

CO-010

EL PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE LA CÉLULA TUMORAL CIRCULANTE (CTC) DEL MIELOMA MÚLTIPLE: UN NUEVO MODELO PARA COMPRENDER LA DISEMINACIÓN DE LA ENFERMEDAD

Garcés JJ¹, Simicek M², Growkova K², Calasanz M-J¹, Rios R, Martínez-Lopez J⁴, Millacoy P⁵, Palomera L⁶, Del Orbe R⁷, Perez-Montaña A⁸, Garate S¹, Blanco L¹, Maiso P¹, Flores-Montero J⁹, Sanoja-Flores L⁹, Jelinek T², Orfao A⁹, Hajek R², San Miguel JF¹, Paiva B¹

¹Clínica Universidad de Navarra - CIMA; ²University Hospital of Ostrava; ³Hospital Universitario Virgen de las Nieves; ⁴Hospital Universitario 12 de Octubre; ⁵Complejo Hospitalario de Navarra; ⁶Hospital Lozano Blesa; ⁷Biocruces Health Research Institute; ⁸Hospital Son Espases; ⁹Centro de Investigación del Cáncer, Salamanca

Introducción: El número de células tumorales circulantes (CTCs) predice el riesgo de transformación en mieloma múltiple (MM) asintomático, así como la supervivencia en MM activo. Datos recientes sugieren que, conforme el tumor progresa y el microambiente se vuelve más hipóxico, las células plasmáticas (CP) clonales pasan a la circulación sistémica favoreciendo la constante invasión de nuevas regiones en la médula ósea (MO). Habría que señalar que la frecuencia de las CTCs es típicamente baja, por lo que sería concebible que dicha diseminación del MM dependiera de unas pocas células con unas características únicas que inducirían su salida de la médula y la extensión de la enfermedad a través de la sangre periférica (SP). Esta hipótesis no ha sido demostrada hasta ahora debido a que el perfil transcriptómico de la CTC en el MM no ha sido investigado.

Objetivos: Determinar funciones moleculares específicas en las CTCs que permitan identificar eventos responsables de la diseminación del MM a través del flujo sanguíneo.

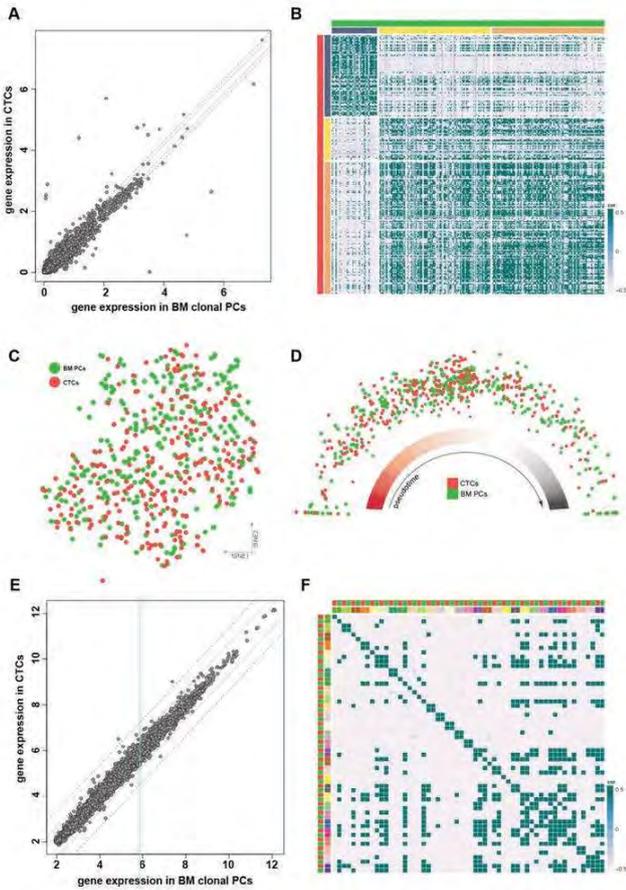


Figura 1.

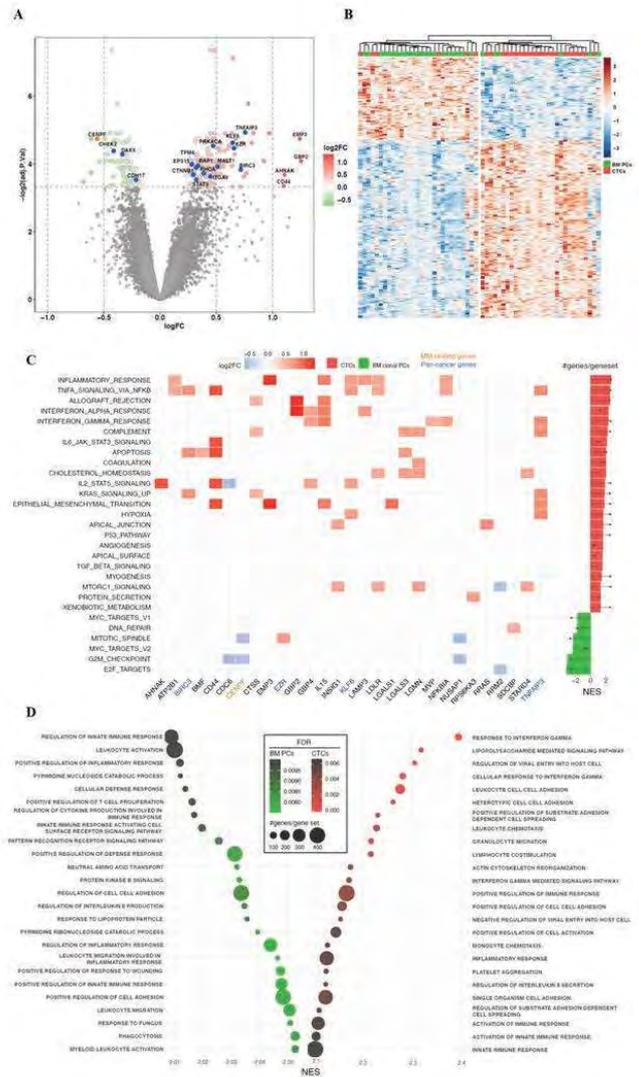


Figura 2.

Métodos: Usamos separación celular mediante FACS para aislar CTCs y CP clonales de muestras pareadas de MO y SP de un total de 32 pacientes: 23 MM de nuevo diagnóstico, 9 recaídas y 1 gammapatía monoclonal de significado incierto. El perfil transcriptómico se determinó tanto a nivel single-cell (n = 3) como bulk (n = 29), y fueron analizados mediante *Seurat* y *SCORPIUS*, y *limma* y *GSEA*, respectivamente. La función de genes específicos se determinó mediante noqueo a través de shRNA. Finalmente, el valor pronóstico de los genes deregulados se determinó mediante un modelo de regresión Cox usando datos del estudio CoMMpass (n = 553, versión IA11).

Resultados: El perfil transcriptómico de las muestras pareadas de CTCs y CP clonales de MO mostraron una gran correlación en la expresión génica a ambos niveles de single-cell y bulk (r=0.94, P=10⁻¹⁶), con solo 55 genes diferencialmente expresados entre CTCs y su contrapartida en MO. Genes sobre-expresados en las CTCs estaban implicados en la inflamación, la hipoxia o la transición epitelio-mesenquimal, mientras que aquellos infra-expresados estaban relacionados con la proliferación celular. El marcador de células madre cancerígenas *CD44* se encontraba sobre-expresado en la CTC, y su silenciamiento reducía significativamente la capacidad de migración de células mielomatosas así como su adhesión a fibronectina. Aproximadamente la mitad (29/55) de estos genes diferencialmente expresados en las CTCs tuvieron valor pronóstico en pacientes de nuevo diagnóstico (CoMMpass). En un análisis multivariable incluyendo el ISS revisado, la sobre-expresión de *CENPF* y *LGALS1* se asoció significativamente con una supervivencia inferior.

Conclusiones: Estos resultados ayudan a entender la presencia de CTCs en SP y sugieren que los nichos medulares hipóxicos, junto con

un ambiente pro-inflamatorio, inducirían una detención en la proliferación celular, forzando a estas células tumorales a circular en la SP y migrar a otros nichos de la MO donde puedan continuar creciendo.

tumores sólidos y hematológicos. Teniendo presente la posible importancia de la obesidad en MM, decidimos evaluar si las 32 variantes genéticas asociadas con obesidad en estudios GWAS influyen sobre el riesgo a desarrollar MM. Para ello utilizamos una población de 263 MM y 1087 controles sanos donde genotipamos con sondas KASPar (LGC) las variantes genéticas de interés. La asociación entre los polimorfismos genéticos y el riesgo de MM se realizó por regresión logística asumiendo un modelo de herencia aditivo. La consistencia de las asociaciones en población española se validaron con datos de un GWAS desarrollo en una población de 4189 alemanes (2121 casos de MM y 2068 controles sanos). Funcionalmente, evaluamos si alguna de las variantes genéticas correlacionaba significativamente con niveles de 7 hormonas esteroideas (androstendiona, cortisol, 11-deoxi-cortisol, 17-hidroxi progesterona, progesterona, testosterona and 25 hidroxi vitamina D3) y con niveles de 6 citoquinas (IFNg, IL1b, IL6, TNFA, IL17, and IL22) tras la activación de sangre completa, células mononucleares de sangre periférica y macrófagos de 408 individuos sanos con LPS, PHA, Pam3Cys y cpG (cohorte HFGP). La correlación entre los SNPs y los niveles hormonales y de citoquinas se evaluó por regresión lineal que se ajustó por edad y sexo. Los resultados del meta-análisis de ambas poblaciones mostró que ninguna de las variantes obesogénicas identificadas por GWAS tenía un impacto significativo sobre el riesgo a desarrollar MM (Tabla 1). Solo observamos un efecto protector muy débil del polimorfismo *MTCH2*_{rs3817334} sobre el riesgo a desarrollar MM (OR=0.90, 95%IC 0.83-0.97, P=0.015). Aunque no encontramos ningún vínculo entre las variantes genéticas asociadas con obesidad y el riesgo a desarrollar MM, nuestros estudios funcionales mostraron una fuerte correlación entre el polimorfismo *MAF*_{rs1424233} y los niveles de TNF e IL6 tras la estimulación de macrófagos con cpG, un ligando de TLR9 (P=7.09·10⁻⁵ y 4.35·10⁻⁴; Figura 1). En resumen, este trabajo nos permitió descartar el vínculo entre los polimorfismos obesogénicos y el riesgo a desarrollar MM pero nos mostró que el vínculo que ya conocemos entre la obesidad y la respuesta inmune mediada por TLR9 podría estar mediado por polimorfismos en el gen *MAF*. Este proyecto se financió con fondos internos del centro GENYO.

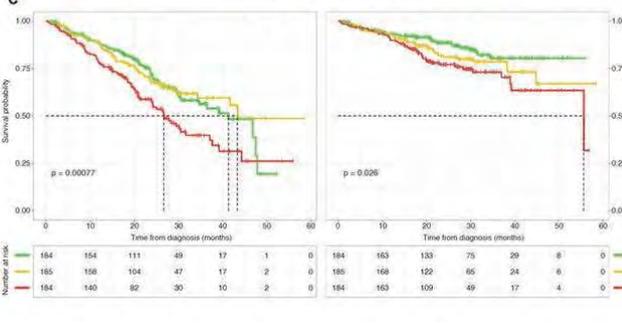
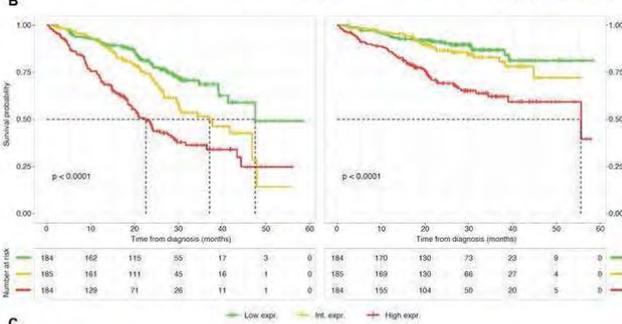
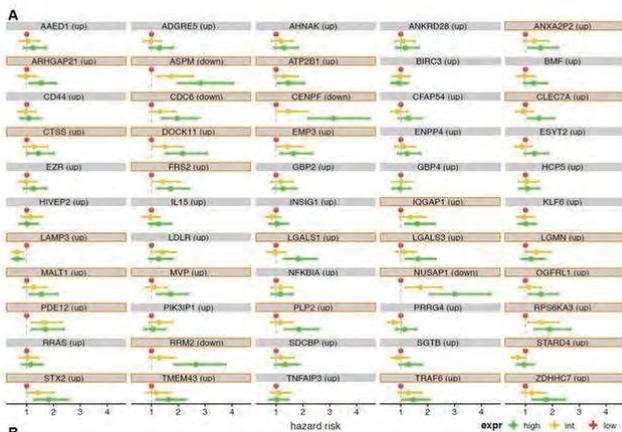


Figura 3.

CO-011

LA PRESENCIA DE POLIMORFISMOS OBESOGÉNICOS IDENTIFICADOS POR GWAS NO INFLUYE SOBRE EL RIESGO A DESARROLLAR MIELOMA MÚLTIPLE

Sánchez Maldonado JM¹, Ríos Tamayo R¹, Garrido P², Clavero E², Ruiz Maldonado V¹, Pérez Rojo B¹, Badiola González J², González Sierra P², Romero A², López Fernández E², Moratalla Molina L², Ter Horst R³, Jérez A⁴, Hemminki K⁵, Neta MG³, Li Y³, Försti A⁵, Martínez López J⁶, Sainz J¹

¹GENYO y Hospital Universitario Virgen de las Nieves; ²Hospital Virgen de las Nieves; ³Radboud University Nijmegen Medical Center; ⁴Hospital Morales Meseguer; ⁵German Cancer Research Center (DKFZ); ⁶Hospital 12 de Octubre

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia incurable caracterizada por la presencia de células plasmáticas malignas en la médula ósea que secretan inmunoglobulinas monoclonales específicas al torrente sanguíneo produciendo un amplio rango de alteraciones entre las que destacan anemia, trombocitopenia, leucopenia, hipercalcemia y fracturas óseas. Aunque se han hecho grandes progresos en la identificación de los mecanismos moleculares que subyacen al MM, hasta la fecha solo se conocen unos pocos factores de riesgo asociados con el desarrollo de esta enfermedad. Entre los factores de riesgo modificables, la obesidad ha atraído mucho interés ya que se ha asociado al desarrollo de múltiples

Tabla 1.

Meta-análisis de la asociación de polimorfismos de obesidad y el riesgo a desarrollar Mieloma Múltiple

Gene	SNP ID	Chr.	Effect allele	OR (95% CI)*	P	OR (95% CI)*	P	OR (95% CI)*	P	P _{int}
ADCF3	rs11679772	2	G	0.92 (0.75-1.11)	0.38	1.07 (0.88-1.27)	0.11	1.02 (0.86-1.17)	0.79	0.17
AKAP9	rs1722122	14	T	0.86 (0.70-1.05)	0.14	0.88 (0.68-1.07)	0.73	0.92 (0.85-1.00)	0.35	0.25
ADPGADPGKAS	rs1744727	15	C	0.89 (0.72-1.10)	0.27	1.03 (0.84-1.23)	0.50	0.99 (0.87-1.12)	0.97	0.22
BNIP3/BNIP-AS	rs62635	11	A	0.96 (0.75-1.22)	0.73	1.01 (0.81-1.22)	0.93	0.97 (0.86-1.05)	0.41	0.71
BRINP3	rs1023074	16	A	1.07 (0.86-1.32)	0.55	1.06 (0.86-1.27)	0.53	1.00 (0.90-1.10)	0.92	0.94
FAM9B/COR3D	rs1738853	12	A	1.07 (0.87-1.30)	0.52	0.88 (0.69-1.07)	0.62	0.90 (0.82-1.00)	0.67	0.43
FLT3	rs1933437	13	G	1.00 (0.82-1.21)	0.98	0.95 (0.88-1.05)	0.39	0.97 (0.96-1.05)	0.41	0.71
FTO	rs1421085	16	C	0.98 (0.77-1.24)	0.84	0.98 (0.88-1.04)	0.32	0.96 (0.89-1.05)	0.36	0.36
FTO2	rs1188462	16	A	1.28 (1.04-1.58)	0.019	1.02 (0.84-1.22)	0.91	1.12 (0.94-1.40)	0.30	0.046
GDF14	rs10260397	4	G	1.02 (0.84-1.23)	0.87	1.08 (0.90-1.27)	0.050	1.07 (0.90-1.25)	0.083	0.59
GRPC2/GRIP1/GRIP1T	rs12448779	16	T	1.22 (0.94-1.59)	0.14	1.00 (0.88-1.13)	0.99	1.07 (0.90-1.28)	0.49	0.18
ITIH4	rs4876937	3	T	1.00 (0.81-1.23)	0.99	1.04 (0.95-1.14)	0.41	1.03 (0.95-1.12)	0.44	0.74
NCTD15	rs11084759	19	A	1.02 (0.83-1.25)	0.85	1.04 (0.94-1.14)	0.46	1.04 (0.95-1.13)	0.42	0.67
LOC400632/LOC42784	rs17762313	14	C	1.37 (1.10-1.71)	0.0064	1.04 (0.94-1.15)	0.42	1.17 (0.98-1.33)	0.25	0.025
LRX1	rs2820912	1	A	1.07 (0.86-1.33)	0.57	0.99 (0.90-1.08)	0.82	1.00 (0.92-1.09)	0.95	1.50
MAP	rs1424233	16	T	1.01 (0.84-1.20)	0.89	0.95 (0.81-1.08)	0.79	0.89 (0.82-1.07)	0.87	0.95
MC4R	rs1770633	18	A	1.04 (0.89-1.21)	0.64	1.04 (0.95-1.14)	0.43	1.04 (0.96-1.13)	0.33	1.00
MTFR	rs2226990	3	C	0.97 (0.80-1.18)	0.77	0.95 (0.87-1.03)	0.27	0.95 (0.88-1.03)	0.22	0.84
MTCH2	rs3817334	11	T	0.95 (0.76-1.15)	0.58	0.88 (0.74-1.07)	0.019	0.90 (0.83-0.97)	0.012	0.55
NEGRF1/LOC105378797	rs2815752	1	G	0.84 (0.68-1.04)	0.099	0.98 (0.90-1.07)	0.62	0.94 (0.82-1.06)	0.35	0.19
NPY1/SLC63A4	rs1885081	14	C	1.10 (0.90-1.34)	0.35	1.00 (0.82-1.09)	0.98	1.02 (0.94-1.10)	0.71	0.39
NTG2	rs1119158	10	C	1.00 (0.72-1.37)	0.98	0.98 (0.85-1.13)	0.79	0.98 (0.96-1.02)	0.80	0.91
PCSK9/LOC441087	rs2172847	5	G	1.01 (0.83-1.23)	0.83	1.08 (0.94-1.20)	0.0060	1.08 (0.96-1.18)	0.075	0.61
PCSK1	rs6230	5	C	1.10 (0.88-1.35)	0.41	0.98 (0.89-1.09)	0.68	1.00 (0.91-1.09)	0.95	0.36
SEC1B/LOC400790	rs454874	1	G	0.80 (0.77-1.28)	0.98	1.04 (0.93-1.16)	0.50	1.03 (0.93-1.14)	0.54	0.73
SH2B1	rs7336937	15	T	0.89 (0.72-1.09)	0.24	0.98 (0.90-1.08)	0.73	0.97 (0.96-1.05)	0.40	0.41
STK33	rs10269908	11	C	0.92 (0.76-1.10)	0.30	1.02 (0.93-1.11)	0.71	1.00 (0.92-1.09)	0.90	0.32
TFAP2B	rs228277	6	T	0.89 (0.82-0.93)	0.011	1.07 (0.96-1.20)	0.22	0.88 (0.87-1.35)	0.55	0.006
TMEM8B	rs648229	2	T	1.13 (0.88-1.44)	0.35	0.84 (0.84-1.05)	0.29	1.00 (0.84-1.18)	0.96	0.18
TRAF3	rs1813311	14	A	1.11 (0.87-1.41)	0.39	1.02 (0.95-1.20)	0.28	1.08 (0.97-1.20)	0.16	0.79
UNRF-1BP1	rs11755393	6	G	0.86 (0.79-1.17)	0.71	0.99 (0.91-1.09)	0.91	0.99 (0.91-1.07)	0.71	0.75
ZZZ3	rs17381614	1	C	1.00 (0.80-1.23)	0.97	0.95 (0.88-1.05)	0.40	0.97 (0.89-1.05)	0.40	0.73

Abreviatura: SNP, single nucleotide polymorphism; OR, odds ratio; CI, confidence interval.
 Para el meta-análisis de las dos cohortes utilizamos el efecto random. A random effect model was assumed for the meta-analysis of both cohorts.
 * Los parámetros de asociación se calcularon asumiendo un modelo de herencia aditivo. P-adj 05 en negrita.

CO-012

MUERTE PRECOZ EN MIELOMA MÚLTIPLE. ANÁLISIS DE PACIENTES TRATADOS EN VIDA REAL

Lakhwani Lakhwani S¹, Hernández García MT¹, Lorenzo Barreto P², Cabrera Brito D¹, Fernández González M¹, Díaz Gómez M¹, Raya Sánchez JM¹

¹Hospital Universitario de Canarias; ²Hospital Ramón y Cajal

Introducción: Durante los últimos años, la supervivencia de los pacientes con mieloma múltiple (MM) ha mejorado debido principalmente a la introducción de nuevos fármacos. A pesar de ello, hay pacientes que