



MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN
CÁNCER

EVALUANDO LA EFECTIVIDAD DE TERAPIAS DE PRECISIÓN DIRIGIDAS A ALTERACIONES GENÉTICAS RECURRENTES EN TUMORES MALIGNOS DE LA VAINA DEL NERVIO PERIFÉRICO

Dr. Eduard Serra Arenas

Institut d'Investigació en Ciències de la Salut - IIGTiP Institut d'Investigació Germans
Trias i Pujol

Dra. Concepción Lázaro García

Institut Català d'Oncologia - IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

Dr. Joan Carles Galcerán

Fundació Institut d'Investigació Oncològica de la Vall d'Hebron (VHIO)

1. Resumen del proyecto

El tumor maligno de la vaina del nervio periférico (MPNST) es un tipo de sarcoma de tejidos blandos muy agresivo. Aproximadamente la mitad de los MPNST se desarrollan en pacientes esporádicos y la otra mitad en pacientes con neurofibromatosis de tipo 1 (NF1), una enfermedad hereditaria con predisposición al cáncer. Los MPNST afectan tanto a personas jóvenes como adultas y tienen un pronóstico muy malo debido a su agresividad y potencial metastásico. La resección completa con amplios márgenes es la terapia más eficaz para los MPNST, pero no siempre es factible. La radioterapia y la quimioterapia son poco beneficiosas en muchos casos y hay una necesidad clara de encontrar nuevos tratamientos.

El genoma de los MPNST está muy alterado, pero generalmente tienen 3 genes supresores de tumores (*NF1*, *CDKN2A*, *SUZ12*) completamente inactivados, pues la pérdida de función de estos genes parece esencial para su desarrollo. Esto es muy positivo porque existen fármacos que tienen las rutas bioquímicas alteradas por la pérdida de estos genes como diana terapéutica. El objetivo de este proyecto era entender la importancia de estos 3 genes en la biología de los MPNST y evaluar la eficacia de los fármacos contra su ausencia de función en una estrategia de medicina de precisión, tanto en tumores humanos implantados en ratones como en un contexto clínico en pacientes. Ha sido un proyecto que ha juntado la investigación básica, preclínica y clínica, a partir del trabajo de un equipo multidisciplinar formado por biólogos, bioinformáticos, genetistas, oncólogos y patólogos de diferentes hospitales y centros de investigación.

Gracias a este proyecto, hemos podido disponer de una mejor caracterización genómica de los MPNST, clave en la búsqueda de tratamientos de medicina de precisión. Además, hemos podido entender el papel de los genes *NF1*, *CDKN2A* y *SUZ12* en la progresión hacia la malignidad, y hemos identificado la pérdida de función del gen *SUZ12* como clave en la transición glial-mesenquimal. Esto ha abierto la puerta a la identificación de biomarcadores de progresión, que podrían servir de cara al seguimiento y monitorización de las personas con neurofibromatosis de tipo 1. Por otra parte, hemos identificado que un tratamiento de medicina de precisión basado en la combinación de inhibidores de MEK y de BET es altamente efectivo en tumores MPNST humanos implantados en ratones. Estos resultados han permitido empezar a utilizar

esta terapia en los primeros estudios piloto en humanos, en niños que han desarrollado uno de estos tumores.

2. Resultados

En investigación básica

Hemos hecho una caracterización muy exhaustiva del genoma de los MPNST a partir de estudios de secuenciación completa del genoma y del transcriptoma. Hemos podido obtener una definición genómica precisa del MPNST con una histología clásica, que complementará la caracterización histológica a la hora de hacer un diagnóstico diferencial de los MPNST. Además, hemos generado un repositorio genómico, que se cruzará con datos clínicos y de respuesta terapéutica en modelos de ratón y en humanos.

Utilizando un modelo celular basado en células madre pluripotentes inducidas (iPSC) y la utilización de herramientas de edición del genoma (CRISPR) hemos generado diferentes líneas celulares portadoras de la inactivación en diferentes genes supresores de tumores [*NF1*, *CDKN2A*, *SUZ12* (PRC2)]. Hemos descubierto que hay una restricción en la viabilidad celular, que impone un orden en la pérdida de estos 3 genes. Además, hemos descubierto que es necesaria la inactivación de las 2 proteínas codificadas por el gen *CDKN2A* (p14 y p16) para que un neurofibroma progrese hacia un MPNST. Finalmente, hemos podido demostrar que la pérdida de función del complejo PRC2 induce un cambio en la identidad celular, que va de una identidad glial hacia una identidad mesenquimal, exactamente lo que se observa en la transición de un neurofibroma plexiforme hacia un MPNST.

En investigación preclínica

Este proyecto ha permitido investigar a fondo las posibilidades de utilizar fármacos que se dirigen a los efectos de la pérdida de función de los 3 genes supresores de tumores más recurrentemente inactivados en MPNST. A partir de una librería extensa de fármacos, se han saturado las posibilidades de combinación de 29 compuestos, consistentes en inhibidores de MEK, inhibidores de CDK4/6 e inhibidores de BET (bromodominio). La combinación de estudios *in vitro* e *in vivo* ha permitido identificar la combinación MEKi + BETi como la mejor combinación de fármacos para los MPNST

tanto esporádicos como asociados a la neurofibromatosis de tipo 1 (NF1). De hecho, los resultados de respuesta al tratamiento con MEKi + BETi *in vivo* en modelos PDOX humanos son los mejores resultados reportados hasta el momento en la bibliografía científica, y reafirman de manera robusta los resultados en tumores murinos, obtenidos a partir de modelos modificados genéticamente. De hecho, se han podido realizar dos proyectos coclínicos piloto de medicina personalizada en los que se ha podido generar un PDOX humano y tratarlo con estas (y otras) combinaciones de fármacos, mientras se daba la primera línea de tratamiento a los pacientes. De acuerdo con estos dos estudios personalizados *in vivo*, MEKi + BETi es la mejor combinación identificada hasta el momento y se erige como posibilidad terapéutica de uso compasivo para el tratamiento en el caso de que la primera línea de tratamiento no funcione.

En investigación clínica

Se han establecido los circuitos de recogida de biopsia líquida, se han recogido y preservado las primeras muestras de diferentes pacientes y se ha diseñado la estrategia de análisis por secuenciación por *nanopore*. Se han celebrado múltiples comités multidisciplinares de tumores MPMNST (*tumor molecular boards*) donde se ha realizado un seguimiento de los ensayos coclínicos realizados y de la evolución clínica de los pacientes, junto con la caracterización genómica y los resultados de tratamientos en PDOX de ratones. A partir de los resultados preclínicos *in vivo*, se ha contactado con la industria farmacéutica para poder disponer de diferentes fármacos, en particular, de inhibidores de MEK y de BET. Actualmente, se están realizando cotratamientos con inhibidores de MEK y de BET como uso compasivo en los primeros pacientes.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Utilización de la combinación de los inhibidores de MEK y de BET como uso compasivo en pacientes con MPNST

Los resultados obtenidos con la plataforma de medicina de precisión se han reforzado con los obtenidos con los tratamientos personalizados en los ensayos coclínicos que se han realizado. En los dos casos tratados en este último año, la combinación MEKi + BETi ha seguido dando los mejores resultados, ya que ha permitido reducir el tumor

hasta un 60% durante las 3 semanas de tratamiento, con un régimen de tratamiento que ha sido bien tolerado en cuanto a la toxicidad. Estos resultados han permitido informar a los respectivos comités de tumores (*molecular tumor boards*) sobre la potencial utilización de esta combinación como uso compasivo para los respectivos pacientes. El MEKi utilizado, el selumetinib, ya ha sido aprobado para su uso por las agencias del medicamento americana (FDA) y europea (EMA). El BETi conseguido en una empresa farmacéutica tiene ya hechos estudios de toxicidad y dosaje en humanos. Así, una paciente ya está recibiendo, como uso compasivo, esta combinación de fármacos, y se está supervisando su tolerabilidad y efecto. Los primeros resultados, aún preliminares, son positivos, tanto por la tolerancia del tratamiento en cuanto a la toxicidad como por el freno de la progresión del tumor. Está claro que esta combinación es prometedora y que se tendrá que explorar su eficacia en nuevos casos.

Nuevos cribados de fármacos

El desarrollo de nuevas líneas de iPSC que contienen mutaciones en los 3 genes supresores de tumores responsables del inicio de la transformación de un neurofibroma plexiforme hacia un MPNST representa un modelo fidedigno de esta progresión. Ya se están utilizando estas líneas isogénicas en el cribado de fármacos a gran escala para los MPNST con una colaboración que hemos iniciado con el NIH de los EE. UU. Estos fármacos serán candidatos a ser testados en nuestros modelos *in vivo* de MPNST (subproyecto preclínico) y son potencialmente aplicables a los MPNST desarrollados en los pacientes.

Expansión de la plataforma *in vivo* y ganancia de capacidad predictiva en nuevos tumores

Otra aplicación de este proyecto es que ha permitido ampliar la plataforma de medicina de precisión. Esto permitirá disponer de una capacidad predictiva de respuesta más amplia, con una mayor paleta de tumores con diferentes alteraciones genómicas.

Biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes

La definición genómica precisa de los MPNST obtenida permitirá complementar la caracterización histológica a la hora de hacer un diagnóstico diferencial de los MPNST. A nivel de los estudios con diferentes líneas derivadas de células pluripotentes inducidas (iPSC) editadas por CRISPR, hemos podido identificar biomarcadores de progresión, que deberán validarse en pacientes.

Repositorio por medicina personalizada y de precisión

Hemos generado un repositorio que contiene datos clínicos, genómicos y de respuesta terapéutica en modelos de ratón y en humanos. Este repositorio debe permitir disponer de capacidad predictiva ante la aparición de nuevos MPNST, en niños o adultos, que nos permitan identificar cuáles son los mejores tratamientos potenciales en cada caso.

4. Bibliografía científica generada

Artículos publicados

Creus-Bachiller E, Fernández-Rodríguez J, Magallón-Lorenz M, Ortega-Bertran S, Navas-Rutete S, Romagosa C, Silva TM, Pané M, Estival A, Perez Sidelnikova D, Morell M, Mazuelas H, Carrió M, Lausová T, Reuss D, Gel B, Villanueva A, Serra E, Lázaro C.

Expanding a precision medicine platform for malignant peripheral nerve sheath tumors: New patient-derived orthotopic xenografts, cell lines and tumor entities.
Mol Oncol. 2023 doi: 10.1002/1878-0261.13534

Magallón-Lorenz M, Terribas E, Ortega-Bertran S, Creus-Bachiller E, Fernández M, Requena G, Rosas I, Mazuelas H, Uriarte-Arazola I, Negro A, Lausová T, Castellanos E, Blanco I, DeVries G, Kawashima H, Legius E, Brems H, Mautner V, Kluwe L, Ratner N, Wallace M, Fernández-Rodríguez J, Lázaro C, Fletcher JA, Reuss D, Carrió M, Gel B, Serra E.

Deep genomic analysis of malignant peripheral nerve sheath tumor cell lines challenges current malignant peripheral nerve sheath tumor diagnosis.
iScience. 2023. Jan 31;26(2):106096. doi: 10.1016/j.isci.2023.106096. eCollection 2023 Feb 17.

Fernández-Rodríguez J, Creus-Bachiller E, Zhang X, Martínez-Iniesta M, Ortega-Bertran S, Guha R, Thomas CJ, Wallace MR, Romagosa C, Salazar-Huayna L, Reilly KM, Blakely JO, Serra-Musach J, Pujana MA, Serra E, Villanueva A, Ferrer M, Lázaro C.

A High-Throughput Screening Platform Identifies Novel Combination Treatments for Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors.
Mol Cancer Ther. 2022. 21(7):1246-1258. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0947.

Magallón-Lorenz M, Fernández-Rodríguez J, Terribas E, Creus-Batchiller E, Romagosa C, Estival A, Perez Sidelnikova D, Salvador H, Villanueva A, Blanco I, Carrió M, Lázaro C, Serra E, Gel B.

Chromosomal translocations inactivating CDKN2A support a single path for malignant peripheral nerve sheath tumor initiation.

Hum Genet. 2021, 140(8):1241-1252. doi: 10.1007/s00439-021-02296-x.

Fernández-Rodríguez J, Morales La Madrid A, Gel B, Castañeda Heredia A, Salvador H, Martínez-Iniesta M, Moutinho C, Morata J, Heyn H, Blanco I, Creus-Bachiller E, Capella G, Farré L, Vidal A, Soldado F, Krauel L, Suñol M, Serra E, Villanueva A, Lázaro C.

Use of patient derived orthotopic xenograft models for real-time therapy guidance in a pediatric sporadic malignant peripheral nerve sheath tumor.

Ther Adv Med Oncol 2020 12: 1–11 DOI:10.1177/1758835920929579.

Artículos en preparación

Sara Ortega *et al.*

MEKi and BETi combination consistently reduces tumor volume in human malignant peripheral nerve sheath tumor PDOX models.

2024, en preparación.

Itziar Uriarte-Arrazola *et al.*

Functional impact of NF1, CDKN2A and SUZ12 loss in an iPSC-based MPNST model System.

2024, en preparación.