



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

IDENTIFICACIÓ DE MECANISMES DE RESPOSTA ALS INHIBIDORS DE CDK4/6 EN CÀNCER DE MAMA RECEPTOR HORMONAL POSITIU

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. Resum

El càncer de mama receptor hormonal positiu (HR+) és clínicament i biològicament heterogeni, representa el 75% de tots els tumors de mama i és una causa important de mort per càncer. Mitjançant anàlisis d'expressió gènica, hem demostrat que una proporció important dels càncers de mama HR+ no s'inclouen en els subtipus luminals A o B, sinó que cauen en el fenotip HER2-enriquit (HER2-E).

Els inhibidors de CDK4/6 estan aprovats per al tractament del càncer de mama metastàtic HR+ i milloren significativament la supervivència lliure de progressió. Clínicament, els subtipus luminals A i B mostren un benefici substancial dels inhibidors de CDK4/6, mentre que el subtipus HER2-E està associat amb una baixa sensibilitat a la inhibició de CDK4/6 i un mal pronòstic, tant en l'àmbit primerenc com en el metastàtic.

Els nostres objectius eren:

1) Identificar les alteracions moleculars darrere la resistència a les teràpies endocrines i anti-CDK4/6, així com els perfils immunològics, mitjançant l'anàlisi de fins a 480 tumors HR+ de pacients amb càncer de mama tractats amb CDK4/6 en estadis primerencs i metastàtics.

2) Identificar biomarcadors de resposta al fàrmac i estratègies de tractament per superar la resistència a les teràpies dirigides, utilitzant una aproximació imparcial amb CRISPR/Cas9 i models preclínic *in vitro* i *in vivo* de càncer de mama.

La nostra proposta és dinàmica i translacional: partim d'observacions obtingudes en un entorn clínic, després passem al laboratori per estudiar-les a fons i finalment tornem a la clínica per comprovar si les troballes preclíniques també són vàlides en l'entorn clínic.

2. Resultats

Mitjançant l'anàlisi molecular de mostres clíniques i models preclínic, hem identificat 11 proteïnes clau involucrades en la resistència als inhibidors de CDK4/6. En particular,

ens hem centrat en FGFR4, un receptor de membrana implicada en complexos clau en el cicle cel·lular (CCNE/CDK2) i que és un impulsor del fenotip HER2-enriquit. Hem aprofundit en el mecanisme pel qual aquesta proteïna de membrana genera resistència, l'hem validat en models preclínic experimentals i finalment hem demostrat com a prova de concepte que podem modificar terapèuticament l'activitat d'aquesta proteïna, cosa que millora la resposta del tumor als inhibidors de CDK4/6 aprovats en la pràctica clínica per al càncer de mama HR+.

Adicionalment, també s'ha establert un vincle entre la via RANK i la resistència intrínseca/adquirida als inhibidors de CDK4/6. Hem observat que la sobreexpressió de RANK en el càncer de mama HR+ està associada amb resistència intrínseca als inhibidors de CDK4/6, tant *in vitro* com en xenoempelts de ratolí, i destaquem que la reducció de la taxa de proliferació i la resposta crònica a l'interferó gamma (IFN- γ) són impulsors de la resistència. Les dades d'expressió gènica de mostres clíniques i els estudis amb línies cel·lulars resistents a palbociclib van mostrar que RANK se sobreexpressa després del tractament amb inhibidors de CDK4/6, fet que dona suport a un paper en la resistència adquirida, i els inhibidors de RANKL poden restaurar la sensibilitat als inhibidors de CDK4/6 i prevenir la resistència adquirida.

Finalment, hem fet una seqüenciació superficial de tot el genoma en mostres de plasma de 459 pacients amb càncer de mama metastàtic, inclosos els tractats amb teràpia endocrina i un inhibidor de CDK4/6. Els nostres resultats van revelar que les signatures de múltiples gens apreses mitjançant aprenentatge automàtic, derivades de la detecció del nombre de còpies en ctDNA, poden capturar característiques biològiques complexes rellevants per a la proliferació tumoral i la senyalització del receptor d'estrogen. És important assenyalar que vam identificar 4 subtipus basats en el DNA i una signatura genòmica basada en ctDNA indicativa de la pèrdua d'heterozigositat del retinoblastoma, tots ells significativament associats amb una resposta i uns resultats de supervivència pobres després del tractament, independentment de la fracció tumoral en plasma.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

El consorci ha concentrat els esforços de desenvolupament en tumors HR+/HER2-negatiu, el subtipus clínic més prevalent de càncer de mama, que representa el 70% dels casos. La introducció dels inhibidors de CDK4/6 a la teràpia endocrina ha millorat significativament la supervivència dels pacients amb càncer de mama metastàtic HR+/HER2-negatiu. No obstant això, no tots els pacients se'n beneficien igualment i, eventualment, tots experimentaran una recaiguda.

Per abordar això, necessitem desenvolupar nous tractaments per als pacients que progressen amb els inhibidors de CDK4/6. Mitjançant l'anàlisi de mostres clíniques i models cel·lulars, hem identificat l'FGFR4 com un possible mecanisme de resistència, que pot ser atacat mitjançant un conjugat d'anticossos i drogues específic. Aquests resultats poden conduir al desenvolupament d'un nou fàrmac que afecti l'FGFR4, si s'inclou més validació preclínica i un assaig en humans.

A més, concloem que la inhibició farmacològica de la via RANK a través del bloqueig del RANKL podria representar un complement de la teràpia endocrina i inhibidors de CDK4/6. Aquests resultats obren la porta a nous estudis clínics.

A més, estem treballant en el desenvolupament de biomarcadors per ajudar a determinar quins pacients obtindran més beneficis dels inhibidors de CDK4/6 i quins podrien requerir un enfocament diferent. Hem identificat un nou biomarcador basat en alteracions del DNA tumoral que funciona tant en mostres de teixit tumoral com en mostres de sang.

Creiem que els resultats d'aquest projecte podrien establir un nou paradigma de teràpia biològica, ja que introdueix noves opcions terapèutiques i biomarcadors per als pacients amb càncer de mama metastàtic HR+/HER2-negatiu resistents als inhibidors de CDK4/6.

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-Saéz 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.