

IMAGERIE DE L'INTÉGRINE $\alpha_v\beta_3$ PAR PET/CT AU ^{18}F -FPRGD2

N. WITHOFS (1), R. HUSTINX (2)

RÉSUMÉ : L'imagerie par PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 permet de visualiser et de quantifier l'expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ dans les tissus. Initialement, ce type d'imagerie a été développé en vue d'estimer l'intensité de l'angiogenèse dans les tissus (tumoraux, inflammatoires ou en réparation) puisque cette intégrine est exprimée à la surface des cellules endothéliales activées de l'angiogenèse. Cependant, certaines cellules tumorales, des cellules inflammatoires et les ostéoclastes dans l'os expriment également l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ qui leur permet d'interagir avec la matrice extracellulaire. Cet article reprend des données d'études en cours de finalisation évaluant l'imagerie par PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 chez des patients avec une masse rénale ou un cancer du rectum localement avancé et enfin, une découverte fortuite de captation du ^{18}F -FPRGD2 dans des pathologies ostéoarticulaires comme l'arthrose.

MOTS-CLÉS : RGD - Intégrine - Tomographie par émission de positons - Arthrose - Cancer du rein - Cancer rectal

^{18}F -FPRGD2 PET/CT IMAGING OF INTEGRIN $\alpha_v\beta_3$

SUMMARY : PET/CT imaging of ^{18}F -FPRGD2 allows the visualization and quantification of integrin $\alpha_v\beta_3$ in tissues. This imaging technique was developed with the purpose of quantifying tumor angiogenesis and of assessing the efficacy of antiangiogenic treatments. However, the PET signal of ^{18}F -FPRGD2 appears more complex as various tumor cell types, inflammatory cells and osteoclasts express the integrin $\alpha_v\beta_3$ regulating cell interactions with the extracellular matrix. This article provides data of clinical studies evaluating ^{18}F -FPRGD2 PET/CT imaging in patients with a renal mass or a locally advanced rectal carcinoma and finally reports on the incidental discovery of ^{18}F -FPRGD2 uptake in osteoarticular processes such as osteoarthritis.

KEYWORDS : RGD - Integrin - PET - Osteoarthritis - Renal carcinoma - Rectal cancer

INTRODUCTION

L'intégrine $\alpha_v\beta_3$ est un récepteur transmembranaire hétérodimérique intervenant dans les interactions des cellules avec la matrice extracellulaire (MEC). Cette intégrine régule l'adhésion des cellules à la MEC et a pour ligand une séquence de trois acides aminés, arginine-glycine-acide aspartique (RGD), que l'on retrouve dans des protéines de la MEC comme les collagènes, la fibronectine et le fibrinogène par exemple (1). La découverte de l'expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ à la surface des cellules endothéliales activées de l'angiogenèse a suscité un engouement auprès des chercheurs (2). Dans les années 90, des molécules contenant la séquence RGD ligand de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, ont été développées dans le but d'inhiber le développement de l'angiogenèse tumorale dont la molécule la plus connue est le cilengitide (3). En parallèle, de multiples radiopharmaceutiques de type RDG ont été synthétisés en vue de visualiser et de quantifier l'angiogenèse in vivo dans le but d'accélérer le développement des traitements anti-angiogéniques, en particulier, dans le domaine de l'oncologie. L'imagerie par tomographie à émission de positons (PET)

est une technique d'imagerie idéale permettant, en fonction du type de radiopharmaceutique injecté, la visualisation et la quantification d'un processus biologique particulier. C'est pour cette raison que les chercheurs ont privilégié des traceurs de type RGD marqués avec des radionucléides émetteurs de positons comme le Fluor-18, le Gallium-68 ou le Cuivre-64 (4).

Cependant, les études d'imagerie, plus particulièrement en oncologie, ont montré que le signal PET lié à la fixation du traceur RGD à l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ ne résultait pas uniquement de l'expression de l'intégrine sur les vaisseaux de l'angiogenèse tumorale, mais également de la présence de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ à la surface des cellules tumorales (5-8). L'expression de cette intégrine par les cellules tumorales leur conférerait un caractère invasif, un potentiel métastatique et la capacité de résister aux traitements par radiothérapie ou chimiothérapie (9-11).

Le traceur de type RGD utilisé au CHU de Liège dans le cadre de recherches cliniques et précliniques est le $(^{18}\text{F})\text{-FB-mini-PEG-E[c(RGDyK)]}$ (2) ou ^{18}F -FPRGD2, dont la synthèse est assurée par le Centre de Recherche du Cyclotron (12). Deux études cliniques dont l'inclusion est maintenant clôturée ont été menées dans le Service de Médecine nucléaire et d'Imagerie oncologique du Département de Physique médicale et ont été financées par la Fondation Contre le Cancer et le Plan Cancer. Elles concernaient des patients présentant une masse rénale ou un cancer du rectum localement avancé. Les résultats préliminaires de ces études sont détaillés ci-après (13, 14).

(1) Chef de Clinique, (2) Chargé de Cours, Université de Liège. Chef de Service, Service de Médecine Nucléaire et d'Imagerie Oncologique, Département de Physique Médicale, CHU de Liège.

CORRÉLATION DU SIGNAL PET AVEC L'EXPRESSION TISSULAIRE DE L'INTÉGRINE $\alpha_v\beta_3$ DANS LES TUMEURS RÉNALES

Nous avons inclus 26 patients avec une masse rénale pour lesquels un PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 a été réalisé avant chirurgie. Les données de quantification des images de PET ont été mises en relation avec la quantification de l'expression tissulaire de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ et de différents paramètres liés à l'angiogenèse comme la densité des microvaisseaux tumoraux, le taux d'isoformes du VEGF A, les VEGFR1 et VEGFR2. La majorité des tumeurs étaient des carcinomes à cellules claires (N = 15) ou des carcinomes papillaires (N = 6). Les premières analyses montrent que l'intensité du signal PET estimé en termes de SUV (standardized uptake value) était corrélée de manière significative avec l'expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ dans les tumeurs ($p < 0,0001$). Par contre, la captation du ^{18}F -FPRGD2 n'était corrélée à aucun des paramètres tissulaires représentant l'angiogenèse. En conclusion, nos résultats démontrent que l'imagerie par PET/

CT au ^{18}F -FPRGD2 permet de quantifier, de manière non invasive, l'expression tumorale de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, mais ne permet pas d'estimer le degré d'angiogenèse tumorale en raison de l'expression de l'intégrine à la surface des cellules tumorales par certaines tumeurs (fig. 1).

ÉVALUATION DE LA RÉPONSE AU TRAITEMENT DU CANCER DU RECTUM LOCALEMENT AVANCÉ PAR PET/CT AU ^{18}F -FPRGD2

Trente-deux patients avec un cancer du rectum localement avancé (LARC) ont été inclus dans cette étude. Un premier PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 a été réalisé avant tout traitement et un second après radiochimiothérapie avec pour but d'estimer si notre imagerie pouvait prédire la réponse de la tumeur au traitement. Les données de quantification des images PET ont été mises en corrélation avec l'estimation standard de la réponse de la tumeur au traitement qui est le score de régression tumorale estimé par 2 spécialistes en anatomie pathologique (15). Les premiers résultats montrent une captation

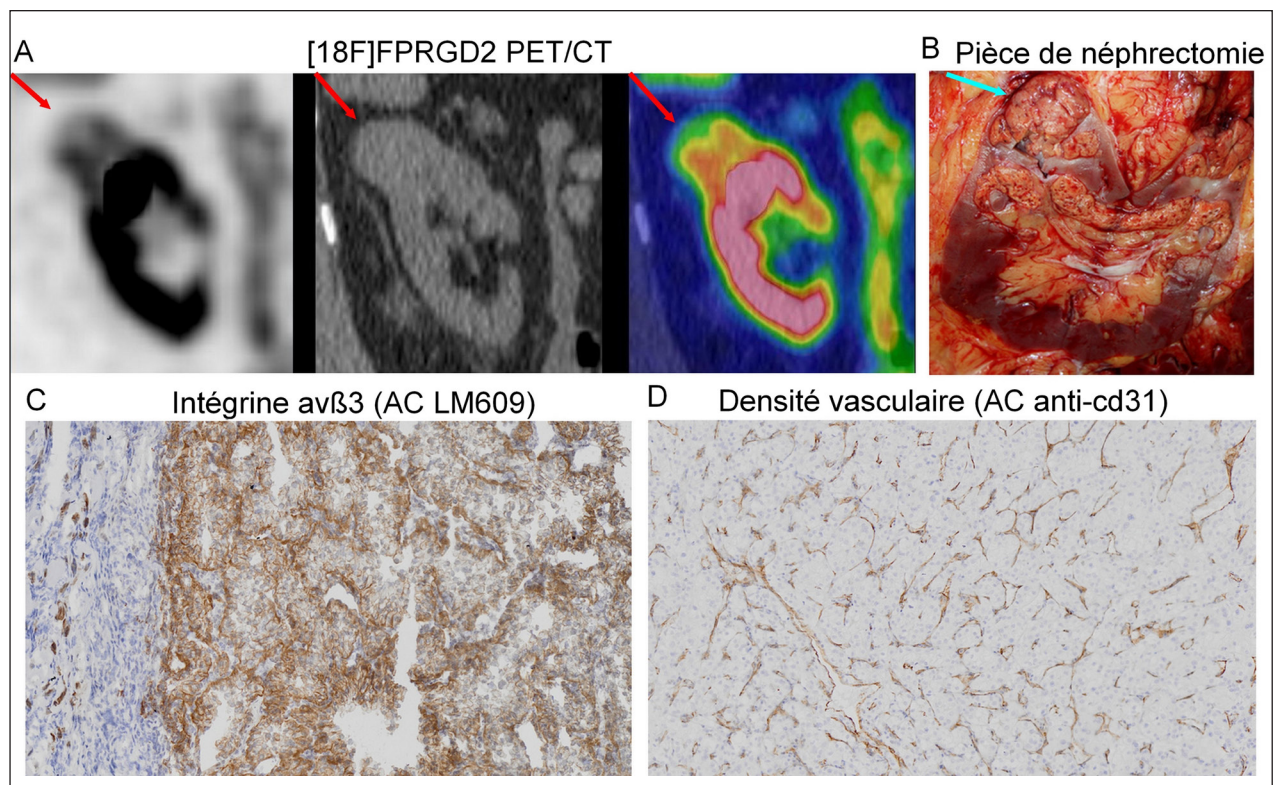


Figure 1. Les images de PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 montrent une tumeur du pôle supérieur du rein gauche (A : flèches rouges). Celle-ci captait le ^{18}F -FPRGD2 de manière intense (SUVmax 5,6). Il s'agissait d'un carcinome à cellules claires (B : flèche bleue). L'analyse de la tumeur en anatomie pathologique montrait une expression intense de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ (C : marquage par immunohistochimie avec l'anticorps monoclonal anti-intégrine $\alpha_v\beta_3$, clone LM609). La comparaison avec le marquage des vaisseaux tumoraux par l'anticorps monoclonal anti-cd31 (D) confirmait que l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ était exprimée au niveau des vaisseaux tumoraux, mais également à la surface des cellules tumorales.

du ^{18}F -FPRGD2 au niveau des tumeurs rectales. Chez ces patients, un PET/CT au FDG avait été réalisé dans le cadre de la prise en charge clinique du patient à titre de bilan d'extension initial et d'aide à la détermination du volume cible

de radiothérapie. En comparaison à la fixation du FDG, la fixation du ^{18}F -FPRGD2 était nettement moins intense. La corrélation des images avec la réponse tumorale pathologique est en cours d'évaluation (fig. 2).

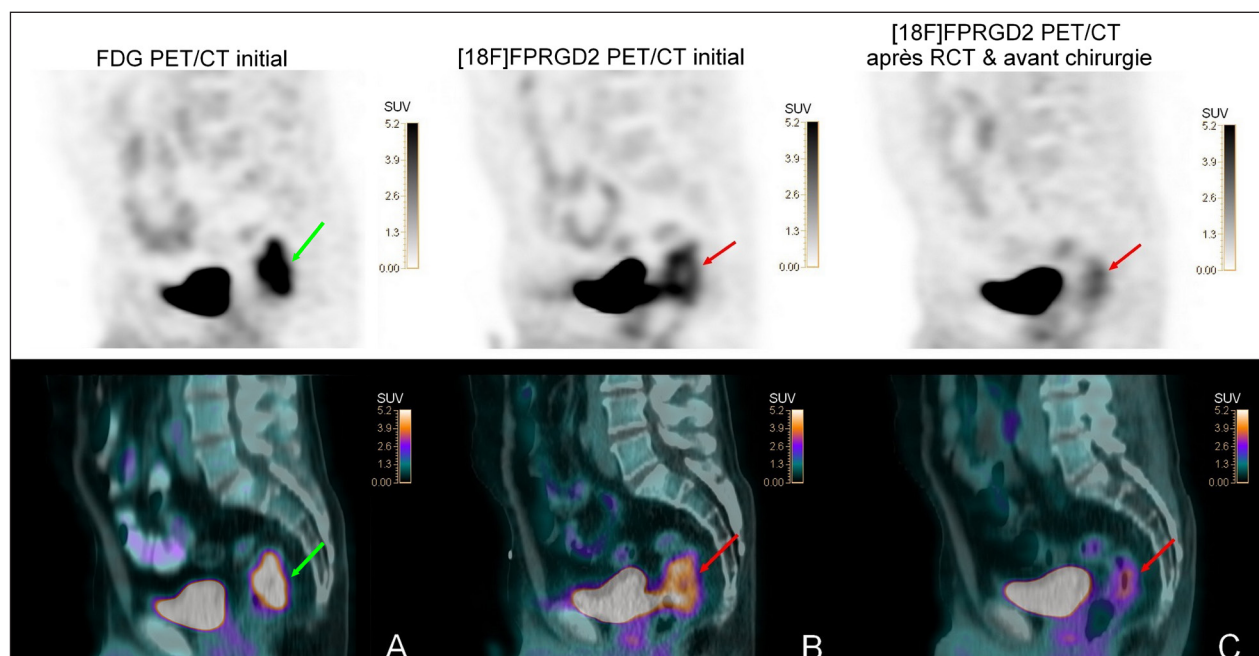


Figure 2. Cette figure illustre un patient atteint d'un cancer du rectum localement avancé. Le PET/CT au FDG réalisé en routine clinique montrait une activité métabolique intense au sein de la tumeur (A : flèches vertes ; SUVmax 10). Le PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 montrait une captation du traceur (B : flèches rouges ; SUVmax 6.8), mais néanmoins moins intense que celle du FDG. Le PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 réalisé après le traitement par radiochimiothérapie, juste avant la chirurgie, (C : flèches rouges ; SUVmax 3.7) montrait une régression (deltaSUVmax : -46%) de la captation tumorale du ^{18}F -FPRGD2.

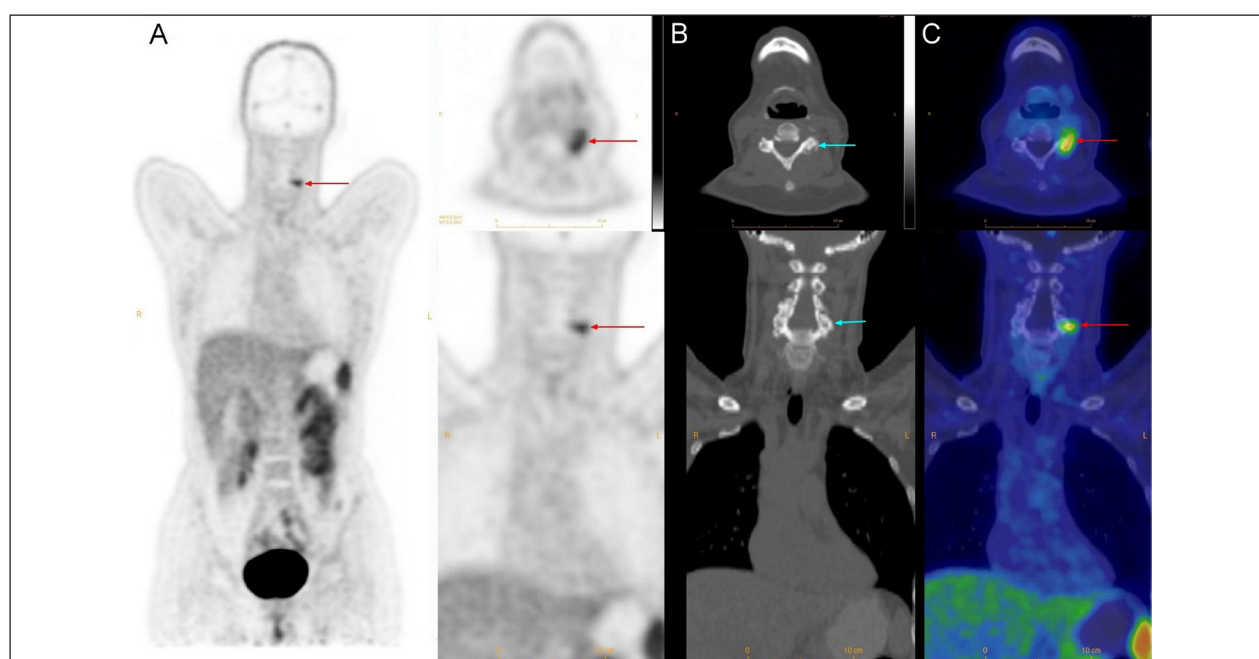


Figure 3. Ces images de PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 réalisées chez une patiente avec une masse rénale, montrent une captation intense du ^{18}F -FPRGD2 (SUVmax 3.85) au niveau d'une articulation postérieure cervicale gauche à hauteur de C4-C5 (A : flèches rouges). Les images du CT à faible dose réalisées avec le PET montrent des anomalies morphologiques liées à une arthrose (B : flèches bleues).

IMAGERIE DE L'ARTHROSE PAR PET/CT AU ^{18}F -FPRGD2

De manière surprenante, nous avons pu constater une captation ostéoarticulaire du ^{18}F -FPRGD2 chez nos patients inclus pour des raisons oncologiques (fig. 3). Cette captation était très régulièrement retrouvée au niveau d'articulations ou du rachis atteints d'arthrose. Cette observation n'avait jusqu'ici jamais été décrite dans la littérature et a fait l'objet d'une présentation orale au Congrès annuel de la Société américaine de Médecine nucléaire en juin 2013 (16). Cette captation articulaire du ^{18}F -FPRGD2 est certainement liée à la présence d'angiogenèse, mais pourrait être liée à l'expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ à la surface de cellules intervenant dans le développement de l'arthrose comme des chondrocytes différenciés ou des fibroblastes. Il est connu que les ostéoclastes expriment l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, ils pourraient donc contribuer à une partie du signal PET (17). Actuellement, nous menons un travail *in vitro* en collaboration avec l'Unité de Recherche en Rhumatologie du GIGA pour appuyer notre hypothèse. Nous évaluons l'expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ par différents types cellulaires intervenant dans le développement de l'arthrose.

APPLICATIONS DE L'IMAGERIE PAR PET/CT AU ^{18}F -FPRGD2 DANS LES PATHOLOGIES CARDIOVASCULAIRES

L'angiogenèse intervient de manière plus générale dans la réparation des tissus dans les suites d'une blessure, d'un infarctus ou dans le développement de l'athérosclérose. Par conséquent, les chercheurs dans le domaine des pathologies cardiovasculaires portent un intérêt croissant à l'imagerie par PET/CT au RGD. Des traceurs RGD sont en cours d'évaluation préclinique dans le domaine de la réparation tissulaire après un infarctus du myocarde (18). Dans un modèle de rats, la présence d'un signal intense sur les images de PET au ^{18}F -RGD réalisé une semaine après un infarctus serait associée à une meilleure réparation des lésions myocardiques (18). Beer et coll. ont montré une captation du ^{18}F -Galacto RGD dans des zones de sténose d'artères carotides chez des patients qui allaient subir une endartérectomie. L'analyse immunohistochimique des parois vasculaires a démontré une expression de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ au niveau de vaisseaux angiogéniques, mais également à la surface des macrophages présents dans les plaques des parois caroti-

diennes (19). Enfin, une étude a montré que le ^{18}F -Fluciclatide, un traceur type RGD, fixerait de manière spécifique les parois d'anévrisme de l'aorte abdominale (20).

PERSPECTIVES

En collaboration avec le Dr Jo Caers du Service d'Hématologie du Pr Yves Beguin, une étude clinique financée par La Fondation Contre le Cancer et recrutant des patients atteints de myélome multiple au diagnostic ou en rechute est actuellement en cours. L'objectif de cette étude est d'évaluer les performances du PET/CT au ^{18}F -FPRGD2 dans la détection des lésions ostéomédullaires en comparaison à l'imagerie par résonance magnétique nucléaire du corps entier avec, pour imagerie de référence, la radiographie standard du squelette complet.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'équipe du CRC (A. Luxen, F. Miévis, C. Mella, F. Giacomelli et les opérateurs) pour la synthèse du radiopharmaceutique; les médecins suivants : P. Martinive, J. Vanderick, E. Mutijima, P. Lovinfosse, J. Somja, N. Blétard, I. Scagnol, D. Waltregny et les urologues qui ont permis le recrutement de patients, D. Cataldo et M. Malaise; F. Perin et N. Signolle pour la prise en charge des analyses tissulaires et A. Noël; I. Jupsin pour la gestion des données cliniques des patients, K. Elkandoussi et A. Delga de la Bibliothèque Universitaire de Liège pour la conservation des échantillons tumoraux.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ruoslahti E.— Integrins. *J Clin Invest*, 1991, **87**, 1-5.
2. Brooks PC, Clark RA, Cheresh DA.— Requirement of vascular integrin $\alpha_v\beta_3$ for angiogenesis. *Science*, 1994, **264**, 569-571.
3. Reardon DA, Cheresh D.— Cilengitide : a prototypic integrin inhibitor for the treatment of glioblastoma and other malignancies. *Genes Cancer*, 2011, **2**, 1159-1165.
4. Gaertner FC, Kessler H, Wester HJ, et al.— Radiolabelled RGD peptides for imaging and therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, **39**, S126-138.
5. Zhang X, Xiong Z, Wu Y, et al.— Quantitative PET imaging of tumor integrin $\alpha_v\beta_3$ expression with ^{18}F -FRGD2. *J Nucl Med*, 2006, **47**, 113-121.
6. Beer AJ, Haubner R, Sarbia M, et al.— Positron emission tomography using [^{18}F]Galacto-RGD identifies the level of integrin $\alpha_v\beta_3$ expression in man. *Clin Cancer Res*, 2006, **12**, 3942-3949.

7. Schnell O, Krebs B, Carlsen J, et al.— Imaging of integrin $\alpha(v)\beta(3)$ expression in patients with malignant glioma by [18F] Galacto-RGD positron emission tomography. *Neuro Oncol*, 2009, **11**, 861-870.
8. Wan W, Guo N, Pan D, et al.— First experience of 18F-alfatide in lung cancer patients using a new lyophilized kit for rapid radiofluorination. *J Nucl Med*, 2013, **54**, 691-698.
9. Desgrosellier JS, Barnes LA, Shields DJ, et al.— An integrin $\alpha(v)\beta(3)$ -c-Src oncogenic unit promotes anchorage-independence and tumor progression. *Nat Med*, 2009, **15**, 1163-1169.
10. Abdollahi A, Griggs DW, Zieher H, et al.— Inhibition of $\alpha(v)\beta(3)$ integrin survival signaling enhances antiangiogenic and antitumor effects of radiotherapy. *Clin Cancer Res*, 2005, **11**, 6270-6279.
11. Seguin L, Kato S, Franovic A, et al.— An integrin β -KRAS-RalB complex drives tumour stemness and resistance to EGFR inhibition. *Nat Cell Biol*, 2014, **16**, 457-468.
12. Thonon D, Goblet D, Goukens E, et al.— Fully automated preparation and conjugation of N-succinimidyl 4-[18F]fluorobenzoate ([18F]SFB) with RGD peptide using a GE FASTlab synthesizer. *Mol Imaging Biol*, 2011, **13**, 1088-1095.
13. Withofs N, Léonard M, Aerts J, et al.— [18F]FPRGD2 PET/CT imaging of integrin $\alpha_v\beta_3$ in renal carcinomas : Correlation with histopathology. *J Nucl Med*, 2012, **53**, 1647.
14. Withofs N, Scagnol I, Thonon D, et al.— Preliminary results of [18F]FPRGD2 PET/CT imaging of integrin $\alpha_v\beta_3$ levels in patients with locally advanced rectal carcinoma. *J Nucl Med*, 2012, **53**, 1703.
15. Edge SB, Compton CC, Fritz AG, et al.— AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010.
16. Withofs N, Simoni P, Luxen A, et al.— Imaging osteoarthritis and periarticular bone changes using [18F]FPRGD2 PET/CT : Observation and potential application. *J Nucl Med*, 2013, **54**, 250.
17. Zheleznyak A, Wadas TJ, Sherman CD, et al.— Integrin $\alpha(v)\beta(3)$ as a PET imaging biomarker for osteoclast number in mouse models of negative and positive osteoclast regulation. *Mol Imaging Biol*, 2012, **14**, 500-508.
18. Sherif HM, Saraste A, Nekolla SG, et al.— Molecular imaging of early $\alpha(v)\beta(3)$ integrin expression predicts long-term left-ventricle remodeling after myocardial infarction in rats. *J Nucl Med*, 2012, **53**, 318-323.
19. Beer AJ, Pelisek J, Heider P, et al.— PET/CT Imaging of Integrin $\alpha(v)\beta(3)$ Expression in Human Carotid Atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2014, **7**, 178-187.
20. Tegler G, Estrada S, Hall H, et al.— Autoradiography screening of potential positron emission tomography tracers for asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Ups J Med Sci*, 2014, **119**, 229-235.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au
Pr. R. Hustinx, Service de Médecine Nucléaire, CHU
de Liège, Belgique.
Email : rhustinx@chu.ulg.ac.be