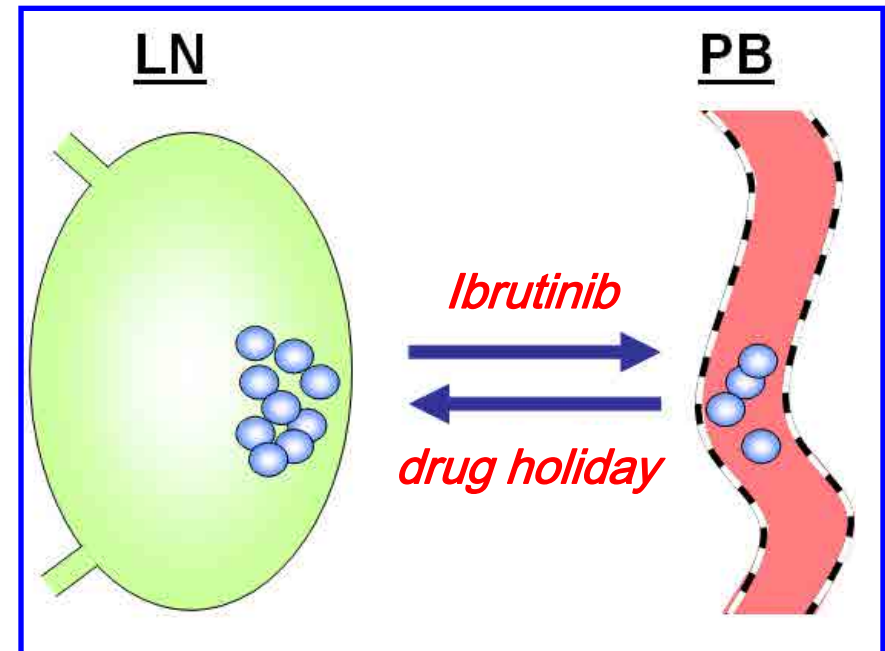
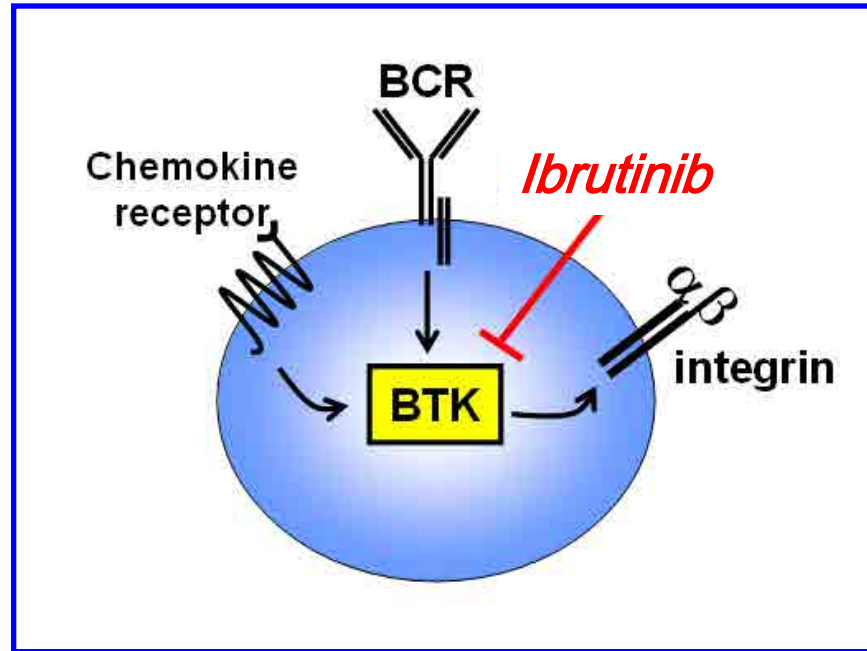


The clinically active BTK inhibitor PCI-32765 targets B-cell receptor– and chemokine-controlled adhesion and migration in chronic lymphocytic leukemia

Martin F. M. de Rooij,¹ Annemieke Kuil,¹ Christian R. Geest,² Eric Eldering,² Betty Y. Chang,³ Joseph J. Buggy,³ *Steven T. Pals,¹ and *Marcel Spaargaren¹

Departments of ¹Pathology and ²Experimental Immunology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands; and ³Pharmacyclics Inc, Sunnyvale, CA

Ibrutinib remt de BCR- en chemokine-gereguleerde *retentie en “homing”* van CLL cellen in lymfoide organen



The clinically active BTK inhibitor PCI-32765 targets B-cell receptor– and chemokine-controlled adhesion and migration in chronic lymphocytic leukemia

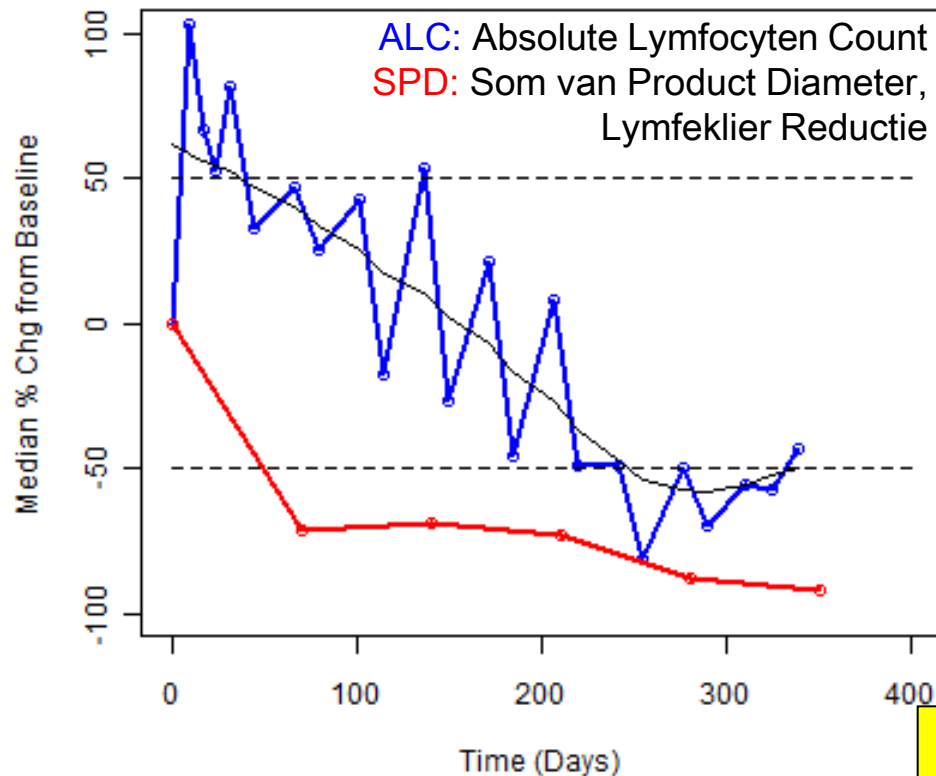
Martin F. M. de Rooij,¹ Annemieke Kuil,¹ Christian R. Geest,² Eric Eldering,² Betty Y. Chang,³ Joseph J. Buggy,³
*Steven T. Pals,¹ and *Marcel Spaargaren¹

Departments of ¹Pathology and ²Experimental Immunology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands; and
³Pharmacyclics Inc, Sunnyvale, CA

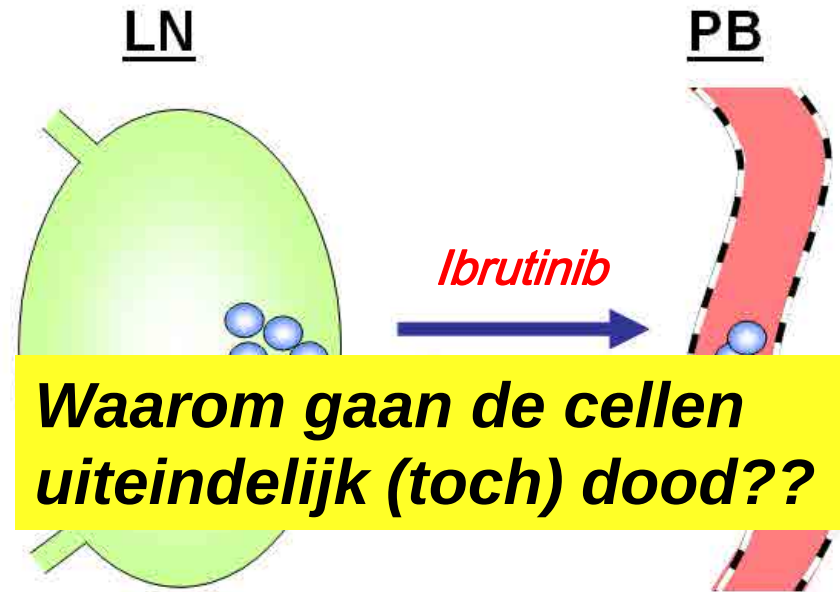
Onverwachte respons in CLL: afname lymfeklierzwellings + (reversibele) lymfocytose

Phase I trial: CLL patients treated with Ibrutinib

4 weeks on / 1 week off



Model



De CLL cellen gaan niet (direct) dood!

De Achilleshiel van CLL

CLL is een paradigma voor een soort kanker welke sterk afhankelijk is van de tumor-omgeving

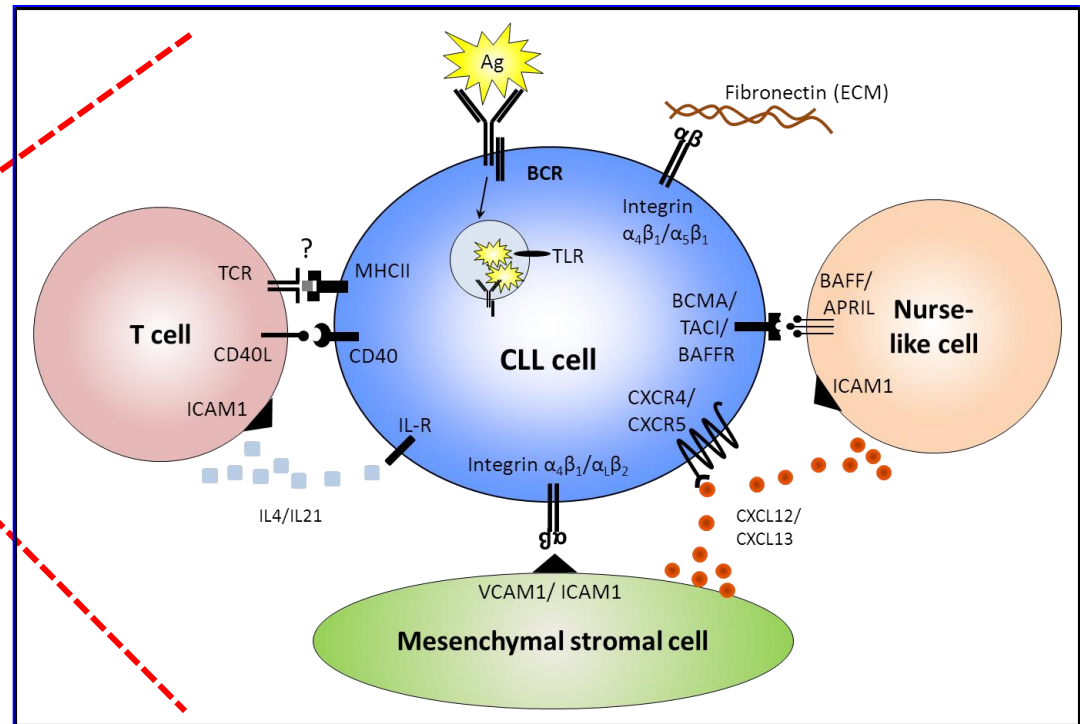
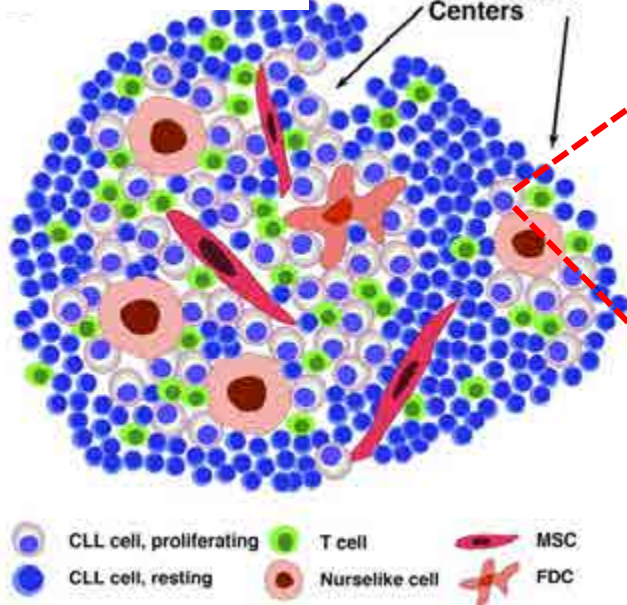


"Mijnheer Achilles, de dokter zal nu even naar die hiel van u kijken."

CLL en de lymfeklier micro-omgeving

In lymfoide organen (beenmerg, milt, lymfeklieren) zijn andere cellen aanwezig die stoffen produceren (o.a. zogenaamde groeifactoren) die er voor zorgen dat de CLL cellen **overleven en delen**. Deze cellen en groeifactoren zijn **afwezig** in bloed

Lymfeklier

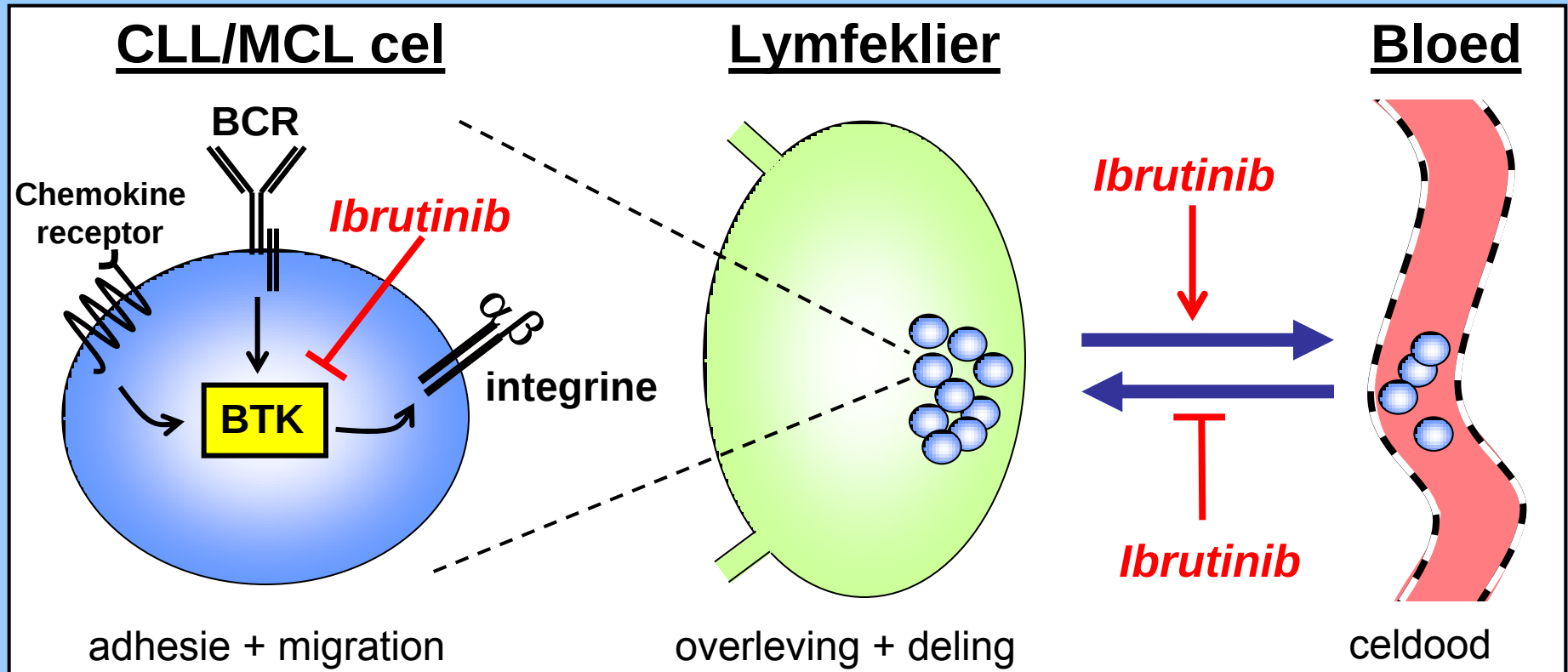


Spaargaren et al., 2014 *Oncogene in press*

- CLL cellen **prolifereren (delen)** alleen in lymfeklieren, beenmerg en milt, **niet** in het bloed!
- Als die niet-delende CLL cellen te lang in het bloed blijven gaan ze **dood**!

**Hoe zit het met andere
B-cel maligniteiten?**

Ibrutinib remt BCR- and chemokine-gereguleerde retentie en “homing” in CLL en mantelcelllymfoom (MCL)

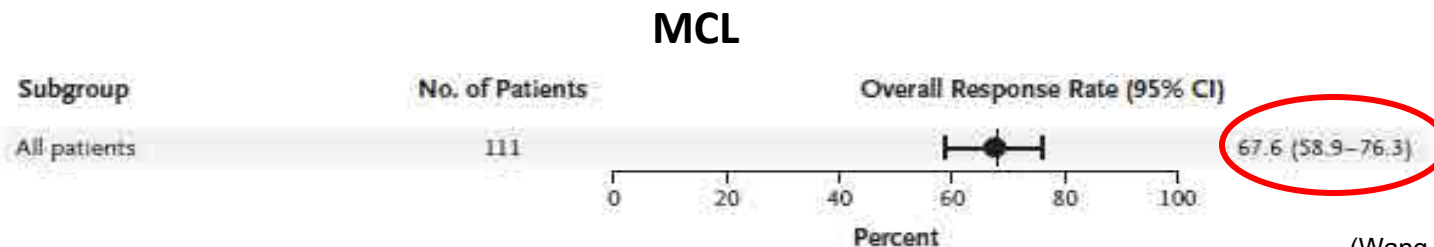
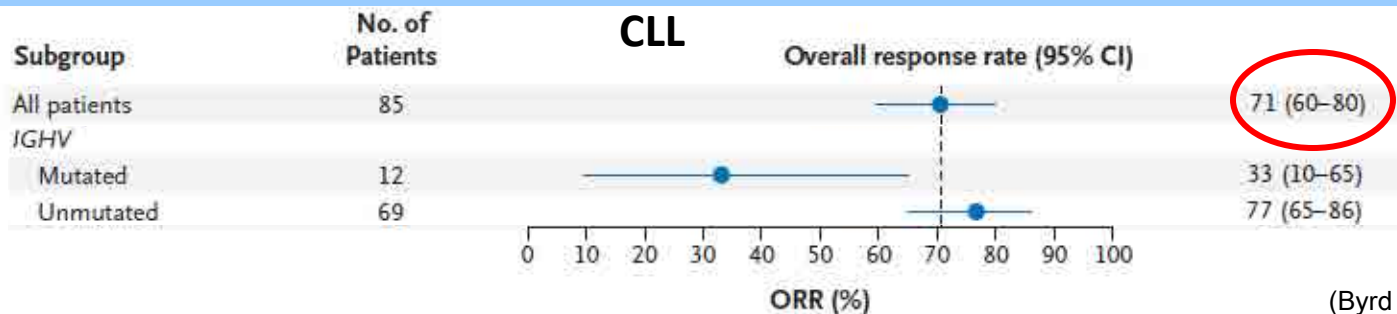
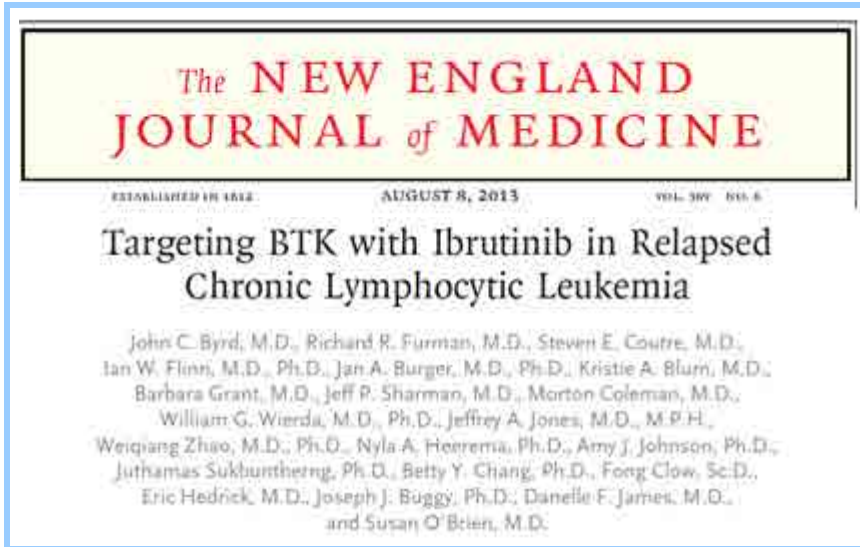


CLL: de Rooij et al., 2012 Blood 119

MCL: Chang et al., 2013 Blood 122

***Als monotherapie, maar ook combinatie therapie (bijv. met Rituximab):
maligne B cellen zijn beter bereikbaar en kwetsbaarder!!***

Uitzonderlijk hoge respons voor monotherapie in CLL en MCL (fase 2 met **Rel./Refr.** patienten)



FDA “breakthrough” designation (versnelde procedure)

*FDA “Breakthrough Therapy Designation” voor behandeling van:
MCL, CLL and Waldenström Macroglobulinemia*



FDA goedkeuring (11-2013): Imbruvica

Voor MCL patienten, na minstens 1 eerdere onsuccesvolle therapie, inmiddels ook voor CLL patienten.

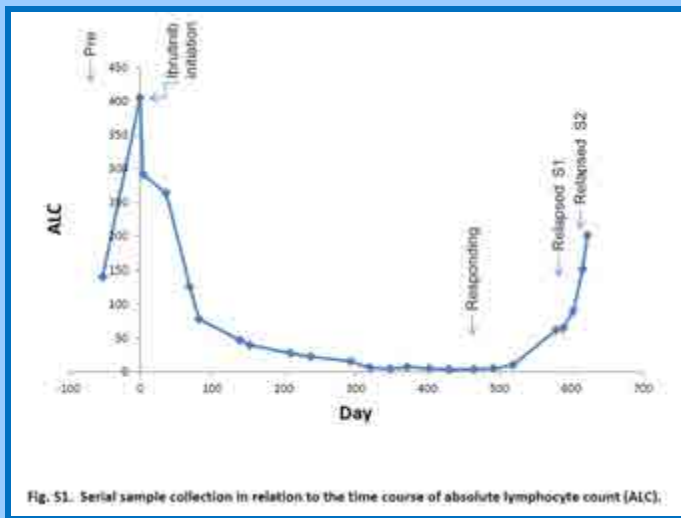


Echter:

**~ 30% van de CLL en MCL patienten
reageert niet op ibrutinib**

+

**Na langdurige ibrutinib-behandeling wordt (tot op heden)
5% van de CLL en 15% van de MCL patiënten
resistent door mutaties in BTK (en PLCg2)!**



THE NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Resistance Mechanisms for the Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor Ibrutinib

Jennifer A. Woyach, M.D., Richard R. Furman, M.D., Ta-Ming Liu, M.S.,
Hatice Gulcin Ozer, Ph.D., Marc Zapatka, Ph.D., Amy S. Ruppert, M.A.S.,
Ling Xue, Ph.D., Daniel Hsieh-Hsin Li, Ph.D., Susanne M. Steggerda, Ph.D.,
Matthias Versele, Ph.D., Sandeep S. Dave, M.D., Jenny Zhang, B.S.,
Ayse Selen Yilmaz, M.S., Samantha M. Jaglowski, M.D., M.P.H.,
Kristle A. Blum, M.D., Arletta Lozanski, M.S., Gerard Lozanski, M.D.,
Danielle F. James, M.D., Jacqueline C. Barrientos, M.D., Peter Lichter, Ph.D.,
Stephan Stilgenbauer, M.D., Joseph J. Buggy, Ph.D., Betty Y. Chang, Ph.D.,
Amy J. Johnson, Ph.D., and John C. Byrd, M.D.

Woyach et al., 2014 N Engl J Med. 370:2286

Mogelijke oplossing: combinatie-therapie met andere drugs!

bijv. die ook BCR-signalering remmen

Idelalisib (Zydelig):

- remt PI3-Kinase δ (komt alleen in bloedcellen voor)
- resulteert ook in lymphocytose
- is inmiddels ook FDA goedgekeurd (Juli 2014), voor behandeling van relapsed CLL (in combinatie met Rituximab), folliculair lymfoom en kleincellig lymfocytair lymfoom

Idelalisib and Rituximab in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia

Richard B. Furman, M.D., Jeff P. Sherman, M.D., Steven E. Coutre, M.D., Bruce D. Cheson, M.D., John M. Pagel, M.D., Ph.D., Peter Hiltunen, M.B., Ch.B., Ph.D., Jacqueline C. Barrientos, M.D., Andrew D. Zelenetz, M.D., Ph.D., Thomas J. Kipps, M.D., Ph.D., Ian Flinn, M.D., Ph.D., Paolo Ghia, M.D., Ph.D., Herbert Eradat, M.D., Thomas Evrin, M.D., Nicole Lamanna, M.D., Bertrand Coiffier, M.D., Ph.D., Andrew R. Pettitt, Ph.D., F.R.C.Path., Shuo Ma, M.D., Ph.D., Stephan Stilgenbauer, M.D., Paula Craxier, M.D., Maria Aiello, M.A., Dave M. Johnson, B.S., Langdon L. Miller, M.D., Daniel Li, Ph.D., Thomas M. Jahri, M.D., Ph.D., Roger D. Damsay, M.D., Michael Hallek, M.D., and Susan M. O'Brien, M.D.

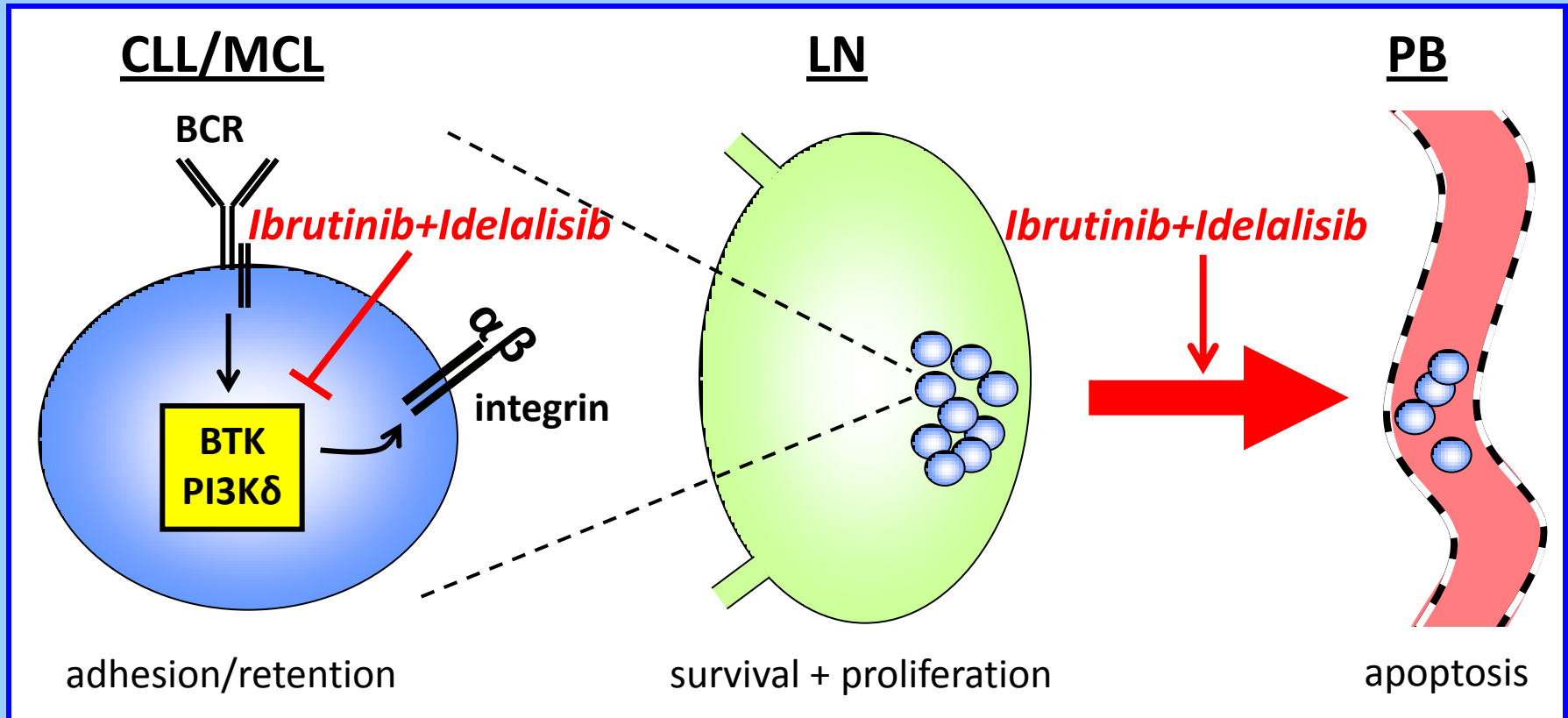
N Engl J Med 370:997 (2014)

PI3K δ Inhibition by Idelalisib in Patients with Relapsed Indolent Lymphoma

Ajay K. Gopal, M.D., Brad S. Kahl, M.D., Sven de Vos, M.D., Ph.D., Hema D. Wagner-Johnston, M.D., Stephen J. Schuster, M.D., Wojciech J. Jurczak, M.D., Ph.D., Ian W. Flinn, M.D., Ph.D., Christopher R. Flowers, M.D., Peter Martin, M.D., Andreas Viardot, M.D., Kirstie A. Blum, M.D., Andre H. Goy, M.D., Andrew J. Davies, M.R.C.P., Ph.D., Pier Luigi Zinzani, M.D., Ph.D., Martin Dreyling, M.D., Dave Johnson, B.S., Langdon L. Miller, M.D., Leanne Heide, M.B.A., Daniel Li, Ph.D., Roger D. Damsay, M.D., Wayne R. Godfrey, M.D., and Gilles A. Sallés, M.D., Ph.D.

N Engl J Med 370:1008 (2014)

Summary: Ibrutinib en Idelalisib remmen BCR-gereguleerde adhesie **sterk synergistisch** in MCL and CLL (**1+1=4**)



De Rooij et al., *in preparation*

Levert een sterke rationale voor combinatie therapie! Voordeel:

- **Betere effectiviteit/toxiciteit ratio** (klinische activiteit en veiligheid, celspecificiteit)
- **Voorkomt en bestrijdt therapie resistentie (BTK mutaties!)**

Micromilieu-afhankelijkheid: de Achilleshiel van B cel maligniteiten

Voordeel:

- onafhankelijk van (primaire) genetische transformerende afwijkingen/mutaties
- bredere toepasbaarheid, minder ongevoeligheid!



Achilles was toch wel bang dat zijn
zwakke plek ooit ontdekt zou worden.

Wetenschappelijk onderzoek

Laboratorium



toepasbare behandeling

Kliniek/patienten

Acknowledgements

**Dept of Pathology
Academic Medical Center
University of Amsterdam**

Acknowledgements

Former lab members:

Esther Beuling

David de Gorter

Current lab members:

Sander Joosten

Anneke Kramer

Leonie Gruneberg

Annemiek Kijl

Martin de Rooij

Zemin Ren

Martine van Keimpema

Harmen van Andel

Alex de Bruin

Steven Pals

David de Gorter

Esther Beuling

Tamas Csikos

Karene Mahtouk

Rogier Reijmers

Kinga Kocemba

Leonie van Keimpema

Annemiek Kuil

Anne Kramer

Leonie Gruneberg

Steven Pals

Marcel Spaargaren

Martine van Keimpema

Dept. of Pathology

Academic Medical Center

Amsterdam, the Netherlands



primary CLLs and MCLs

Eric Eldering,

Arnon Kater, Marie-Jose Kersten, Rien van Oers

Depts. of Experimental Immunology and

Hematology, AMC, the Netherlands

Btk KO-mice:

Rudi Hendriks

Dept. of Immunology

Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands

Btk KO-mice:

Rogier Karsseboom

Sajine Middendorp

Rudi Hendriks

Dept. of Immunology

Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands

Flow adhesion:

Sajine van Gils

Peter Hordijk

Dept. of Molecular Cell Biology

Sanquin/AMC, Amsterdam, the Netherlands

DT10 KO-cells:

Tomohiro Kurosaki

Dept. of Molecular Genetics

Kansai Medical University, Moriguchi, Japan

Moriguchi, Japan

DT40 KO-cells:

Tomohiro Kurosaki

Dept. of Molecular Genetics

Kansai Medical University, Moriguchi, Japan

Flow adhesion:

Peter Hordijk

Dept. of Mol. Cell Biology

Sanquin/AMC, Amsterdam, the Netherlands

primary MCLs

Lydia Visser, Anke van den Berg

Dept. of Pathology and Med. Biology,

UMCG, Groningen, the Netherlands

Ibrutinib/PCI-32765

Joe Buggy

Betty Chang

Pharmacyclics,

Sunnyvale CA, USA



**All patients participating in the clinical trials
and providing primary material!!**



LYMMCARE

LYMPHOMA AND MYELOMA CENTER
AMSTERDAM

<http://www.lymmcare.nl/>