

# La rapamycine et le CCI-779

## Rapamycin and CCI-779

Jérôme ALEXANDRE  
Éric RAYMOND  
Jean-Pierre ARMAND

Département de médecine, Institut  
Gustave-Roussy, 94805 Villejuif  
Cedex.

**Résumé** – La rapamycine (sirolimus) est un macrolide proche de la ciclosporine possédant des propriétés immunosuppressives et une activité antiproliférative *in vitro* sur plusieurs lignées tumorales humaines et sur des modèles de tumeurs transplantées. La kinase cytoplasmique mTOR, qui contrôle l'initiation de la traduction des ARN messagers en réponse à des facteurs de croissance, est la principale cible cellulaire connue de la rapamycine. Au cours des essais cliniques, la rapamycine utilisée par voie orale comme agent immunosuppresseur ne présentait pas de toxicité limitante et était responsable uniquement de thrombopénies et d'hyperlipidémies asymptomatiques. Dans des modèles murins, une meilleure activité antitumorale était observée en utilisant une administration parentérale. Le CCI-779, un analogue conçu pour une administration intraveineuse, possède chez la souris une activité tumorale sans propriété immunosuppressive significative et fait actuellement l'objet d'essais de phase I chez l'homme. ▲

**Mots clés:** rapamycine, mTOR, CCI-779.

**Abstract** – Rapamycin (sirolimus) is a macrolide, related to cyclosporine with immunosuppressive properties and antiproliferative activity in various human tumor cells lines and tumor xenograft models. The cytosolic kinase mTOR which controls the initiation of the translation of messenger RNA is the main known target of rapamycin. During clinical studies, rapamycin given by oral route as immunosuppressant did not show dose-limited toxicity and only asymptomatic thrombopenia and hyperlipemia were observed. In murine models, best antitumoral activity was observed using parental routes. CCI-779, an analog formulated for intravenous use has antitumor activity without significant immunosuppressive property in mice and is currently in phase I trials in man. ▲

**Key words:** rapamycin, mTOR, CCI-779.

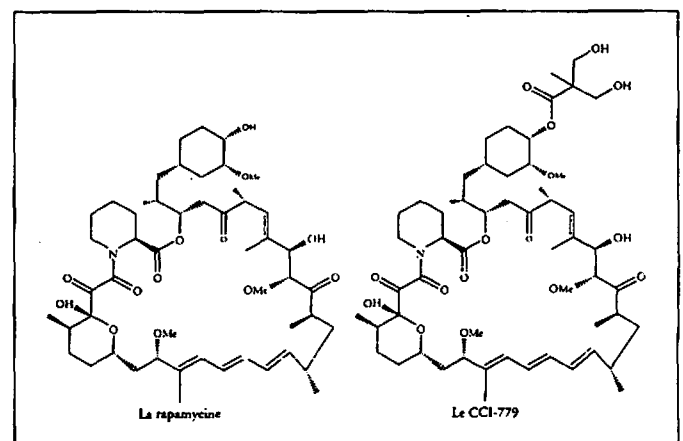
Article reçu le 15 juin 1999, accepté après  
révision le 9 août 1999.

Tirés à part: J. Alexandre.

La rapamycine (figure 1) ou sirolimus est un macrolide produit par *Streptomyces hygroscopicus*, proche de la ciclosporine et du FK506 (tacrolimus). Elle fut initialement identifiée comme un agent antifongique il y a maintenant trente ans [1]. Secondairement, elle a surtout été développée comme un agent immunosuppresseur (Rapamune®, Wyeth-Léderlé). Plusieurs essais cliniques ont montré son intérêt dans le traitement du rejet de greffe d'organe [2]. Ses propriétés antitumorales sur différents modèles cellulaires sont également connues depuis plusieurs années, mais n'ont jamais fait l'objet de publications en clinique humaine [3]. L'originalité de la rapamycine tient à son mécanisme d'action. Elle inhibe spécifiquement une protéine kinase cytoplasmique, mTOR (pour *mammalian target of rapamycin*) qui intervient dans une voie de signalisation mitogénique réglant l'initiation de la traduction [4].

L'intérêt pour la rapamycine a récemment été relancé par le développement d'analogues tels que le CCI-779

activité antiproliférative et d'un faible effet immunosuppresseur [5].



## La rapamycine

### Activité antitumorale

*In vitro*, la rapamycine inhibe la croissance de plusieurs lignées tumorales humaines, en particulier d'ostéosarcome [6], de rhabdomyosarcomes Rh1 et Rh30 [7], de cancers bronchiques à petites cellules H69, H345 et H510 [8], d'hépatome H4 [9] et de cancer du sein hormonodépendant MCF7 [10]. La gamme des concentrations efficaces va de 0,3 à 50 nM. Dans plusieurs de ces lignées, il a été montré que la rapamycine bloque les cellules en phase G1 du cycle cellulaire. Cet effet cytostatique a été confirmé *in vivo* sur des modèles de xéno greffes de tumeurs humaines chez la souris nude [3]. Un effet proapoptotique a également été observé sur des lignées de rhabdomyosarcome cultivées sans facteur de croissance [11] et en association avec le cisplatine sur une lignée de carcinome ovarien [12].

### Mécanisme d'action moléculaire

La rapamycine peut être considérée comme une « prodrogue » dans la mesure où son action intracellulaire nécessite sa fixation à une immunophiline dénommée FKBP12 (*FK506 binding protein*, car elle fixe également le FK506) [13]. Le complexe ainsi formé est très stable (temps de demi-dissociation de 17,5 h) et autorise un effet biologique prolongé de la rapamycine (7 jours après une heure d'exposition *in vitro*) [11], suggérant que celle-ci puisse être administrée de façon discontinue.

La seule cible actuellement connue du complexe rapamycine/FKBP12 est la protéine mTOR. Celle-ci est une sérine-thréonine kinase de la famille des phosphatidyl inositol kinases [4]. Elle est activée par un grand nombre de facteurs de croissance, en particulier les interleukines 2, 4 et 6, l'insuline, et l'*insulin-like growth factor 1*. En réponse à ces stimuli mitogéniques, mTOR va activer l'initiation de la traduction d'un grand nombre d'ARNm par deux voies parallèles [4, 14] (figure 2):

- le facteur d'initiation de la traduction 4E (eIF4E) est à l'état basal séquestré et inhibé par la protéine 4E-BP1. mTOR, en phosphorylant cette dernière, va permettre la libération de eIF4E et l'initiation de la traduction. Les protéines ainsi synthétisées sont supposées induire, directement ou indirectement, la transition G1/S;

- mTOR active la p70/S6 kinase qui active alors à son tour la protéine ribosomique S6. Sous sa forme phosphorylée, cette dernière contrôle sélectivement la traduction d'ARNm possédant un domaine riche en pyrimidine à leur extrémité 5'. Ces ARNm codent pour des protéines ribosomiques et des facteurs d'élongation.

Les facteurs protéiques activés en amont de mTOR après fixation du facteur de croissance sur son récepteur sont moins bien connus. Une isoforme de la p85/PI<sub>3</sub> kinase serait en particulier impliquée [15].

L'inhibition de la fonction biologique de mTOR par la rapamycine semble jouer un rôle essentiel dans son action cytostatique. Cependant, il reste encore beaucoup à apprendre sur, d'une part, les mécanismes exacts par lesquels mTOR contrôle la transition G1/S et, d'autre part, d'éventuelles autres

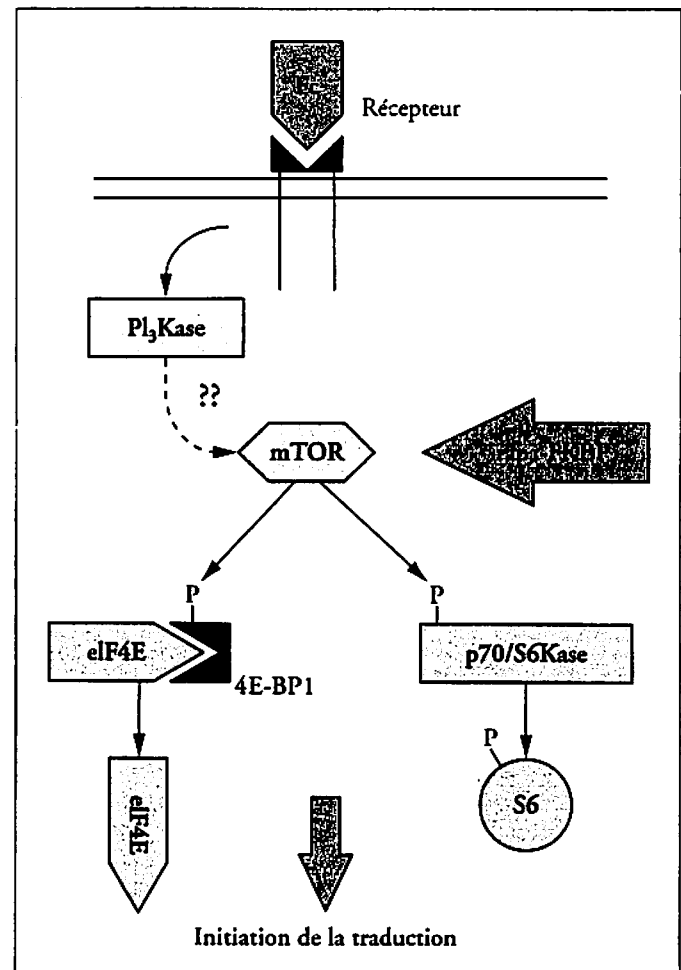


Figure 2. Voie de transduction impliquant mTOR. Fc: facteur de croissance; PI<sub>3</sub>Kase: phosphatidyl inositol 3 kinase; mTOR: *mam-malian target of rapamycin*; rapa: rapamycine; FKBP: *FK506 binding protein*; p70/S6Kase: kinase de la protéine ribosomique S6; eIF4E: facteur d'initiation eucaryote 4E; 4E-BP1: eIF4E binding protein.

que la rapamycine diminuait le taux de cycline D1. Cependant, contrairement à ce que l'on pouvait croire, cela n'était pas dû à un défaut de synthèse mais à une dégradation accélérée de la protéine [16]. Sur d'autres modèles, la rapamycine induit l'accumulation de l'inhibiteur de cycline p27<sup>kip1</sup> [17].

L'action proapoptotique de la rapamycine est également mal connue. Elle semble dépendante de l'inhibition de mTOR, mais pas de p53 [11], ni de bcl-2 [18].

Une meilleure connaissance des mécanismes d'action de la rapamycine au niveau moléculaire permettrait idéalement de prédire la sensibilité des tumeurs à cette molécule en fonction de l'expression ou de la non-expression de tel ou tel gène. Il a ainsi déjà été montré que des tumeurs surexprimant *c-myc* étaient résistantes à la rapamycine [19], de même que celles issues de patients atteints d'ataxie-télangiectasie [20]. De façon intéressante, le gène *ATM*, déficient au cours de l'ataxie-télangiectasie, code pour une phosphatidyl inositol kinase proche de mTOR.

### Expérience clinique

avec la ciclosporine. La rapamycine est administrée par voie orale et est métabolisée par le cytochrome P450 3A en plusieurs métabolites inactifs [21].

À la dose recommandée pour les phases II de 7 mg/m<sup>2</sup>/j, la toxicité porte essentiellement sur des paramètres biologiques [2]. Il existe une toxicité hématologique dose-dépendante prédominante sur les plaquettes, et généralement asymptotique et ne nécessitant pas de transfusion. Cette hématotoxicité est d'origine centrale et pourrait être liée à l'inhibition par la rapamycine des signaux mitogènes transmis par les cytokines. La rapamycine augmente le taux de triglycérides et de cholestérol parfois de façon considérable. Cette hyperlipémie pourrait surtout poser des problèmes lors d'une administration au long cours du fait de l'augmentation du risque cardiovasculaire. Il n'a jamais été observé de pancréatite aiguë liée à l'hypertriglycéridémie, ni d'autre manifestation clinique. Chez ces patients déjà lourdement immunodéprimés, la rapamycine ne semble pas augmenter le risque d'infections, sauf peut-être celles liées au virus herpès simplex. Cette constatation est à rapprocher du fait que la rapamycine augmente la traduction des ARNm de certains virus [22].

## Un nouvel analogue de la rapamycine : le CCI-779

Dans plusieurs modèles murins, l'action antitumorale de la rapamycine est plus importante lorsqu'une administration parentérale est utilisée. Cependant, celle-ci est difficilement réalisable en pratique clinique courante du fait d'une faible solubilité de la molécule [5]. Des analogues de la rapamycine ont donc été développés dont les propriétés physico-

chimiques permettent une administration par voie intraveineuse aisée.

Le CCI-779 est l'un de ces analogues. Il présente une activité cytotatique sur plusieurs modèles de xénotransplantés de tumeurs humaines à des souris nude, en particulier dans des glioblastomes, carcinomes de prostate, du pancréas et du sein [23] et des médulloblastomes [24].

Tout comme la rapamycine, la fixation du CCI-779 à la FKBP12 est une étape indispensable à son action [23]. Il reste cependant à déterminer si le mécanisme d'action du CCI-779 est entièrement superposable à celui de la rapamycine.

De façon intéressante, l'activité antitumorale décrite chez la souris nude est maintenue pendant 14 jours après une administration quotidienne de 5 jours alors que l'effet immunosuppresseur disparaît au bout de 24 h [23].

Des essais thérapeutiques de phase I sont en cours en France et aux États-Unis.

## Conclusion

La rapamycine est le premier représentant d'une nouvelle classe d'anticancéreux au mécanisme d'action tout à fait original et au profil de toxicité favorable. Les études précliniques suggèrent pour ces molécules une action essentiellement cytotatique. Le CCI-779, premier analogue administrable par voie parentérale, fait actuellement l'objet d'essais cliniques de phase I. Parallèlement, une meilleure connaissance des cibles moléculaires de la rapamycine et de ses analogues pourrait guider la réalisation de futurs essais cliniques de phase II. ▼

## RÉFÉRENCES

1. Vezina C. Antimicrobial activity of streptomycetes and fungi isolated from rapa Nui soil samples. *5th annual meeting of the Canadian Society of Chemotherapy*, Toronto, April 16, 1969.
2. Kahan BD. Rapamycin: personal algorithms for use based on 250 treated renal allograft recipients. *Transplant Proc* 1998; 30: 2185-8.
3. Morris RE. Rapamycins: antifungal, antitumor, antiproliferative, and immunosuppressive molecules. *Transplant Rev* 1992; 6: 39-87.
4. Thomas G, Hall MN. TOR signalling and control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 782-7.
5. Sausville EA. New agents-noncytotoxics, antiangiogenesis. *ASCO Educational Book* 1998: 112-7.
6. Albers MW, Williams RT, Brown EJ, Tanaka A, Hall FL, Schreiber SL. FKBP-rapamycin inhibits a cyclin-dependent kinase activity and a cyclin D1-cdk association in early G1 of an osteosarcoma cell line. *J Biol Chem* 1993; 268: 22825-9.
7. Dilling MB, Dias P, Shapiro DN, Germain GS, Johnson RK, Houghton PJ. Rapamycin selectively inhibits the growth of childhood rhabdomyosarcoma cells through inhibition of signaling via the type I insulin-like growth factor receptor. *Cancer Res* 1994; 54: 903-7.
8. Scufferlein T, Rozengurt E. Rapamycin inhibits constitutive p70S6K phosphorylation, cell proliferation, and colony formation in small cell carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 4003-7.
9. Price DJ, Grove JR, Calvo V, Avruch J, Bierer BE. Rapamycin-induced inhibition of the 70-kilodalton S6 protein kinase. *Science* 1992; 257: 973-7.
10. Magge KP, Pryor AD, Marks JR, Iglehart JD, Miron A. Rapamycin (sirolimus) blocks estrogen mediated growth of breast cancer cell lines. *Proc Am Ass Cancer Res* 1999; 40: 636 (abstr. 4197).
11. Hosoi H, Dilling MB, Shikata T, Liu LN, Shu L, Ashmun RA. Rapamycin causes poorly reversible inhibition of mTOR and induces p53-dependent apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Cancer Res* 1999; 59: 886-94.
12. Shi Y, Frankel A, Radvanyi LG, Penn LZ, Miller RG, Mills GB. Rapamycin enhances apoptosis and increases sensitivity to cisplatin *in vitro*. *Cancer Res* 1995; 55: 1982-8.
13. Sabers CJ, Martin MM, Brunn GJ. Isolation of a protein target of the FKBP12-rapamycin complex in mammalian cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 815-22.
14. Beretta L, Grolleau A. La rapamycine: identification d'une nouvelle voie de signalisation des facteurs de croissance, réglant le début de la traduction. *Médecinesciences* 1998; 14: 600-2.
15. Conus NM, Hemmings BA, Pearson RB. Differential regulation by calcium reveals distinct signaling requirements for the activation of Akt and p70<sup>S6K</sup>. *J Biol Chem* 1998; 273: 4776-82.
16. Hashemolhosseini S, Nagamine Y, Morley SJ, Desrivieres S, Mercep L, Ferrari S. Rapamycin inhibition of the G1 to S transition is mediated by effects on cyclin D1 mRNA and protein stability. *J Biol Chem* 1999; 274: 10000-6.

17. Nourse J, Firpo E, Flanagan WM, Coats S, Polyak K, Lee MH, *et al.* Interleukin-2-mediated elimination of the p27<sup>kip1</sup> cyclin-dependent kinase inhibitor prevented by rapamycin. *Nature* 1994; 372: 570-3.
18. Veverka KA, Germain GS, Dilling MB, Houghton PJ. Overexpression of bcl2 fails to protect rhabdomyosarcoma cells from rapamycin-induced apoptosis. *Proc Am Ass Cancer Res* 1998; 39: 571 (abstr. 3880).
19. Dilling MB, Hosoi H, Liu LN, Germain GS, Houghton PJ. Intrinsic resistance to rapamycin in human tumor cells may correlate with c-myc protein levels. *Proc Am Ass Cancer Res* 1999; 40: 428 (abstr. 2827).
20. Beamish H, Williams R, Chen P, Khanna KK, Hobson K, Watters D. Rapamycin resistance in ataxia-telangiectasia. *Oncogene* 1996; 13: 963-70.
21. Trepanier DJ, Gallant H, Legatt DF, Yatscoff RW. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update. *Clin Biochem* 1998; 31: 345-51.
22. Beretta L, Svitkin YV, Sonenberg N. Rapamycin stimulates viral protein synthesis and augments the shutoff of host protein synthesis upon picornavirus infection. *J Virol* 1996; 70: 8993-6.
23. Gibbons JJ, Discafani C, Peterson R, Hernandez R, Skotnicki J, Frost P. The effect of CCI-779, a novel macrolide anti-tumor agent, on the growth of human tumor cells *in vitro* and in nude mouse xenografts *in vivo*. *Proc Am Ass Cancer Res* 1999; 40: 301 (abstr. 2000).
24. Georger B, Kerr K, Janss AJ, Sutton LN, Phillips PC. Rapamycin analog CCI-779 inhibits growth of human medulloblastoma xenografts. *Proc Am Ass Cancer Res* 1999; 40: 603 (abstr. 3978).

## Rapamycin and CCI-779

Jérôme ALEXANDRE

Éric RAYMOND

Jean-Pierre ARMAND

Department of Medicine,

Gustave-Roussy Institute, 94805 Villejuif

Cedex.

*Abstract – Rapamycin (sirolimus) is a macrolide, related to cyclosporine with immunosuppressive properties and antiproliferative activity in various human tumor cells lines and tumor xenograft models. The cytosolic kinase mTOR which controls the initiation of the translation of messenger RNA is the main known target of rapamycin. During clinical studies, rapamycin given by oral route as immunosuppressant did not show dose-limited toxicity and only asymptomatic thrombopenia and hyperlipemia were observed. In murine models, best antitumoral activity was observed using parental routes. CCI-779, an analog formulated for intravenous use has antitumor activity without significant immunosuppressive property in mice and is currently in phase I trials in man. ▲*

**Key words:** rapamycin, mTOR, CCI-779.

Article received on June 15, 1999,

accepted after revision

on August 9, 1999.

Reprints: J. Alexandre.

# Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

## Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

## Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

## Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

## API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

## LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

## FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

## E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.