



MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN
CÁNCER

IDENTIFICACIÓN DE MECANISMOS DE RESPUESTA A LOS INHIBIDORES DE CDK4/6 EN CÁNCER DE MAMA RECEPTOR HORMONAL POSITIVO

Dr. Aleix Prat Aparicio

IDIBAPS Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer

Dra. Eva González Suárez

IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

Dr. Roger Gomis Cabré

IRBB Institut Recerca Biomèdica de Barcelona

1. Resumen

El cáncer de mama receptor hormonal positivo (HR+) es clínicamente y biológicamente heterogéneo, representa el 75% de todos los tumores de mama y es una causa importante de muerte por cáncer. Mediante análisis de expresión génica, hemos demostrado que una proporción importante de los cánceres de mama HR+ no se incluyen en los subtipos luminales A o B, sino que caen en el fenotipo HER2-enriquecido (HER2-E).

Los inhibidores de CDK4/6 están aprobados para el tratamiento del cáncer de mama metastásico HR+ y mejoran significativamente la supervivencia libre de progresión. Clínicamente, los subtipos luminales A y B muestran un beneficio sustancial de los inhibidores de CDK4/6, mientras que el subtipo HER2-E está asociado con una baja sensibilidad a la inhibición de CDK4/6 y un mal pronóstico, tanto en el ámbito temprano como en el metastásico.

Nuestros objetivos eran:

1) Identificar las alteraciones moleculares detrás de la resistencia a las terapias endocrinas y anti-CDK4/6 así como los perfiles inmunológicos, mediante el análisis de hasta 480 tumores HR+ de pacientes con cáncer de mama tratados con CDK4/6 en estadios tempranos y metastásicos.

2) Identificar biomarcadores de respuesta al fármaco y estrategias de tratamiento para superar la resistencia a las terapias dirigidas, utilizando un enfoque imparcial con CRISPR/Cas9 y modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo* de cáncer de mama.

Nuestra propuesta es dinámica y traslacional: partimos de observaciones obtenidas en un entorno clínico, pasamos al laboratorio para estudiarlas a fondo y finalmente volvemos a la clínica para comprobar si los hallazgos preclínicos también son válidos en el entorno clínico.

2. Resultados

Mediante el análisis molecular de muestras clínicas y modelos preclínicos, hemos identificado 11 proteínas clave involucradas en la resistencia a los inhibidores de

CDK4/6. En particular, nos hemos centrado en FGFR4, un receptor de membrana implicado en complejos clave en el ciclo celular (CCNE/CDK2) y que es un impulsor del fenotipo HER2-enriquecido. Hemos profundizado en el mecanismo por el cual esta proteína de membrana genera resistencia, la hemos validado en modelos preclínicos experimentales y finalmente hemos demostrado como prueba de concepto que podemos modificar terapéuticamente la actividad de esta proteína, mejorando así la respuesta del tumor a los inhibidores de CDK4/6 aprobados en la práctica clínica para el cáncer de mama HR+.

Adicionalmente, también se ha establecido un vínculo entre la vía RANK y la resistencia intrínseca/adquirida a los inhibidores de CDK4/6. Hemos observado que la sobreexpresión de RANK en el cáncer de mama HR+ está asociada con resistencia intrínseca a los inhibidores de CDK4/6, tanto *in vitro* como en xenoinjertos de ratón, y destacamos que la reducción de la tasa de proliferación y la respuesta crónica al interferón gamma (IFN- γ) son impulsores de la resistencia. Los datos de expresión génica de muestras clínicas y los estudios con líneas celulares resistentes a palbociclib mostraron que RANK se sobreexpresa después del tratamiento con inhibidores de CDK4/6, lo que respalda un papel en la resistencia adquirida, y los inhibidores de RANKL pueden restaurar la sensibilidad a los inhibidores de CDK4/6 y prevenir la resistencia adquirida.

Finalmente, hemos realizado secuenciación superficial de todo el genoma en muestras de plasma de 459 pacientes con cáncer de mama metastásico, incluidos aquellos tratados con terapia endocrina y un inhibidor de CDK4/6. Nuestros resultados revelaron que las firmas de múltiples genes aprendidas mediante aprendizaje automático, derivadas de la detección del número de copias en ctDNA, pueden capturar características biológicas complejas relevantes para la proliferación tumoral y la señalización del receptor de estrógeno. Es importante señalar que identificamos 4 subtipos basados en el ADN y una firma genómica basada en ctDNA indicativa de la pérdida de heterocigocidad del retinoblastoma, todos ellos significativamente asociados con una respuesta y unos resultados de supervivencia pobres después del tratamiento, independientemente de la fracción tumoral en plasma.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

El consorcio ha concentrado sus esfuerzos de desarrollo en tumores HR+/HER2-negativo, el subtipo clínico más prevalente de cáncer de mama, que representa el 70% de los casos. La introducción de los inhibidores de CDK4/6 en la terapia endocrina ha mejorado significativamente la supervivencia de los pacientes con cáncer de mama metastásico HR+/HER2-negativo. No obstante, no todos los pacientes se benefician por igual y, eventualmente, todos experimentarán una recaída. Para abordar esto, necesitamos desarrollar nuevos tratamientos para los pacientes que progresan con los inhibidores de CDK4/6. Mediante el análisis de muestras clínicas y modelos celulares, hemos identificado el FGFR4 como un posible mecanismo de resistencia, que puede ser atacado mediante un conjugado de anticuerpos y fármacos específico. Estos resultados pueden conducir al desarrollo de un nuevo fármaco que afecte al FGFR4, incluyendo más validación preclínica y un ensayo en humanos. Además, concluimos que la inhibición farmacológica de la vía RANK a través del bloqueo del RANKL podría representar un complemento de la terapia endocrina e inhibidores.

4. Bibliografía científica generada

1. Martínez-Saéz O, *et al.*
Frequency and spectrum of PIK3CA somatic mutations in breast cancer.
Breast Cancer Res. 22, 45 (2020). doi: 10.1186/s13058-020-01284-9.
2. Garcia-Recio S, *et al.*
FGFR4 regulates tumor subtype differentiation in luminal breast cancer and metastatic disease.
J. Clin. Invest. (2020). doi: 10.1172/JCI130323.
3. Griguolo G, *et al.*
ERBB2 mRNA Expression and Response to Ado-Trastuzumab Emtansine (T-DM1) in HER2-Positive Breast Cancer.
Cancers (Basel). 12, 1902 (2020). doi: 10.3390/cancers12071902.

4. Prat A, et al.
A prognostic model based on PAM50 and clinical variables (PAM50MET) for metastatic hormone-receptor-positive HER2-negative breast cancer.
Clin. Cancer Res. (2020). doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-2793.
5. Martínez-Sáez O, et al.
Circulating tumor DNA dynamics in advanced breast cancer treated with CDK4/6 inhibition and endocrine therapy.
NPJ Breast Cancer 7, (2021). doi: 10.1038/s41523-021-00218-8.
6. Prat A, et al.
Correlative Biomarker Analysis of Intrinsic Subtypes and Efficacy Across the MONALEESA Phase III Studies.
J. Clin. Oncol. 39, 1458–1467 (2021). doi: 10.1200/JCO.20.02977.
7. Schettini F, et al.
Identification of cell surface targets for CAR-T cell therapies and antibody–drug conjugates in breast cancer.
ESMO Open 6, 100102 (2021). doi: 10.1016/j.esmoop.2021.100102.
8. Brasó-Maristany F, et al.
Gene expression profiles of breast cancer metastasis according to organ site.
Mol. Oncol. 1878–0261.13021 (2021). doi:10.1002/1878-0261.13021.
9. Chic N, et al.
Oestrogen receptor activity in hormone-dependent breast cancer during chemotherapy.
EBioMedicine 69, 103451 (2021). doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103451.
10. Brasó-Maristany F, et al.
Case Report: A Case Study Documenting the Activity of Atezolizumab in a PD-L1-Negative Triple-Negative Breast Cancer.
Front Oncol. 20;11:710596 (2021). doi: 10.3389/fonc.2021.710596.

11. Schettini F.
A perspective on the development and lack of interchangeability of the breast cancer intrinsic subtypes.
NPJ Breast Cancer. Jul 19;8(1):85 (2022). doi: 10.1038/s41523-022-00451-9.
12. Palafox M, et al.
High p16 expression and heterozygous RB1 loss are biomarkers for CDK4/6 inhibitor resistance in ER+ breast cancer.
Nat Commun. 2022 Sep 7;13(1):5258. doi: 10.1038/s41467-022-32828-6.
13. Schettini F, et al.
Intrinsic subtypes and therapeutic decision-making in hormone receptor-positive/HER2-negative metastatic breast cancer with visceral crisis: A case report.
Front Oncol. 2022 Nov 8;12:1009352. doi: 10.3389/fonc.2022.1009352.
14. Falato C, et al.
Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes in hormone receptor-positive and HER2-negative metastatic breast cancer.
Cancer Treat Rev. 2023 Jan;112:102496. doi: 10.1016/j.ctrv.2022.102496.
15. Prat A, et al.
Circulating tumor DNA reveals complex biological features with clinical relevance in metastatic breast cancer.
Nat Commun. 2023 Mar 1;14(1):1157. doi: 10.1038/s41467-023-36801-9.
16. Gomes I, et al.
Co-targeting RANK pathway treats and prevents acquired resistance to CDK4/6 inhibitors in Luminal breast cancer.
Cell Rep Med. 2023 Aug 15;4(8):101120. doi: 10.1016/j.xcrm.2023.101120. Epub 2023 Jul 13.
17. Cordero A,* Santamaría PG,* González-Suárez E.
Rank ectopic expression in the presence of Neu and MMTV oncogenes alters mammary epithelial cell populations and their tumorigenic potential.
J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2023 Feb 18;28(1):2.

18. Ciscar M,* Trinidad EM,* *et al.*

RANK is a poor prognosis marker and a therapeutic target in ER-negative postmenopausal breast cancer.

EMBO Mol Med. 2023 Mar 7:e16715. doi: 10.15252/emmm.202216715.

19. Benítez S,* Cordero A,* *et al.*

Rank links senescence to stemness in the mammary epithelia, delaying tumor onset but increasing tumor aggressiveness.

Developmental Cell. 2021 Jun 21;56(12):1727-1741.e7. doi:
10.1016/j.devcel.2021.04.022.

20. Sanz-Moreno A, *et al.*

RANK signaling increases after anti-HER2 therapy contributing to the emergence of resistance in HER2-positive breast cancer.

Breast Cancer Res. 2021 Mar 30;23(1):42 doi: 10.1186/s13058-021-01390-2.