

Journées de St Louis

22 septembre 2011

Cancers du sein métastatiques HER2+  
et métastases cérébrales :  
quelles avancées en 2011 ?

*Biologie Moléculaire et passage de  
la barrière hémato-méningée*



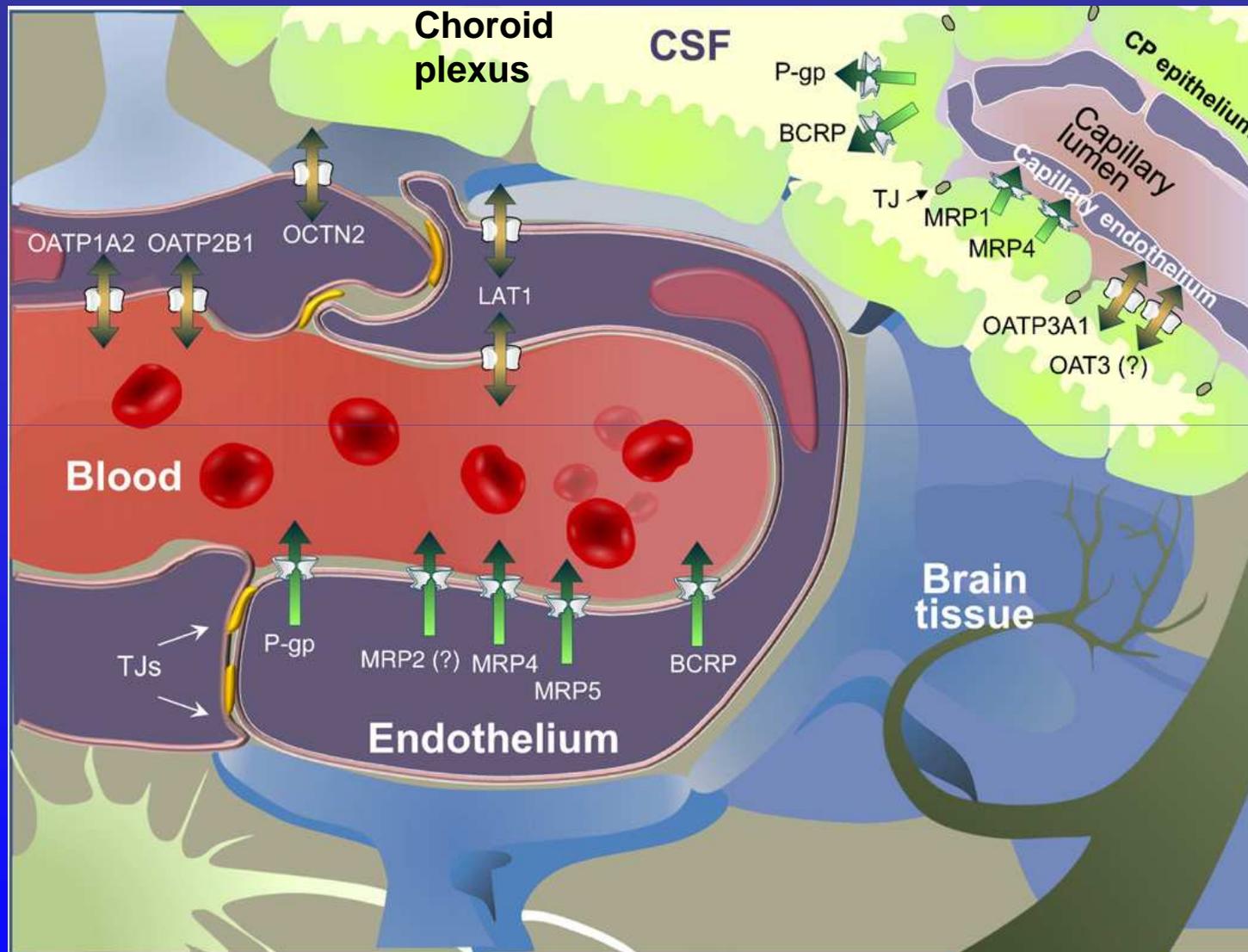
Gérard Milano, PhD  
Centre Antoine Lacassagne, Nice  
[gerard.milano@nice.unicancer.fr](mailto:gerard.milano@nice.unicancer.fr)



# La barrière hémato-encéphalique

- Rôle : **protéger le SNC** tout en répondant à ses besoins énergétiques et fonctionnels.
- Notion générale de la **perméabilité de la barrière hémato-encéphalique** :
  - **importante** pour molécules **liposolubles** (alcool, anesthésiques...) pour  $O_2$ ,  $CO_2$ .
  - **faible** et variable pour les **molécules ionisées** avec implication des transporteurs spécifiques (acides aminés, glucose...).

# La barrière hémato-encéphalique : une complexité anatomique et moléculaire



*Eyal et al. Pharmacol Ther. 2009*

# La barrière hémato-encéphalique : une complexité anatomique et moléculaire

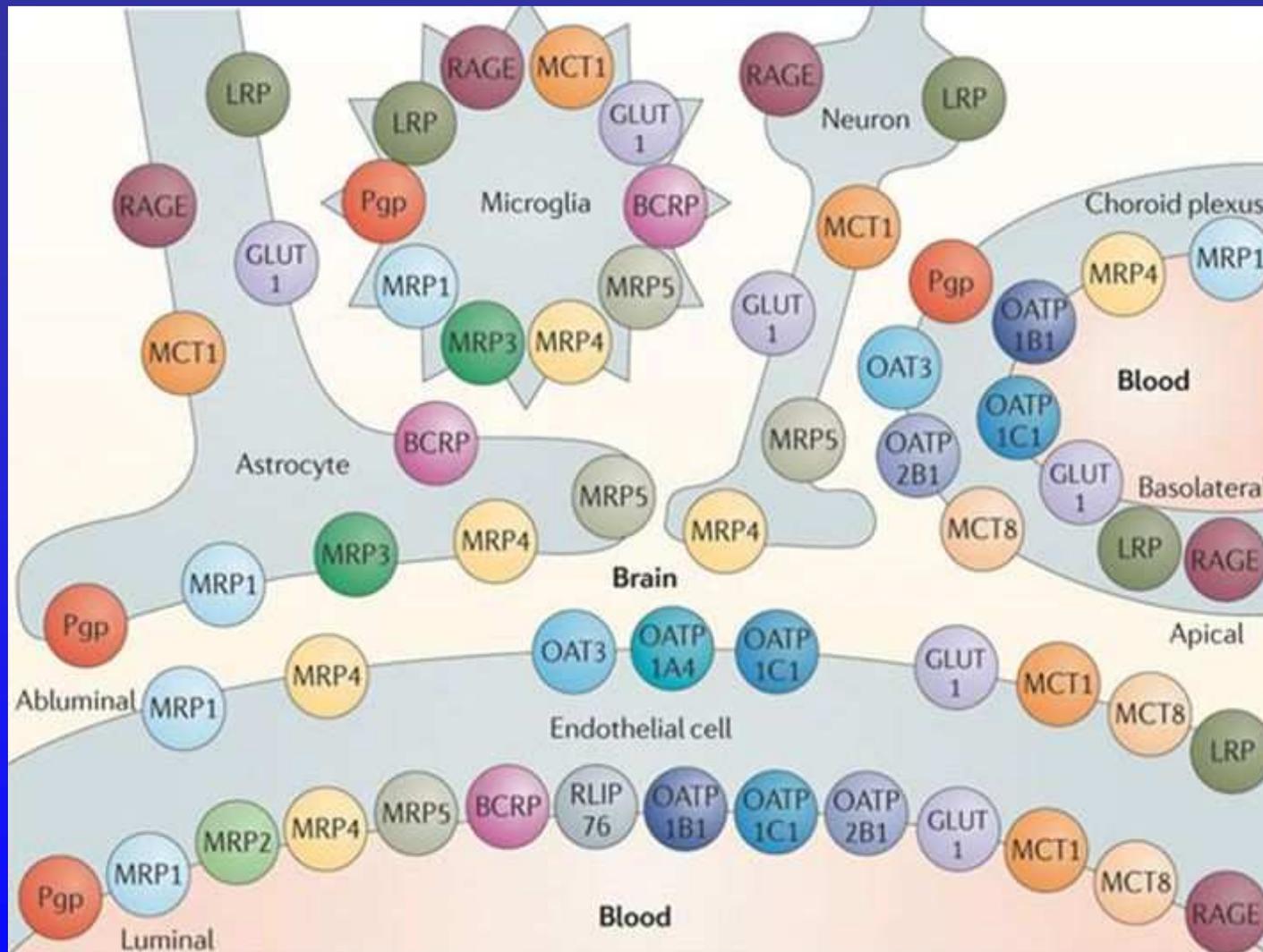
## 2 principaux domaines d'échange :

- barrière hémato-encéphalique
- barrière hémato-LCR (plexus choroïdes)

## Types de transporteurs :

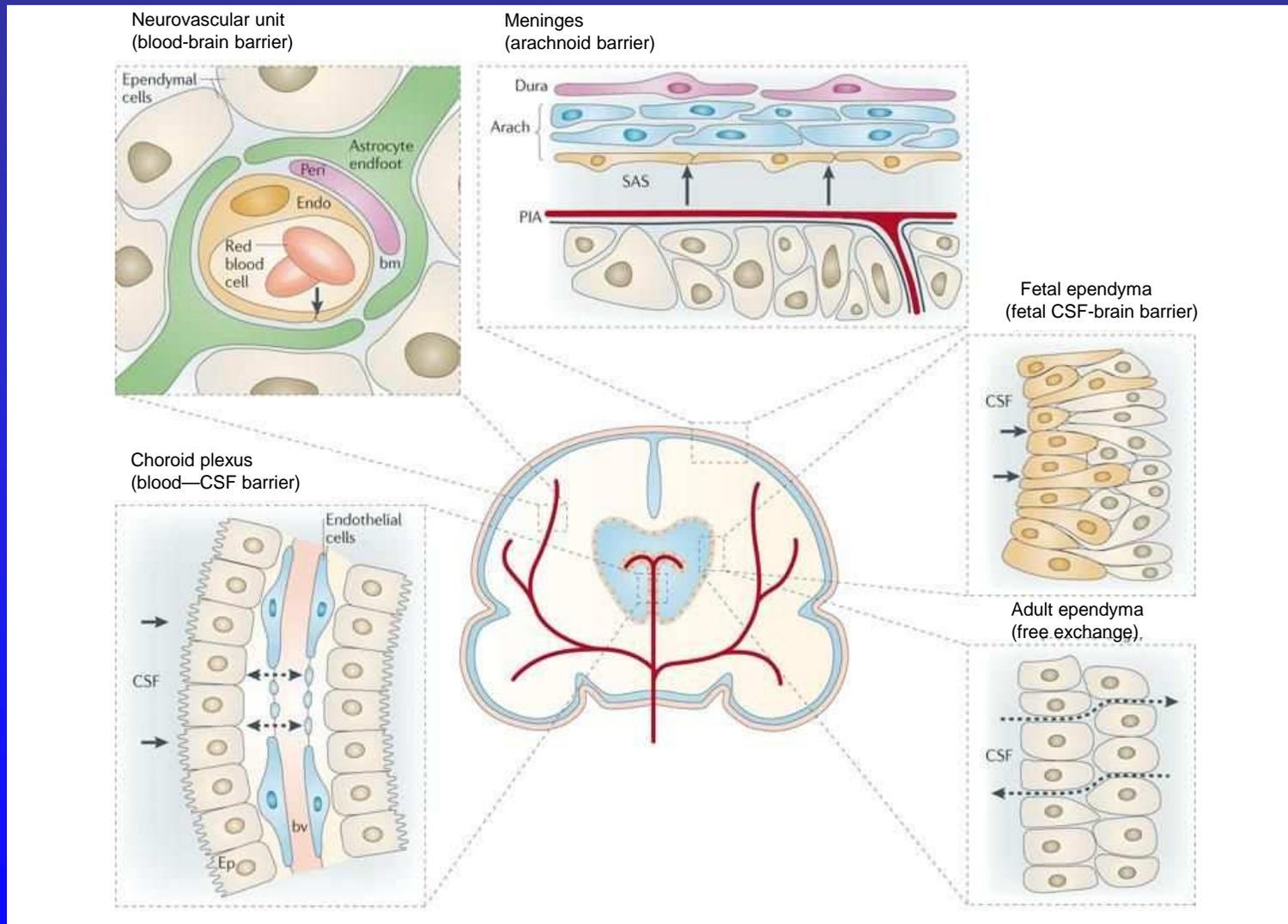
- ABC : P-gp, MRP, BCRP
- Polypeptides transporteurs d'anions : OATPs (methotrexate)
- Anions organiques : OATs (mercaptopurine, methotrexate)
- Cations organiques : OCTs (cisplatine)
- Système L : LAT<sub>1</sub> et LAT<sub>2</sub> (melphalan)

# Systeme de transport étendu à l'entité neurovasculaire



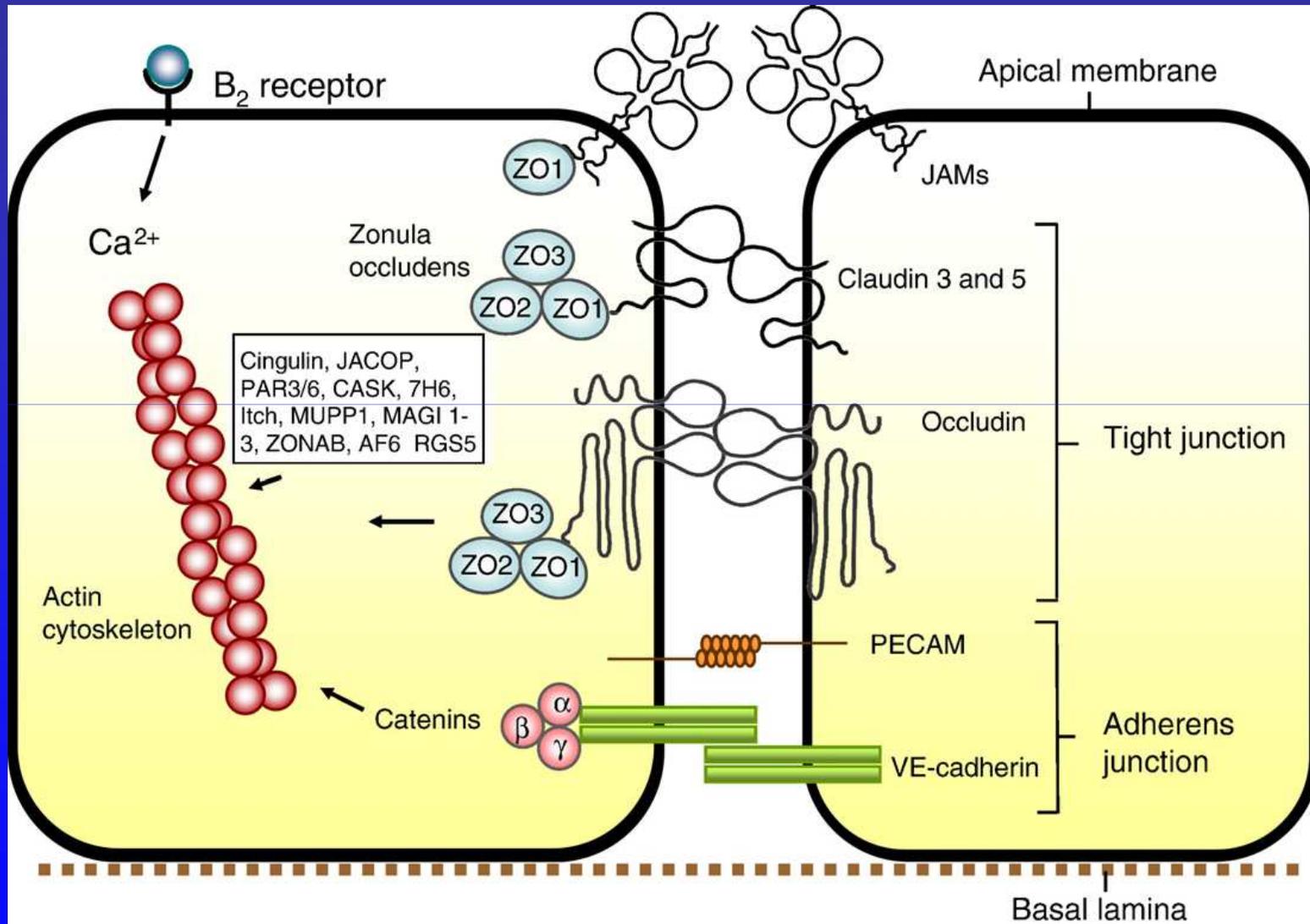
*Neuwelt EA et al. Nature Rev Neurosci. 2011*

# L'homéostasie cérébrale et les différentes barrières physiologiques



*Neuwelt EA et al. Nature Rev Neurosci. 2011*

# Complexité biochimique des jonctions endothéliales serrées



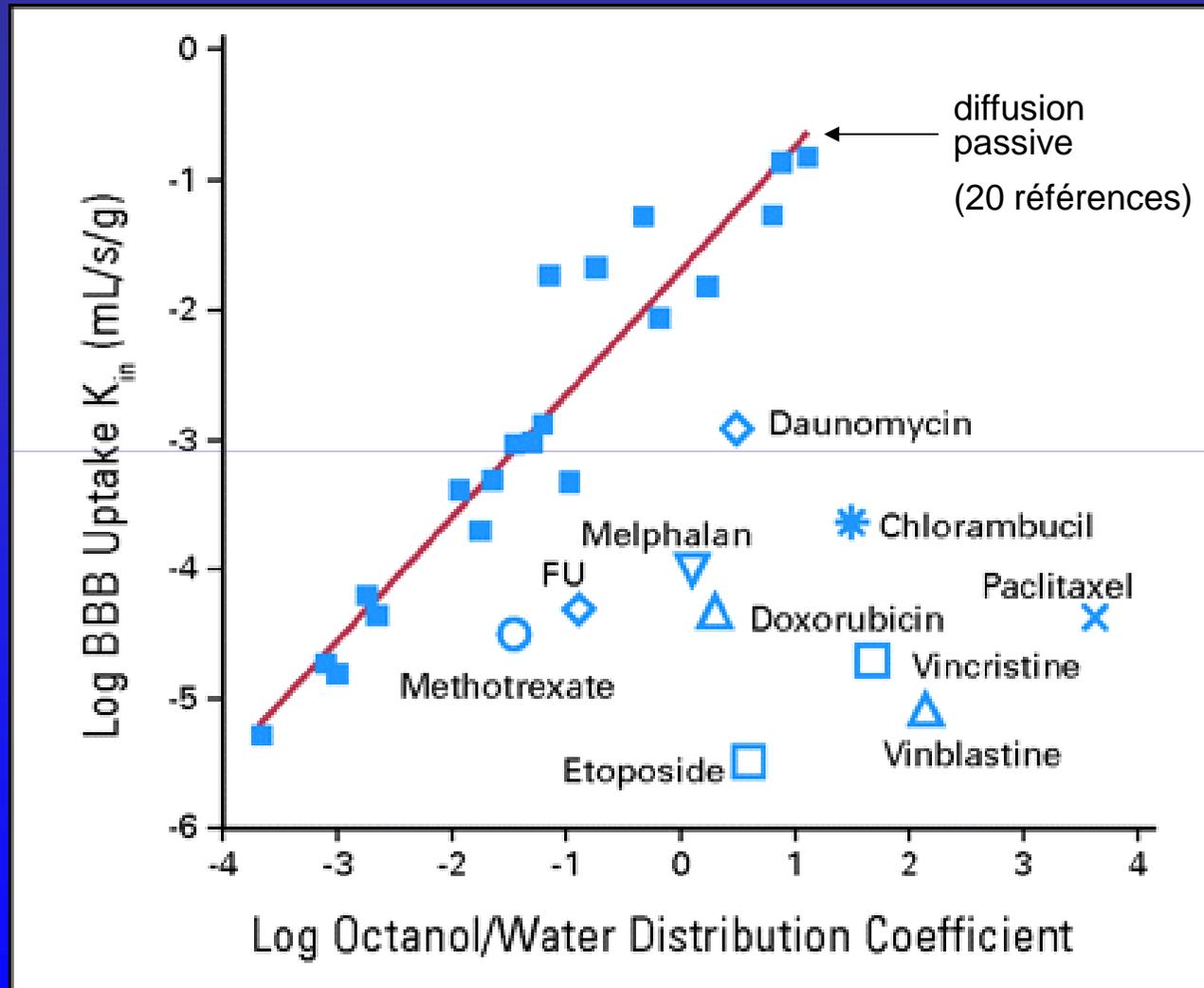
*Abbott NJ et al. Neurobiol Dis. 2010*

# L'impact des systèmes d'efflux moléculaire sur les composés anticancéreux

Drug class	Drug	P-glycoprotein (ABCB1)	BCRP (ABCG2)	MRP1-7 (ABCC1-10)	OAT	OCT and OCTN	OATP	ENT or CNT	Other
Vinca alkaloids	Vinblastine, vincristine and vinorelbine	++*	-	+7 <sup>†</sup>					
Anthracyclines	Doxorubicin	++	+	+1, 2, 6 and 7		+OCT6			+RALBP1
	Daunorubicin	++	+	+1, 6 and 7					+RALBP1
Epidophyllotoxins	Etoposide	++	+	+1, 2, 3 and 6					
Taxanes	Paclitaxel and docetaxel	++	-	+2 and 7	+2		+1B3		
Tyrosine kinase Inhibitors	Axitinib, dasatinib, lapatinib, sunitinib and tandutinib	++	+						
	Erlotinib	++	+	+7		+1 and 3	+1B3		
	Gefitinib	++	+			+1 and 3			
	Imatinib	++	+	+7		+1 and 3			
	Sorafenib	+	++						
Camptothecins	Topotecan	++	+	+4	+3				
	Irinotecan (SN-38)	++	+	+1, 2 and 4			+1B1		
Thiopurines	6-mercaptopurine		+	+4 and 5	+3				
	6-thioguanine			+4 and 5	+3				
Nucleic acid precursors	5-fluorouracil			+5 and 8	+3				
	Gemcitabine			+4 and 5				+ENT1 and ENT2, and CNT2	
Other	Melphalan								+LAT1
	Cisplatin			+2, 5 and 6		+1 and 2			
	Methotexate	+	+	+1, 2, 3 and 5	+3		+1B1		

*Stegg PS et al. Nature Rev Cancer. 2011*

# Passage méningé des médicaments anticancéreux : un phénomène atténué



Muldoon LL et al. J Clin Oncol. 2007

# Cas concret : passage méningé du methotrexate

*Eur J Cancer, Vol. 26, No. 4, pp. 492-495, 1990.  
Printed in Great Britain*

0277-5379/90\$3.00 + 0.00  
© 1990 Pergamon Press plc

## **CSF Drug Levels for Children with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated by 5 g/m<sup>2</sup> Methotrexate**

**A Study from the EORTC Childrens' Leukemia Cooperative Group**

**G. Milano, A. Thyss, F. Serre Debeauvais, G. Laureys, Y. Benoit, A. Deville, C. Dutour, A. Robert, J. Otten, C. Behar and D. Frappaz**

A multicenter EORTC study was conducted in children with acute lymphocytic leukemia to determine whether 5 g/m<sup>2</sup> of methotrexate (MTX) (24 h i.v. infusion, four cycles) is an appropriate dosage for obtaining CSF drug concentrations approaching the critical cytotoxic level of 10<sup>-6</sup> M. A total of 193 cycles were analyzed for 58 patients. At the end of the 24 h infusion, the mean MTX serum level was 65.27 ± 33.11 μM; the mean CSF MTX level was 1.47 ± 1.1 μM; no significant difference in CSF MTX levels was observed between patients with (n = 20) and those without i.v. Ara-C (n = 38). The mean CSF MTX/serum MTX ratio was 0.029 ± 0.027. CSF drug concentrations greater than or equal to 10<sup>-6</sup> M were achieved in 81% of the courses. The highest level was 8.4 × 10<sup>-6</sup> M. Only 5% of patients failed to achieve this drug concentration in at least one cycle. No significant correlation was observed between blood and CSF MTX levels. Mean CSF MTX levels were comparable from one cycle to another.

*Eur J Cancer, Vol. 26, No. 4, pp. 492-495, 1990.*

*Milano G et al. Eur J Cancer. 1990*

# Passage méningé du methotrexate

*Distribution des concentrations de MTX ( $\mu\text{M}$ ) dans le sérum et le LCR  
après 24h (fin de perfusion)*

<b>MTX serum</b> <b>(moy <math>\pm</math> sd)</b>	<b>MTX LCR</b> <b>(moy <math>\pm</math> sd)</b>	<b>Rapport</b> <b>MTX LCR</b> <b>MTX serum</b> <b>(moy <math>\pm</math> sd)</b>
<b>65.27 <math>\pm</math> 33.11</b>	<b>1.47 <math>\pm</math> 1.10</b>	<b>0.029 <math>\pm</math> 0.027</b>

# Passage méningé du methotrexate

Forte variabilité inter-individuelle de MTX CSF pour une concentration sérique donnée

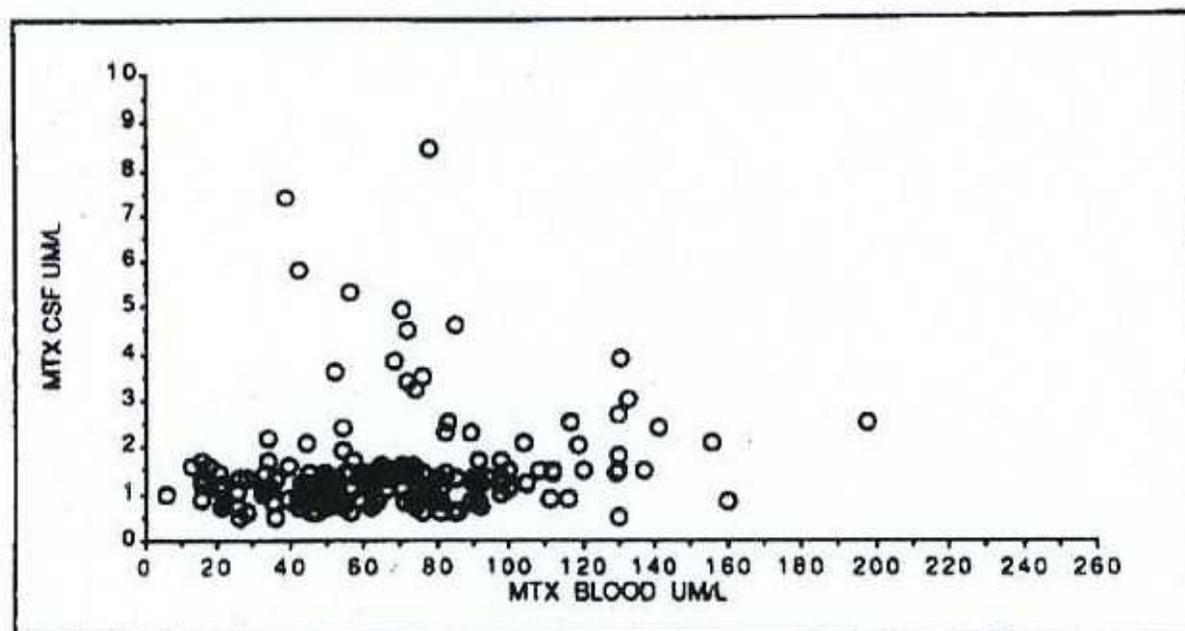


Fig. 1. Scattergram for individual serum/CSF MTX concentration points. The relationship was  $\text{CSF-MTX } (\mu\text{M}) = 0.005 \text{ MTX } (\mu\text{M}) + 1.184$ ,  $r = 0.147$ ; analysis of variance:  $F\text{-test} = 3.56$ ,  $DF = 192$ ,  $P = 0.061$ .

*Milano G et al. Eur J Cancer. 1990*

# Passage méningé des MAC (homme ou primate)

Drug	Cerebrospinal Fluid to Plasma Ratio	Source
Triethylenethiophosphoramidate	1.0	Heideman et al <sup>29</sup>
Thiotepa	1.0	Heideman et al <sup>29</sup>
Busulfan	0.95	Vassal et al <sup>30</sup>
Temozolomide	0.20-0.33	Ostermann et al <sup>31</sup> and Patel et al <sup>32</sup>
O6-benzylguanine; active metabolite O6-benzyl-8-oxoguanine	0.43; 0.36	Berg et al <sup>33</sup>
Tiazofurin	0.28	Grygiel et al <sup>34</sup>
6-Mercaptopurine	0.27	Zimm et al <sup>35</sup>
5-Fluorouracil	0.155	Kerr et al <sup>36</sup>
Arabinosyl-5-azacytidine	0.15	Heideman et al <sup>37</sup>
Cytosine arabinoside	0.06-0.22	Balis and Poplack <sup>38</sup> and Slevin et al <sup>39</sup>
Gemcitabine hydrochloride	0.067	Kerr et al <sup>40</sup>
Clofarabine	0.05	Berg et al <sup>41</sup>
Vincristine sulfate	ND to 0.05	Balis and Poplack <sup>38</sup> and Kellie et al <sup>42</sup>
Spiromustine	0.047	Heideman et al <sup>43</sup>
Cisplatin	0.029-0.03 <sup>b</sup>	DeGregorio et al <sup>44</sup> and Jacobs et al <sup>45</sup>
Carboplatin	0.028 <sup>b</sup>	Jacobs et al <sup>45</sup>
Oxaliplatin	0.02 <sup>b</sup>	Jacobs et al <sup>45</sup>
Etoposide	0.003-0.05 <sup>c</sup>	Hande et al <sup>46</sup> and Relling et al <sup>47</sup>
Methotrexate	0.01-0.04	Thyss et al <sup>48</sup> and Balis et al <sup>49</sup>
Pemetrexed	<0.02	Stapleton et al <sup>50</sup>
Interferon alfa	0.033	Habif et al <sup>51</sup>
Daunomycin	ND	Balis and Poplack <sup>38</sup>
L-asparaginase	ND	Balis and Poplack <sup>38</sup>
Trastuzumab	0.0023-0.02 <sup>d</sup>	Pestalozzi and Brignoli <sup>52</sup> and Stemmler et al <sup>53</sup>
Idarubicin hydrochloride; idarubicinol (active metabolite)	0.08-0.15 (2 animals); 0.019	Berg et al <sup>54</sup>
Daunorubicin; daunorubicinol	0.04-0.12; 0.024 ± 0.019	Berg et al <sup>54</sup>
Topotecan hydrochloride (lactone)	0.29-0.42	Baker et al <sup>55</sup>
Irinotecan hydrochloride (SN-38)	0.14% ± 3% (SN-38 ≤ 0.08)	Blaney et al <sup>56</sup>
Rituximab	0.001	Rubenstein et al <sup>57</sup> and Rubenstein et al <sup>58</sup>
Erlotinib hydrochloride and OSI-420 (erlotinib metabolite)	<0.05 (CSF exposure 30% plasma free-drug exposure)	Meany et al <sup>59</sup>
Imatinib mesylate	0.05 (±2%) (concentration × time AUC)	Neville et al <sup>60</sup>
Depsipeptide	0.02	Berg et al <sup>61</sup>
Valproate sodium	0.13% ± 5.1% (total drug) 0.57% ± 8.7% (free drug)	Stapleton et al <sup>62</sup>
Hydroxyurea	0.24 <sup>e</sup>	Beckloff et al <sup>63</sup>
ABT-888 (PARP inhibitor)	0.57	Muscal et al <sup>64</sup>
Tasidotin hydrochloride (microtubule stabilizer)	1.1 ± 0.4	Kilburn et al <sup>65</sup>
Cyclophosphamide; ifosfamide	0.20 (0.00-1.1); 1.2 (0.4-1.6) <sup>f</sup>	Yule et al <sup>66</sup>

Groves MD, Arch Neurol. 2010

# Médicaments anticancéreux (MAC) et franchissement de la barrière hémato-encéphalique (BHE)

## Variabilité multiple

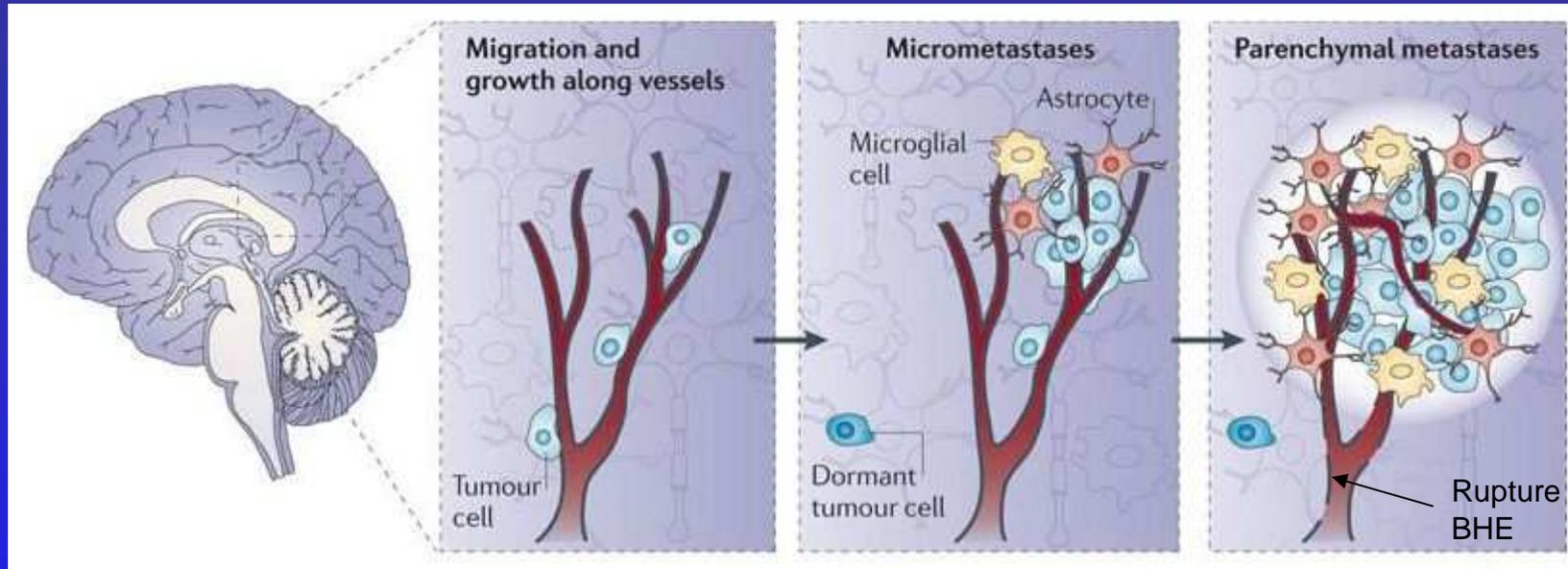
- Variabilité pharmacocinétique interindividuelle (exemple MTX)
- Variabilité concentration dans la cible tumorale (expression P-gp) : variabilité somatique
- Variabilité pharmacogénétique (gène *MDR1*, variants 1236 C>T, 2677 G > T/A, 3435 C>T, *Kimdri-Sarfaty Science 2007*) : variabilité germinale

# Médicaments anticancéreux (MAC) et franchissement de la barrière hémato-encéphalique (BHE)

Facteurs limitant la connaissance du passage BHE :

- **Caractéristiques physico-chimiques défavorables** (apparentées molécules naturelles, impact de la P-gp).
- Difficultés pour **faisabilité pharmacocinétique**.
- **Extension de la maladie au CNS** : modification de la distribution cérébrale du MAC par rupture BHE

# Les étapes du développement des métastases cérébrales

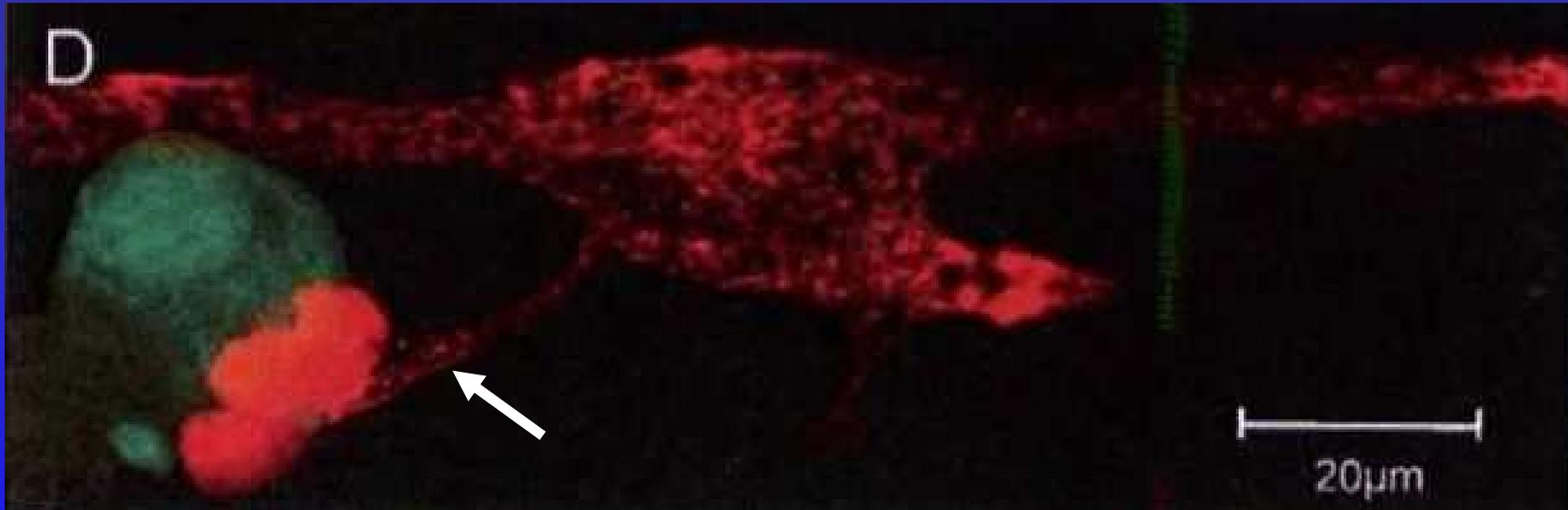


Microenvironnements associés au développement de métastases cérébrales :

- **niche périvasculaire** (adhésion - progression sur paroi vasculaire)
- **parenchyme cérébral** (activation - interaction avec astrocytes et microglie)
- **LCR** (envahissement leptoméningé, mélanomes, cancer du sein, leucémies - lymphomes)

*Steeg PS et al. Nature Rev Cancer. 2011*

# Interaction microglie-cellules tumorales



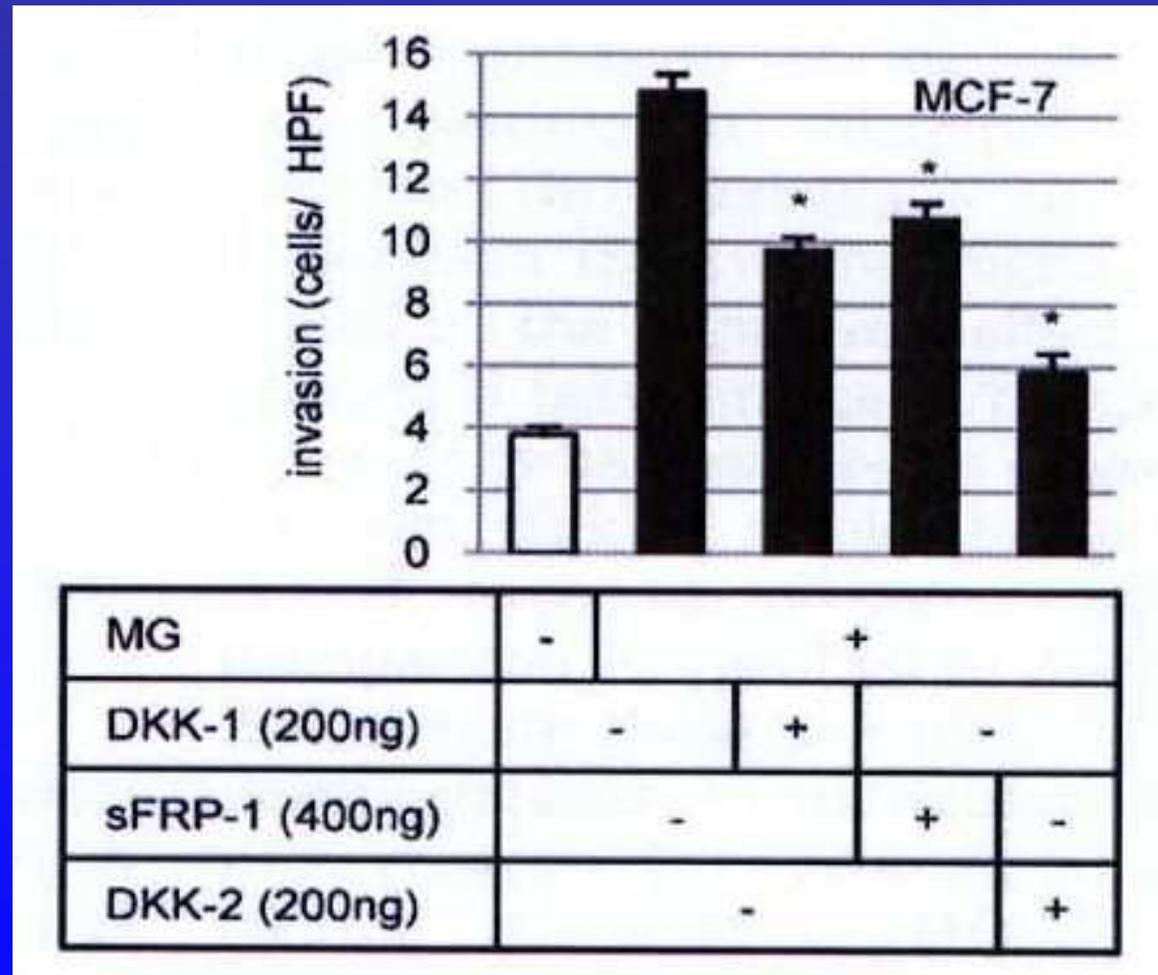
Modèle co-culture *in vitro* (cellules MCF7) - « Invasion assistée »

→ Contact cellule microglie-cellule tumorale de type synapse

*Pukrop T et al. Glia. 2010*

# Interaction microglie-cellules tumorales

## Impact des inhibiteurs de la voie Wnt



*Pukrop T et al. Glia. 2010*

# Rupture de la barrière hémato-encéphalique et pathologies

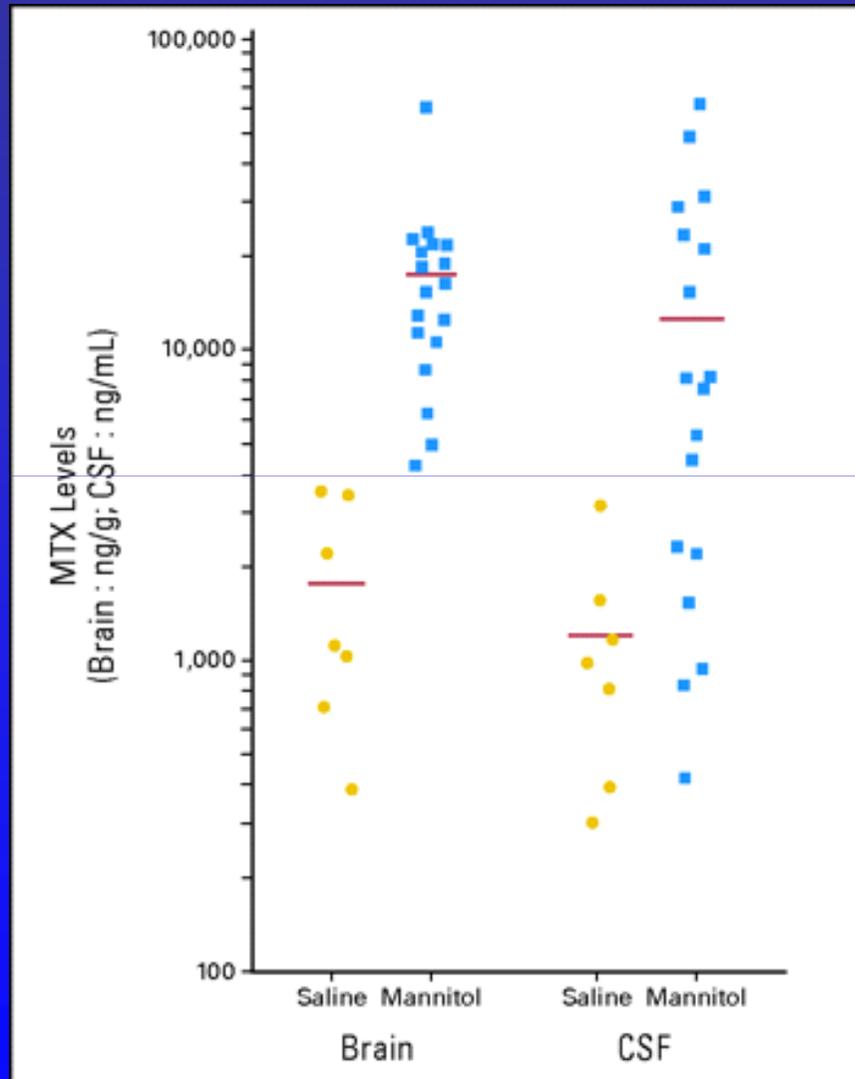
- Sclérose multiple
- Hypoxie et ischémie
- Œdème
- Maladie de Parkinson
- Maladie d'Alzheimer
- Epilepsie
- Glaucome
- **Cancer (tumeurs cérébrales diminuant l'expression de Claudin 3 des jonctions serrées)**

Altération variable en intensité

Modification des systèmes de transport

Rôle de l'activation de la microglie

# Rupture de la barrière hémato-encéphalique et conséquences pharmacocinétiques (MTX)



Rupture  
expérimentale BHE  
par le mannitol:

Augmentation des  
concentrations  
cérébrales

*Muldoon LL et al. J Clin Oncol. 2007*

# Métastases cérébrales et cancer du sein

## Données épidémiologiques :

- Survenue postérieure aux métastases systémiques
- Incidence supérieure à 1/3 pour les patientes HER2+ ou triple négatives
- 15 à 30% des métastases cérébrales non diagnostiqués  
*Steege PS et al. Nature Rev Cancer. 2011*

## Données moléculaires :

- La surexpression de HER2 n'accroît pas le nombre de métastases cérébrales mais augmente leur taille (*Palmieri D et al. Cancer Res. 2007*)
- Co-expression de HER2 et REGF dans un sous-groupe de métastases cérébrales de cancer du sein (*Palmieri D et al. Cancer Res. 2007*)

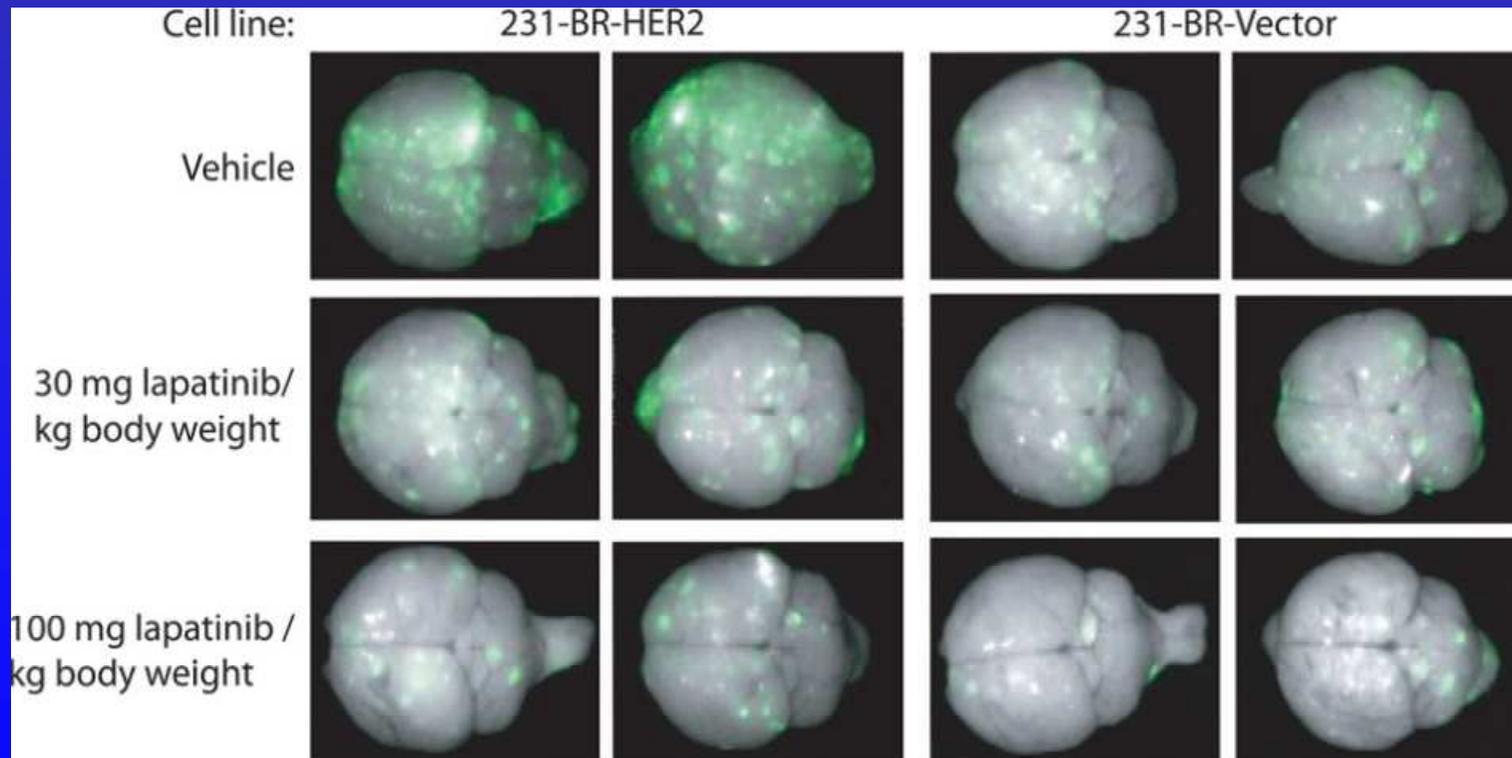
# Métastases cérébrales et cancer du sein

Données cliniques et pharmacologiques :

- **Le trastuzumab en adjuvant ne protège pas** la survenue de métastases cérébrales (*Bria E et al. Breast Cancer Res Treat. 2008*)
- **Très faible pénétration du trastuzumab** au niveau cérébral [ LCR/serum = 1/420 ,rupture BHE et augmentation passage LCR (LCR/serum = 1/60), *Stammler HJ et al. Anticancer Drugs. 2007* ].

# Métastases cérébrales et cancer du sein

**Efficacité du lapatinib** (anti-HER2, anti-HER1) dans un modèle expérimental de métastases cérébrales. Bases essais LANDSCAPE et CEREBEL



*Grill B et al. J Natl Cancer Inst. 2008*

# Traitement des métastases cérébrales

## Perspectives - 1

Accroître la biodisponibilité cérébrale

- inhibiteurs de P-gp

Association expérimentale gefitinib - topotecan sur modèle gliome avec augmentation de concentrations intratumorales du MAC (*Carcaboso AM et al. Cancer Res. 2010*) :

- inhibiteurs de BCRP
- rupture de la barrière hémato-encéphalique (RMP-7 sur jonctions serrées, accroissement concentrations cérébrales de carboplatine, *Emerich DF et al. Br J Cancer. 1999*)

# Traitement des métastases cérébrales

## Perspectives - 2

**Nouvelles formulations** (nanoparticules, immunoliposomes, vecteurs peptidiques, substrats de transporteurs)  
*(Deeken JF and Loscher W. Clin Cancer Res. 2007)*

**Administration intrathécale** (métastases leptoméningées,  
*Groves MD Arch Neurol 2010)*

**Nouvelles connaissances** (génomique de la barrière hémato-encéphalique, *Calabria ER et Shusta EV, Drug Discov Today. 2006)*

### **Cancer du sein**

Trastuzumab et ouverture de la barrière hémato-encéphalique

**Utiliser toutes les propriétés pharmacologiques du lapatinib (inhibiteur de P-gp)** =schéma d'administration, associations envisageables avec agents cytotoxiques (taxanes, anthracyclines).

# Cancers du sein métastatiques HER2+ et métastases cérébrales : quelles avancées en 2011 ?

## *Biologie moléculaire et passage de la barrière hémato-méningée*

### Conclusions

- **Complexité** moléculaire et anatomique de la BHE
- Passage de la BHE par les médicaments anti-cancéreux sous le contrôle de **transporteurs biologiques (ABC)**
- Travaux précliniques et stratégies cliniques en développement pour **améliorer le franchissement de la BBE** : arguments pharmacologiques et physico-chimiques en faveur du lapatinib dans le cancer du sein M+ HER2+