



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

IDENTIFICACIÓN Y MODULACIÓN TERAPÉUTICA DE CÉLULAS INMUNO-EVASORAS EN CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO: MARCADORES PARA LA INMUNO-ONCOLOGÍA DE PRECISIÓN

Centro de Investigación: Cancer Epigenetics Laboratory, Institut d'Investigació Sanitària Illes Balears (IdISBa), Hospital Universitari Son Espases (HUSE), Palma, España

Equipo de Investigación:

- Diego M. Marzese, Principal Investigator (Cancer Epigenetics Lab, IdISBa)
- Borja Sesé Ballesteros, Post-doctoral researcher (Cancer Epigenetics Lab, IdISBa)
- Pere Llinàs Arias, Post-doc researcher (Cancer Epigenetics Lab, IdISBa)
- Miquel Ensenyat Méndez, PhD Student/Bioinformatician (Cancer Epigenetics Lab, IdISBa)
- Sandra Iñiguez Muñoz, PhD Student/Lab technician (Cancer Epigenetics Lab, IdISBa)

Colaboradores del Proyecto:

- Maggie L. DiNome (Department of Surgery, Duke University School of Medicine, Durham, NC, USA).
- Javier I. J. Orozco, MD (Saint John's Cancer Institute, Los Angeles, CA, USA).
- Jennifer Baker, MD (Department of Surgery, University of California Los Angeles, CA, USA).
- Matthew Salomon, PhD (Computational Biology, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA USA).

El Cáncer de Mama Triple Negativo (CMTN) es la manifestación más agresiva del cáncer mamario y la única sin un tratamiento específico. Esta denominación agrupa pacientes con una enfermedad muy heterogénea tanto a nivel clínico como molecular. En este contexto, pacientes diagnosticadas con CMTN avanzado tienen un mal pronóstico acompañado por una supervivencia reducida, ya que la enfermedad, generalmente, progresa de forma rápida. Hasta la fecha, el tratamiento estándar de ha sido la quimioterapia, la cual no solo es inespecífica, sino que muestra una efectividad limitada. Recientemente, la inmunoterapia ha emergido como un tratamiento prometedor mostrando excelentes resultados en grupos específicos de pacientes con CMTN. Esta terapia utiliza moléculas que aumentan la inmunidad de la paciente, permitiendo que el sistema inmune identifique, ataque, y elimine las células tumorales, con menor toxicidad que la quimioterapia. Para ello, es fundamental que las células tumorales **“muestren”** sus alteraciones genéticas mediante la presentación de sus antígenos. Sin embargo, debido en parte a la gran heterogeneidad molecular y a mecanismos de evasión inmune aún no totalmente comprendidos, no todas las pacientes responden favorablemente.

Por esta razón, nuestro laboratorio se ha enfocado en identificar alteraciones en tumores de pacientes que no responden a inmunoterapia. Debido a la baja incidencia de mutaciones génicas en el cáncer mamario, hemos evaluado cambios **epigenéticos** que reflejan el impacto del ambiente en la expresión de genes importantes para el desarrollo y la progresión del CMTN. Para ello combinamos técnicas de biología computacional, inteligencia artificial, edición genómica, y ensayos de biología celular y molecular. Esto nos ha permitido identificar un grupo de **células “fantasmas”** las cuales esconden sus antígenos (mutaciones) y por lo tanto el sistema inmunológico no las puede identificar. Estas células están afectadas por un proceso denominado ***Splicing aberrante del ARN***. Nuestros datos indican que la evaluación de estas alteraciones permite predecir si las pacientes responderán o no a la inmunoterapia.

Por lo tanto, **el primer objetivo** de este estudio es validar la utilidad clínica de los marcadores identificados en nuestro laboratorio en muestras de pacientes con CMTN. Esperamos adaptar nuestros descubrimientos a ensayos de baja complejidad con el fin de que puedan ser adaptados a centros de diagnóstico rutinarios para identificar pacientes con tumores inmuno-evasivos, y que por tanto tienen menor probabilidad de responder a inmunoterapia.

Este estudio no pretende dejar atrás a las pacientes con mecanismos de evasión inmune. De hecho, planteamos estudiar métodos para revertir esta alteración mediante tratamiento con

oligonucleótidos antisentido (OAS), que han mostrado buenos resultados en enfermedades que también presentan programas de **splicing** aberrantes como las distrofias o atrofas musculares. En este sentido, hemos identificado regiones de genes susceptibles de ser corregidos mediante el uso de OAS. Por lo tanto, **el segundo objetivo** de este estudio se basa en desarrollar, optimizar, y evaluar una combinación de fármacos OAS para corregir los programas de splicing aberrante y así reducir la capacidad de las células tumorales de evadir el sistema inmune.

Así, nuestro estudio tiene el potencial de contribuir significativamente a mejorar el tratamiento de pacientes con CMTN mediante el establecimiento de un marcador predictivo de precisión y el estudio de una alternativa terapéutica para mejorar la eficacia de inmunoterapia.

PRESUPUESTO

DETALLE	VALOR
Fungibles y similares	18.160,00 €
Servicios	7.750,00 €
Personal	22.607,95 €
Publicaciones	4.500,00 €
Otros	31.148,55 €
Overheads	16.833,30 €
TOTAL	100.999,80 €

BIBLIOGRAFÍA

1. Prat A, Adamo B, Cheang MCU, Anders CK, Carey LA, Perou CM. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *The oncologist*. 2013;18(2):123-133. doi:10.1634/theoncologist.2012-0397
2. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2010;363(20):1938-1948. doi:10.1056/NEJMra1001389
3. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(15 Pt 1):4429-4434. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-3045
4. Metzger-Filho O, Tutt A, de Azambuja E, et al. Dissecting the heterogeneity of triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(15):1879-1887. doi:10.1200/JCO.2011.38.2010

5. Li B, Chan HL, Chen P. Immune Checkpoint Inhibitors: Basics and Challenges. *Current medicinal chemistry*. 2019;26(17):3009-3025. doi:10.2174/0929867324666170804143706
6. Schmid P, Adams S, Rugo HS, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *The New England journal of medicine*. 2018;379(22):2108-2121. doi:10.1056/NEJMoa1809615
7. Cortés J, Lipatov O, Im SA, et al. LBA21 - KEYNOTE-119: Phase III study of pembrolizumab (pembro) versus single-agent chemotherapy (chemo) for metastatic triple negative breast cancer (mTNBC). *Annals of Oncology*. 2019;30:v859-v860. doi:https://doi.org/10.1093/annonc/mdz394.010
8. Dirix LY, Takacs I, Jerusalem G, et al. Avelumab, an anti-PD-L1 antibody, in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: a phase 1b JAVELIN Solid Tumor study. *Breast cancer research and treatment*. 2018;167(3):671-686. doi:10.1007/s10549-017-4537-5
9. Emens LA, Cruz C, Eder JP, et al. Long-term Clinical Outcomes and Biomarker Analyses of Atezolizumab Therapy for Patients With Metastatic Triple-Negative Breast Cancer: A Phase 1 Study. *JAMA oncology*. 2019;5(1):74-82. doi:10.1001/jamaoncol.2018.4224
10. Adams S, Schmid P, Rugo HS, et al. Pembrolizumab monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer: cohort A of the phase II KEYNOTE-086 study. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2019;30(3):397-404. doi:10.1093/annonc/mdy517
11. Llinàs-Arias P, Íñiguez-Muñoz S, McCann K, et al. Epigenetic Regulation of Immunotherapy Response in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancers*. 2021;13(16). doi:10.3390/cancers13164139
12. Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *The Lancet Oncology*. 2016;17(12):e542-e551. doi:10.1016/S1470-2045(16)30406-5
13. Budczies J, Allgäuer M, Litchfield K, et al. Optimizing panel-based tumor mutational burden (TMB) measurement. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2019;30(9):1496-1506. doi:10.1093/annonc/mdz205
14. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2004;351(27):2817-2826. doi:10.1056/NEJMoa041588
15. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415(6871):530-536. doi:10.1038/415530a
16. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *The New England journal of medicine*. 2016;375(8):717-729. doi:10.1056/NEJMoa1602253
17. Voorwerk L, Slagter M, Horlings HM, et al. Immune induction strategies in metastatic triple-negative breast cancer to enhance the sensitivity to PD-1 blockade: the TONIC trial. *Nature medicine*. 2019;25(6):920-928. doi:10.1038/s41591-019-0432-4
18. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*. 2017;168(4):707-723. doi:10.1016/j.cell.2017.01.017
19. Orozco JJJ, Marzese DM, Hoon DSB. Cancer Epigenomics on Precision Medicine and Immunotherapy BT - Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics. In: Patel V, Preedy V, eds. Springer International Publishing; 2017:1-21. doi:10.1007/978-3-319-31143-2_68-1
20. Matera AG, Wang Z. A day in the life of the spliceosome. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2014;15(2):108-121. doi:10.1038/nrm3742
21. Marzese DM, Manughian-Peter AO, Orozco JJJ, Hoon DSB. Alternative splicing and cancer metastasis: prognostic and therapeutic applications. *Clinical & experimental metastasis*. 2018;35(5-6):393-402. doi:10.1007/s10585-018-9905-y
22. Climente-González H, Porta-Pardo E, Godzik A, Eyraas E. The Functional Impact of Alternative Splicing in Cancer. *Cell reports*. 2017;20(9):2215-2226. doi:10.1016/j.celrep.2017.08.012

23. Kahles A, Lehmann KV, Toussaint NC, et al. Comprehensive Analysis of Alternative Splicing Across Tumors from 8,705 Patients. *Cancer cell*. 2018;34(2):211-224.e6. doi:10.1016/j.ccell.2018.07.001
24. Jayasinghe RG, Cao S, Gao Q, et al. Systematic Analysis of Splice-Site-Creating Mutations in Cancer. *Cell reports*. 2018;23(1):270-281.e3. doi:10.1016/j.celrep.2018.03.052
25. Cirak S, Arechavala-Gomez V, Guglieri M, et al. Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: an open-label, phase 2, dose-escalation study. *Lancet (London, England)*. 2011;378(9791):595-605. doi:10.1016/S0140-6736(11)60756-3
26. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *The New England journal of medicine*. 2017;377(18):1723-1732. doi:10.1056/NEJMoa1702752
27. Marzese DM, Liu M, Huynh JL, et al. Brain metastasis is predetermined in early stages of cutaneous melanoma by CD44v6 expression through epigenetic regulation of the spliceosome. *Pigment cell & melanoma research*. 2015;28(1):82-93. doi:10.1111/pcmr.12307