

MICRORNAs EN LES MALALTIES DE L'APARELL DIGESTIU

Dra. Meritxell Gironella Cos

Grup Oncologia Gastrointestinal i Pancreàtica

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades
Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)
IDIBAPS / Hospital Clínic de Barcelona



CLÍNIC
BARCELONA
Hospital Universitari



XXVI

CONGRÉS

**Societat Catalana
de Digestologia**

26 al 28 de gener de 2017

Palau de Congressos de **Lleida, La Llotja**

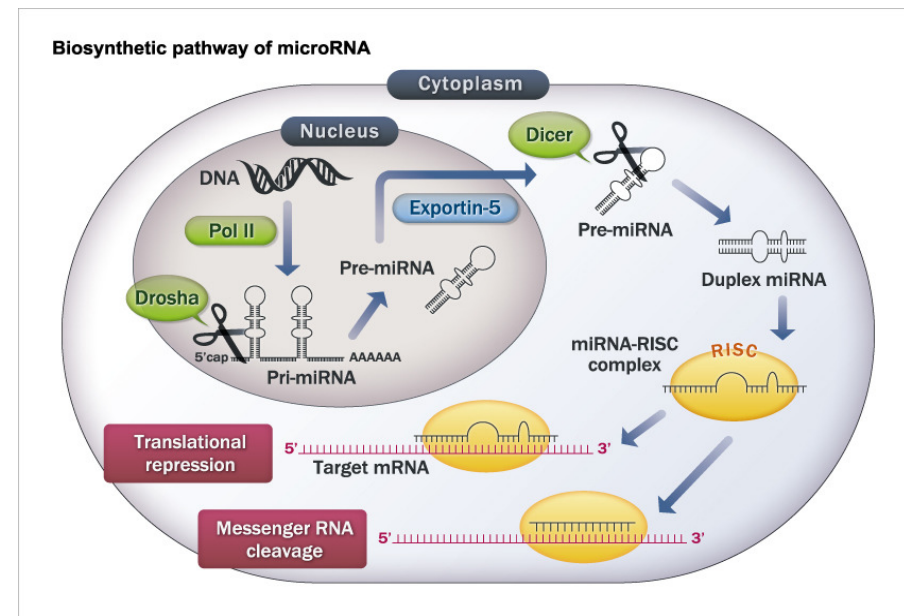
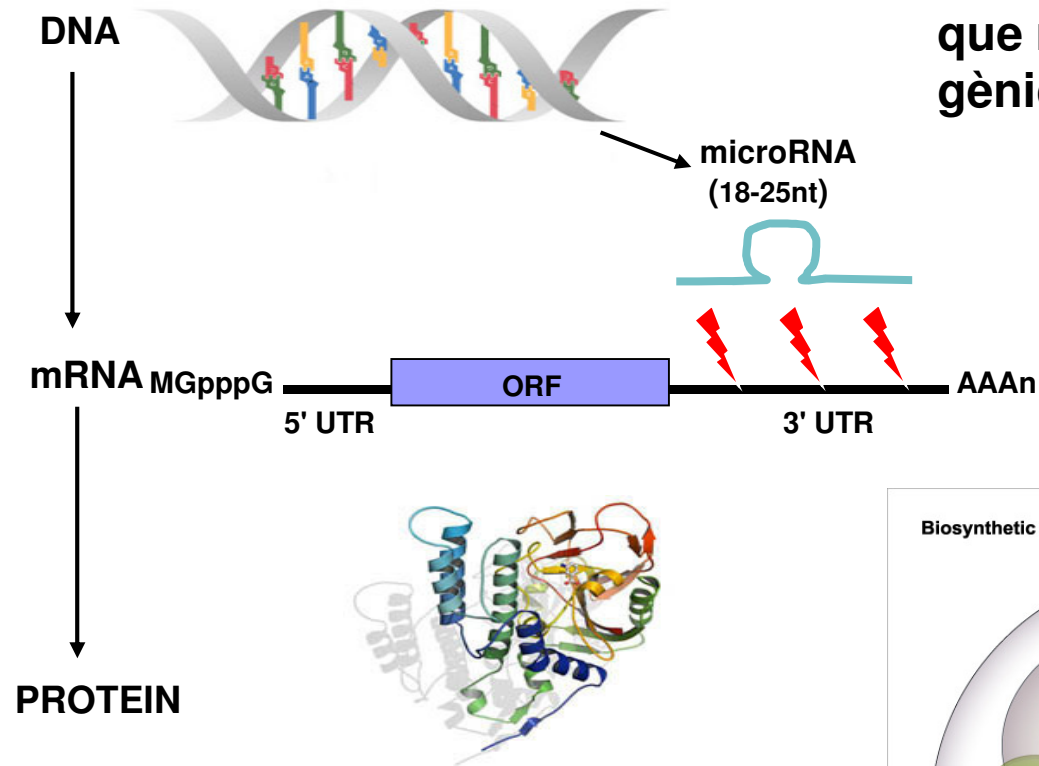
XXII

Curs de FORMACIÓ
EN DIGESTOLOGIA

dijous, 26 de gener

MicroRNAs: Introducció

➤ **MicroRNAs (miRNAs or miRs):** molècules petites RNA no codificant que regulen negativament l'expressió gènica.



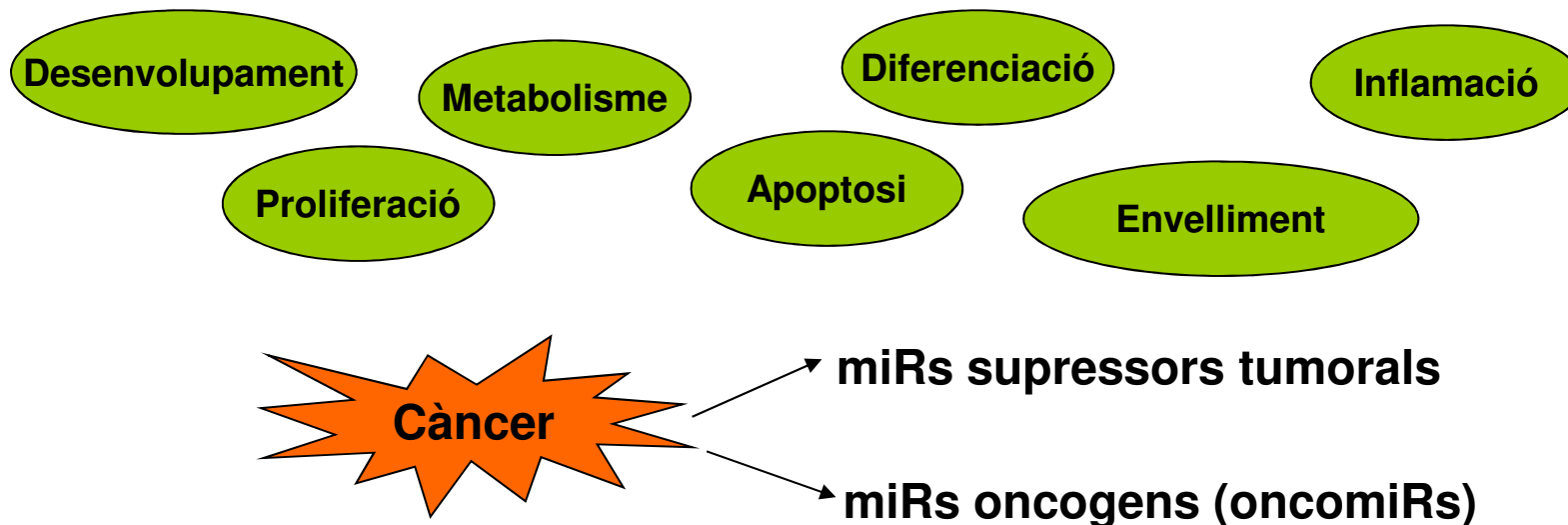
MicroRNAs: Introducció

- Descoberts inicialment en *C.elegans*, com a reguladors del desenvolupament.



(Ambros et al.;
Ruvkun et al. 1993)

- Detecció dels **miRNAs en humans**. Descobriment del let-7 (Ruvkun et al. 2000)
- **>2500** miRNAs humans. Regulen traducció de més del **60% dels gens** que codifiquen per a proteïnes.
- Regulació de múltiples processos biològics:



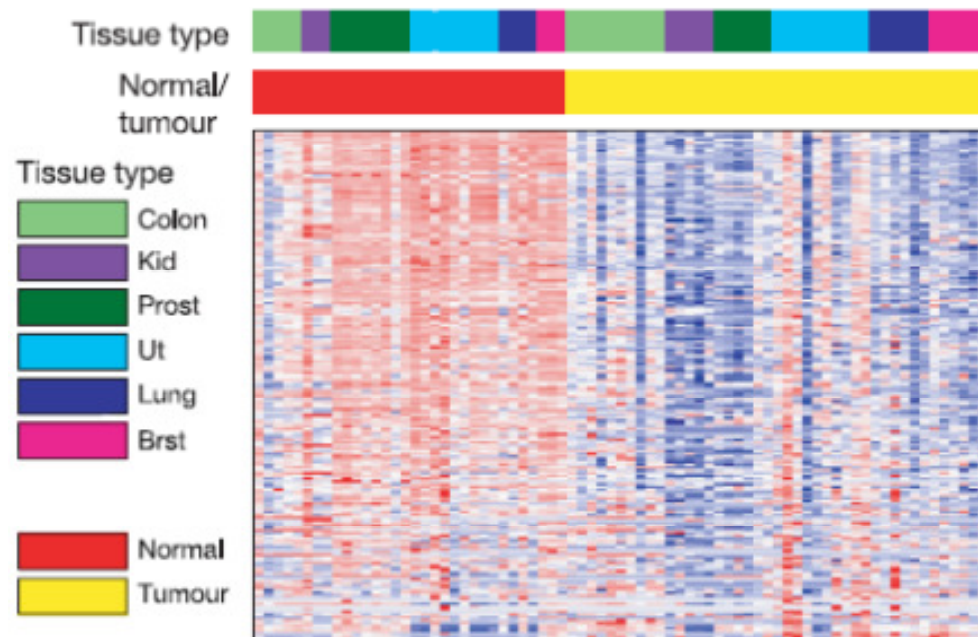
- Un **miRNA** pot regular d'1 a **centenars de gens diana**, i, a la vegada, un mRNA pot ser diana per a un o varis miRNAs.

MicroRNAs: Introducció

- L'expressió de miRNAs es troba alterada en els teixits tumorals vs els teixits sans.

MicroRNA expression profiles classify human cancers

Jun Lu^{1,4*}, Gad Getz^{1*}, Eric A. Miska^{2*†}, Ezequiel Alvarez-Saavedra², Justin Lamb¹, David Peck¹, Alejandro Sweet-Cordero^{3,4}, Benjamin L. Ebert^{1,4}, Raymond H. Mak^{1,4}, Adolfo A. Ferrando⁴, James R. Downing⁵, Tyler Jacks^{2,3}, H. Robert Horvitz² & Todd R. Golub^{1,4,6}



NATURE|Vol 435|9 June 2005

MicroRNAs circulants: prometedors biomarcadors no-invasius

Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection

Patrick S. Mitchell^{†‡}, Rachael K. Parkin^{†‡}, Evan M. Kroh^{†‡}, Brian R. Fritz^{†§}, Stacia K. Wyman[†], Era L. Pogossova-Agadjanyan[¶], Amelia Peterson[†], Jennifer Noteboom[†], Kathy C. O'Briant^{†‡}, April Allen^{†‡}, Daniel W. Lin^{††††}, Nicole Urban^{†‡}, Charles W. Drescher^{†‡}, Beatrice S. Knudsen^{†‡}, Derek L. Stirewalt[†], Robert Gentleman^{†‡}, Robert L. Vessella^{†‡}, Peter S. Nelson^{†¶}, Daniel B. Martin^{†§§}, and Muneesh Tewari^{†¶¶}

Divisions of [†]Human Biology, [‡]Clinical Research, and ^{††}Public Health Sciences, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA 98109; ^{§§}Institute for Systems Biology, Seattle, WA 98103; [¶]Department of Urology, University of Washington, Seattle, WA 98195; and ^{††††}Department of Veterans Affairs, Puget Sound Health Care System, Seattle, WA 98108

miRNAs estan presents en sang i poden ser detectats en sèrum i plasma

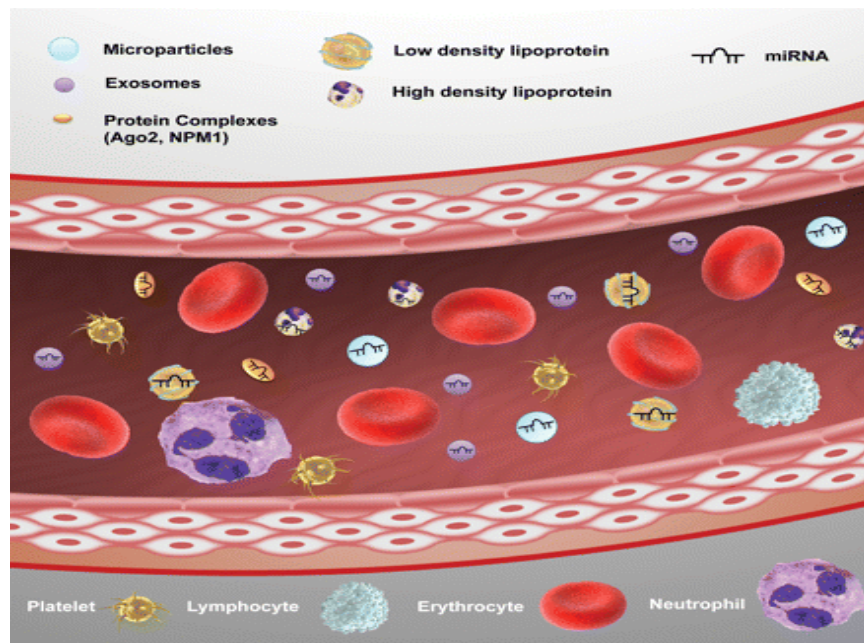
Cell Research (2008) 18:997-1006.

© 2008 IBCB, SIBS, CAS All rights reserved 1001-0602/08 \$ 30.00

www.nature.com/cr



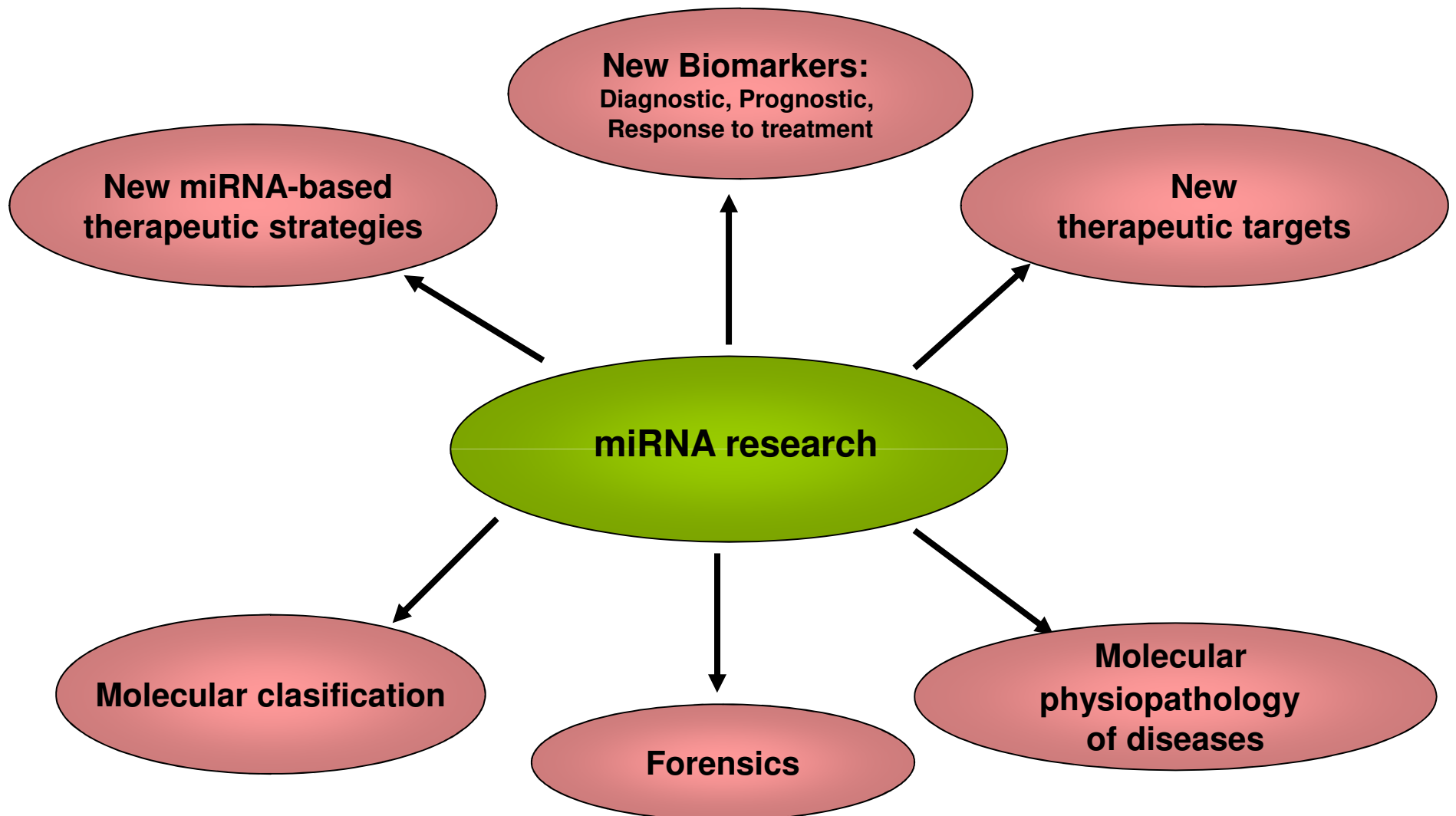
Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases



- Alliberament passiu
(apoptosi/ necrosi cel.lular)

- Alliberament actiu
(cèl.lules tumorals/microambient)

Aplicacions de la recerca en miRNAs per a estudis traslacionals



Estudi I: Classificació molecular del càncer colorectal basat en perfils d'expressió de miRNAs

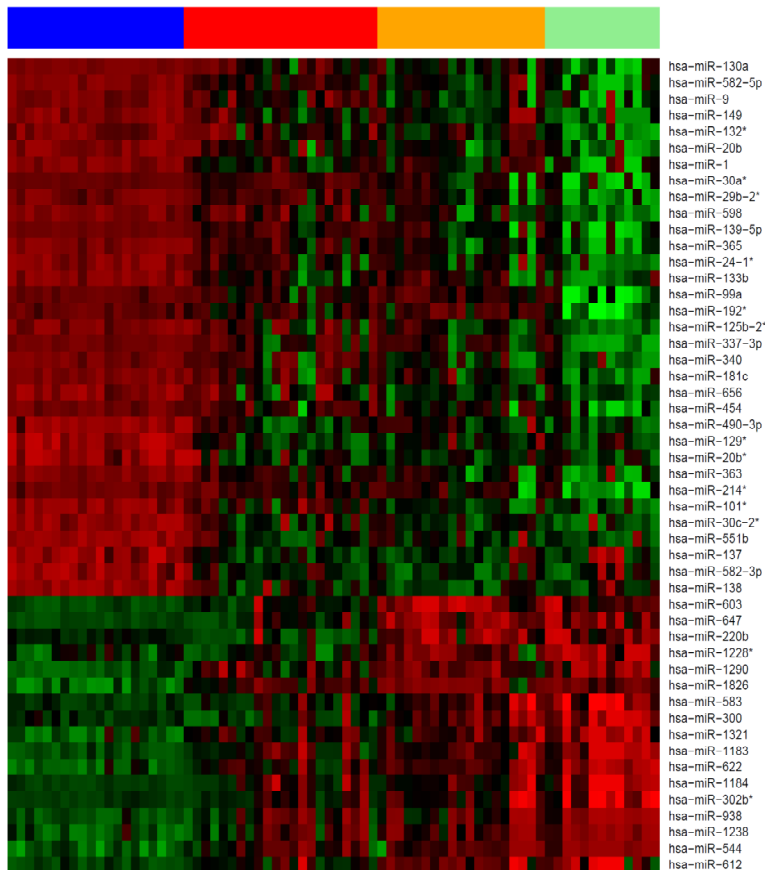
Imaging, Diagnosis, Prognosis

Clinical
Cancer
Research

Colorectal Cancers with Microsatellite Instability Display
Unique miRNA Profiles

Resultats Microarray:

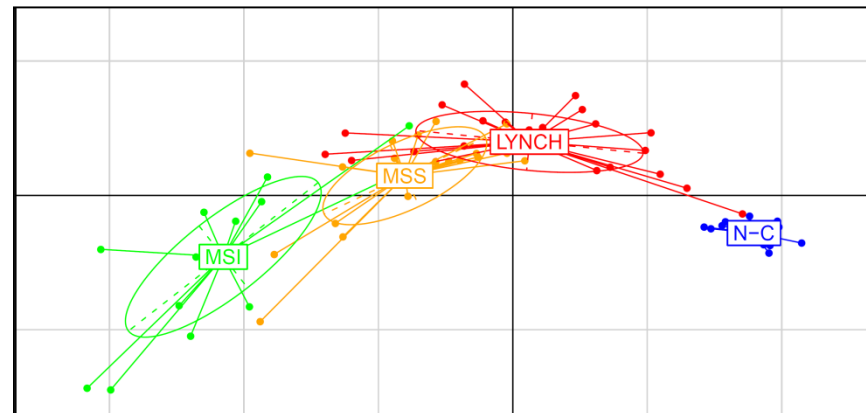
N-C Lynch MSS MSI



n=74 training set and n=82 test set

Els perfils d'expressió de miRNAs en teixits tumorals poden discriminar entre diferents subtipus de CCR: tumors esporàdics MSI, MSS i els hereditaris síndrome de Lynch.

Això pot contribuir a millorar el diagnòstic, pronòstic i tractament del CCR.



(Balaguer F, Gironella M et al. Clinical Cancer Research, 2011)

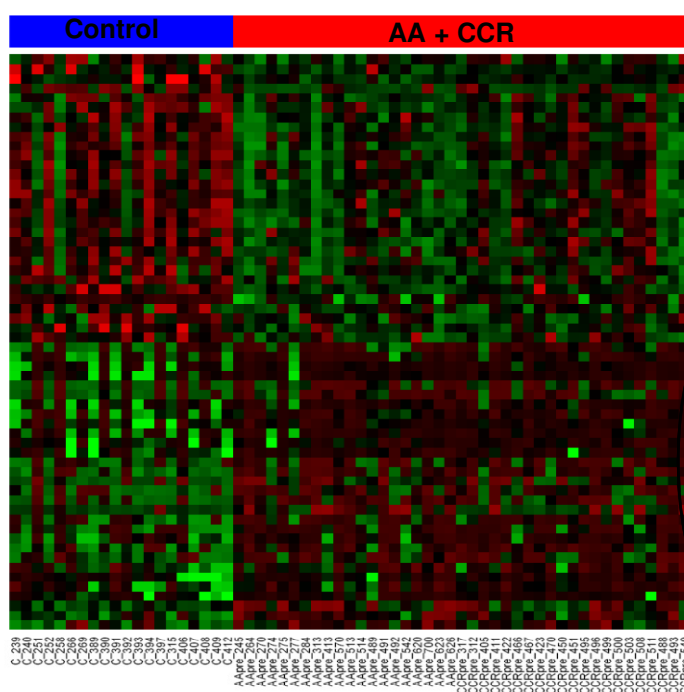
Estudi II: miRNAs plasmàtics com a biomarcadors no-invasius per a la detecció precoç del càncer colorectal

CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 2013;11:681- 688

Circulating MicroRNAs as Biomarkers of Colorectal Cancer: Results From a Genome-Wide Profiling and Validation Study

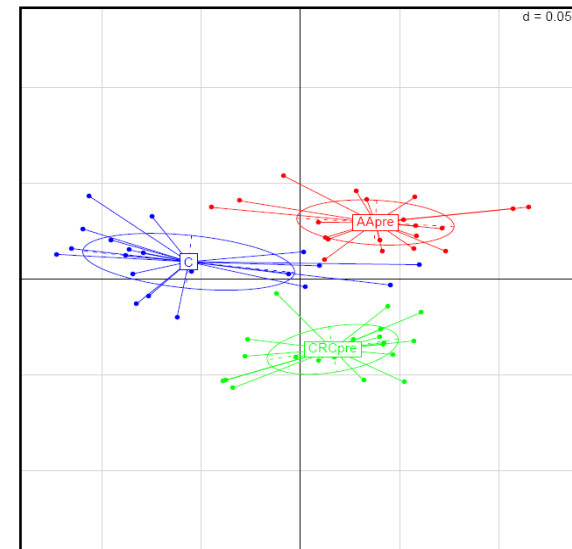
Objectiu:

Analitzar la capacitat del perfil de miRNAs plasmàtics de diferenciar pacients amb neoplàsia colorectal avançada (AA or CCR) dels individus sans, per tal de trobar nous biomarcadors no-invasius per al cribatge del CCR



n=61

Resultats Microarray

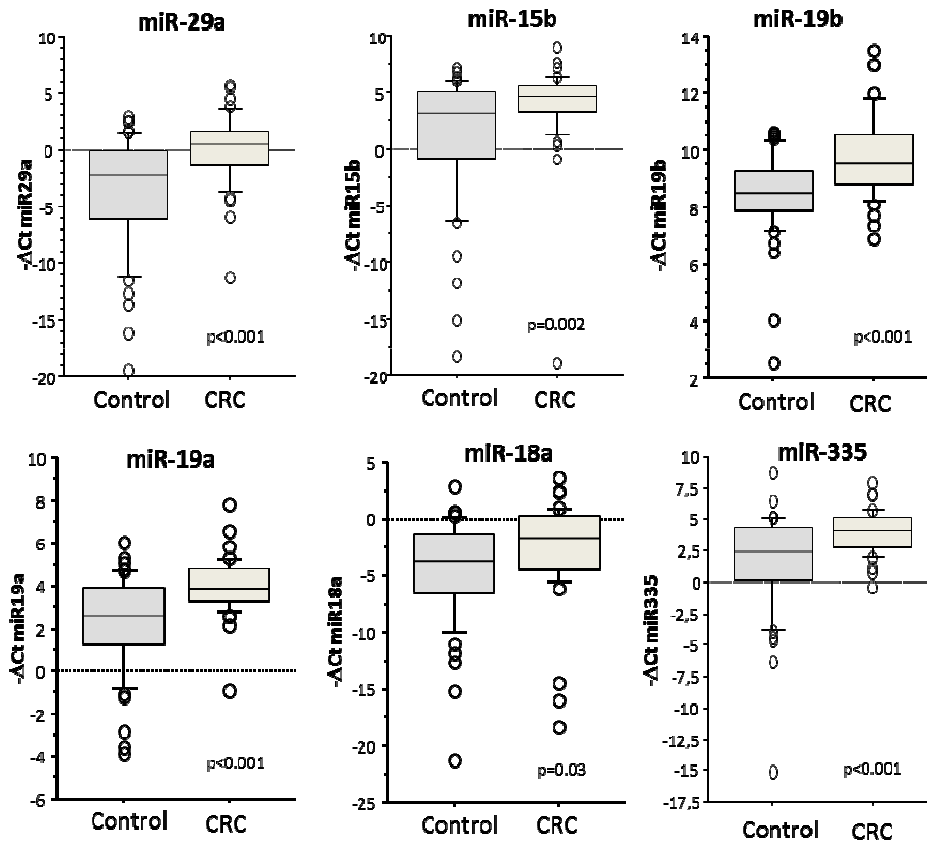


(Giraldes MD, Gironella M et al. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2013)

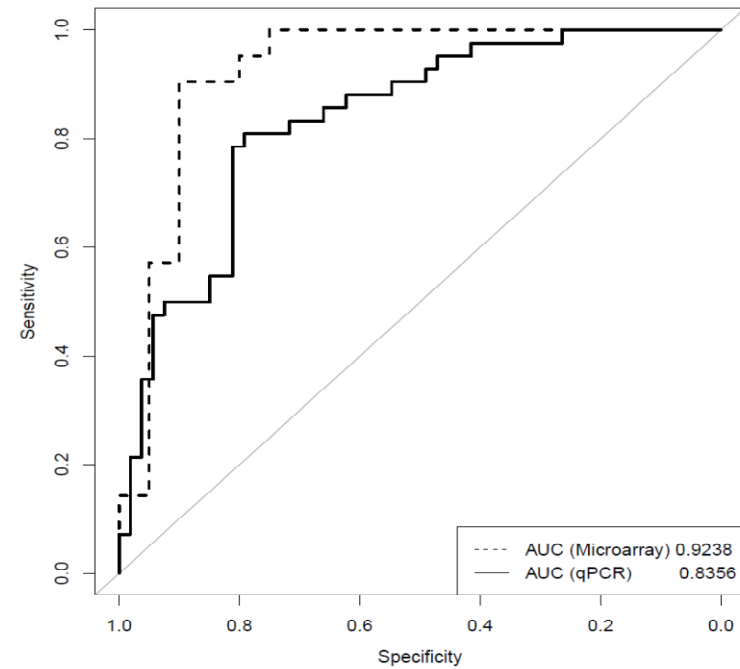
Estudi II: miRNAs plasmàtics com a biomarcadors no-invasius per a la detecció precoç del càncer colorectal

Resultats qRT-PCR

n=135



miR19a+miR19b+miR15b signature



Estudi III: Nous biomarcadors basats en miRNAs per a la detecció precoç del càncer de pàncrees

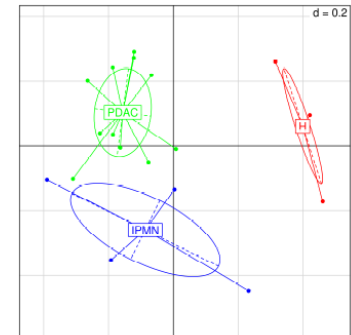
ORIGINAL ARTICLE

MicroRNAs for Detection of Pancreatic Neoplasia
Biomarker Discovery by Next-generation Sequencing and Validation in 2 Independent Cohorts

Objectius:

-Analitzar el miRNoma de l'adenocarcinoma ductal pancreàtic (PDAC) i de la lesió precursora tumor papilar mucinos intraductal (IPMN) mitjançant NGS.

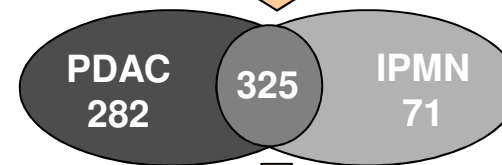
-Sel.leccionar i validar miRNAs amb potencial com a biomarcadors que puguin ser detectats en mostres ECO-PAAF.



Resultats NGS (n=18)

1733 miRNAs

FDR < 0.05



FC > 2; mean counts > 400

107

max IQR-log intra-group=1.4

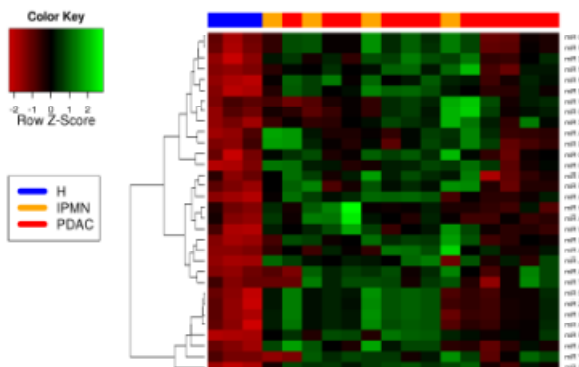
40

qRT-PCR

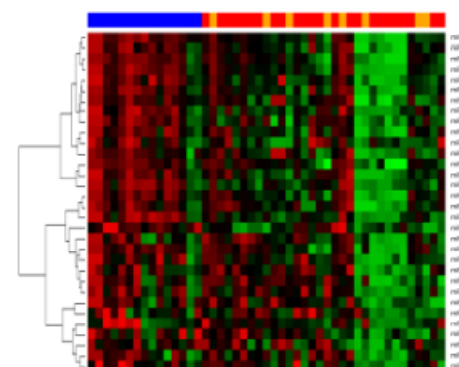
30 miRs

Resultats qRT-PCR (n=141)

A) NGS set



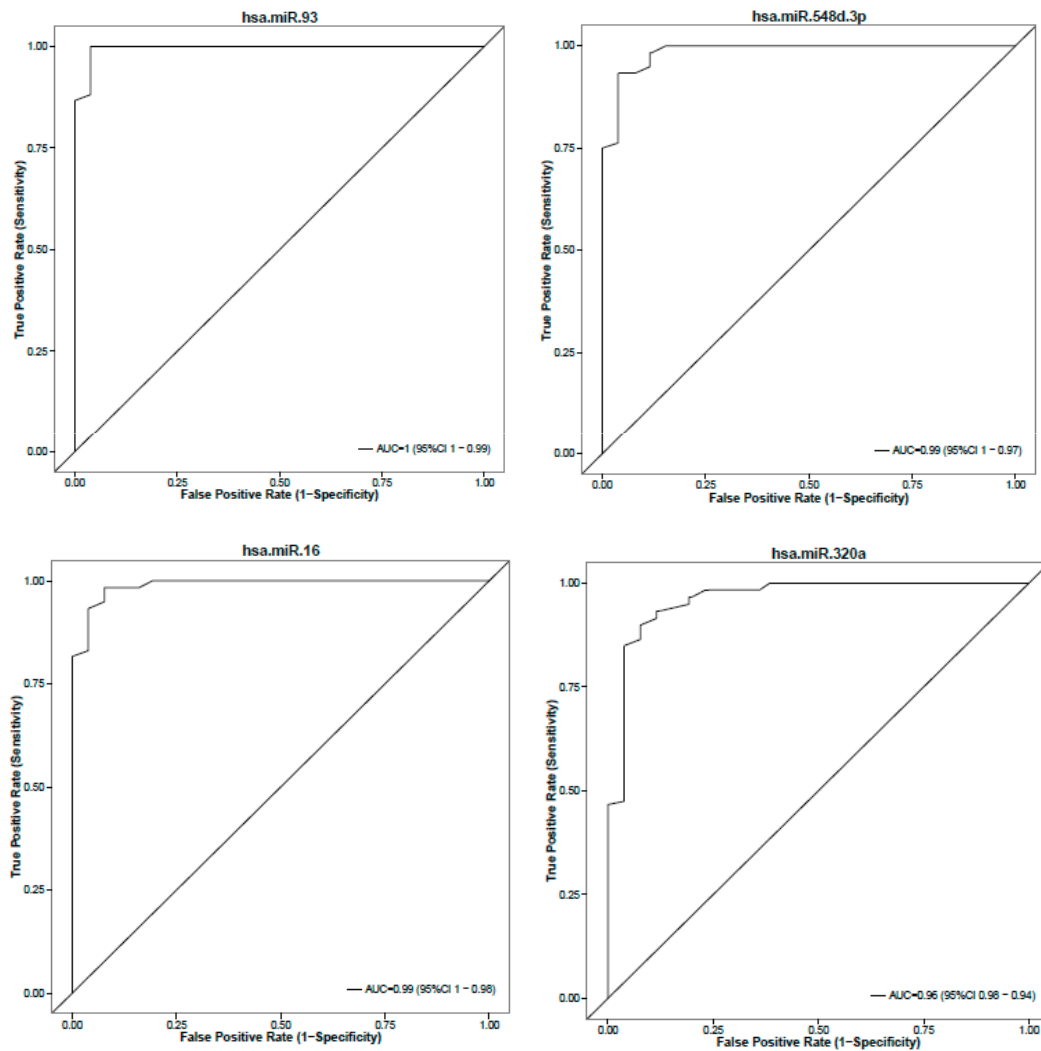
B) qRT-PCR set



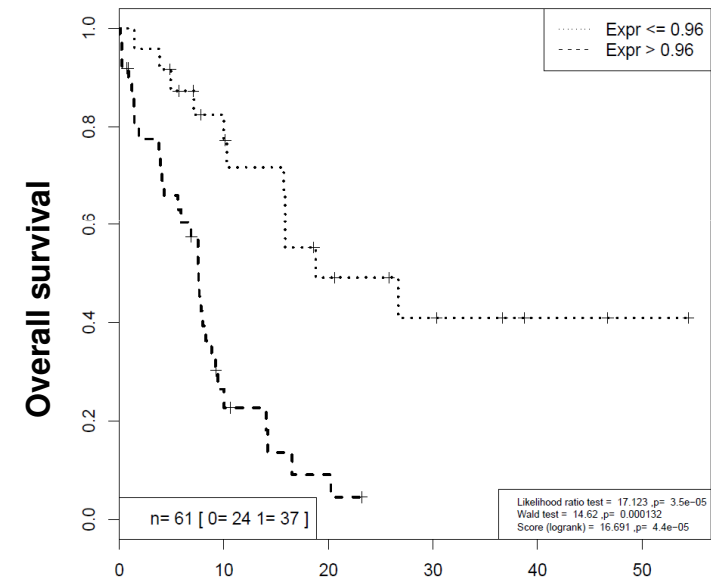
(Vila-Navarro E, Gironella M et al. *Annals of Surgery*, 2016)

Estudi III: Nous biomarcadors basats en miRNAs per a la detecció precoç del càncer de pàncrees

AUC ROC miRNA (PDAC vs H)



Capacitat pronòstica miRNA (PDAC)



(unpublished results)

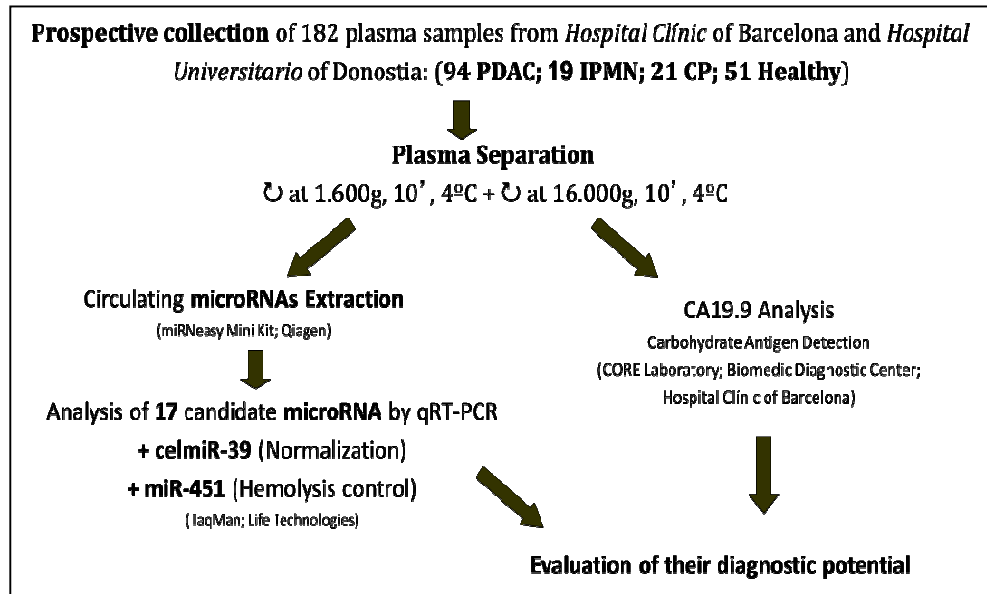
(Vila-Navarro E, Gironella M et al. *Annals of Surgery*, 2016)

Estudi IV: Nous biomarcadors no-invasius per a la detecció precoç del càncer de pàncrees

Objectiu:

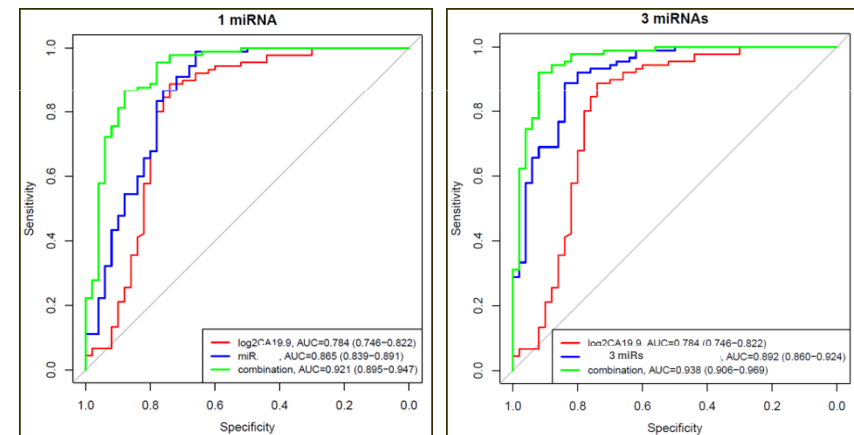
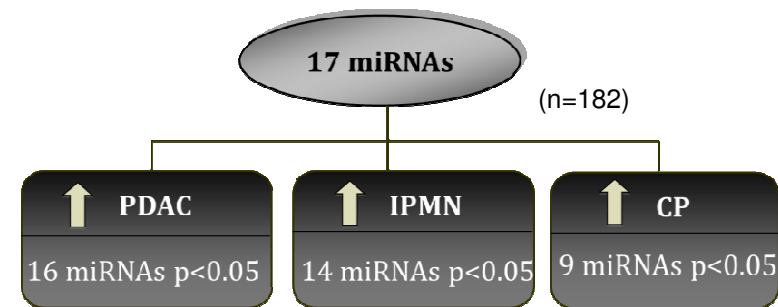
-Analitzar el potencial dels miRNAs obtinguts a l'estudi anterior com a biomarcadors no-invasius en mostres de plasma .

Mètodes:



(unpublished results)

Resultats en plasma:



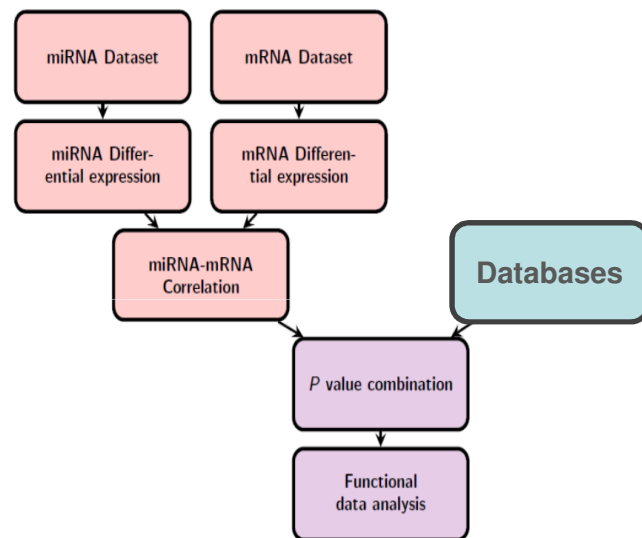
-Alguns miRNAs individuals tenen una millor capacitat de diferenciar els pacients amb PDAC dels individus sans que el CA19.9.

-Algunes combinacions de miRNAs junt amb el CA19.9 milloren la capacitat discriminativa arribant a valors AUC de 0.94.

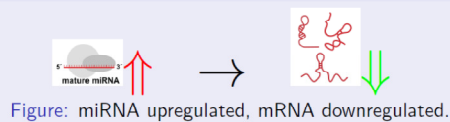
Estudi V: Funció dels miRNAs en la oncogènesi digestiva a través de l'estudi dels seus gens diana

RESEARCH ARTICLE

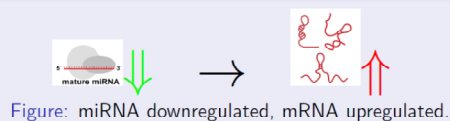
MiRComb: An R Package to Analyse miRNA-mRNA Interactions. Examples across Five Digestive Cancers



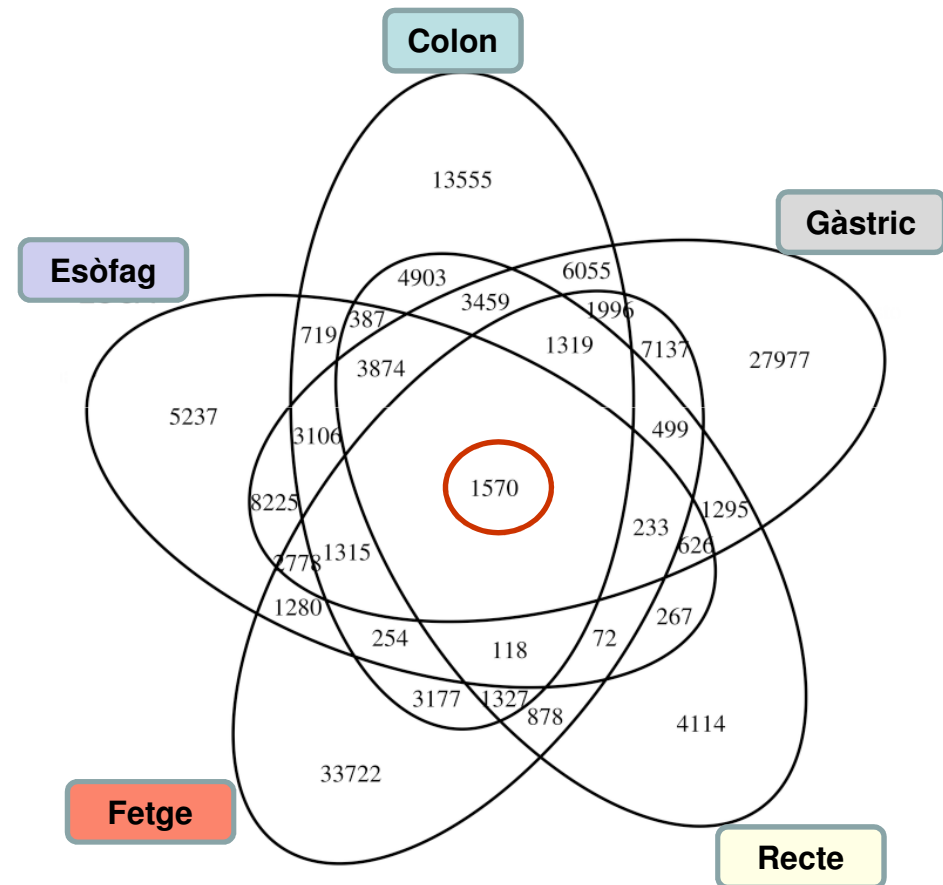
Case 1



Case 2



mRNAs diana d'un miRNA concret han de ser estudiats en un context determinat

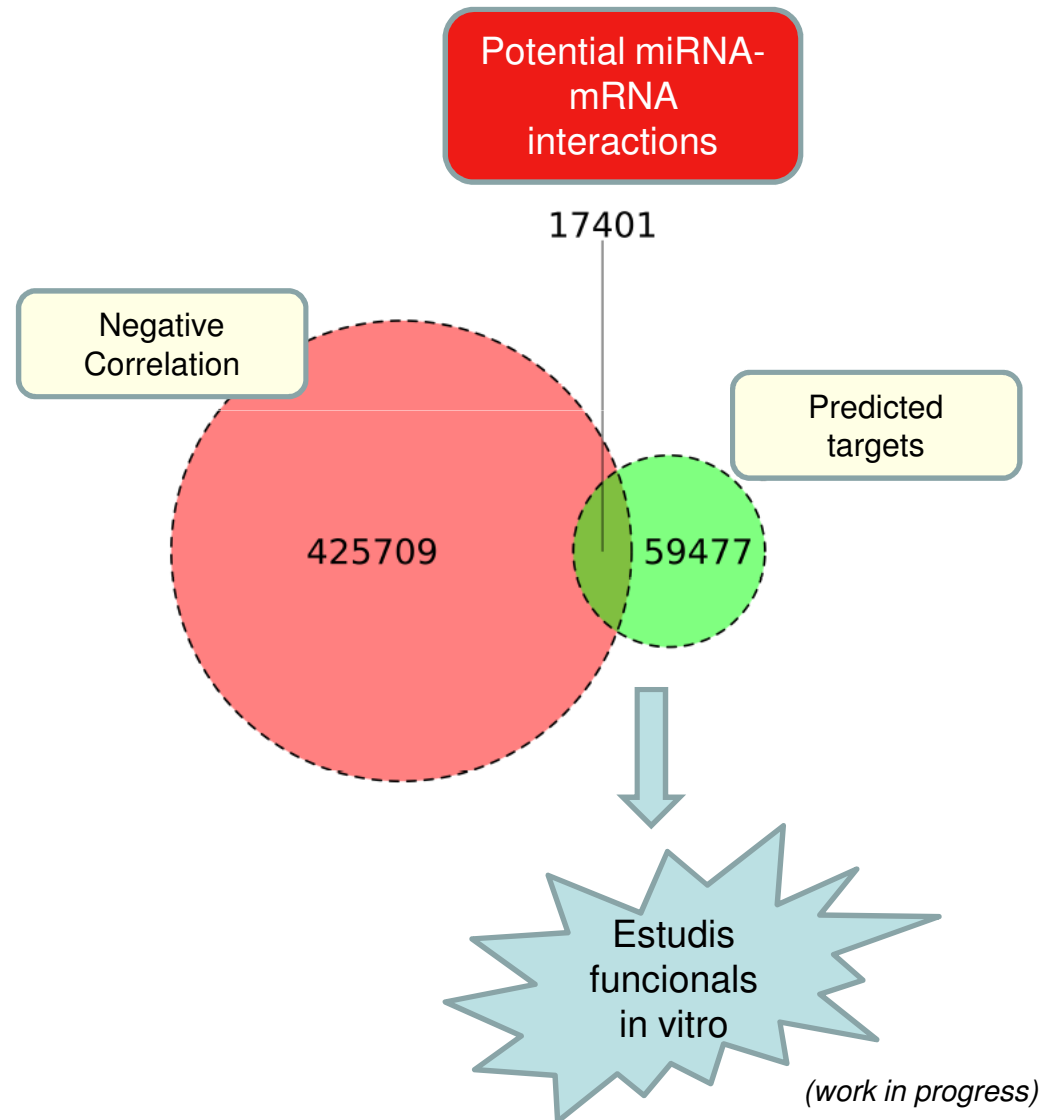
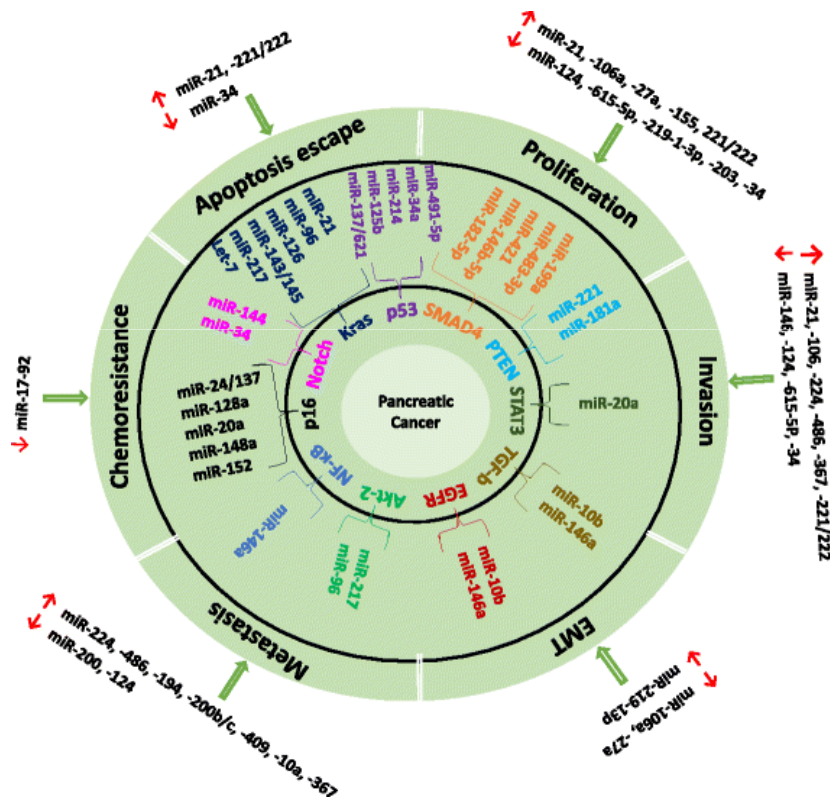


Venn diagram for MiRComb miRNA-mRNA interactions between 5 digestive cancers.

(Vila-Casadesús M, Gironella M et al. Plos One, 2016)

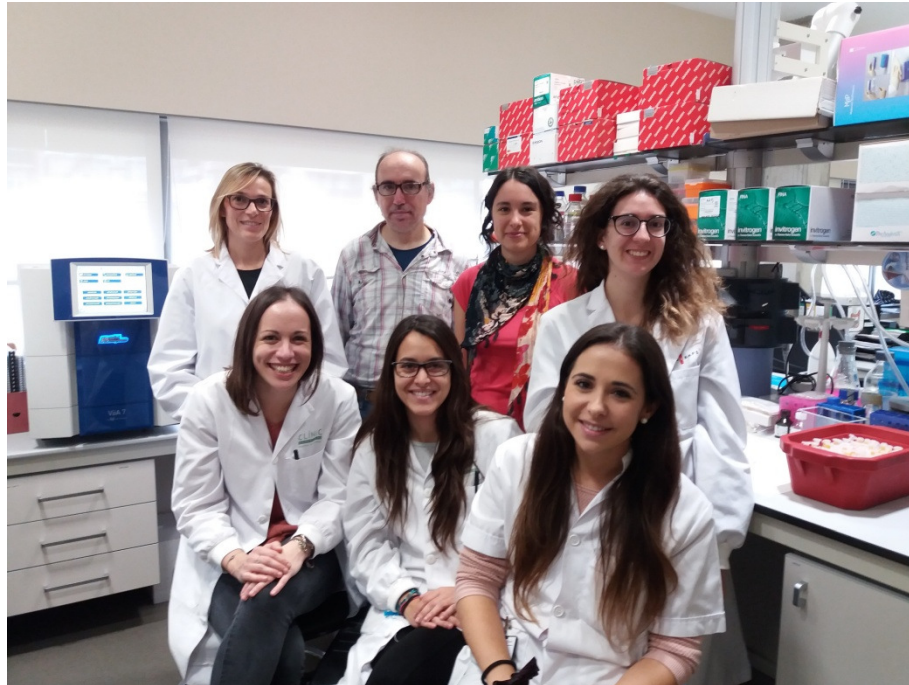
Estudi VI: Estudi funcional de miRNAs seleccionats en la oncogènesi pancreàtica a través de l'estudi dels seus gens diana

miRComb PDAC





Agraïments



RTC-2015-3850-1



PI13/02192

UNIÓN EUROPEA



FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL
"Una manera de hacer Europa"



Altres membres de l'equip d'Oncologia Gastrointestinal i Pancreàtica de l'Hospital Clínic

Dr. Antoni Castells

Infermeres i Pacients Hospital Clínic de Barcelona

Col.laboradors d'altres centres:



FOT