Investigació traslacional del càncer de fetge infantil: com el coneixement molecular pot millorar el pronòstic dels pacients

Dra. Carolina Armengol
Cap del grup de Recerca de Càncer de Fetge Infantil
Institut de Recerca Germans Trias i Pujol

Jornades BioActualització 2021, 11 de febrer, 2022

Trajectoria professional de més de 20 anys en l'estudi del càncer de fetge

Càncer de fetge en adults

Càncer de fetge en infants i adolescents

Lloret de Mar

1996
Biology

1998
Biochemistry

1998-2004
PhD thesis

2004-2007
Post-doc

2008

2009-present
cLOG group Leader
I3 RyC program (2010-15)

UdG

UAB

CLÍNIC BARCELONA Hospital Universitari

UNIVERSITAT DE BARCELONA

INSTITUT PASTEUR

dIBGi

IGTP Germans Trias i Pujol Research Institute

Germans Trias i Pujol Hospital

1. Què és el cancer?
2. Què és la recerca traslacional?
3. Quines eines disposem per fer recerca traslacional?
4. Què és un biomarcador?
5. Què fem al grup de Càncer de Fetge Infantil del IGTP ?

1.Què és el cancer?

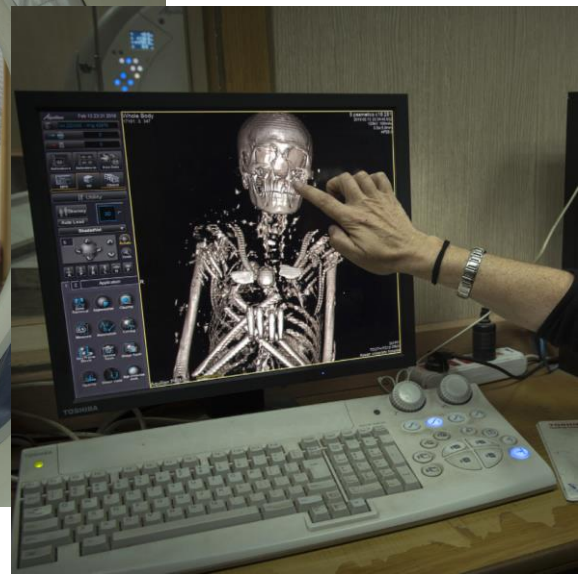
Què és el cancer?

- El cáncer es un malaltia caracteritzada per la proliferació/divisió incontrolada de cèl·lules alterades (no “normals”) i que tenen la capacitat d’infiltrar-se i crèixer en altres teixits que no son el propi.

Hallados los tumores más antiguos en momias egipcias

Los estudios sostienen que ya entonces se implantaron recursos para cuidar y apoyar a los pacientes

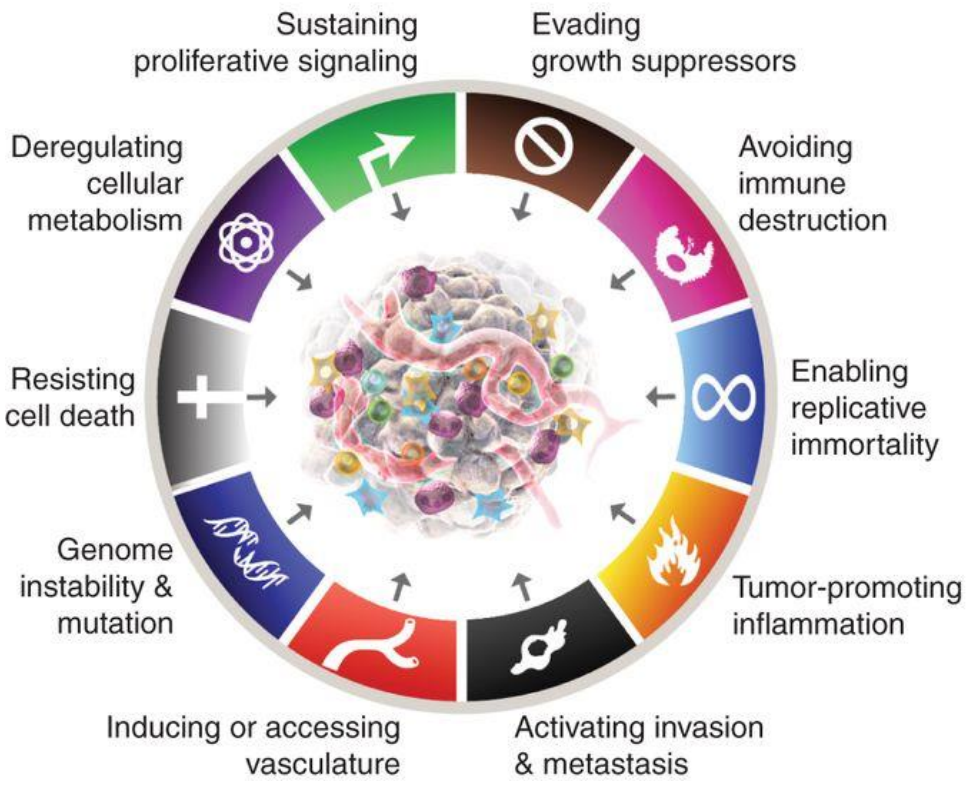
elPeriódico



El cancer ja existia fa 4.000 anys!

Què és el cancer?

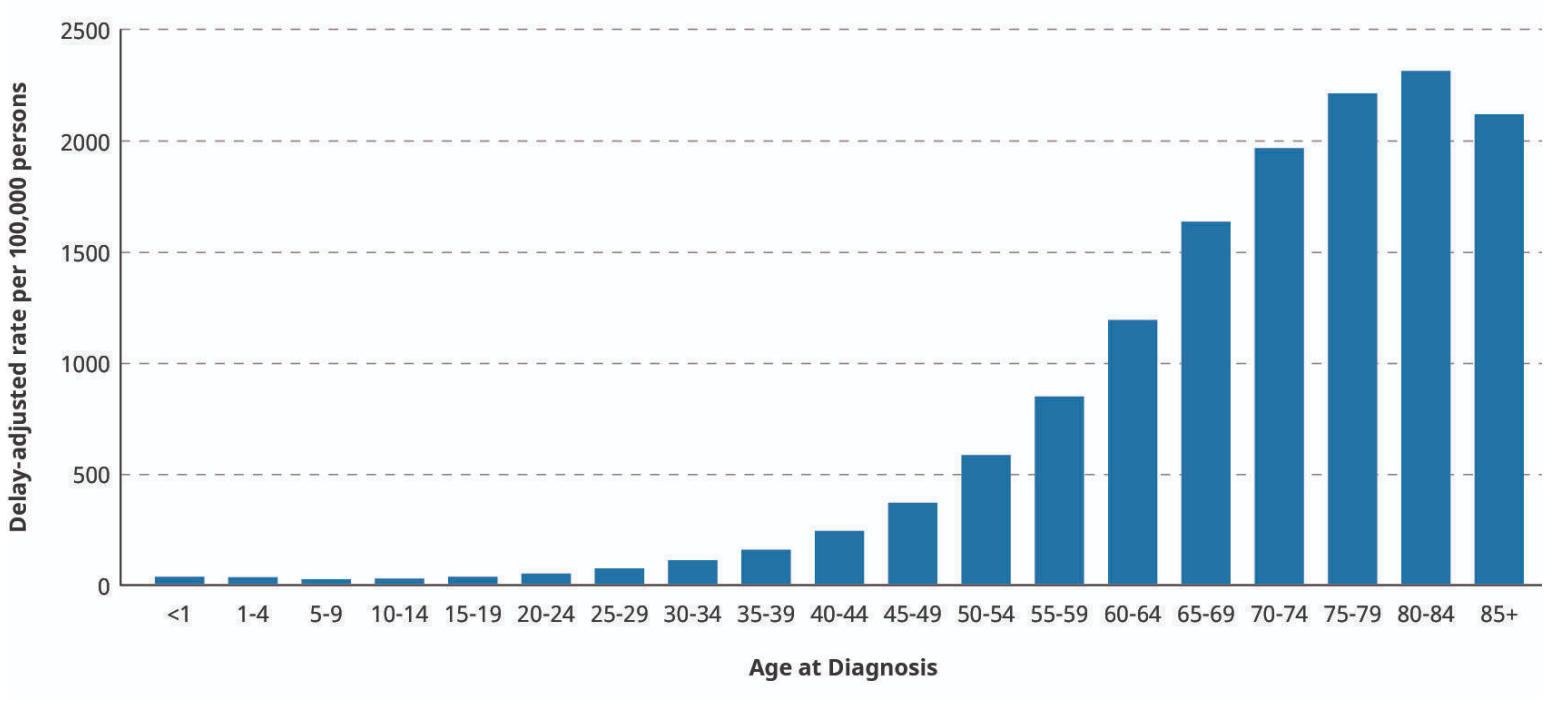
- El cáncer es un malaltia caracteritzada per la proliferació/divisió incontrolada de cèl·lules alterades (no “normals”) i que tenen la capacitat d’infiltrar-se i crèixer en altres teixits que no son el propi.
- Les cél·lules tumorals tenen un trets caracteristics:



Hanahan & Weinberg, Cell, 2011

Què és el cancer?

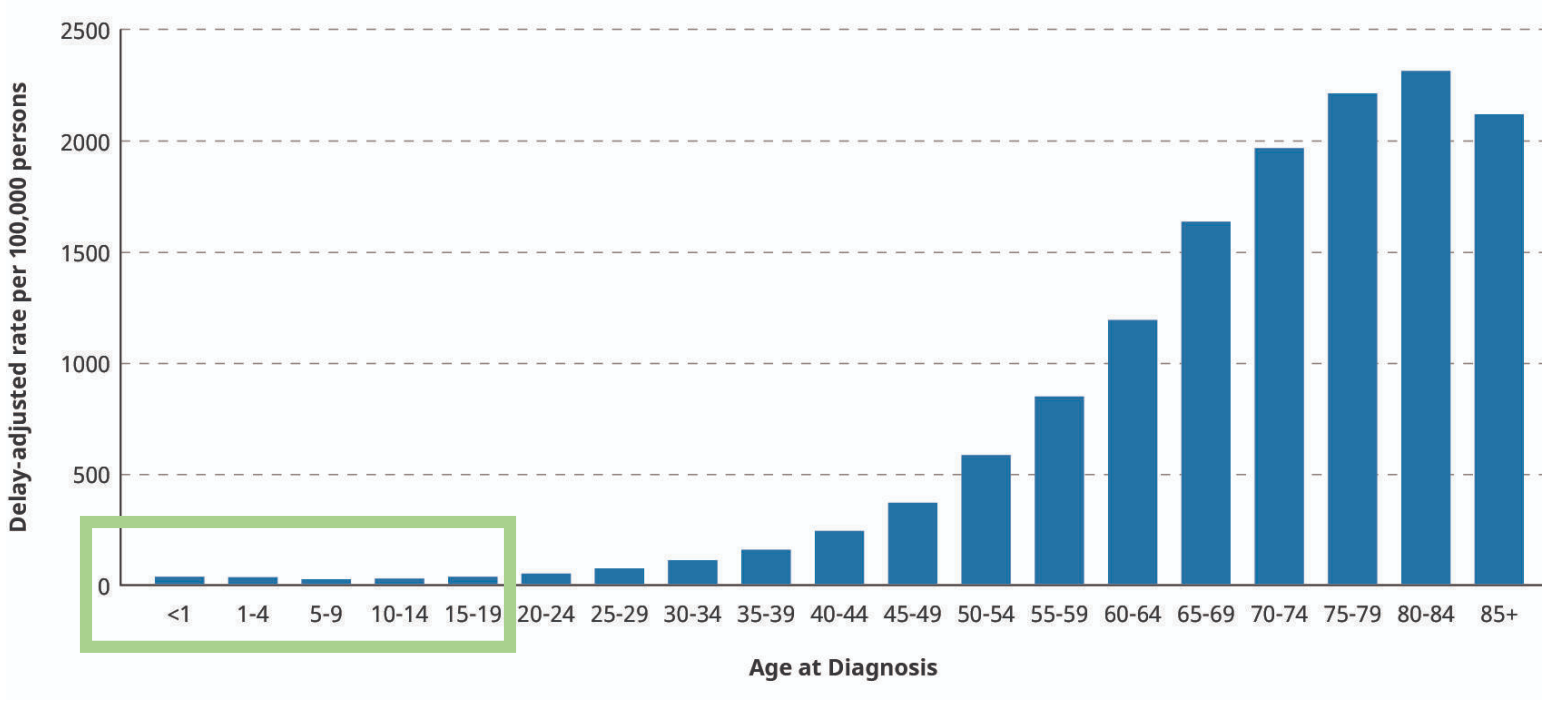
- El cáncer es una malaltia principalment associada a l'envelliment i a l'exposició a determinades toxines (tabac, alcohol, aflatoxina….) o virus (hepatitis, papiloma…)



NIH, National Cancer Institute

Què és el cancer?

- El cáncer es una malaltia principalment associada a l'envelliment i a l'exposició a determinades toxines (tabac, alcohol, aflatoxina….) o virus (hepatitis, papiloma…)



NIH, National Cancer Institute

- Què passa en els nens? Malaltia rara. Molts son esporàdics; pero també hi han altres factors: alteracions genètiques

2. Què és la recerca translacional?

Què és la recerca traslacional?

- És la recerca que s'orienta a una aplicació especifica a la recerca clínica

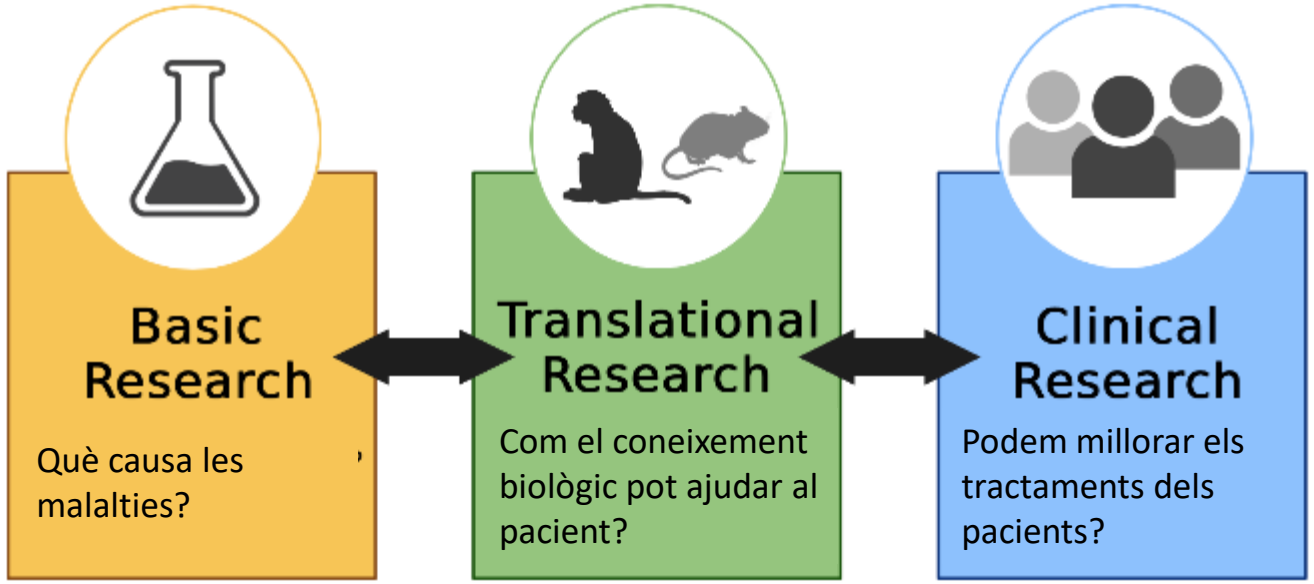


Figura modificada de BioRender.com

3. Quines eines disposem per fer recerca translacional?

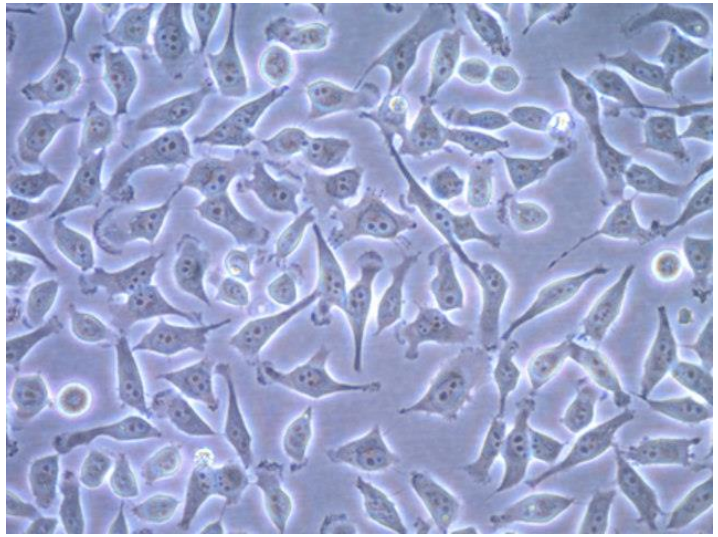
Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Linies cel·lulars clàssiques (HeLa, Huh6, HepG2, …)

WIKIPEDIA
La enciclopedia libre

Henrietta Lacks

Información personal	
Nombre de nacimiento	Loretta Pleasant
Nacimiento	1 de agosto de 1920 Roanoke (Estados Unidos)
Fallecimiento	4 de octubre de 1951 (31 años) Baltimore (Estados Unidos)
Causa de muerte	Cervical adenocarcinoma
Sepultura	Condado de Halifax
Nacionalidad	Estadounidense
Lengua materna	Inglés



HeLa cells

Ex.1

***Modern Times: The Way of All Flesh* sobre Lacks y HeLa**
Documental BBC, 1998
Best Science and Nature Documentary
Festival de Cine Internacional de San Francisco

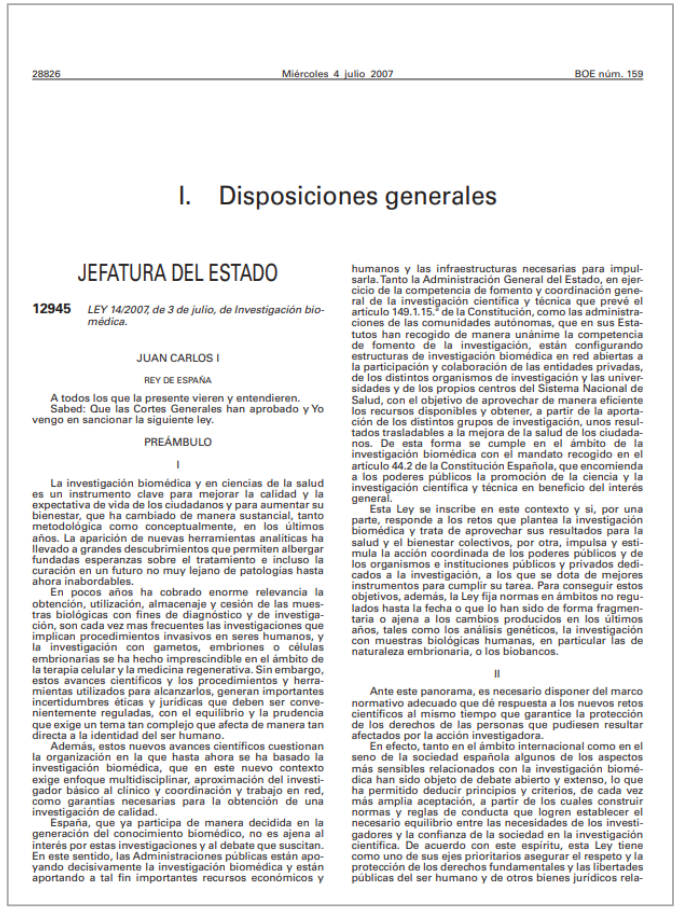
1951-prenen mostra cancer de cervix

…. >70.000 experiments
Tot el món!!!

IGTP
Germans Trias i Pujol Research Institute

Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Mostres humanes (sang, plasma, teixitm urina…) + dades cliniques



28826 Miércoles 4 julio 2007 BOE núm. 159

I. Disposiciones generales

JEFATURA DEL ESTADO

12945 *LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.*

JUAN CARLOS I

REY DE ESPAÑA

A todos los que la presente vieren y entendieren.
Sabed: Que las Cortes Generales han aprobado y Yo vengo en sancionar la siguiente ley.

PREÁMBULO

I

La investigación biomédica y en ciencias de la salud es un instrumento clave para mejorar la calidad y la expectativa de vida de los ciudadanos y para aumentar su bienestar, que ha cambiado de manera sustancial, tanto metodológica como conceptualmente, en los últimos años. La aparición de nuevas herramientas analíticas ha llevado a grandes descubrimientos que permiten albergar fundadas esperanzas sobre el tratamiento e incluso la curación en un futuro no muy lejano de patologías hasta ahora inabordables.

En pocos años ha cobrado enorme relevancia la obtención, utilización, almacenaje y cesión de las muestras biológicas con fines de diagnóstico y de investigación, son cada vez mas frecuentes las investigaciones que implican procedimientos invasivos en seres humanos, y la investigación con gametos, embriones o células embrionarias se ha hecho imprescindible en el ámbito de la terapia celular y la medicina regenerativa. Sin embargo, estos avances científicos y los procedimientos y herramientas utilizados para alcanzarlos, generan importantes incertidumbres éticas y jurídicas que deben ser convenientemente reguladas, con el equilibrio y la prudencia que exige un tema tan complejo que afecta de manera tan directa a la identidad del ser humano.

Además, estos nuevos avances científicos cuestionan la organización en la que hasta ahora se ha basado la investigación biomédica, que en este nuevo contexto exige enfoque multidisciplinar, aproximación del investigador básico al clínico y coordinación y trabajo en red, como garantías necesarias para la obtención de una investigación de calidad.

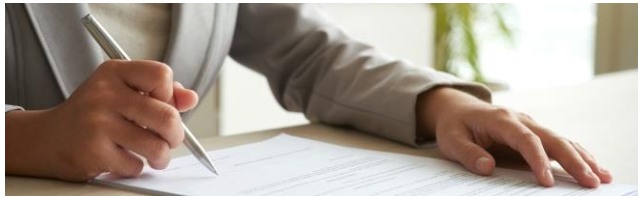
España, que ya participa de manera decidida en la generación del conocimiento biomédico, no es ajena al interés por estas investigaciones y al debate que suscitan. En este sentido, las Administraciones públicas están apoyando decisivamente la investigación biomédica y están aportando a tal fin importantes recursos económicos y humanos y las infraestructuras necesarias para impulsarla. Tanto la Administración General del Estado, en ejercicio de la competencia de fomento y coordinación general de la investigación científica y técnica que prevé el artículo 149.1.15.ª de la Constitución, como las administraciones de las comunidades autónomas, que en sus Estatutos han recogido de manera unánime la competencia de fomento de la investigación, están configurando estructuras de investigación biomédica en red abiertas a la participación y colaboración de las entidades privadas, de los distintos organismos de investigación y las universidades y de los propios centros del Sistema Nacional de Salud, con el objetivo de aprovechar de manera eficiente los recursos disponibles y obtener, a partir de la aportación de los distintos grupos de investigación, unos resultados trasladables a la mejora de la salud de los ciudadanos. De esta forma se cumple en el ámbito de la investigación biomédica con el mandato recogido en el artículo 44.2 de la Constitución Española, que encomienda a los poderes públicos la promoción de la ciencia y la investigación científica y técnica en beneficio del interés general.

Esta Ley se inscribe en este contexto y si, por una parte, responde a los retos que plantea la investigación biomédica y trata de aprovechar sus resultados para la salud y el bienestar colectivos, por otra, impulsa y estimula la acción coordinada de los poderes públicos y de los organismos e instituciones públicos y privados dedicados a la investigación, a los que se dota de mejores instrumentos para cumplir su tarea. Para conseguir estos objetivos, además, la Ley fija normas en ámbitos no regulados hasta la fecha o que lo han sido de forma fragmentaria o ajena a los cambios producidos en los últimos años, tales como los análisis genéticos, la investigación con muestras biológicas humanas, en particular las de naturaleza embrionaria, o los biobancos.

II

Ante este panorama, es necesario disponer del marco normativo adecuado que dé respuesta a los nuevos retos científicos al mismo tiempo que garantice la protección de los derechos de las personas que pudiesen resultar afectados por la acción investigadora.

En efecto, tanto en el ámbito internacional como en el seno de la sociedad española algunos de los aspectos más sensibles relacionados con la investigación biomédica han sido objeto de debate abierto y extenso, lo que ha permitido deducir principios y criterios, de cada vez más amplia aceptación, a partir de los cuales construir normas y reglas de conducta que logren establecer el necesario equilibrio entre las necesidades de los investigadores y la confianza de la sociedad en la investigación científica. De acuerdo con este espíritu, esta Ley tiene como uno de sus ejes prioritarios asegurar el respeto y la protección de los derechos fundamentales y las libertades públicas del ser humano y de otros bienes jurídicos rela-



INFORMACIÓ PRÈVIA I CONSENTIMENT INFORMAT

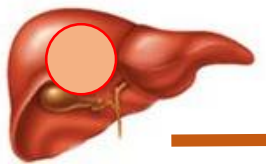
Llei d'Investigació Biomèdica, 2007

Quin tipus de mostres es recullen?
Per a què es faran servir?
Quina informació s'obtindrà?
A on s'enmagatzameran?
Sempre es podrà revocar consentiment

BOE.es - BOE-A-2007-12945 Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.

Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Models derivats de pacients

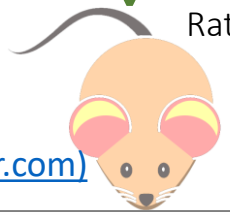


Teixit fresc
(cirurgia)

Material restant

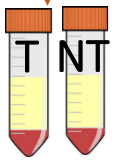
PDXs

Implantacio
subcutània/ortotòpica

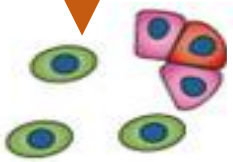


Ratolins

Organoids



Transport
En medi de cultiu
(fred)



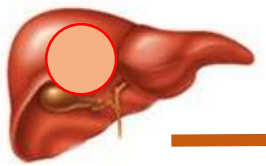
Digestió
col·lagenasa

Cultiu In vitro
Matrigel + growth factors

[Research Animal Models | Charles River (criver.com)](#)

Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Models derivats de pacients: *in vivo* vs *in vivo*

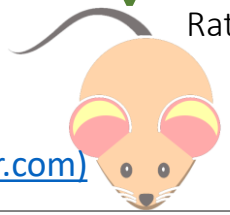


Teixit fresc
(cirurgia)

Material restant

PDXs

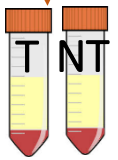
Implantacio
subcutània/ortotòpica



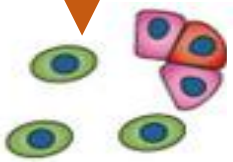
Ratolins

[Research Animal Models | Charles River (criver.com)](#)

Organoids



Transport
En medi de cultiu
(fred)



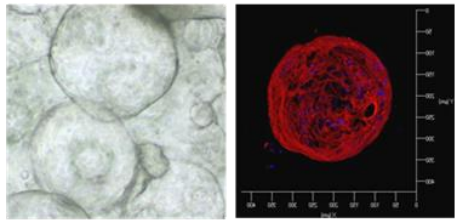
Digestió
col·lagenasa

Cultiu In vitro
Matrigel + growth factors

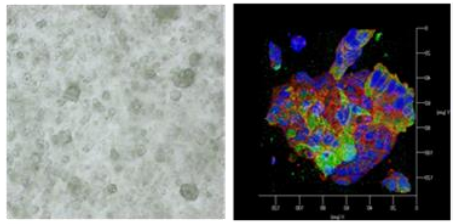
Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

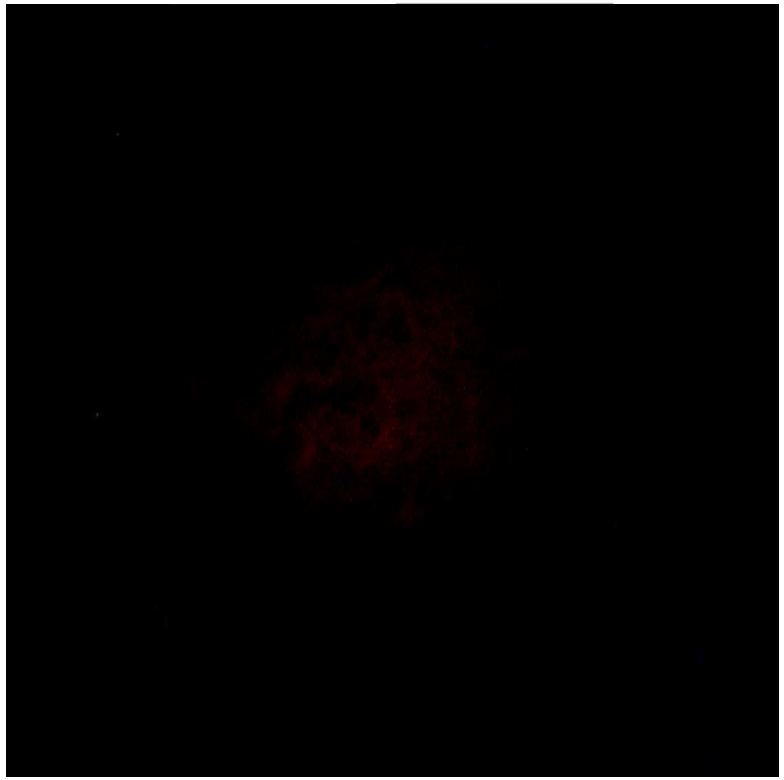
- Models derivats de pacients: *in vivo* vs *in vivo*

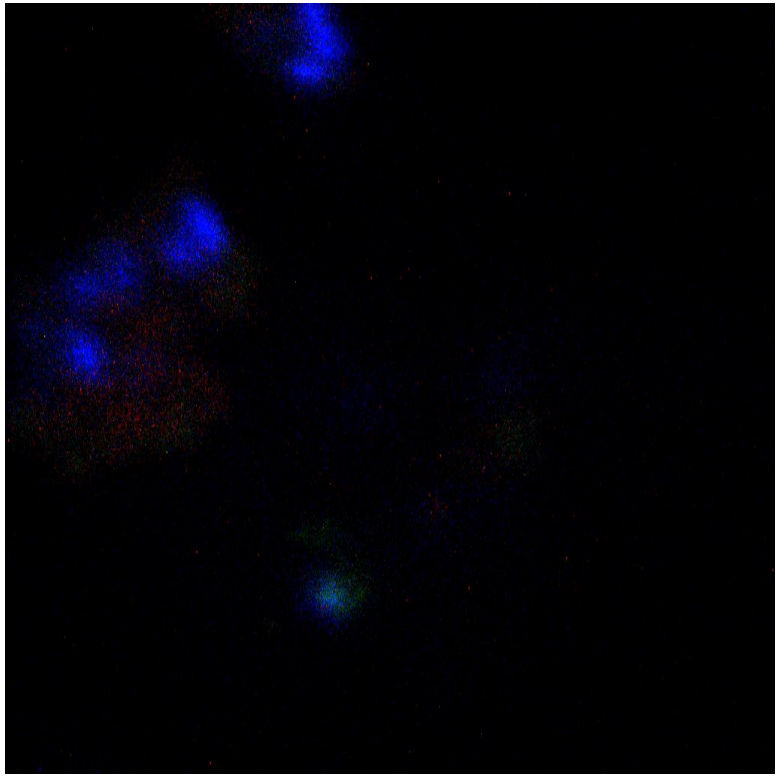
Cel·lules no tumorals



Cel·lules tumorals

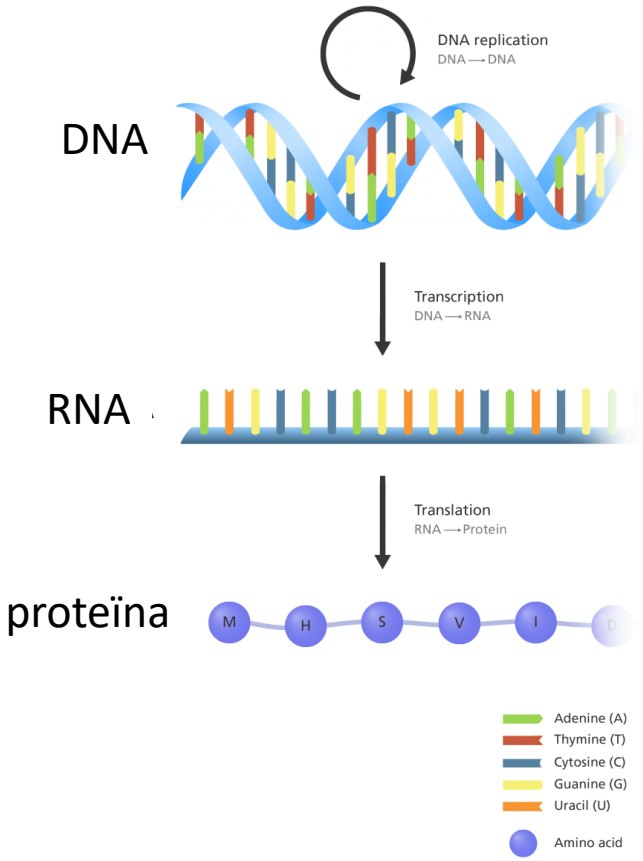






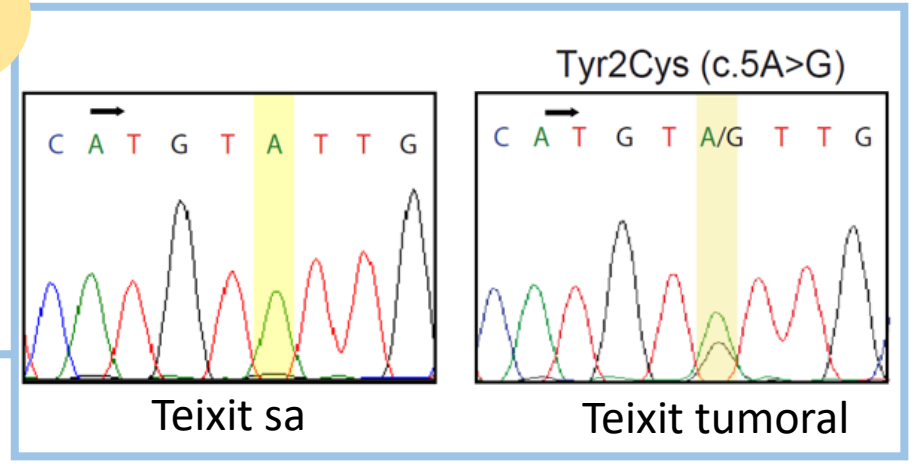
Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Tecniques molecular rudimentàries (<2000)

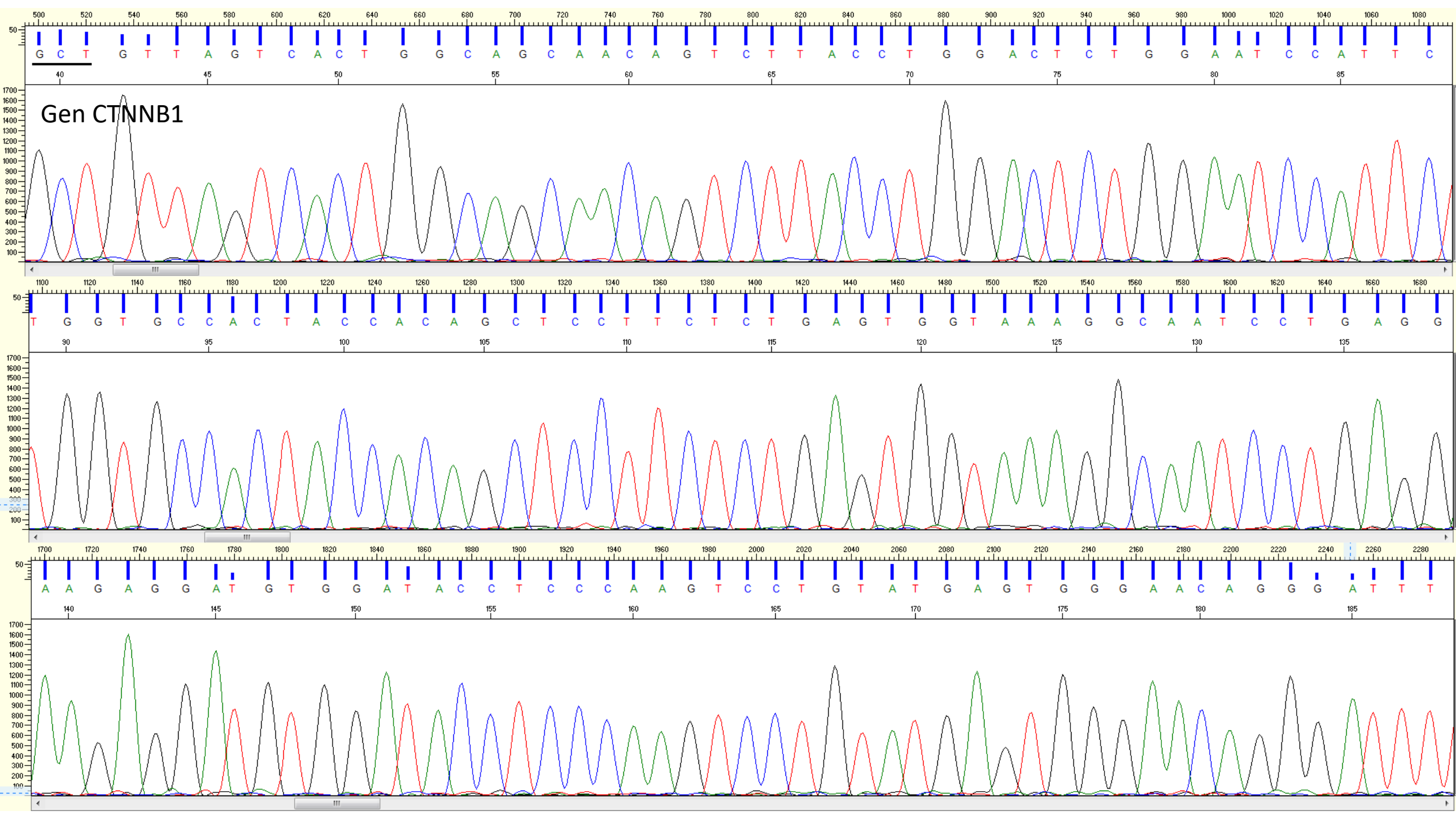


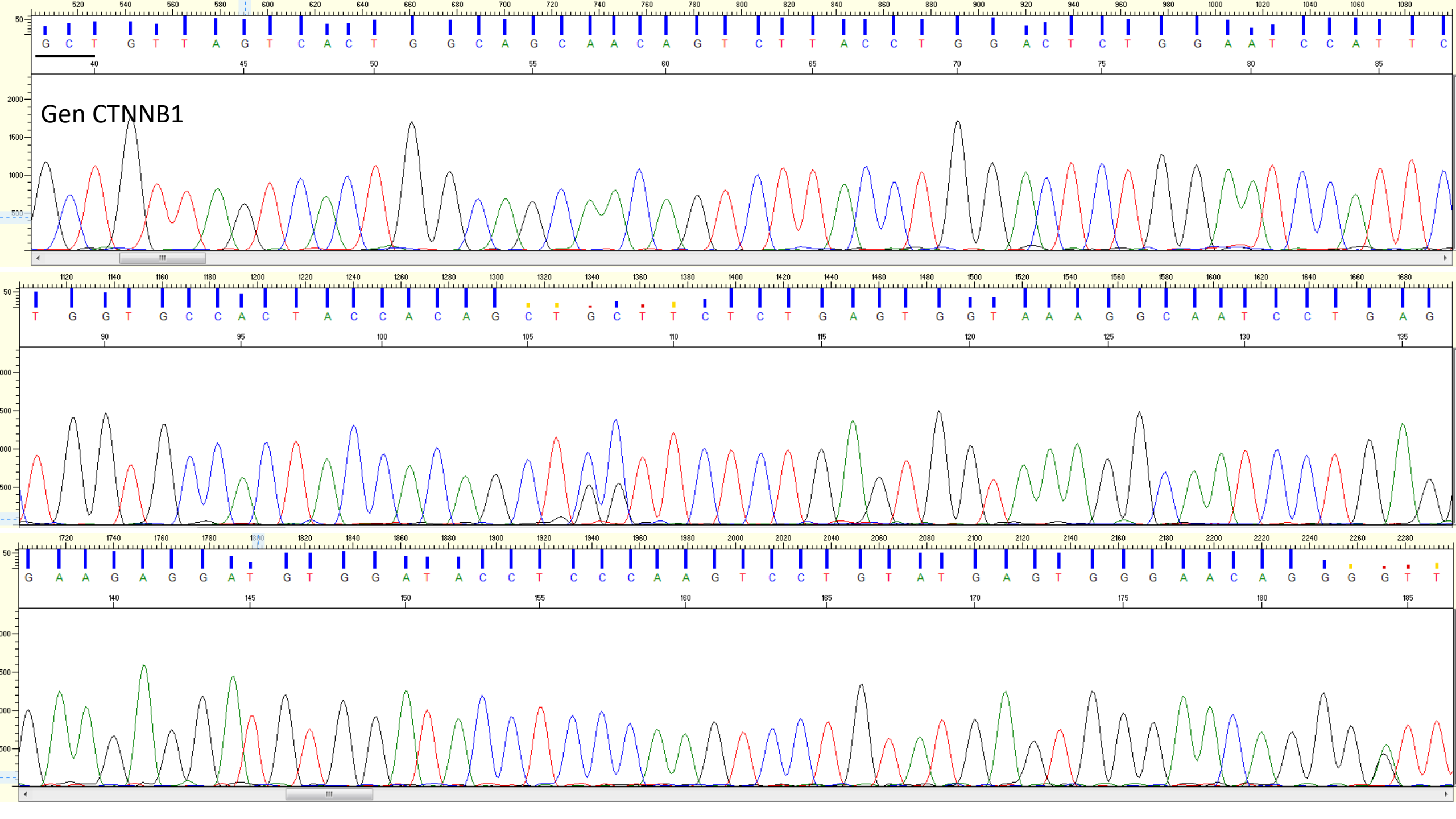
PCR*-Sequenciació gènica …

Ex.2



*Reacció en Cadena de la Polimerasa (PCR)

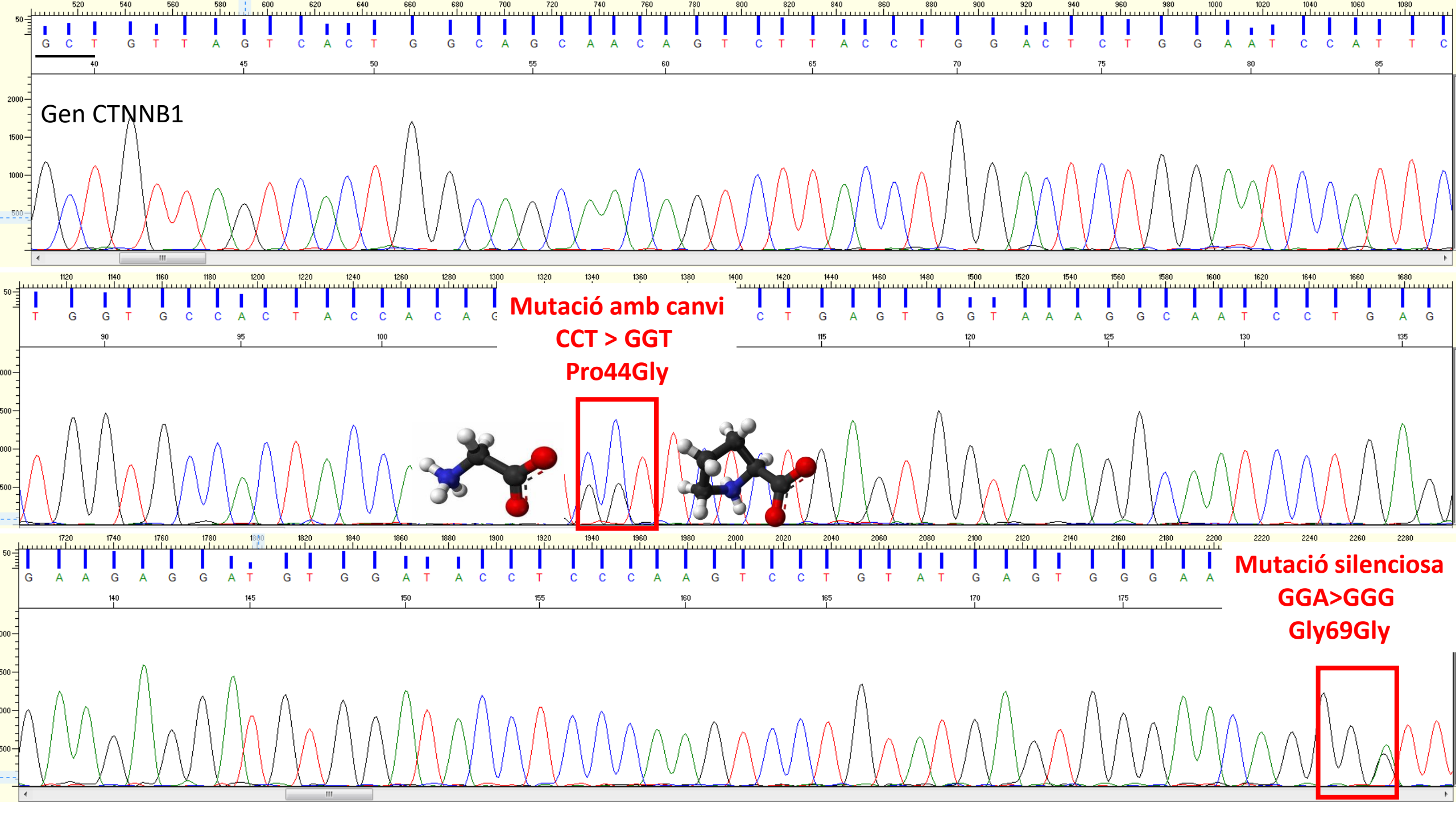

Gen CTNNB1
G C T G T T A G T C A C T G G C A G C A A C A G T C T T A C C T G G A C T C T G G A A T C C A T T C
T G G T G C C A C T A C C A C A G C T C C T T C T C T G A G T G G T A A A G G C A A T C C T G A G G
A A G A G G A T G T G G A T A C C T C C C A A G T C C T G T A T G A G T G G G A A C A G G G A T T T


Gen CTNNB1

First Letter	Second Letter: T	Second Letter: C	Second Letter: A	Second Letter: G	Third Letter
T	TTT, TTC: Phe TTA, TTG: Leu	TCT, TCC, TCA, TCG: Ser	TAT, TAC: Tyr TAA: Stop TAG: Stop	TGT, TGC: Cys TGA: Stop TGG: Trp	T C A G
C	CTT, CTC, CTA, CTG: Leu	CCT, CCC, CCA, CCG: Pro	CAT, CAC: His CAA, CAG: Gln	CGT, CGC, CGA, CGG: Arg	T C A G
A	ATT, ATC, ATA: Ile ATG: Met	ACT, ACC, ACA, ACG: Thr	AAT, AAC: Asn AAA, AAG: Lys	AGT, AGC: Ser AGA, AGG: Arg	T C A G
G	GTT, GTC, GTA, GTG: Val	GCT, GCC, GCA, GCG: Ala	GAT, GAC: Asp GAA, GAG: Glu	GGT, GGC, GGA, GGG: Gly	T C A G

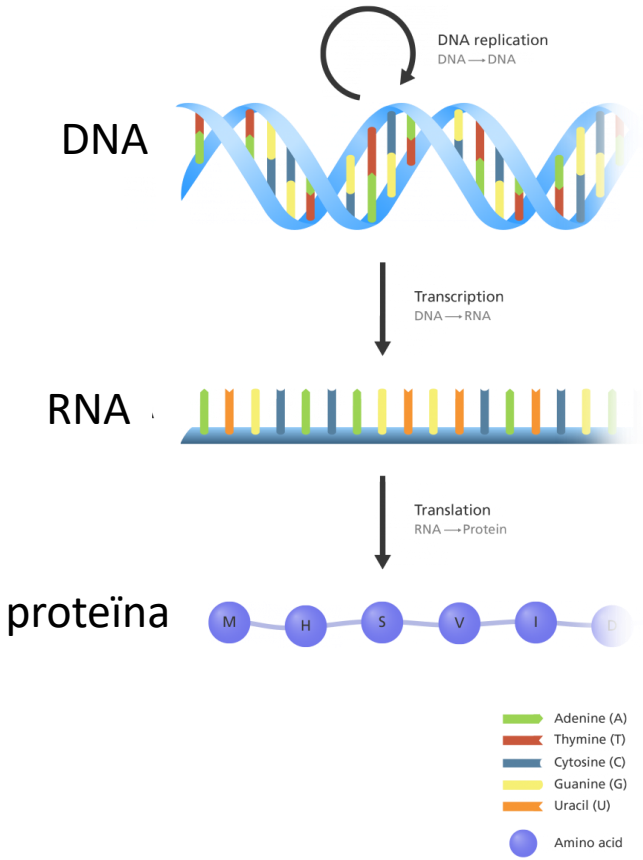
Key:

Ala = Alanine (**A**)
Arg = Arginine (**R**)
Asn = Asparagine (**N**)
Asp = Aspartate (**D**)
Cys = Cysteine (**C**)
Gln = Glutamine (**Q**)
Glu = Glutamate (**E**)
Gly = Glycine (**G**)
His = Histidine (**H**)
Ile = Isoleucine (**I**)
Leu = Leucine (**L**)
Lys = Lysine (**K**)
Met = Methionine (**M**)
Phe = Phenylalanine (**F**)
Pro = Proline (**P**)
Ser = Serine (**S**)
Thr = Threonine (**T**)
Trp = Tryptophan (**W**)
Tyr = Tyrosine (**Y**)
Val = Valine (**V**)


Gen CTNNB1
Mutació amb canvi
CCT > GGT
Pro44Gly
Mutació silenciosa
GGA>GGG
Gly69Gly

Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Tecniques molecular rudimentàries (<2000)

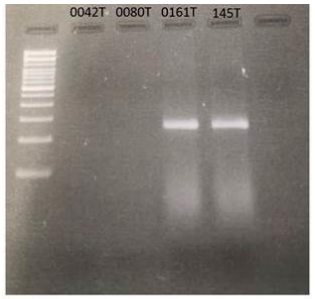


PCR-Sequenciació gènica …

↓

Northen Blot
RT-PCR/qPCR*…

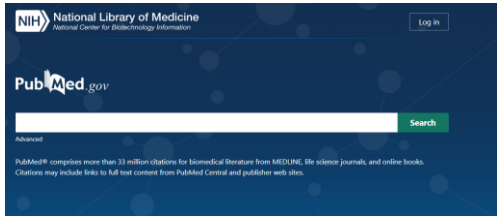
Ex. RT-PCR



Expressió d'un transcript quimèric (DNAJB1-PRKACA), procedent d'una fusió de 2 gens

Ex.3

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/



NIH Public Access
Author Manuscript
Science. Author manuscript; available in PMC 2015 January 07.

Published in final edited form as:
Science. 2014 February 28; 343(6174): 1010–1014. doi:10.1126/science.1249484.

Detection of a Recurrent *DNAJB1-PRKACA* Chimeric Transcript in Fibrolamellar Hepatocellular Carcinoma

Joshua N. Honeyman[1,2,*], Elana P. Simon[1,3,*], Nicolas Robine[4,*], Rachel Chiaroni-Clarke[1], David G. Darcy[1,2], Irene Isabel P. Lim[1,2], Caroline E. Gleason[1], Jennifer Murphy[1,2], Brad R. Rosenberg[5], Lydia Teegan[1], Constantin N. Takacs[1], Sergio Botero[1], Rachel Belote[1], Soren Germer[4], Anne-Katrin Emde[4], Vladimir Vacic[4], Umesh Bhanot[6], Michael P. LaQuaglia[2], and Sanford M. Simon[1,†]

[1]Lab of Cellular Biophysics, Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY 10065

[2]Division of Pediatric Surgery, Department of Surgery; Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; 1275 York Avenue; New York, NY 10065.

[3]The Dalton School, 108 East 89th Street, New York, NY 10128

[4]New York Genome Center, 101 Avenue of the Americas, New York, NY 10013

[5]Whitehead Presidential Fellows Program, The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY 10065

[6]Pathology Core Facility Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; 1275 York Avenue; New York, NY 10065

Abstract

Fibrolamellar hepatocellular carcinoma (FL-HCC) is a rare liver tumor affecting adolescents and young adults who have no history of primary liver disease or cirrhosis. We performed RNA sequencing on FL-HCC tumors and identified a chimeric transcript that was expressed in all tumor samples but not in adjacent normal liver. The chimeric RNA was confirmed by RT-PCR and Sanger Sequencing. Based on the results of whole genome sequencing, the chimeric transcript is the result of a ~400 kilobase deletion on chromosome 19. The chimera was predicted to code for a protein with the amino-terminal domain of DNAJB1, a homolog of the molecular chaperone DNAJ, fused in frame with PRKACA, the catalytic domain of protein kinase A. The presence of this chimera protein was established by immunoprecipitation and Western Blot analysis. Expression of the chimera in human cell culture demonstrates that it retains kinase activity. Evidence for a DNAJB1-PRKACA chimeric transcript in 15 out of 15 FL-HCC patients suggests that it contributes to tumor pathogenesis.

Main Text

Fibrolamellar hepatocellular carcinoma (FL-HCC) is a rare liver tumor representing less than 1% of all liver cancer(1). First described in 1956(2), it has historically been considered

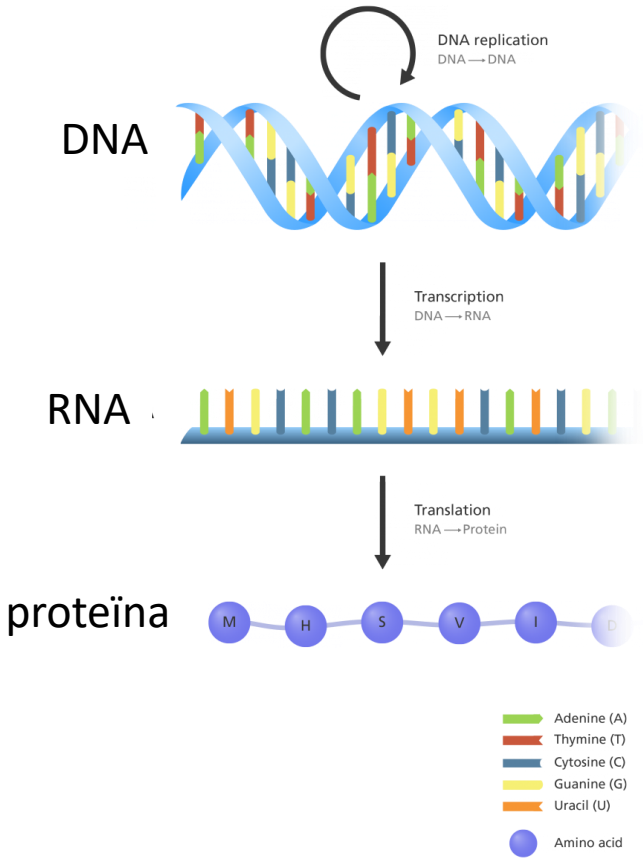
[†]Corresponding author. simon@rockefeller.edu.
[*]co first authors

NIH-PA Author Manuscript NIH-PA Author Manuscript NIH-PA Author Manuscript

*Retrotració y Reacció en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR)
PCR quantitative (qPCR)

Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Tecniques molecular rudimentàries (<2000)



PCR-Sequenciació gènica …

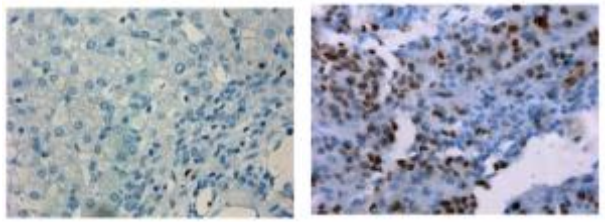
↓

Northen Blot
RT-PCR / qPCR…

↓

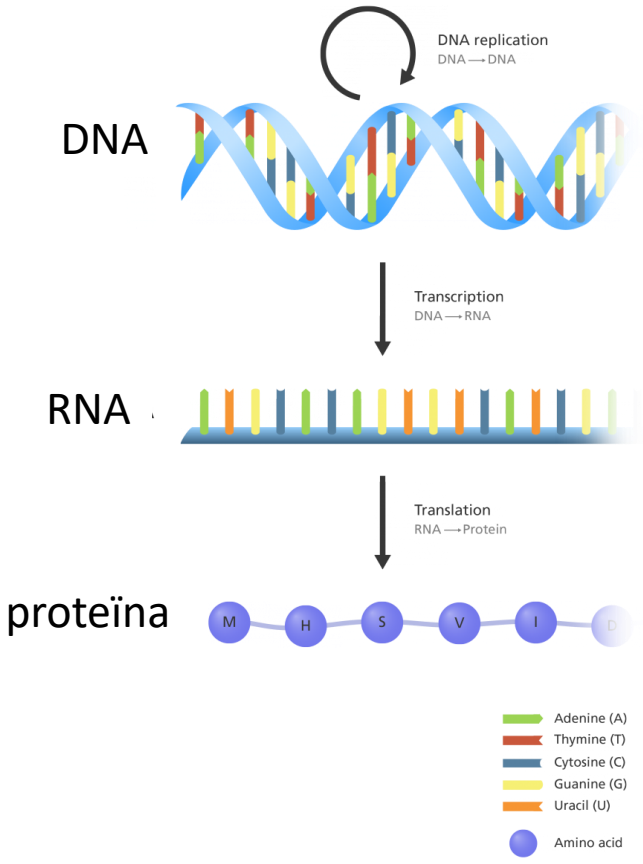
IHQ
Western Blot…

Ki67 protein

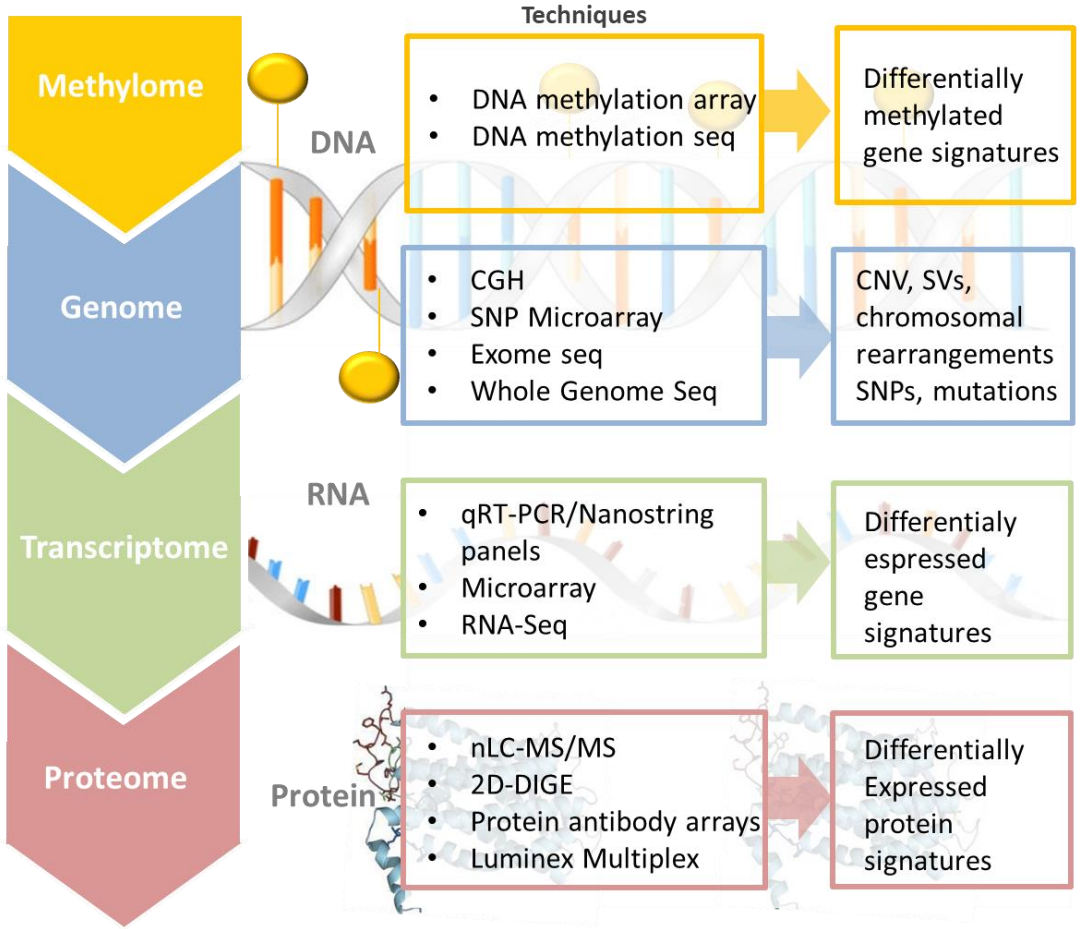


Quines eines disposem per fer recerca traslacional?

- Gran avenç! Tecniques molecular avançades (òmiques) i anàlisis bioinformàtics



yourgenome,.org

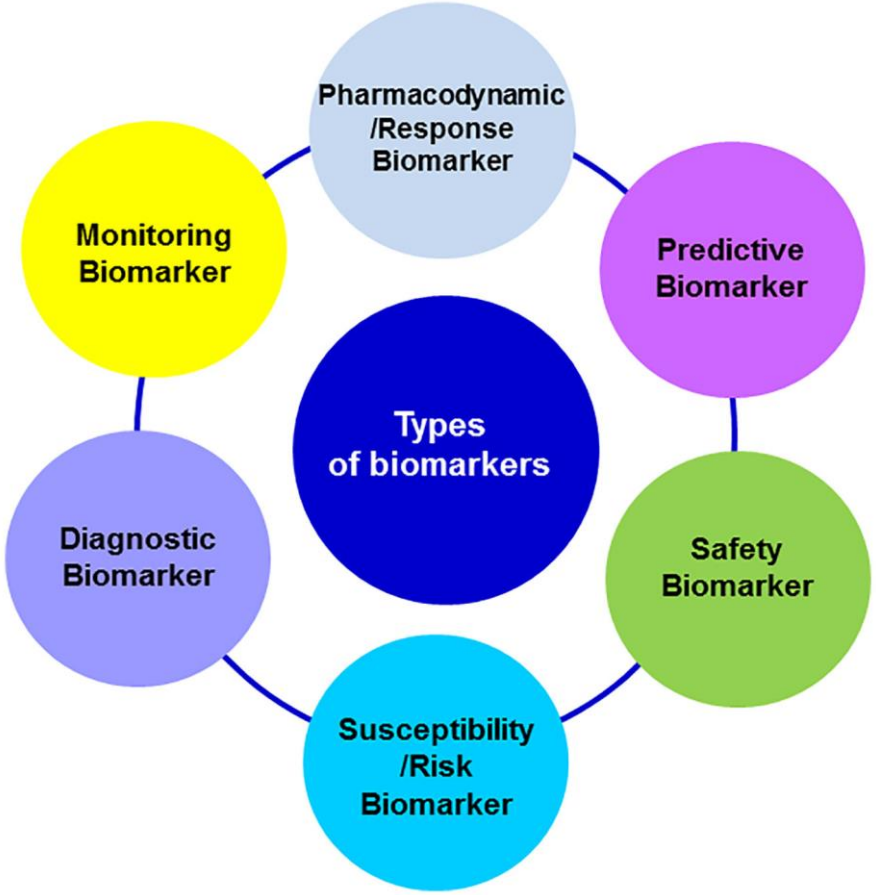


Metabolome, microbiome…

4. Què és un biomarcador?

Què és un biomarcador?

- Molècula biològica que es troba a la sang, altres fluids corporals o teixits que és un signe d'un procés normal o anormal, o d'una afecció o malaltia. Es pot utilitzar un biomarcador per veure com respon el cos a un determinat tractament.



4. Què fem al grup de Càncer de Fetge Infantil del IGTP ?

Estudiem el càncer de fetge infantil

INCIDENCIA

1.5 casos/mil·lio de nens a l'any

És un tumor rar

FACTORS DE RISC

95% casos son esporàdics
5% casos associats a sindromes genetics

Origen desconegut

Creació col·lecció nacional → Europea de mostres de pacients amb cancer de fetge

Col·lecció de mostres biològiques d'aquests nens és clau

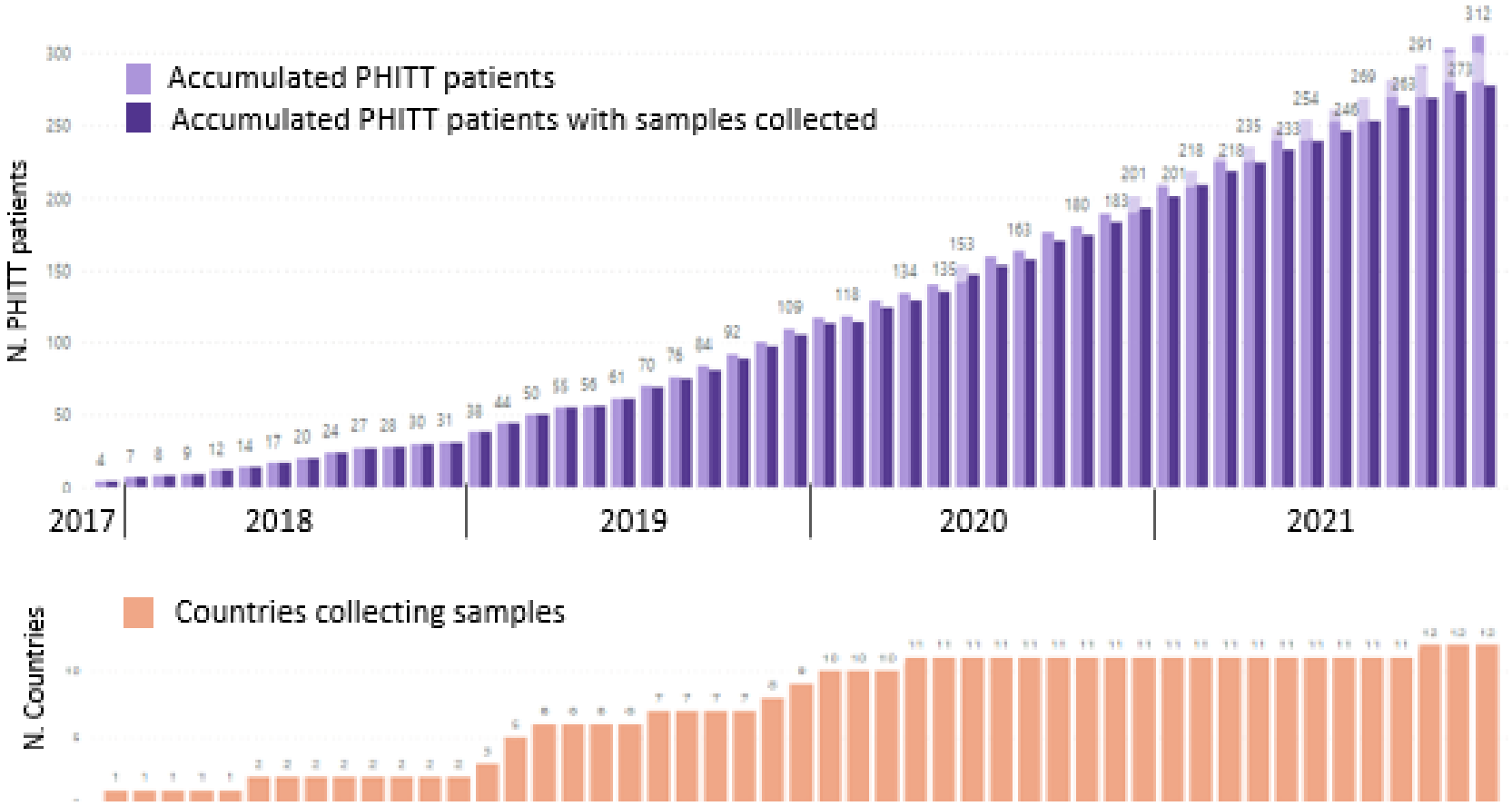
ChiLTERN

PHITT
Paediatric Hepatic International Tumour Trial

CHILDHOOD LIVER CANCER NETWORK collection

- ✓ Hem establert una de les col·leccions més complertes a nivell mundial:

  2076 mostres de >200 pacients pediàtrics amb cancer de fetge



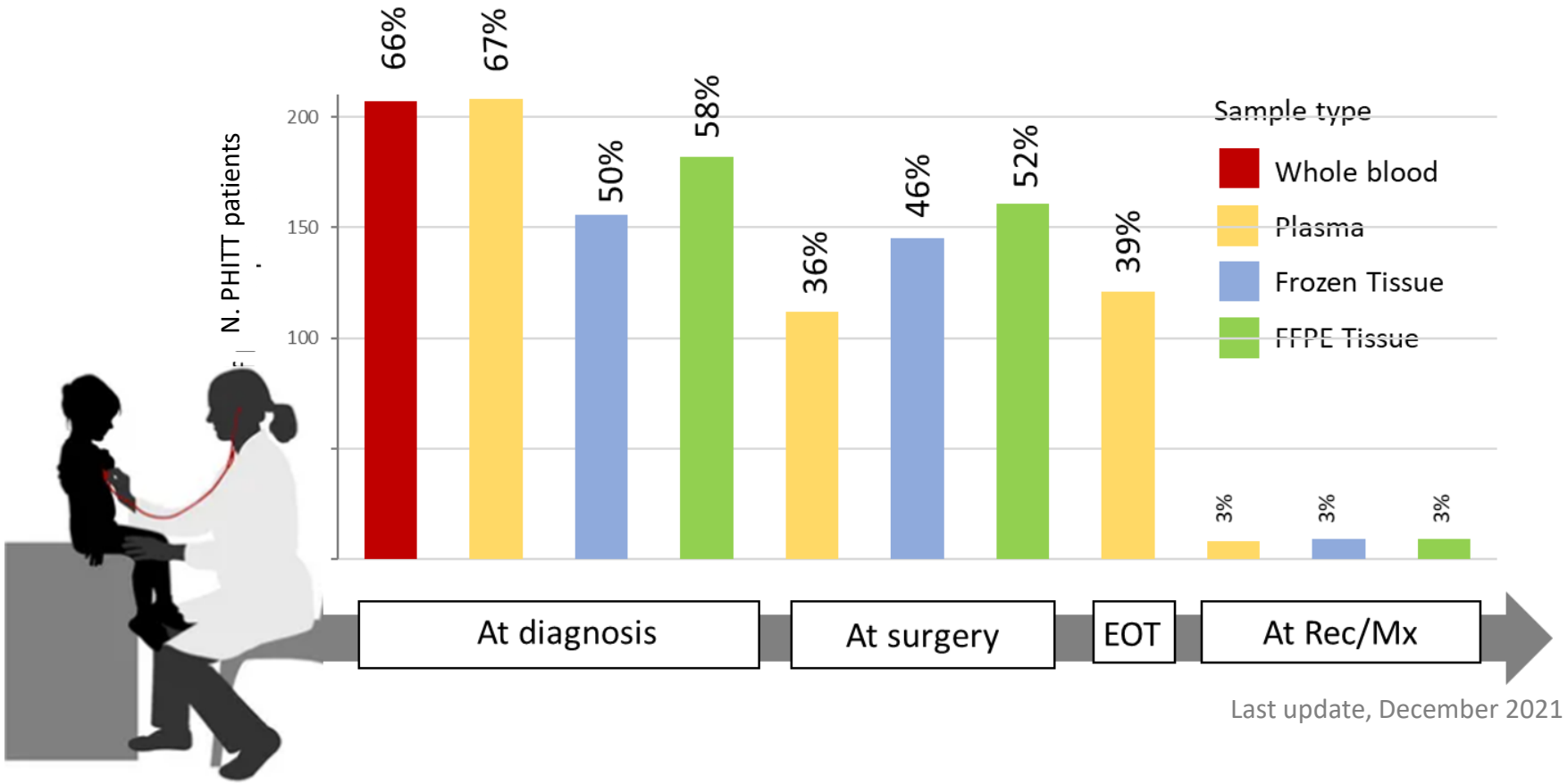
Horizon 2020
European Union Funding
for Research & Innovation

Col·lecció de mostres biològiques d'aquests nens és clau

ChiLTERN

PHITT
Paediatric Hepatic International Tumour Trial

- ✓ Col·lecció de mostres única: (p. ex: sang: n=207; teixit: n=182)



Last update, December 2021

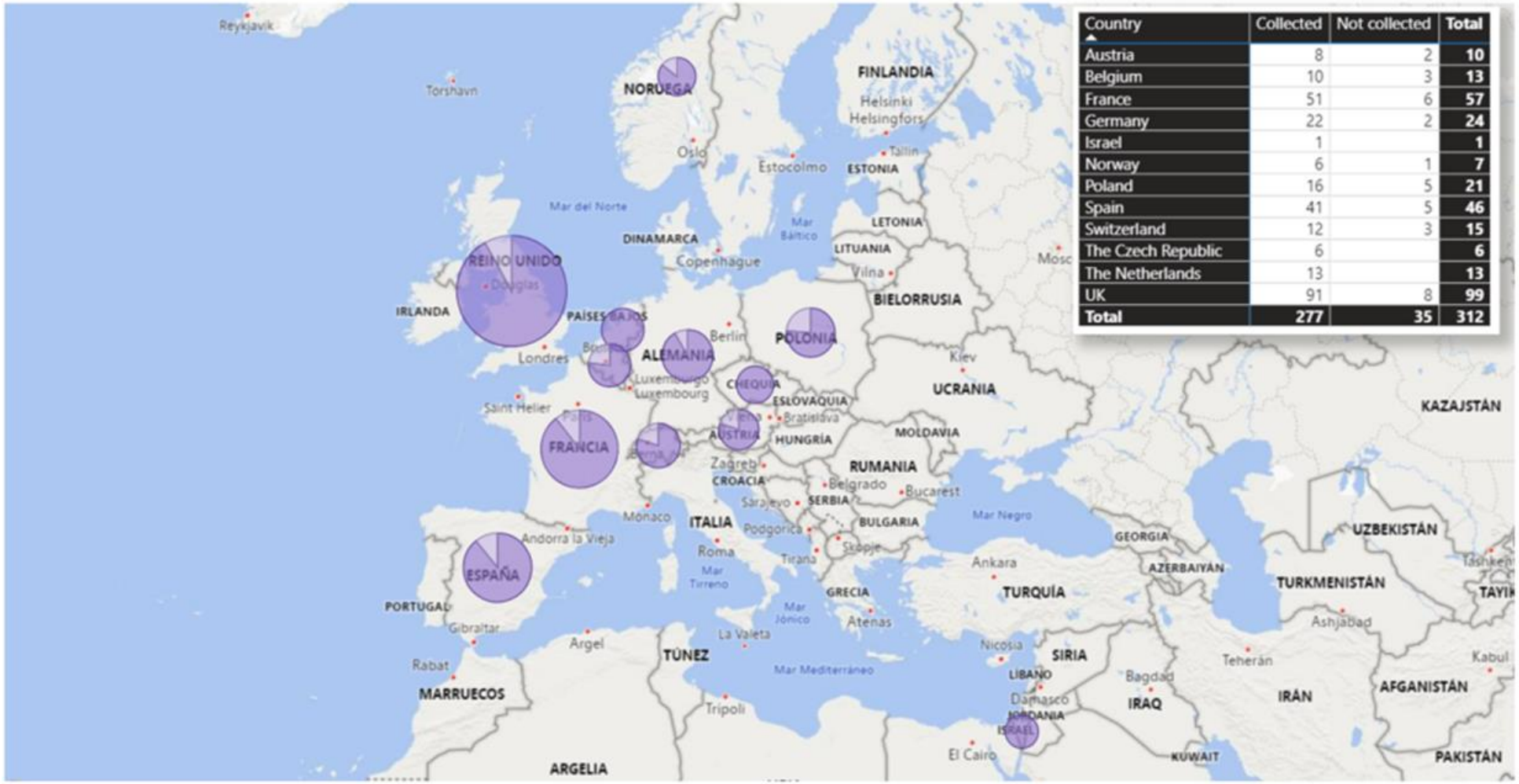
Horizon 2020
European Union Funding
for Research & Innovation

Col·lecció Europea establerta a Catalunya

ChiLTERN

PHITT
Paediatric Hepatic International Tumour Trial

AnySampleCollectedLabel ● Collected ● Not collected



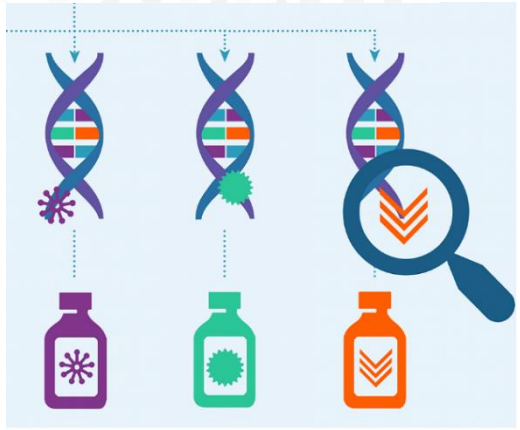
Country	Collected	Not collected	Total
Austria	8	2	10
Belgium	10	3	13
France	51	6	57
Germany	22	2	24
Israel	1		1
Norway	6	1	7
Poland	16	5	21
Spain	41	5	46
Switzerland	12	3	15
The Czech Republic	6		6
The Netherlands	13		13
UK	91	8	99
Total	**277**	**35**	**312**

Horizon 2020
European Union Funding
for Research & Innovation

Objectiu principal: Medicina de Precissió cancer infantil

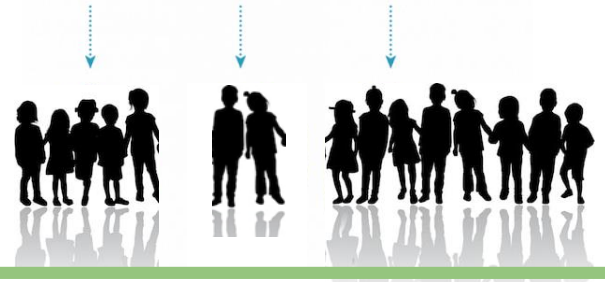
- La medicina de precisió és un enfocament de l'atenció al pacient que permet als metges seleccionar els tractaments que tenen més probabilitats d'ajudar els pacients basant-se en una comprensió genètica de la seva malaltia.

PATIENTS



BIOMARCADORS

TRIA DEL TRACTAMENT TERAPEUTIC
Tenint en compte els factors cancer/individu

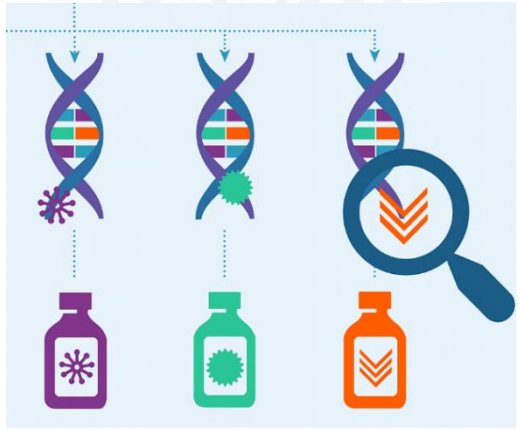


ACONSEGUIR MÉS ÈXIT TRACTAMENT DE LA MALALTIA

Exemple de Medicina de Precissió cancer infantil

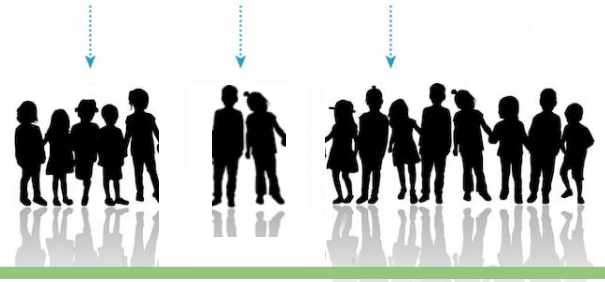
- La medicina de precisió és un enfocament de l'atenció al pacient que permet als metges seleccionar els tractaments que tenen més probabilitats d'ajudar els pacients basant-se en una comprensió genètica de la seva malaltia.

PATIENTS



BIOMARCADORS

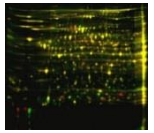
TRIA DEL TRACTAMENT TERAPEUTIC
Tenint en compte els factors cancer/individu



ACONSEGUIR MÉS ÈXIT TRACTAMENT DE LA MALALTIA

Exemple: identificació de 3 proteïnes amb impacte pronòstic

n= 14 HB + 8 NT

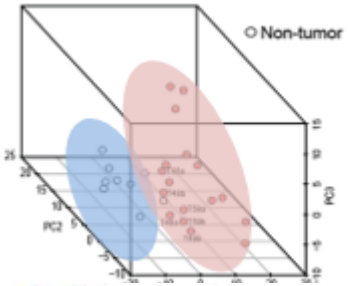


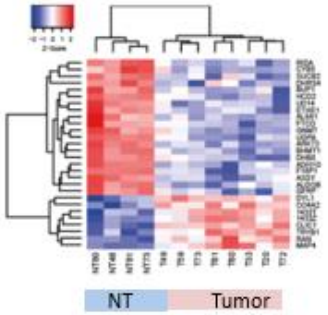
2D- DIGE + MS/MS

LABEL FREE

CLINICAL & PATHOLOGICAL

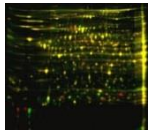
PROTEOMICS DATA





Exemple: identificació de 3 proteïnes amb impacte pronòstic

n= 14 HB + 8 NT

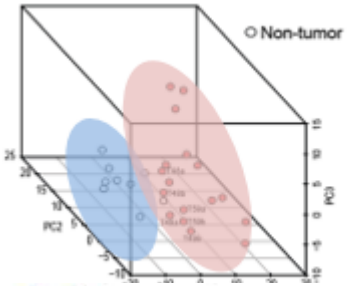


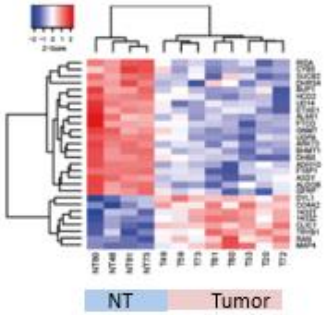
2D- DIGE + MS/MS

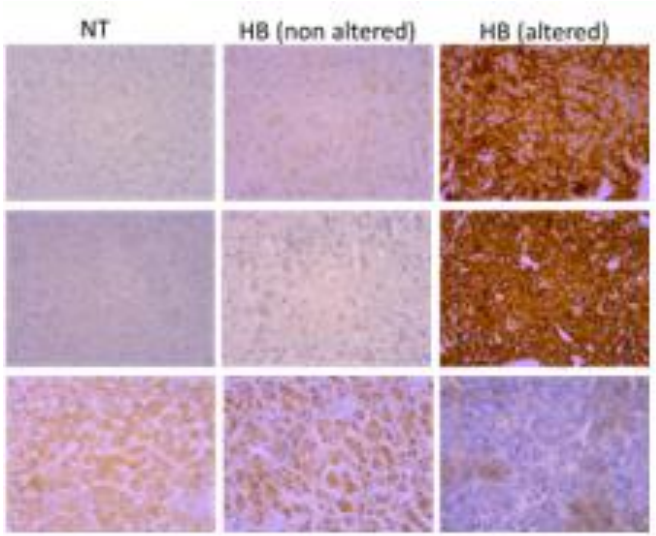
LABEL FREE

CLINICAL & PATHOLOGICAL

PROTEOMICS DATA

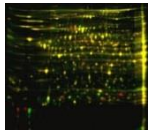






Exemple: identificació de 3 proteïnes amb impacte pronòstic

n= 14 HB + 8 NT

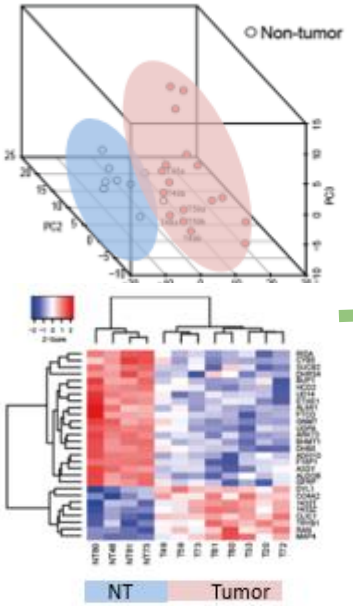


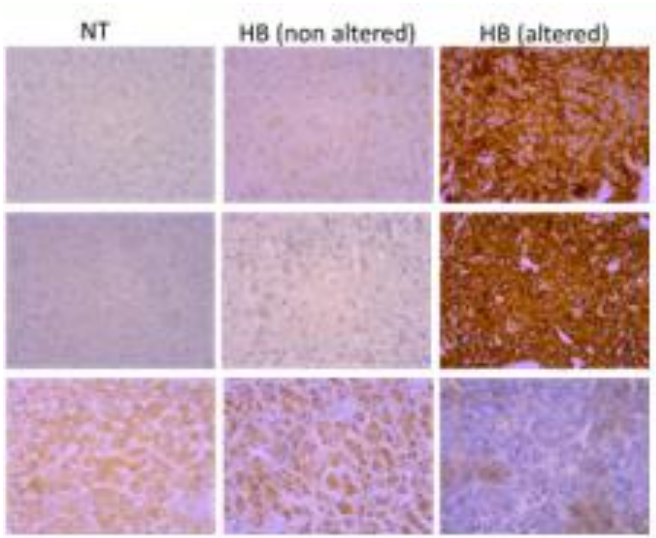
2D- DIGE + MS/MS

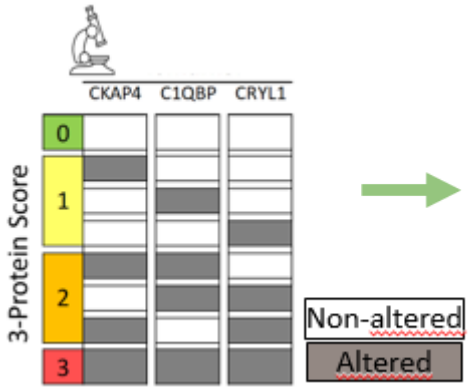
LABEL FREE

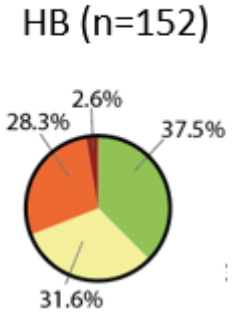
CLINICAL & PATHOLOGICAL

PROTEOMICS DATA



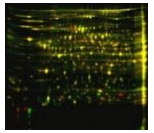






Exemple: identificació de 3 proteïnes amb impacte pronòstic

n= 14 HB + 8 NT

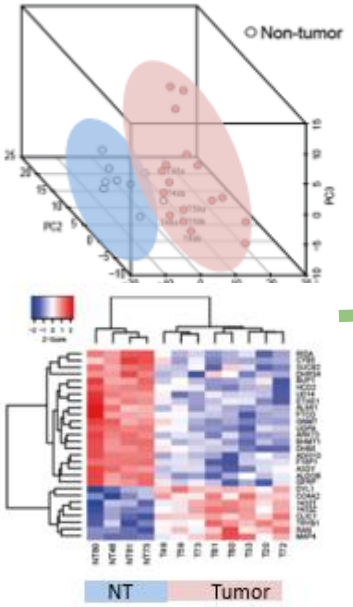


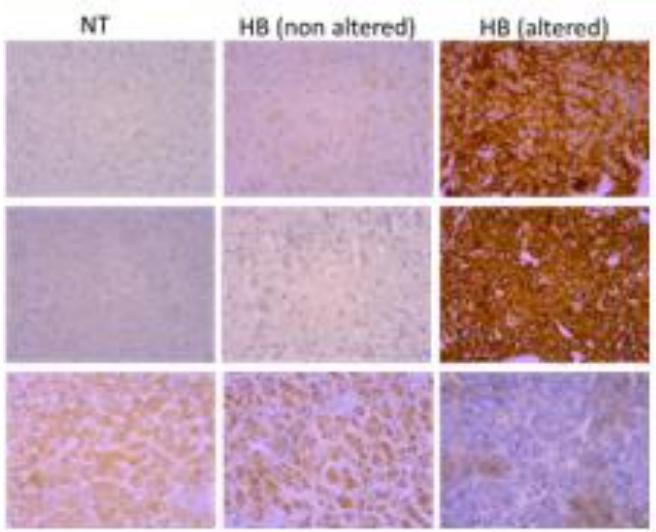
2D- DIGE + MS/MS

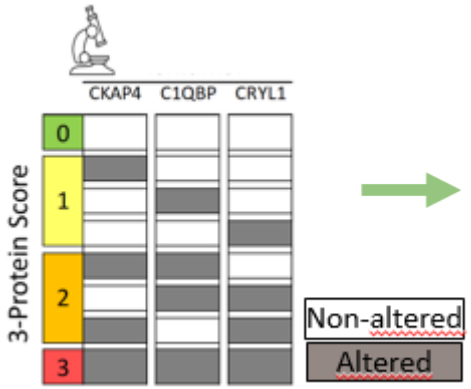
LABEL FREE

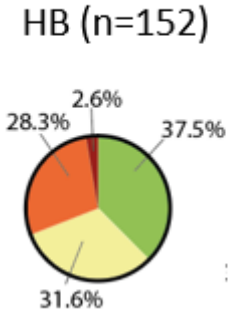
CLINICAL & PATHOLOGICAL

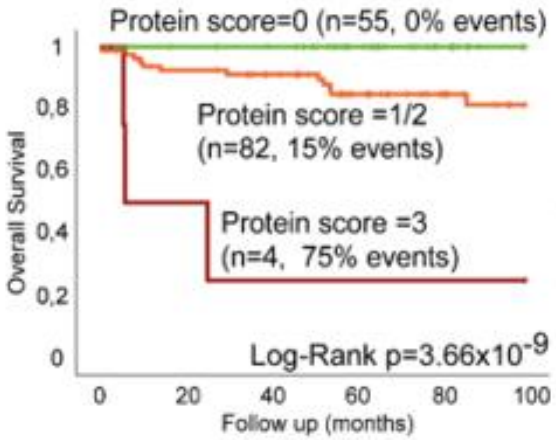
PROTEOMICS DATA





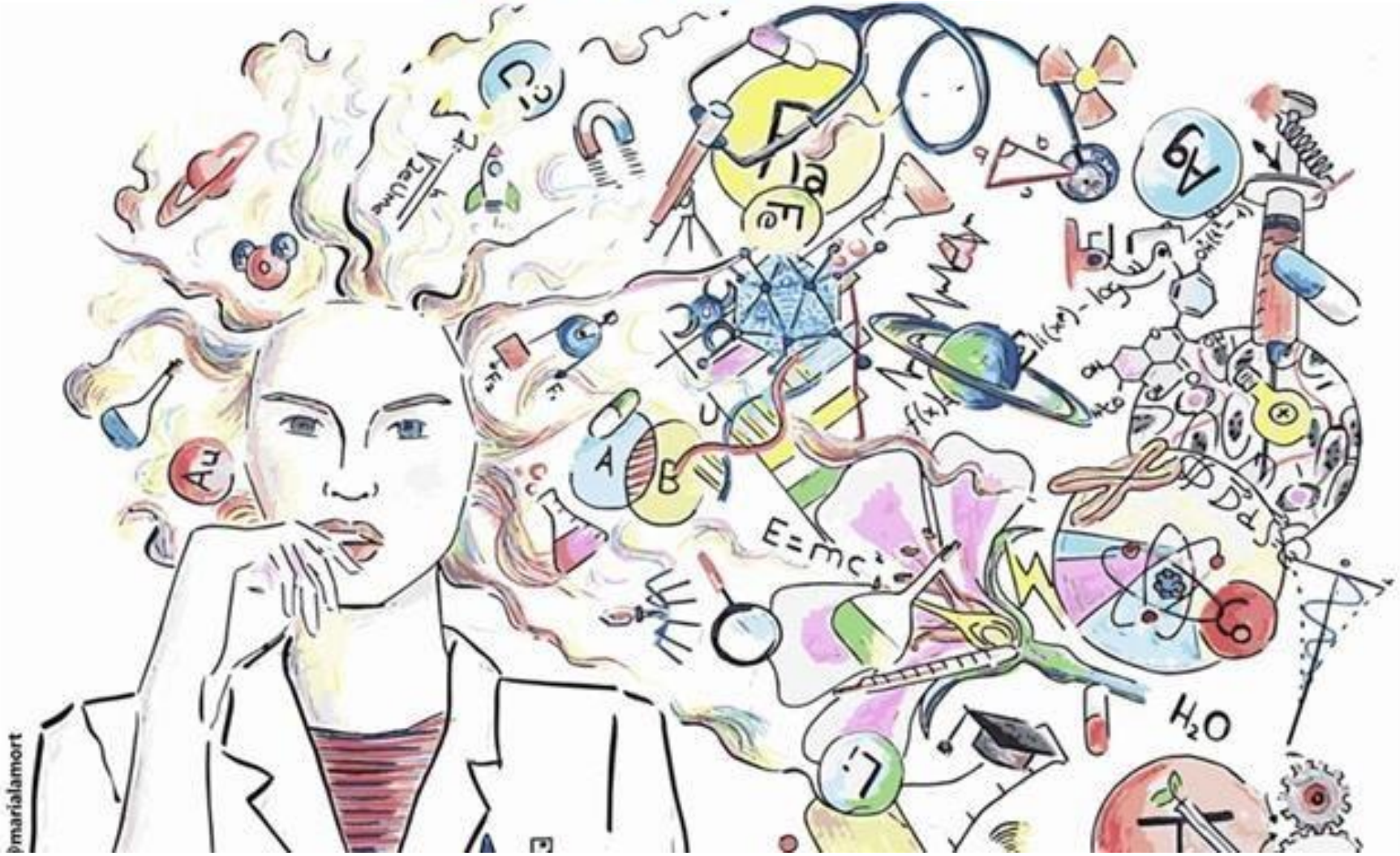




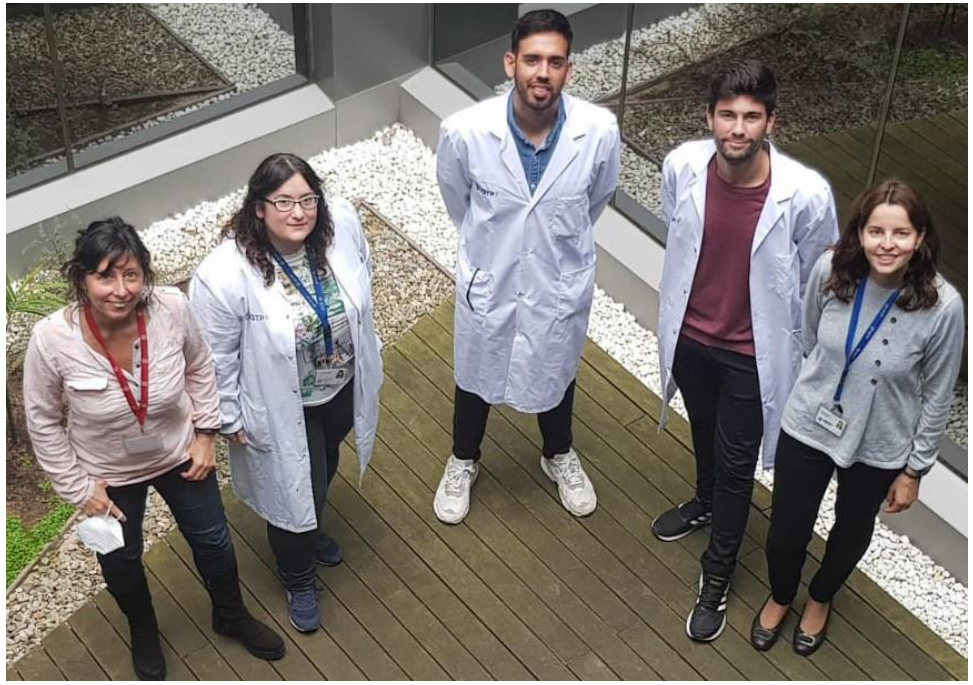


Dia INTERNACIONAL de les
DONES I LES NENES A LA CIÈNCIA

11 de febrer de 2022



La nostra recerca implica col·laboració amb hospitals i grups de recerca d'aqui i d'arreu!



Financed by

This project has received funding from the EU Horizon 2020 Research and Innovation programme under grant agreements No. 668596 and No. 826121