



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

AVALUANT L'EFFECTIVITAT DE TERÀPIES DE PRECISIÓ DIRIGIDES A ALTERACIONS GENÈTIQUES RECURRENENTS EN TUMORS MALIGNES DE LA BEINA DEL NERVI PERIFÈRIC

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. Resum

El tumor maligne de la beina del nervi perifèric (MPNST) és un tipus de sarcoma de teixits tous molt agressiu. Aproximadament la meitat dels MPNST es desenvolupen en pacients esporàdics i l'altra meitat en pacients amb neurofibromatosi de tipus 1 (NF1), una malaltia hereditària amb predisposició al càncer. Els MPNST afecten tant persones joves com adultes, i tenen un pronòstic molt dolent a causa de la seva agressivitat i potencial metastàtic. La resecció completa amb amplis marges és la teràpia més eficaç per als MPNST, però no sempre és factible. La radioteràpia i la quimioteràpia són poc beneficioses en molts casos, i hi ha una necessitat clara de trobar nous tractaments. El genoma dels MPNST està molt alterat, però generalment tenen 3 gens supressors de tumors (*NF1*, *CDKN2A*, *SUZ12*) completament inactivats, ja que la pèrdua de funció d'aquests gens sembla essencial per al seu desenvolupament. Això és molt positiu perquè existeixen fàrmacs que tenen les rutes bioquímiques alterades per la pèrdua d'aquests gens com a diana terapèutica. L'objectiu d'aquest projecte era entendre la importància d'aquests 3 gens en la biologia dels MPNST i avaluar l'eficàcia dels fàrmacs contra la seva absència de funció en una estratègia de medicina de precisió, tant en tumors humans implantats en ratolins com en un context clínic en pacients. Ha estat un projecte que ha ajuntat la investigació bàsica, preclínica i clínic, a partir del treball d'un equip multidisciplinari format per biòlegs, bioinformàtics, genetistes, oncòlegs i patòlegs de diferents hospitals i centres de recerca.

Gràcies a aquest projecte, hem pogut disposar d'una millor caracterització genòmica dels MPNST, clau en la cerca de tractaments de medicina de precisió. A més, hem pogut entendre el paper dels gens *NF1*, *CDKN2A* i *SUZ12* en la progressió cap a la malignitat, i hem identificat la pèrdua de funció del gen *SUZ12* com a element clau en la transició glial-mesenquimàtica. Això ha obert la porta a la identificació de biomarcadors de progressió, que podrien servir de cara al seguiment i monitoratge de les persones amb neurofibromatosi de tipus 1. D'altra banda, hem identificat que un tractament de medicina de precisió basat en la combinació d'inhibidors de MEK i de BET és altament efectiu en tumors MPNST humans implantats en ratolins. Aquests resultats han permès començar a utilitzar aquesta teràpia en els primers estudis pilot en humans, en nens que han desenvolupat un d'aquests tumors.

2. Resultats

En recerca bàsica

Hem fet una caracterització molt exhaustiva del genoma dels MPNST a partir d'estudis de seqüenciació completa del genoma i del transcriptoma. Hem pogut obtenir una definició genòmica precisa del MPNST amb una histologia clàssica, que complementarà la caracterització histològica a l'hora de fer un diagnòstic diferencial dels MPNST. A més, hem generat un repositori genòmic, que es creuarà amb dades clíniques i de resposta terapèutica en models de ratolí i en humans.

Utilitzant un model cel·lular basat en cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPSC) i la utilització d'eines d'edició del genoma (CRISPR) hem generat diferents línies cel·lulars portadores de la inactivació en diferents gens supressors de tumors [*NF1*, *CDKN2A*, *SUZ12* (PRC2)]. Hem descobert que hi ha una constricció en la viabilitat cel·lular, que imposa un ordre en la pèrdua d'aquest 3 gens. A més, hem descobert que cal la inactivació de les 2 proteïnes codificades pel gen *CDKN2A* (p14 i p16) perquè un neurofibroma progressi cap a un MPNST. Finalment, hem pogut demostrar que la pèrdua de funció del complex PRC2 indueix un canvi en la identitat cel·lular, que va d'una identitat glial cap a una identitat mesenquimàtica, exactament el que s'observa en la transició d'un neurofibroma plexiforme cap a un MPNST.

En recerca preclínica

Aquest projecte ha permès investigar a fons les possibilitats d'utilitzar fàrmacs que es dirigeixen als efectes de la pèrdua de funció dels 3 gens supressors de tumors més recurrentment inactivats en els MPNST. A partir d'una llibreria extensa de fàrmacs, s'han saturat les possibilitats de combinació de 29 compostos, consistents en inhibidors de MEK, inhibidors de CDK4/6 i inhibidors de BET (bromodomini). La combinació d'estudis *in vitro* i *in vivo* ha permès identificar la combinació MEKi + BETi com la millor combinació de fàrmacs per als MPNST tant esporàdics com associats a la neurofibromatosis de tipus 1 (NF1). De fet, els resultats de resposta al tractament amb MEKi + BETi *in vivo* en models PDOX humans són els millors reportats fins al moment en la bibliografia científica, i reafirmen de manera robusta els resultats en tumors murins, obtinguts a partir de models modificats genèticament. De fet, s'han pogut realitzar dos projectes coclínics pilot de medicina personalitzada, en què s'ha pogut generar un PDOX humà i tractar-lo amb aquestes combinacions (i altres) de fàrmacs,

mentre es donava la primera línia de tractament als pacients. D'acord amb aquests 2 estudis personalitzats *in vivo*, MEKi + BETi és la millor combinació identificada fins ara i s'erigeix com a possibilitat terapèutica d'ús compassiu per a l'MPNST en el cas que la primera línia de tractament no funcioni.

En recerca clínica

S'han establert els circuits de recollida de biòpsia líquida, s'han recollit i preservat les primeres mostres de diferents pacients i s'ha dissenyat l'estratègia d'anàlisi per seqüenciació per *nanopore*. S'han fet múltiples reunions de comitès multidisciplinaris de tumors MPMNST (*tumor molecular boards*) en què s'ha fet un seguiment dels assajos coclínics realitzats i de l'evolució clínica dels pacients, juntament amb la caracterització genòmica i els resultats de tractaments en PDOX de ratolins. A partir dels resultats preclínics *in vivo*, s'ha contactat amb la indústria farmacèutica per poder disposar de diferents fàrmacs, en particular, d'inhibidors de MEK i de BET. Actualment, s'estan realitzant cotractaments amb inhibidors de MEK i de BET com a ús compassiu en els primers pacients.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Utilització de la combinació dels inhibidors de MEK i de BET com a ús compassiu en pacients amb MPNST

Els resultats obtinguts amb la plataforma de medicina de precisió s'han reforçat amb els obtinguts amb els tractaments personalitzats en els assajos coclínics que s'han fet. En els dos casos tractats aquest darrer any, la combinació MEKi + BETi ha continuat donant els millors resultats, ja que ha aconseguit reduir el tumor fins a un 60% durant les 3 setmanes de tractament, amb un règim de tractament que ha estat ben tolerat pel que fa a la toxicitat. Aquests resultats han permès informar els respectius comitès de tumors (*molecular tumor boards*) de la utilització potencial d'aquesta combinació com a ús compassiu per als respectius pacients. L'ús del MEKi que s'ha utilitzat, el selumetinib, ja ha estat aprovat per les agències del medicament americana (FDA) i europea (EMA). Del BETi que s'ha aconseguit en una empresa farmacèutica ja se n'han fet els estudis de toxicitat i dosatge en humans. Així, una pacient ja està rebent, com a ús compassiu, aquesta combinació de fàrmacs, i se n'està supervisant la tolerabilitat i efecte. Els primers resultats, encara preliminars, són positius, tant per la tolerància del

tractament quant a la toxicitat com pel fre a la progressió del tumor. És clar que aquesta combinació és prometedora i que de segur que se n'haurà d'explorar l'eficàcia en nous casos.

Nous cribratges de fàrmacs

El desenvolupament de noves línies d'iPSC que contenen mutacions en els 3 gens supressors de tumors responsables de l'inici de la transformació d'un neurofibroma plexiforme cap a un MPNST representa un model fidedigne d'aquesta progressió. Ja s'estan utilitzant aquestes línies isogèniques en el cribratge de fàrmacs a gran escala per als MPNST amb una col·laboració que hem iniciat amb l'NIH dels Estats Units. Aquests fàrmacs seran candidats per testar-los en els nostres models *in vivo* d'MPNST (subprojecte preclínic) i seran potencialment aplicables als MPNST desenvolupats en els pacients.

Expansió de la plataforma *in vivo* i millora de la capacitat predictiva en nous tumors

Una altra aplicació d'aquest projecte és que ha permès ampliar la plataforma de medicina de precisió. Això permetrà disposar d'una capacitat predictiva de resposta més àmplia, amb una paleta més gran de tumors amb diferents alteracions genòmiques.

Biomarcadors per al diagnòstic i seguiment dels pacients

La definició genòmica precisa dels MPNST obtinguda permetrà complementar la caracterització histològica a l'hora de fer un diagnòstic diferencial dels MPNST. Pel que fa als estudis amb diferents línies derivades de cèl·lules pluripotents induïdes (iPSC) editades per CRISPR, hem pogut identificar biomarcadors de progressió, que s'hauran de validar en pacients.

Repositori per a la medicina personalitzada i de precisió

Hem generat un repositori que conté dades clíniques, genòmiques i de resposta terapèutica en models de ratolí i en humans. Aquest repositori ha de permetre disposar de capacitat predictiva davant l'aparició de nous MPNST en nens o adults i ens han de permetre identificar quins són potencialment els millors tractaments en cada cas.

4. Bibliografía científica generada

Articles publicats

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-Arrazola 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-Bachiller 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.

Articles en preparació

Sara Ortega *et al.*

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

2024, en preparació.

Itziar Uriarte-Arrazola *et al.*

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

2024, en preparació.