

# MÁSTER EN HEPATOLOGÍA

**UAM**  
Universidad Autónoma  
de Madrid

 Universidad  
de Alcalá

Asignatura: Hepatocarcinoma

“Bases moleculares del tratamiento del cáncer de hígado. Fundamento de la inmunoterapia”

Carmen Berasain

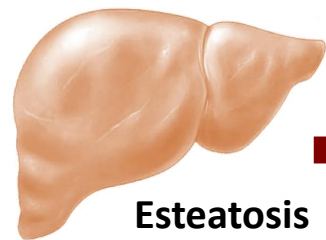
Programa de Hepatología. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA),  
Universidad de Navarra, Pamplona

# Historia natural del hepatocarcinoma

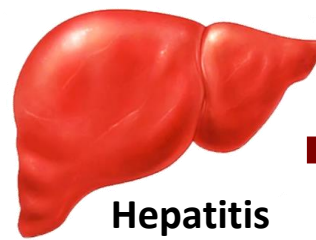
Obesidad  
Virus (HBV, HCV)  
Alcohol  
Diabetes  
Toxinas  
Autoinmunidad ...



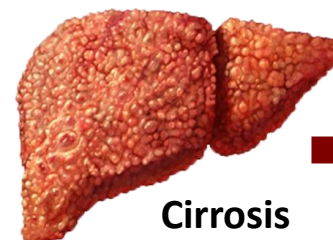
Hígado sano



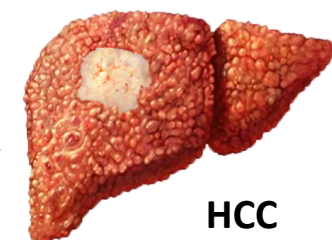
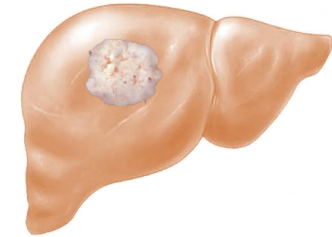
Esteatosis



Hepatitis  
crónica



Cirrosis



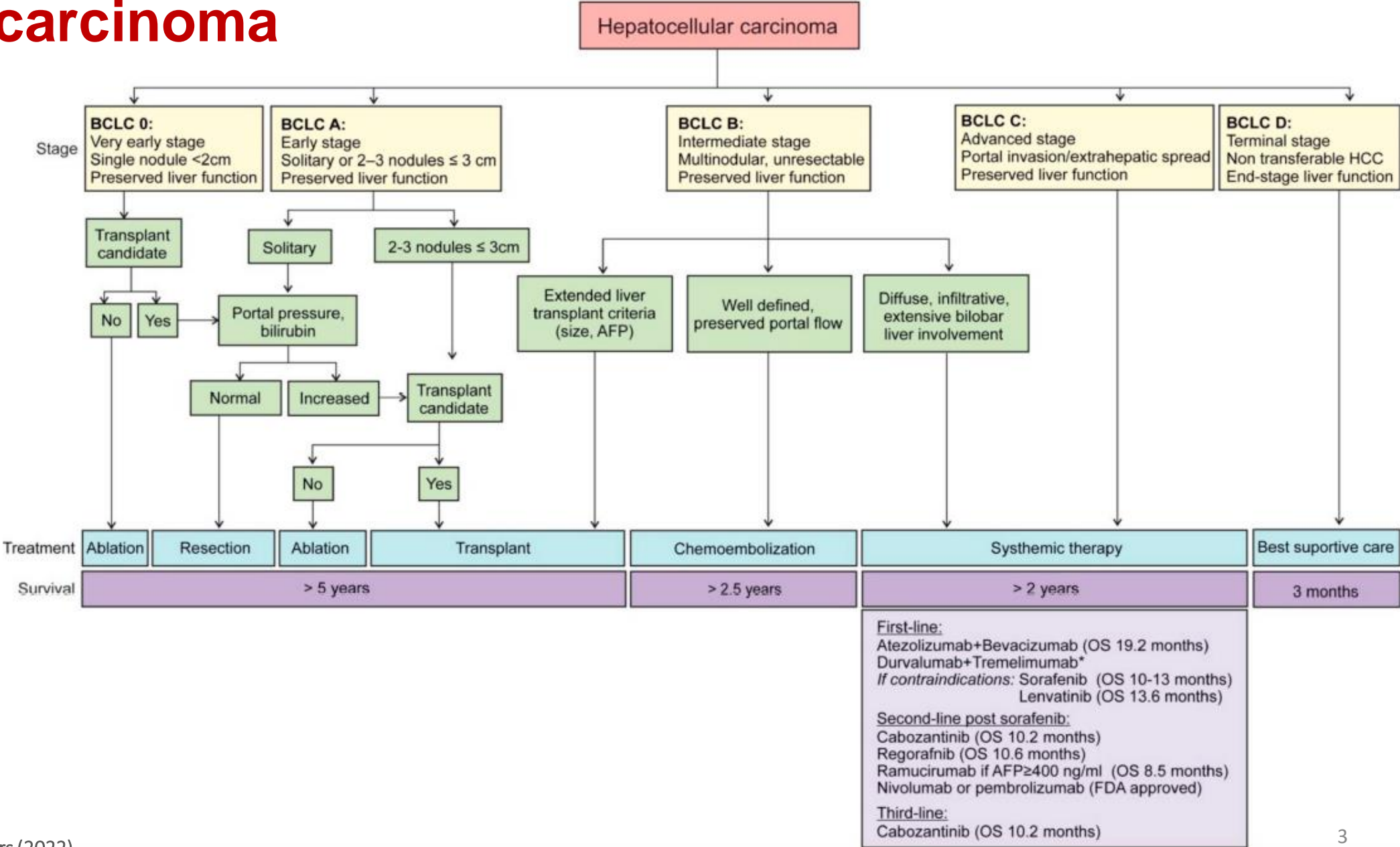
HCC  
HEPATOCARCINOMA

**DAÑO HEPÁTICO CRÓNICO** (*Secuencia displasia-carcinoma*) (>80%)

**Pérdida de las funciones hepáticas**

*Secuencia adenoma-carcinoma*

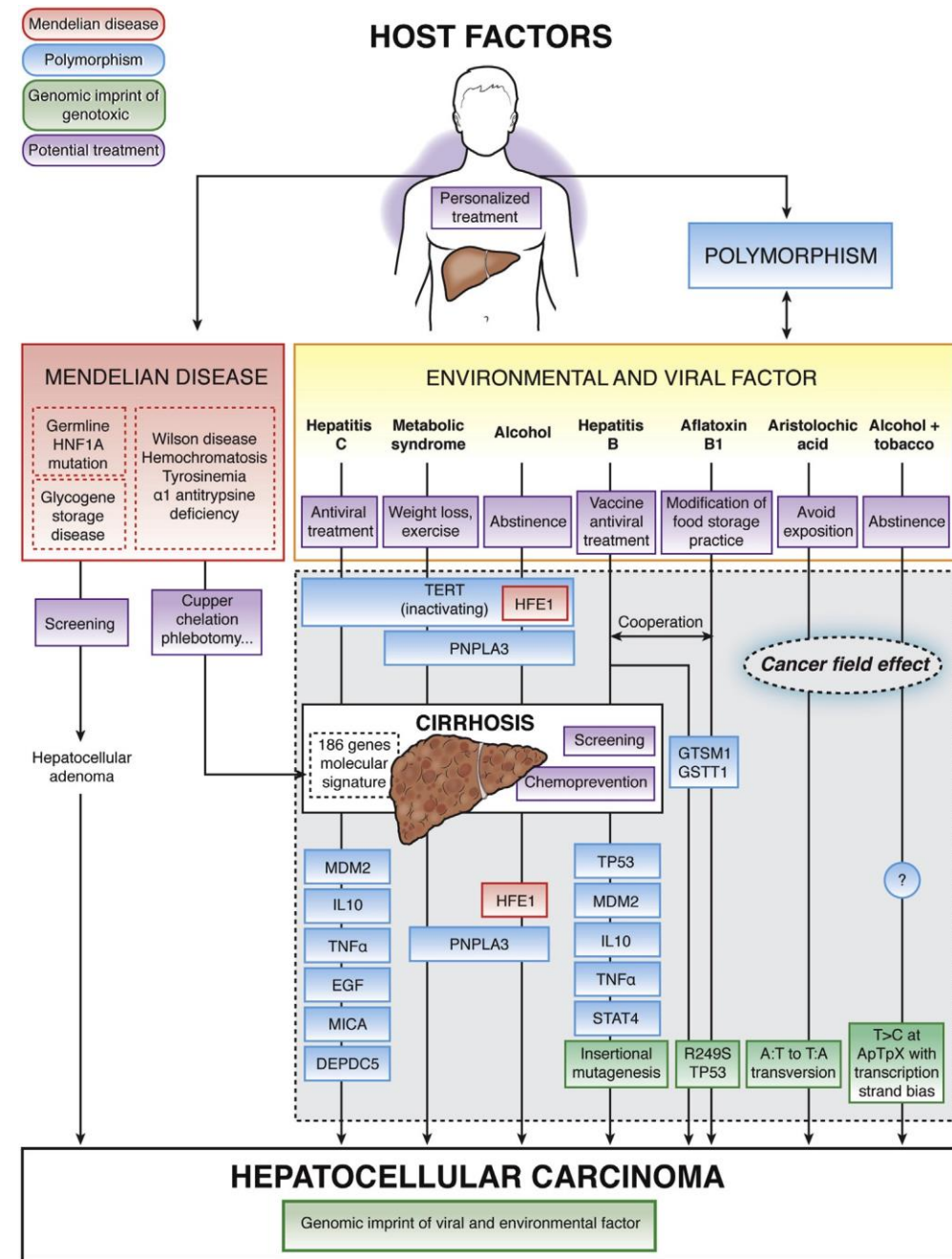
# Manejo clínico del hepatocarcinoma



# Predisposición genética y factores ambientales

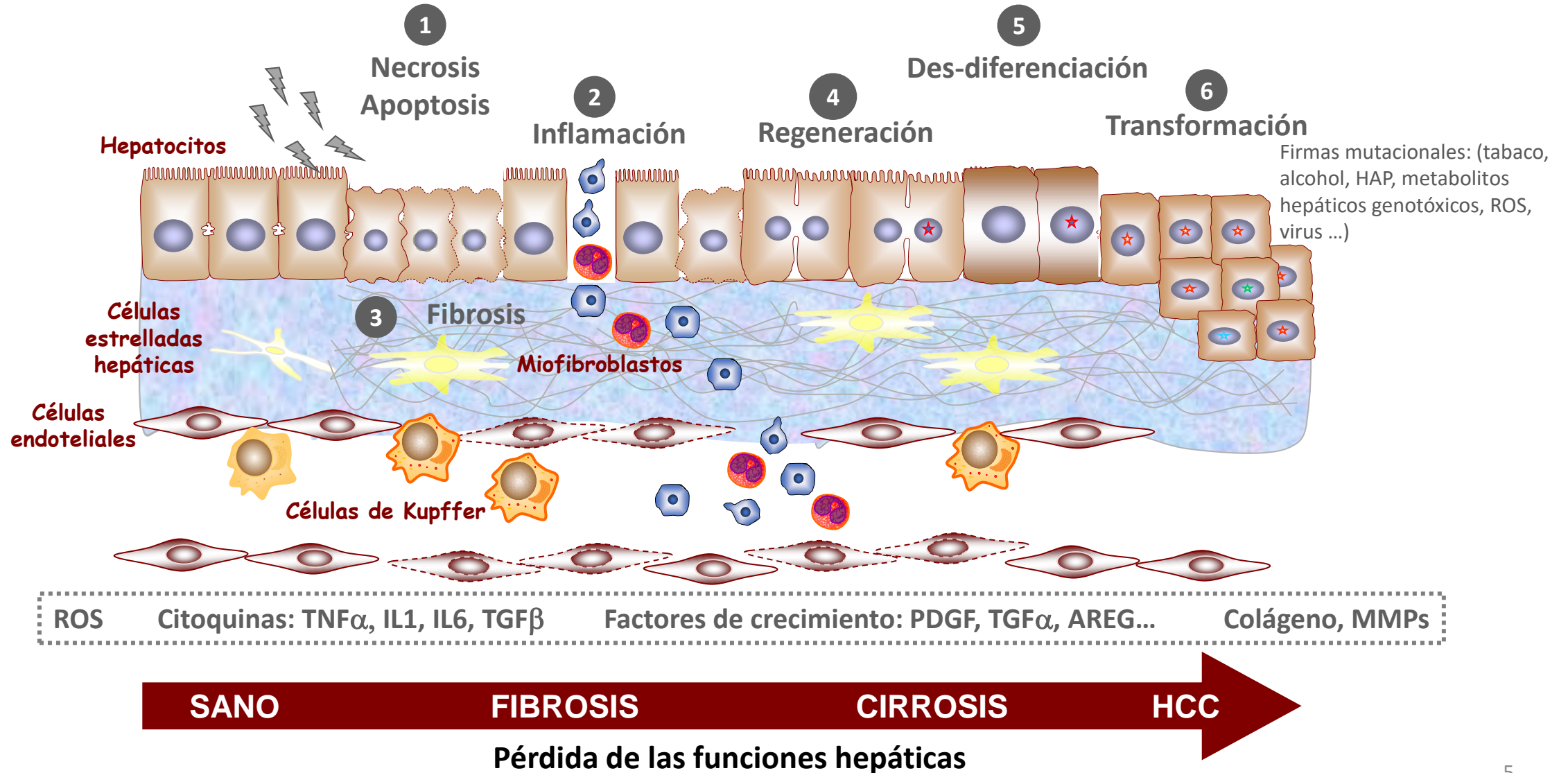
- El HCC es muy raro en los **síndromes clásicos de predisposición al cáncer**.
- Sin embargo, la predisposición al HCC es bastante común en varias enfermedades genéticas **metabólicas**.
- La mayoría de los HCC se desarrollan por acumulación de mutaciones somáticas sobre un **hígado inflamado y cirrótico**.
- Algunos **polimorfismos** modulan el desarrollo de HCC en diferentes etapas de la enfermedad, incluida la predisposición a **factores de riesgo**, que en su mayoría son bien conocidos.
- En cuanto a los **patrones de mutación** dependen de los factores etiológicos. Cabe resaltar, que en HCC desarrollados sobre hígados no cirróticos en algunos grupos de pacientes con alto consumo de alcohol y tabaco también se han identificado **firmas genotóxicas** en regiones codificantes.

Zucman-Rossi et al. *Gastroenterology* (2015)  
 Caruso et al. *Hepatology* (2020)  
 Muller et al. *J Hepatol* (2020)



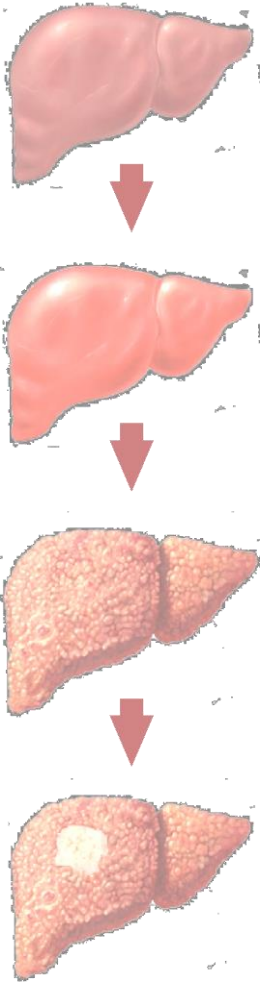
# Hepatocarcinogénesis

## ¿Cómo se transforma un hígado inflamado?



# Hepatocarcinogénesis

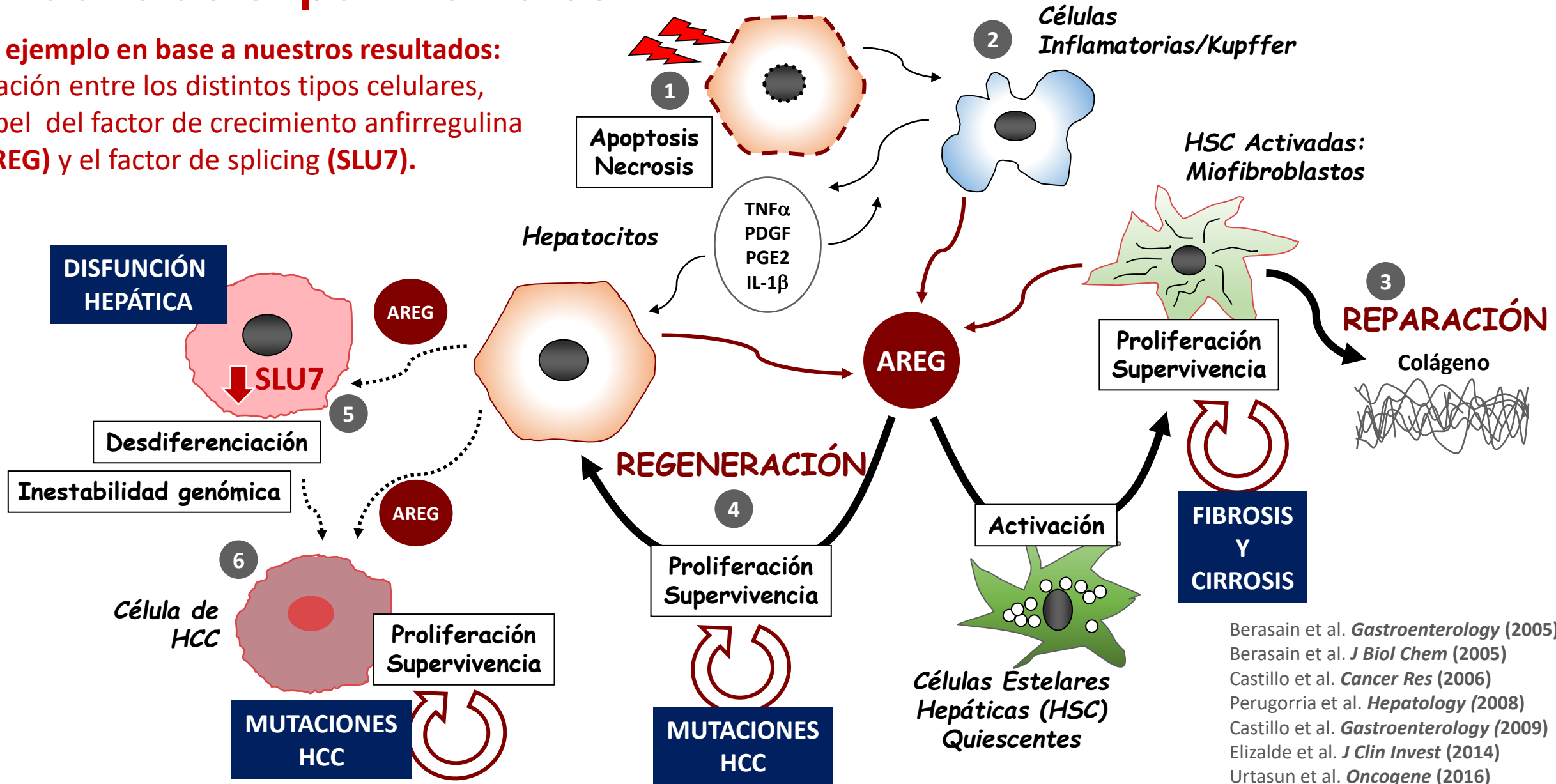
## ¿Cómo se transforma un hígado inflamado? (II)



- Las **citoquinas inflamatorias** activan vías de señalización e inducen la expresión de **factores de crecimiento con actividad oncogénica**.
- Muchos de los **mecanismos de protección y reparación** activados en el hígado en respuesta al daño y la reacción inflamatoria, si se mantienen activos de forma crónica, participan en la **consolidación del daño y la des-diferenciación y transformación maligna** de los hepatocitos.
- La **des-diferenciación** de los hepatocitos no sólo impide el desarrollo de las funciones hepáticas sino que también activa **vías oncogénicas** y favorece la **inestabilidad genómica**.
- Por todo ello, es plausible que el mayor riesgo de progresar a HCC en un contexto de enfermedad hepática crónica se deba más, a la **evolución constante de innumerables clones que pueden adquirir de forma independiente suficientes mutaciones conductoras que a la presencia de una mutación específica**.

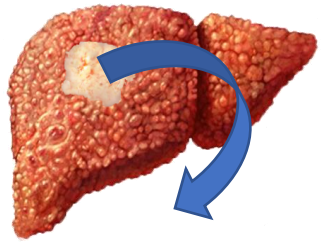
# Evidencias experimentales

Un ejemplo en base a nuestros resultados: relación entre los distintos tipos celulares, papel del factor de crecimiento anfirregulina (AREG) y el factor de splicing (SLU7).



Berasain et al. *Gastroenterology* (2005)  
Berasain et al. *J Biol Chem* (2005)  
Castillo et al. *Cancer Res* (2006)  
Perugorria et al. *Hepatology* (2008)  
Castillo et al. *Gastroenterology* (2009)  
Elizalde et al. *J Clin Invest* (2014)  
Urtasun et al. *Oncogene* (2016)  
Jiménez et al. *Nucl Acid Res* (2019)  
Gárate et al. *Hepatology* (2021)

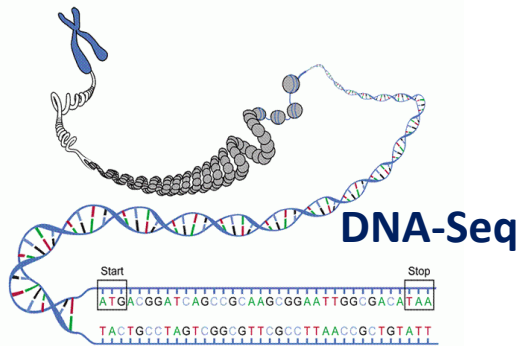
# ¿Cuáles son las alteraciones moleculares responsables del HCC?



CGH  
NGS  
DNA-Seq  
RNA-Seq  
ChIP-Seq  
DNA Bisulfite-Seq

Proteoma  
Metaboloma

## Alteraciones genéticas



- Mutaciones puntuales
- Variaciones del número de copias (CNV)
- Pequeñas In/Del
- Variaciones estructurales

## Alteraciones epigenéticas



- Metilación del DNA
- Modificaciones de histonas

## Alteraciones transcripcionales



- Expresión diferencial
- Fusiones génicas
- Splicing alternativo
- Edición del RNA



# Alteraciones genómicas más frecuentes asociadas al HCC

MUTACIONES

## Genomic features (estimated rate)

### Mutation

- TERT (44%)
- TP53 (31%)
- CTNNB1 (27%)
- ALB (13%)
- APOB (10%)
- AXIN1 (8%)
- ARID1A (7%)
- BAP1, KEAP1, NFE2L2, LZTR1, RB1, PIK3CA, RPS6KA3, AZIN1, IL6ST, RP1L1, CDKN2A, EEF1A1, ARID2, GPATCH4, ACVR2A, AHCTF1, HIST1H1C (<5%)

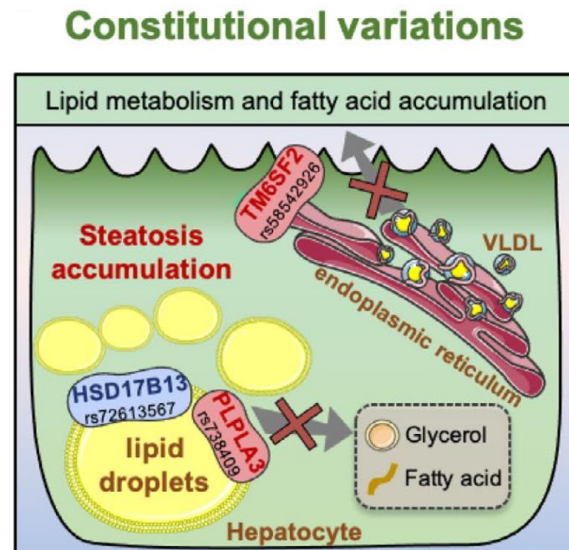
VARIACIONES N° DE COPIAS

### Amplification

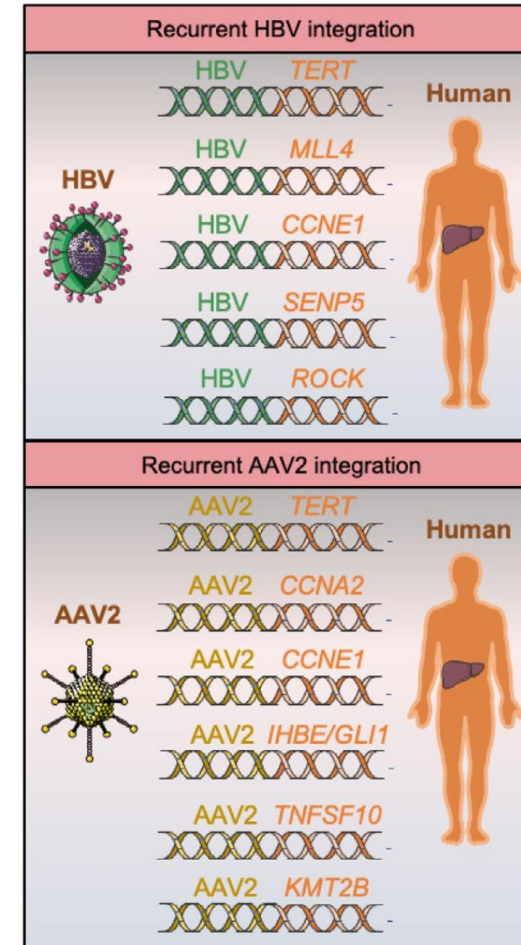
- MYC (12%)
- CCND1 (6%)
- FGF19 (6%)
- VEGFA (5%)
- MET (4%)

### Deletion

- RB1 (19%)
- CDKN2A (13%)

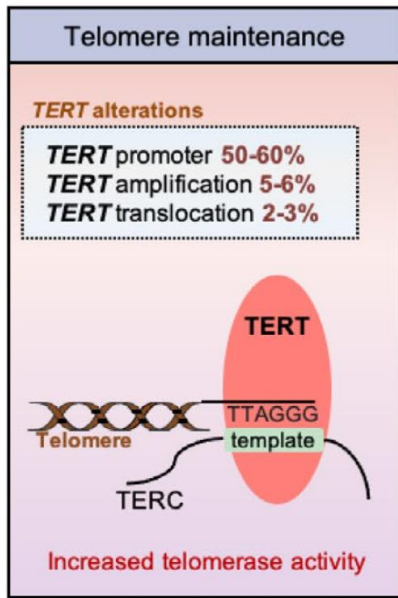


## Viral integration



Zucman-Rossi et al. *Gastroenterology* (2015)  
 Dhanasekaran et al. *Gastroenterology* (2019)  
 Chen et al. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* (2020)  
 Caruso et al. *Hepatology* (2020)

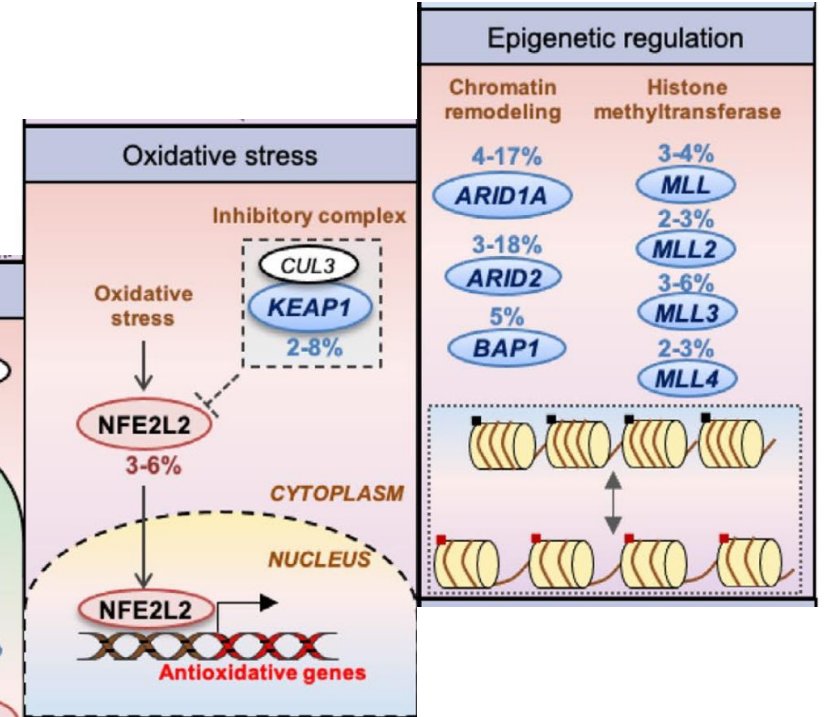
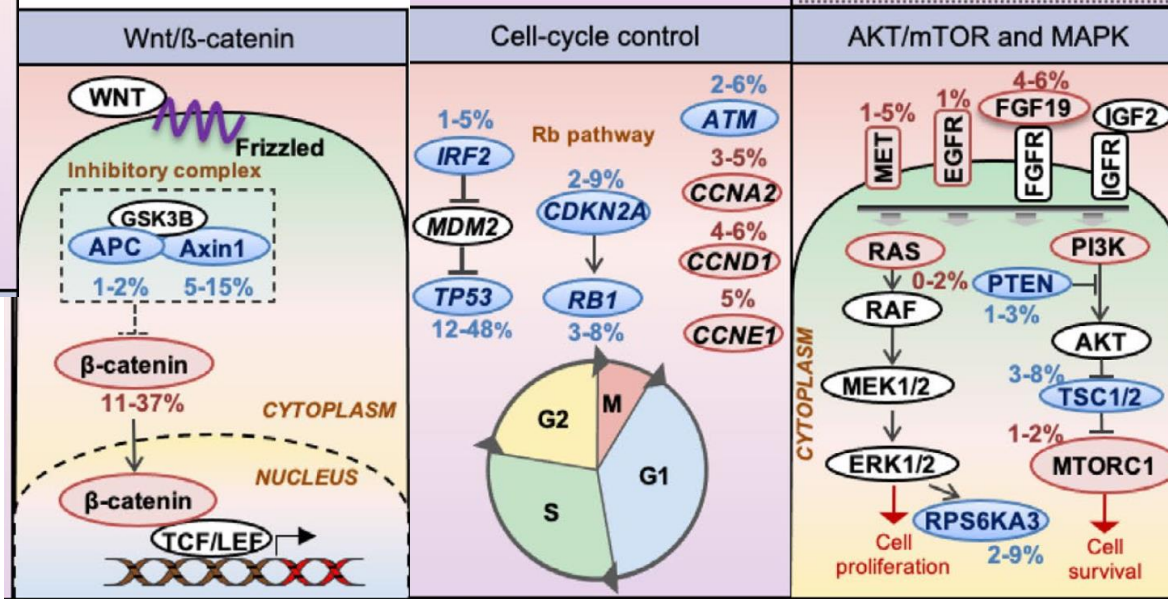
# Alteraciones genómicas más frecuentes asociadas al HCC (II)



## Somatic alterations

Mutaciones inactivadoras

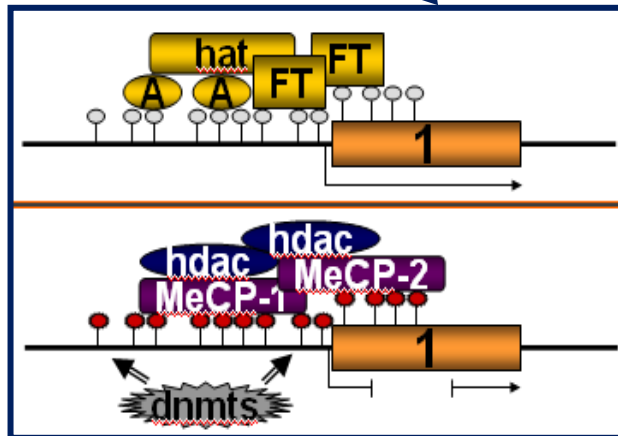
Mutaciones activadoras



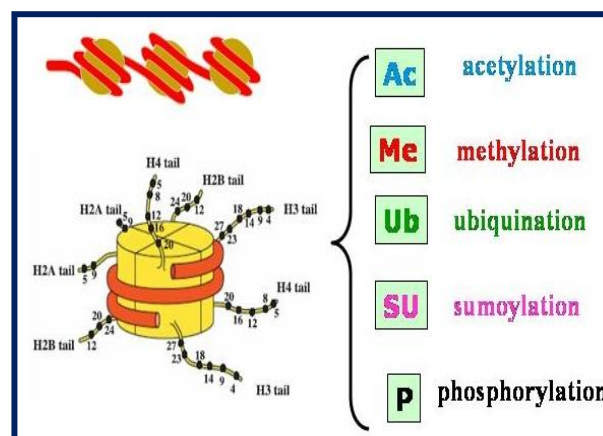
# Epigenoma y mecanismos epigenéticos



Heritable changes in the pattern of gene expression mediated by mechanisms other than alterations in primary nucleotide sequence



DNA METHYLATION

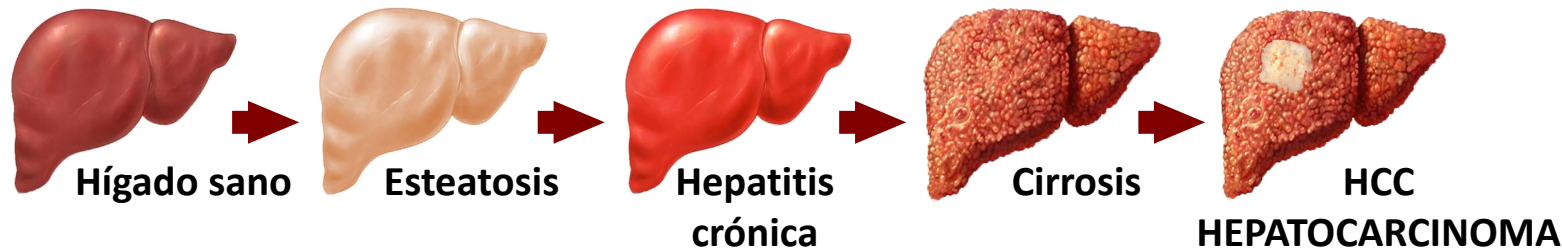


HISTONE MODIFICATIONS



NUCLEOSOMES REMODELLING

# Alteraciones epigenéticas más frecuentes asociadas al HCC



Hipometilación global del DNA

Hipermetilación gen específica

Modificaciones post-traduccionales de histonas

## CAMBIOS EPIGENÉTICOS

- Metilación del DNA (SOCS3, CDK2A)
- Modificaciones de histonas
- miRNAs (reducción miR-122...)
- LncRNAs (aumento HOTAIR, HULC...)

## DNA Methylation-Based Prognosis and Epdrivers in Hepatocellular Carcinoma

Augusto Villanueva,<sup>1,2,3\*</sup> Anna Portela,<sup>4\*</sup> Sergi Sayols,<sup>4,5</sup> Carlo Battiston,<sup>6</sup> Yujin Hoshida,<sup>1</sup> Jesús Méndez-González,<sup>4</sup> Sandrine Imbeaud,<sup>7,8</sup> Eric Letouzé,<sup>9</sup> Virginia Hernandez-Gea,<sup>3</sup> Helena Cornella,<sup>3</sup> Roser Pinyol,<sup>3</sup> Manel Solé,<sup>3</sup> Josep Fuster,<sup>3</sup> Jessica Zucman-Rossi,<sup>7,8</sup> Vincenzo Mazzaferro,<sup>6</sup> Manel Esteller,<sup>4,10,11\*\*</sup> and Josep M. Llovet,<sup>1,3,11\*\*</sup> on behalf of the HEP-TROMIC Consortium

Villanueva et al. *Hepatology* (2015)

Hardy T & Mann DA. *Gut* (2016)  
Pogribny IP & Rusyn I. *Cancer Lett* (2014)  
Lachenmayer et al. *J Hepatol* (2012)

# Clasificación molecular del HCC

Perfil genómico, transcriptómico y epigenómico.



Diagnóstico  
Pronóstico  
Terapia

## Proliferadores

## No-proliferadores

Transcriptómica (n=91)

Cluster A

Cluster B

Lee et al. *Hepatology* 2004 / *Nat Genet* 2004

Transcriptómica + Mutaciones (n=57)

G1-G2-G3

G5-G6

Boyault et al. *Hepatology* 2007

Transcriptómica + CNV (n=91)

Proliferation

CTNNB1

Chiang et al. *Cancer Res* 2008

Transcriptómica (n=232)

S1

S2

S3

Hoshida et al. *Cancer Res* 2009

Programa metabólico de zonación (n=1133)

ECM

STEM

PP

PV

Désert et al. *Hepatology* 2017

DNA-Seq, RNA-Seq, metiloma, proteoma (n=363)

iCluster 3

iCluster 1

iCluster 2

The Cancer Genome Atlas Research Network. *Cell* 2017

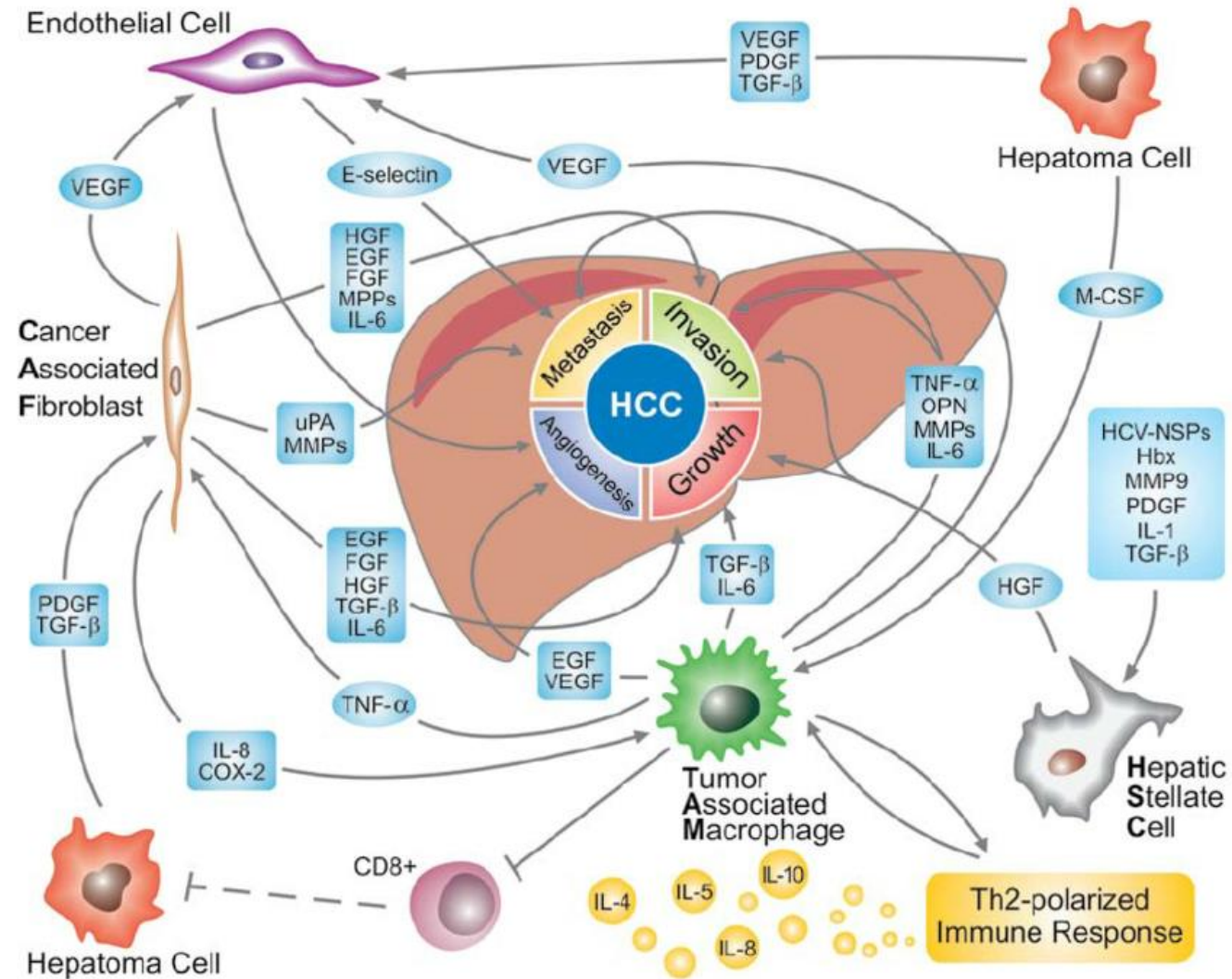
Désert et al. *World J Gastroenterol* (2018)

Llovet et al. *Nat Rev Clin Oncol* (2018)

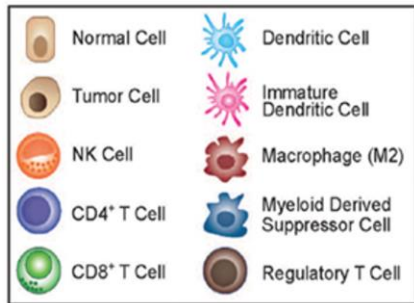
# Clasificación molecular unificadora del HCC

		Proliferation class		Non-proliferation class			
Molecular clusters <sup>18,21,23-26</sup>	Proliferation		CTNNB1			Poly7	Interferon
	S2	S1	S3				
	G1	G2-G3	G5-G6				
	Cluster A		Cluster B				
	iClust1	iClust3	iClust2				
	Chromosomal instability						
DNA somatic alterations <sup>16-21</sup>	11q13 amplification (FGF19 and CCND1)		CTNNB1 mutation	Chromosome 7 amplification			
	17p loss		TERT promoter mutation				
	TP53 mutation						
Epigenetic features <sup>18,26,30</sup>	DNA hypermethylation		DNA hypermethylation				
	36 CpG signature		CDKN2A methylation				
	miRNA class C		miRNA class A	miRNA class B			
Biological phenotype <sup>27,31,34</sup>	Drivers	RAS-MAPK, AKT-mTOR, MET, and/or E2F1 signalling					
		Progenitor features (NOTCH, IGF2, MYC, EPCAM, and/or CK19)	WNT-TGFβ signalling	WNT-β-catenin pathway			
	Immune	Immune infiltration (↑ M2)		Immune infiltration (↑ T cells)			
		Immune exhaustion (activated stroma)	Immune exclusion	<b>25%</b>	Immune active (IFNγ and granzyme B)		
Clinical phenotype <sup>27</sup>	Higher HBV prevalence		Higher HCV prevalence and alcohol exposure				
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Poorly differentiated</li> <li>Higher serum AFP levels</li> <li>Higher frequency of vascular invasion</li> <li>Worse outcome</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Moderately-to-well differentiated</li> <li>Lower serum AFP levels</li> <li>Lower frequency of vascular invasion</li> <li>Better outcome</li> </ul>				

# La importancia del microambiente tumoral



# Escape del reconocimiento mediado por el sistema inmune



## Microambiente tumoral inmunosupresor

**Células dendríticas inmaduras**  
(causan anergia de las células T debido a la falta de moléculas co-estimuladoras)

**Linfocitos infiltrantes de tumores (TIL)**  
agotados o disfuncionales.

**1 Treg**  
(FoxP3+, CD25+)

**4**

**5**

**3**

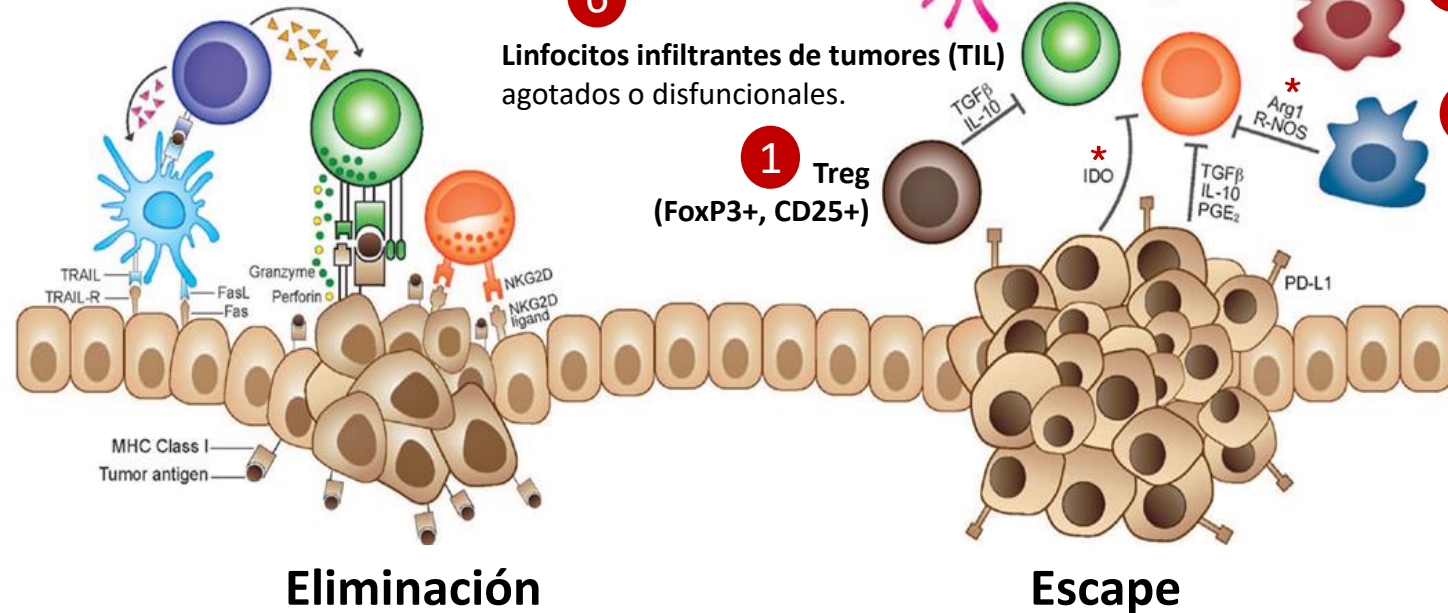
**TAMs: macrófagos asociados al tumor**

**5**

\* Secuestro de nutrientes (glucosa y glutamina), generación de ROS y NO, enzimas tolerogénicas (IDO, arginasa), receptores co-inhibidores (CTLA4, PD1 ...) ...

**2**

**Células supresoras derivadas de mieloides (MDSCs) (VEGF, TGFB, Arg1)**

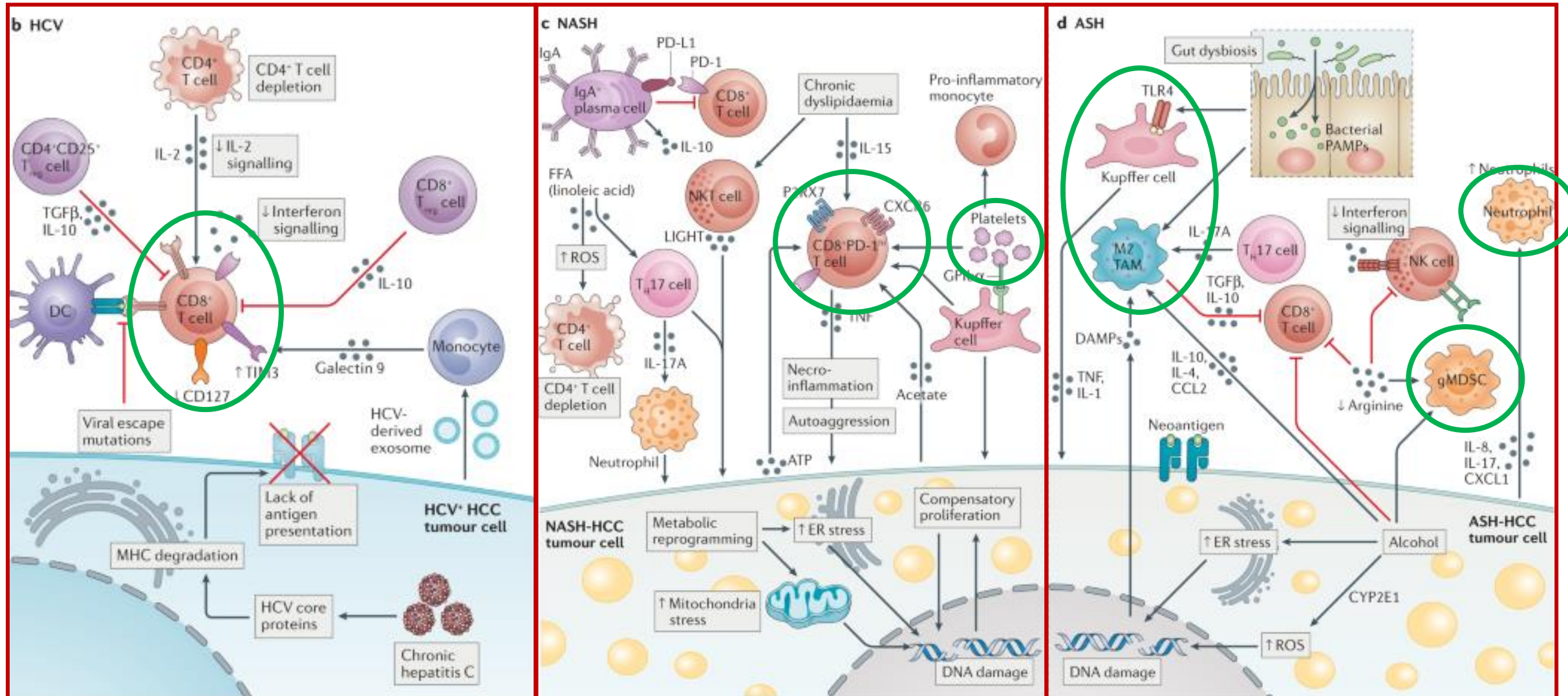


## Células menos inmunogénicas

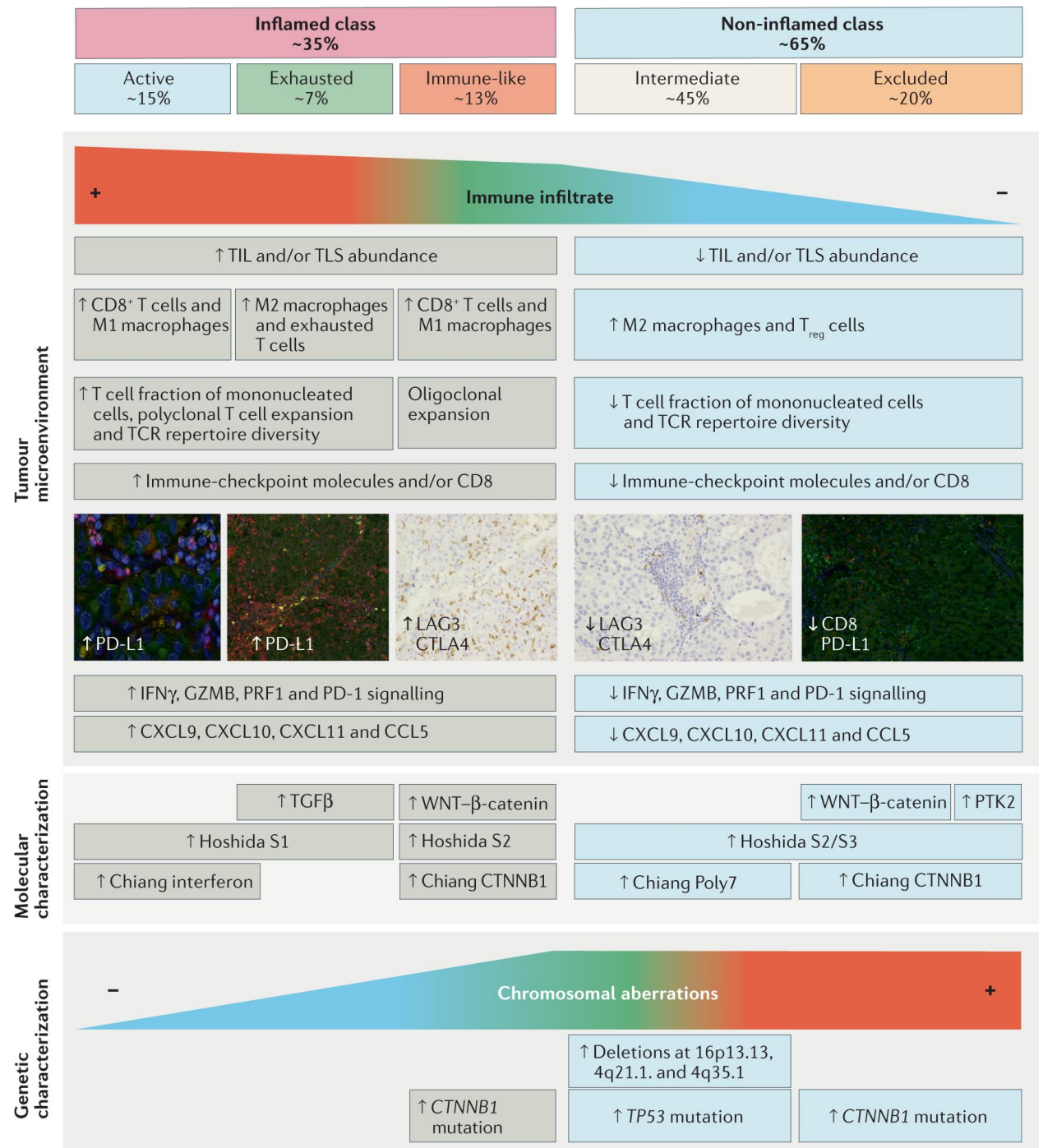
- regulan a la baja las moléculas del MHC
- baja expresión de moléculas antigénicas
- regulan al alza las moléculas inhibitoras (puntos de control) como PD-L1
- secretan TGFβ, IL-10, IDO, arginasa y VEGF



# Respuesta inmune dependiente del contexto etiológico



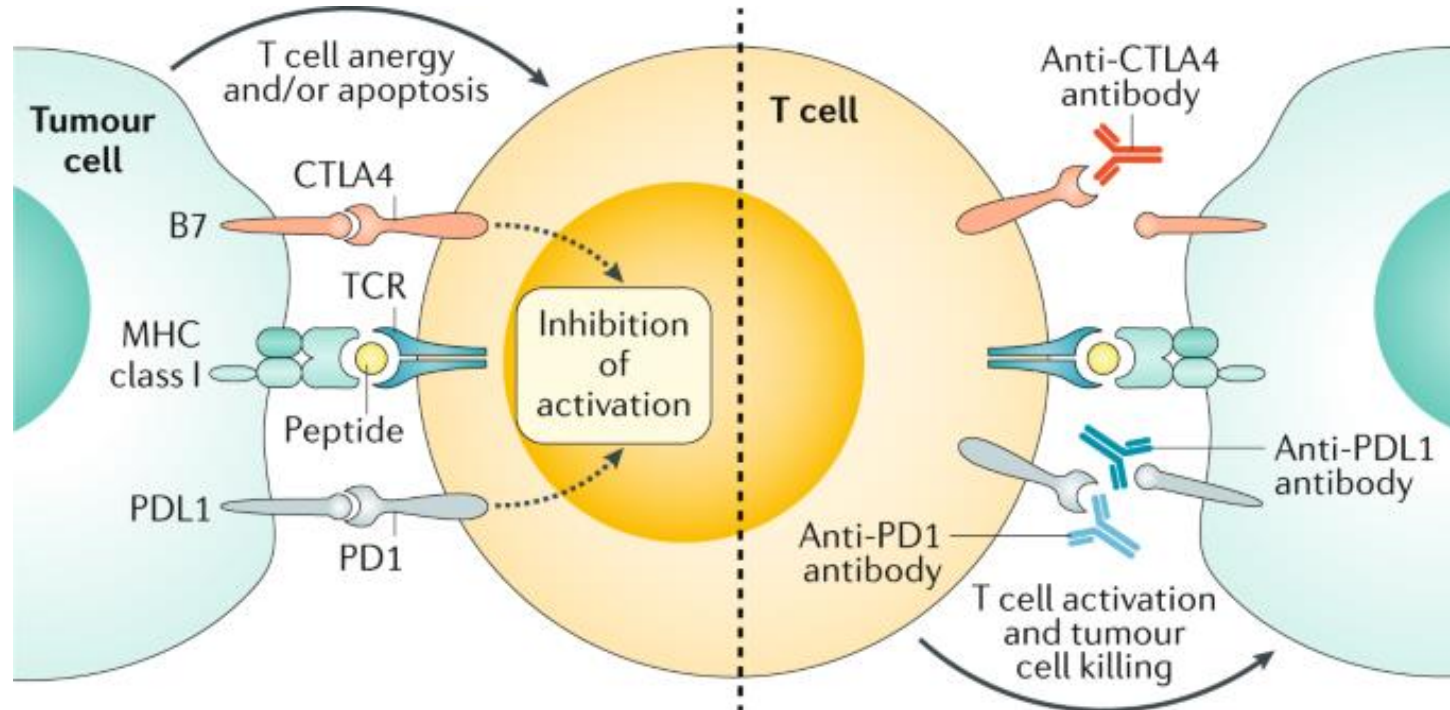
# Clases inmunes de HCC: características celulares y moleculares asociadas



# Los inhibidores del punto de control inmunitario (ICIs)

## Moléculas de punto de control inmunitario:

restringen naturalmente la actividad de las células T y tienen un papel vital en el mantenimiento de la autotolerancia. Se expresan en las células T, células presentadoras de antígeno y células tumorales. Incluyen PD-1, CTLA4, LAG3 y TIM3.



**ICIs:** Los inhibidores del punto de control inmunitario son anticuerpos monoclonales que bloquean la interacción de las proteínas del punto de control con sus ligandos, evitando así la inactivación de las células T.

### Agentes dirigidos a CTLA4

- Ipilimumab
- Tremelimumab

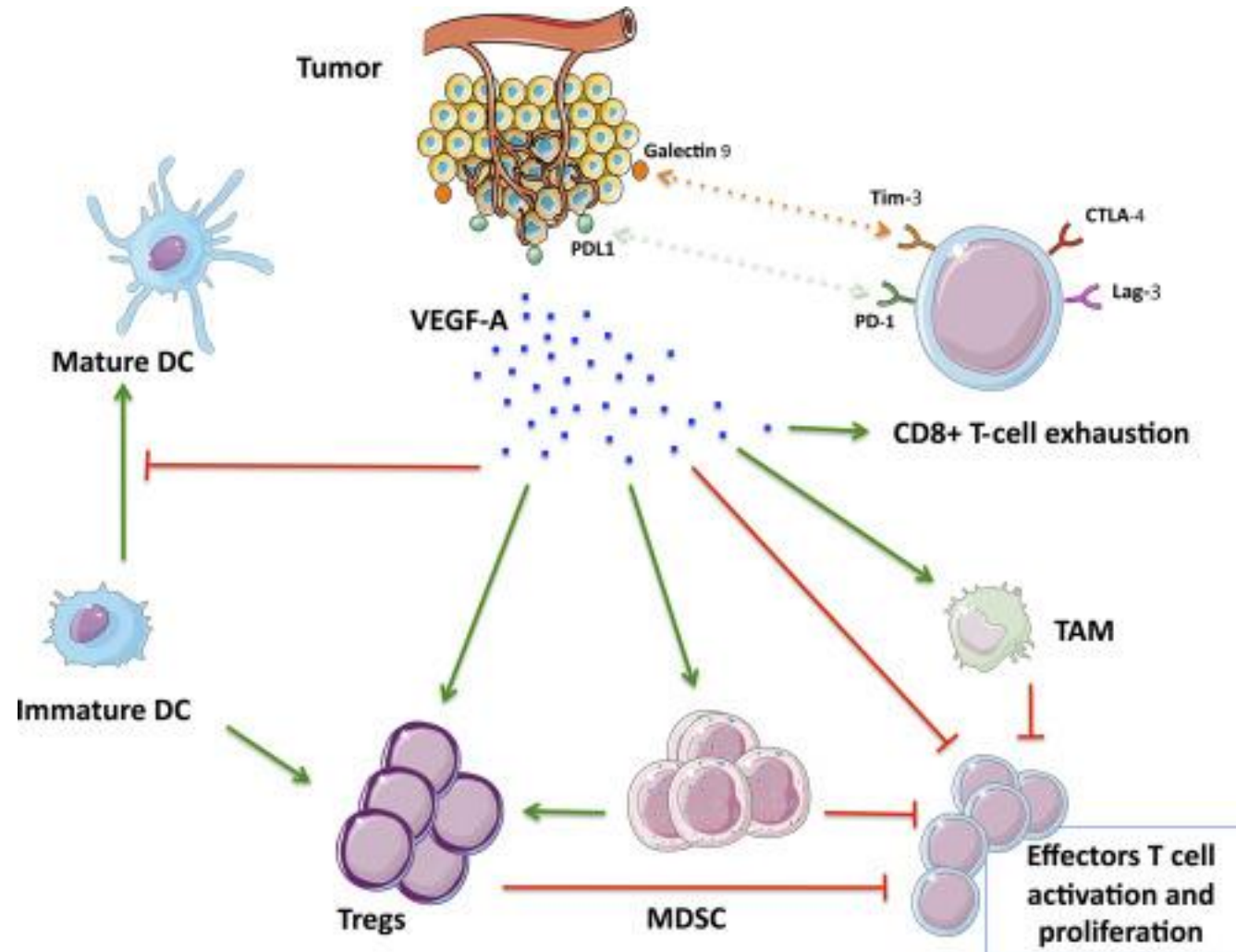
### Agentes dirigidos a PDL1

- Atezolizumab
- Durvalumab
- Sintilimab

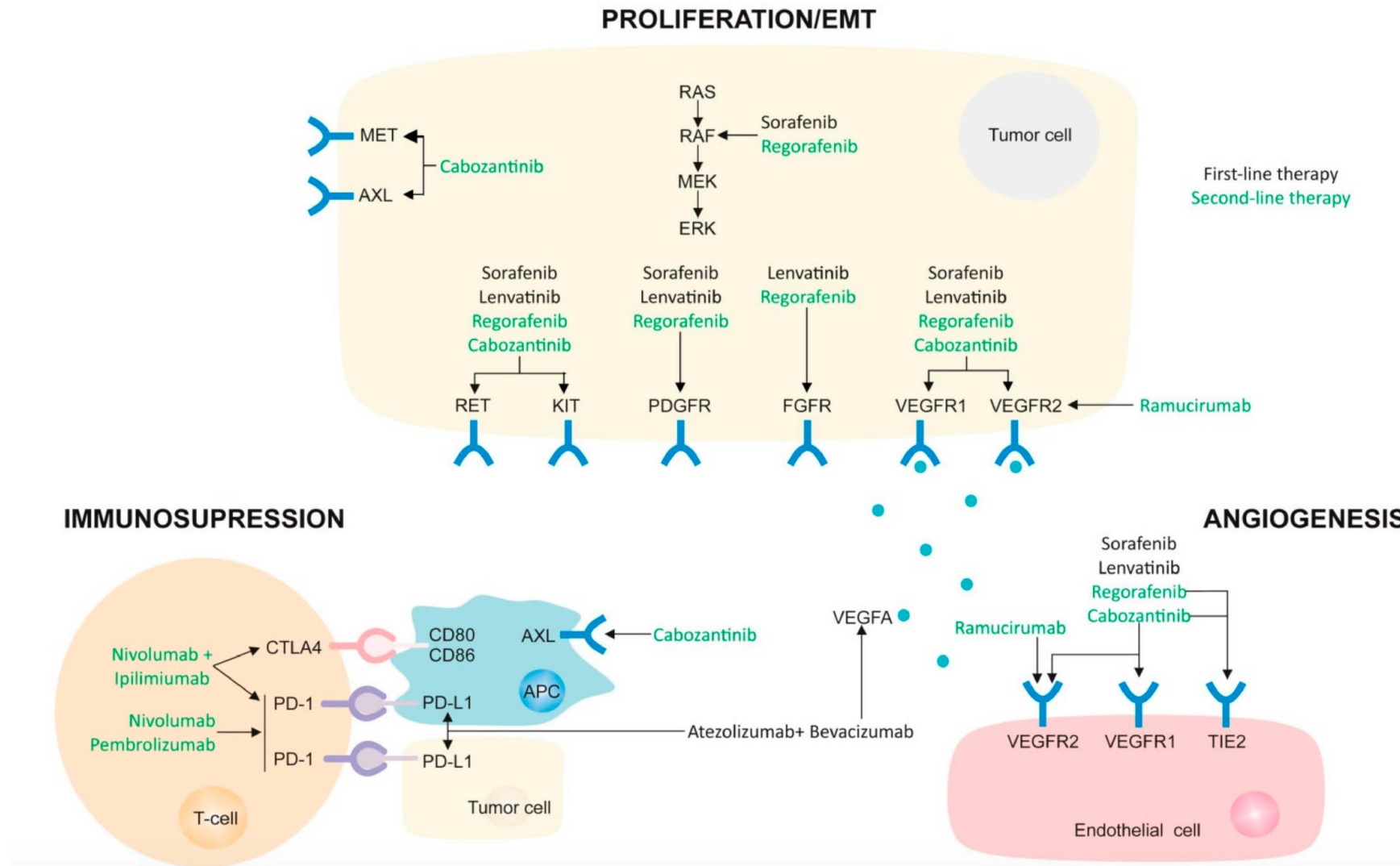
### Agentes dirigidos a PD1

- Nivolumab
- Pembrolizumab
- Tislelizumab

# Actividad inmunomoduladora de VEGF en cáncer

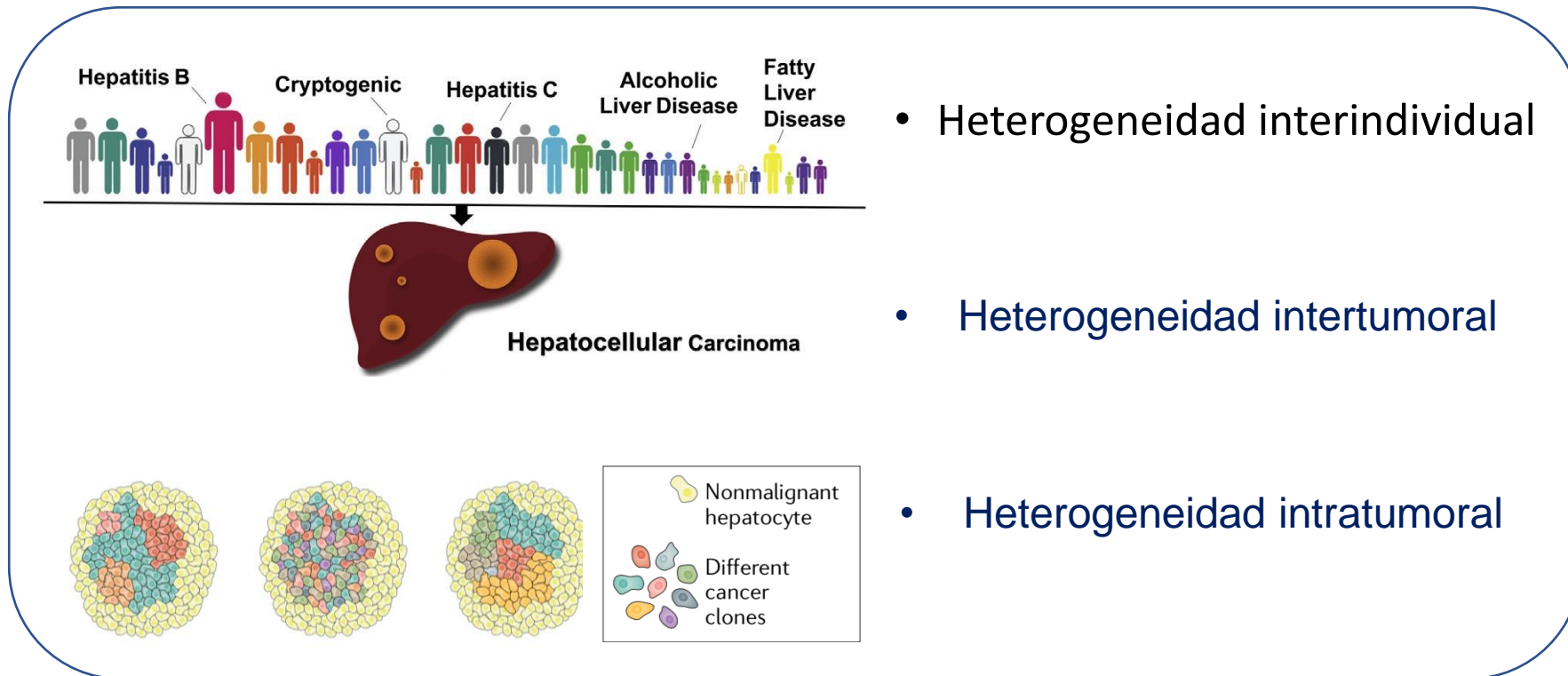


# Mecanismos de acción de las terapias dirigidas aprobadas



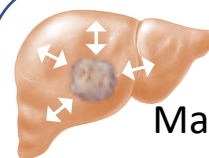
# Complejidad de la biología del HCC

- (1) Gran heterogeneidad molecular del tumor
- (2) Mutaciones en dianas no fácilmente accionables
- (3) Diferente “enfermedad” en el hígado no tumoral:  
Diferente componente inmune



## Mutations

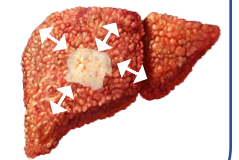
TERT  
TP53  
CTNNB1  
MYC ...



Metabolismo

Matriz extracelular

Inflamación



# Biología y terapia del HCC: desafíos

- Papel de la **inmunoterapia**:
  - inhibidores de checkpoints (LAG3, TIM3 (?))
  - células CART y células dendríticas pulsadas con TAA ...
  - aumentar la presentación antigénica: combinaciones con radioterapia, TKIs, virus oncolíticos ...
- **“Accionar”** las mutaciones más frecuentes en el HCC.
- Mejor caracterización molecular:
  - Identificación de **nuevas dianas accionables / mecanismos de resistencia (endógena y adquirida)**
  - Análisis en **tumores avanzados / tumores sobre hígado graso**
- Optimización de los modelos pre-clínicos: ¿**organoides**?
- Identificación de **biomarcadores: diagnóstico, guía terapéutica, predictivos y/o pronóstico**
  - Diagnóstico temprano y evolución
  - Respuesta al tratamiento: **terapia dirigida** (TGF $\beta$ , FGF19 ...)
- Futuro de la biopsia como medida para estadificar los pacientes: ¿**biopsia líquida**?
- **Nuevas estrategias terapéuticas: dirigida vs amplio espectro**
  - ¿tratamientos de amplio espectro, pero eficaces, como por ejemplo los reguladores epigenéticos?
- Estadios pre-neoplásicos
- ...



# MÁSTER EN HEPATOLOGÍA

**UAM**  
Universidad Autónoma  
de Madrid

 Universidad  
de Alcalá