

Memoria científica para la Asociación NEN / Nico
Contra El Cáncer Infantil Abril 2017 – Febrero 2019

Identificación y validación de terapias diana e inmunes,
modelos preclínicos y marcadores de respuesta terapéutica
en tumores neuroblásticos periféricos.



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

Título del proyecto: Identificación y validación de terapias diana e inmunes, modelos preclínicos y marcadores de respuesta terapéutica en tumores neuroblásticos periféricos.

Investigador Principal: Rosa Noguera Salvá

Nombre del grupo: Grupo de Investigación Traslacional de Tumores Pediátricos de la Universidad de Valencia/INCLIVA

Institución solicitante: Instituto de Investigaciones Sanitarias INCLIVA

Ayuda solicitada: 203.017€

Ayuda concedida 2017: 57.000€ **Ayuda concedida 2018:** 57.000€

RESUMEN DEL PROYECTO (tal y como consta en la memoria inicial)

Los innovadores datos tumorales genómicos y de análisis de imagen microscópica que obtengamos, así como los derivados del modelo preclínico propuesto, proporcionarán información valiosa para diseñar nuevas estrategias terapéuticas para los pacientes afectados de neuroblastoma, otras neoplasias pediátricas y adultos con cáncer.

Utilizaremos técnicas genómicas de alto rendimiento y enfoques morfométricos avanzados para identificar mecanoterapias dirigidas a nuevos genes / elementos de los tejidos tumorales en neuroblastoma de alto riesgo (HR-NB) sin amplificación homogénea de MYCN (no homMNA). Será imprescindible para guiar la elección de la terapia y/o para predecir con precisión su eficacia clínica, la validación de cualquier "impacto" identificado en las muestras de tejido tumoral neuroblástico con bases de datos genómicos y con modelos preclínicos robustos.

Para ello, se desarrollará un clasificador basado en genes / regiones cromosómicas, que unirá parámetros clínicos, alteraciones de la envoltura nuclear tumoral y la organización de la sustancia fundamental, las fibras de reticulina, los vasos sanguíneos así como el grado y tipo de infiltrado de células madre e inmunes, usando biopsias tumorales de pacientes y muestras de tumor derivadas de la experimentación animal. Para el ensayo preclínico de compuestos terapéuticos relacionados con señales mecánicas de comunicación de las células tumorales y los elementos estructurales a su alrededor, se desarrollarán modelos de ratones con tumores injertados que nos permitirán determinar cómo los eventos genéticos y los patrones de rigidez de la matriz extracelular impulsan el comportamiento clínico agresivo asociado con este grupo de pacientes.

OBJETIVOS (tal y como constan en la memoria inicial)

Objetivo 1: Identificación de nuevos subgrupos genéticos de tumores HR-NB no homMNA.

Para implementar y validar la detección de la heterogeneidad genética intratumoral estamos analizando por aSNP diversas áreas de tejido tumoral y DNA circulante en sangre (biopsia líquida) de HR-NB no homMN, material almacenado en el biobanco de tumores neuroblásticos de UV/INCLIVA. Así mismo, estamos estudiando muestras de tumor sólido procedentes de xenotrasplantes en ratones, de tumores procedentes de la inoculación ortotópica de la línea SKNBE-2 (línea con amplificación del gen *MYCN*) y de la línea SHY5Y (línea con mutación del gen *ALK*) tanto en tumores de animales control como experimentales con deficiencia de vitronectina; (presentaciones orales I.1.a., I.4. y póster II.2.). En cuanto al estudio de biopsia líquida, también se está procediendo al estudio por aSNP en el plasma almacenado de estos ratones.

Los resultados fueron presentados en: comunicaciones orales y ponencias I.1.a. y b, I.4. I.5. y I.6. ; pósters II.2. y II.5.). En todas estas ocasiones se ha agradecido la ayuda de la Asociación NEN/Nico Contra El Cáncer Infantil tal y como consta en el documento de divulgación adjunto.

Objetivo 2: Identificación, mediante patología digital en imágenes microscópicas, de la interacción de las células tumorales con sus elementos circundantes con softwares patentables y comercialmente explotables.

Con los diversos resultados obtenidos, confirmamos que en el microambiente tumoral, existen diversos elementos que son dianas terapéuticas concretamente en la matriz extracelular, la vitronectina y sus ligandos y en las células estromales, las células tumorales que presentan marcadores el célula madre como CD105 o OCT4. Con respecto a este objetivo y destacando la financiación recibida por la Asociación NEN/Nico Contra El Cáncer Infantil, se han realizado **diversas actividades divulgativas** en las que se ha expuesto la importancia de la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas en el microambiente y el papel que la patología digital puede aportar a este ámbito, entre las cuales se encuentran, dos comunicaciones orales en los congresos I.2. y I.3., y dos cursos realizados en los congresos III.1. y III.2. Además, en los congresos II.1.b., II.3. y II.4. se han presentado resultados relativos a los marcadores CD105 (II.1.a. y II.3) y OCT-4 (II.1.b. y II.4.b) de células madre. Así mismo hemos descrito recientemente (enero 2019) los resultados y discutido la importancia de la presencia de células OCT4 positivas en neuroblastoma como diana diagnóstica y terapéutica en la **publicación BMC Cancer** con un factor de Impacto (IF) de 3.28 (IV.a.). En todas estas ocasiones se ha agradecido la ayuda de la Asociación (Doc adjunto).

Objetivo 3: Evaluación in vivo de estrategias terapéuticas utilizando modelos de ratones inmunodeficientes con vitronectina (VN) mutada injertada con tumores de NB humanos.

La VN es una glicoproteína multifuncional que poco a poco vamos descubriendo que juega un papel importante en la interacción célula-célula y célula-matriz extracelular en los tumores neuroblásticos, pudiendo modular de este modo procesos como la angiogénesis y la metástasis tumoral, de ahí su importancia como diana terapéutica. Los modelos animales mutados se consiguieron y se empezaron a inocular a mediados de 2016 realizando diversas pruebas de concentración del inóculo y tiempo de sacrificio. Actualmente se han recogido muestras tumorales y sanguíneas procedentes de las dos líneas celulares inoculadas y se ha conseguido realizar micromatrices de tejido de los pases 0 al P3 para su estudio mediante distintas tinciones. **Resultados referentes a este objetivo se han mostrado en el congreso II.4. en forma de póster (II.4.a.), en el que consta el agradecimiento a esta ayuda. Además, actualmente 2 manuscritos sobre el valor de la VN como señal terapéutica se encuentran en segunda revisión por parte de los expertos científicos de las revistas BMC Cancer (IF: 3.28) e International Journal of Cancer (IF: 7.36) (ambas serán notificadas en la memoria de la próxima anualidad ya que en ambas consta la financiación recibida por la Asociación NEN/Nico contra el cáncer infantil).**

Objetivo 4: Diseñar un clasificador morfo-digital, genético y de efectividad terapéutica, útil para la elección terapéutica de los clínicos.

Los avances en este objetivo final se irán sucediendo durante los próximos años a medida que se consoliden los resultados derivados de los objetivos 1, 2 y 3, aunque en esta última anualidad hemos realizado revisiones científicas del tema aportando nuestra experiencia y que hemos **publicado recientemente (IV.b.c.)**, en ambas consta la financiación recibida por la Asociación NEN/Nico contra el cáncer infantil.

Con el grupo de investigación de la Dra Maria Blanco de la Universidad de Navarra, actualmente y gracias a la Asociación NEN/Nico contra el cáncer infantil que facilitó nuestra relación científica, hemos realizado en primer lugar una revisión bibliográfica sobre nanomedicina en neuroblastoma, publicada en J Pharmacol Exp Ther. con un IF de 3.70 (IV.b.) y en segundo lugar hemos solicitado una ayuda de investigación coordinada a la FAECC para trabajar en nanoterapia en tumores pediátricos del sistema nervioso: meduloblastoma y neuroblastoma.

La segunda revisión que hemos realizado sobre microambiente tumoral con una visión integral del cáncer, es la primera de las 3 partes en castellano bajo una visión integral del cáncer en que ofrece un nuevo horizonte de estudio, investigación y manejo clínico (IV.c.)

DIFUSIÓN DE RESULTADOS DE LA AYUDA DE NEN / NICOCONTRAELCANCERINFANTIL

I. Comunicaciones orales y ponencias:

I.1. SIOPEN Biology Meeting

Viena (Austria), 2 y 3 de marzo (2017)

I.1.a. Spanish experience on ctDNA in a small group of HR patients.

I.1.b. SIOPEN hetMNA study – finalization

I.2. XIX Congreso de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular. IV Congreso Iberoamericano de Histología. VII International Congress of Histology and Tissue Engineering.

Santiago de Compostela (España), del 5 al 8 de septiembre (2017)

La Histología se abre a la Sociedad. El proceso de la investigación microscópica en cáncer infantil: a la búsqueda de la curación.

I.3. Reunión Grupo Neuroblastoma SEHOP

Valencia (España), 23 de noviembre (2017)

Patología digital del neuroblastoma en 3D.

I.4. III Simposio de Biopsia Líquida

Santiago de Compostela (España), del 25 al 27 de enero (2018)

Challenges and opportunities for the application of ctDNA in neuroblastoma.

I.5. 2nd Pathology Meeting. Advances in molecular and diagnostic pathology

Madrid (España), del 3 al 5 de octubre (2018)

Preliminary study of the contribution of total genetic material altered in NB tumors.

I.6. VII Congreso de Investigación Biomédica (CIB2019)

Valencia (España), del 6 al 8 de febrero (2019)

Study of the contribution of genetic material changes in paired neuroblastoma tumors.

II. Presentación de posters:

II.1. XXXI Congreso latinoamericano de patología

Cartagena de Indias (México), del 8 al 12 de agosto (2017)

II.1.a. Poster nº97: Cuantificación de la expresión de endoglin (CD105) no automática en neuroblastoma.

II.1.b. Poster nº162: Evasión inmunológica del neuroblastoma mediante expresión de OCT4.

II.2. XIX Congreso de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular. IV Congreso Iberoamericano de Histología. VII International Congress of Histology and Tissue Engineering.

Santiago de Compostela (España), del 5 al 8 de septiembre (2017)

P-HP 100: Tumor vascular structures are important for segmental chromosome aberrations in circulating tumor DNA detection.

II.3. 1st ASEICA educational symposium

Madrid (España), 14 y 15 de noviembre (2017)

Poster nº 11: Image assessment of vascular tumor biology in neuroblastic tumors: immunohistochemical expression of endoglin (CD105).

II.4. II Congreso nacional de jóvenes investigadores en biomedicina

Valencia (España), 23 y 24 de noviembre (2017)

II.4.a. P01-27: In vivo evaluation of the initial neuroblastoma cell line passage-derived orthotopic xenografts in vitronectin deficient model.

II.4.b. P01-41: Expression of OCT4 in neuroblastic tumors and its implications.

II.4.c. P07-10: Integrated analysis of tumor microenvironment and copy number alterations of neuroblastoma.

II.5. Advances in Neuroblastoma Research (ANR2018)

San Francisco (California), del 9 al 12 de mayo (2018)

II.5.a. Póster nº 292: High Oct4 expression significance in neuroblastic tumors.

II.5.b. Póster nº 299: Integrated analysis of tumor microenvironment and copy number alterations in neuroblastoma.

III. Cursos:

III.1. XIX Congreso de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular. IV Congreso Iberoamericano de Histología. VII International Congress of Histology and Tissue Engineering.

Santiago de Compostela (España), del 5 al 8 de septiembre (2017)

Análisis de bioimagen microscópica.

III.2. VI Curso de Patología Digital

Valencia (España), del 25 al 27 de octubre (2017)

Análisis de imagen en investigación: Estudio automático de imágenes seriadas histoquímicas, inmunohistoquímicas y de FISH en neuroblastoma.

IV. Artículos científicos:

a. Monferrer E, et al. High Oct4 expression: implications in the pathogenesis of neuroblastic tumours. BMC Cancer. 2019; 19:1. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5219-3>.

b. Rodriguez-Nogales C, et al. Therapeutic opportunities in neuroblastoma using nanotechnology. J Pharmacol Exp Ther. 2019; Jan 11. <https://doi.org/10.1124/jpet.118.255067>

c. Noguera R, et al. Una visión integral del cáncer (I). Microambiente tumoral: estudio, clasificación y reprogramación. Rev Esp Patol. 2019;52:33-44. DOI: 10.1016/j.patol.2018.11.003