

a) TÍTULO: ESTUDIO DE UNA NUEVA INMUNOTERAPIA PARA TUMORES SÓLIDOS CON NANOPARTICULAS DE ORO BASADAS EN *Listeria monocytogenes*.

b) INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. Carmen Álvarez Domínguez. Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL). Santander. Cantabria.



LUGAR DE DESARROLLO: Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL). Laboratorio 124 de la Dra. Carmen Alvarez Dominguez. Grupo de Nanovacunas y vacunas celulares basadas en *Listeria* y sus aplicaciones en biomedicina. Avda. Cardenal Herrera Oria s/n. 39011 Santander. Cantabria.

c) Objetivo del Proyecto.

El **objetivo principal** de este estudio es validar la efectividad y protocolo de utilización en pacientes de una nueva inmunoterapia para tumores sólidos que nuestro grupo ha preparado basada en nanovacunas de oro conjugadas al péptido 91-99 de la toxina bacteriana, listeriolysina O (LLO), AuGNP-LLO₉₁₋₉₉, del patógeno *Listeria monocytogenes*, bien como terapia adyuvante o como vacuna terapéutica, como monoterapia o terapia de combinación de otras inmunoterapias de puntos de control inmunológico como anti-PD-1 o anti-PD-L1. Esta inmunoterapia funciona en dos fases de la respuesta inmune, en la fase de inducción como adyuvante y en la fase efectora como inmunoestimulador eficaz de la respuesta citotóxica e inductor de necrosis y/o apoptosis tumoral (*Figura 1*). Nuestra propuesta es ver su eficacia estimuladora de la respuesta inmune y su eficacia anti-tumoral frente a tres tipos de tumores sólidos: melanoma, cáncer colorrectal y cáncer de pulmón. Para ello vamos a utilizar células dendríticas derivadas de monocitos de pacientes con dichos tumores, sin tratamiento o con tratamiento con anti-PD-1 o anti-PD-L1 y explorar la respuesta anti-tumoral alógena *in vitro* con líneas tumorales establecidas de dichos tumores sólidos (*Figura 2*).

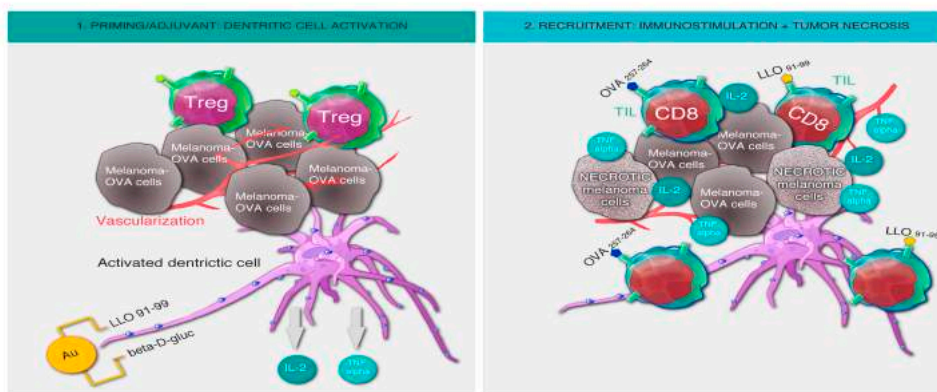


Figura 1.- Modelo de acción de la inmunoterapia con nanovacunas basadas en *Listeria* en el modelo del melanoma como prototipo de tumor sólido.

Preparación de células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC)

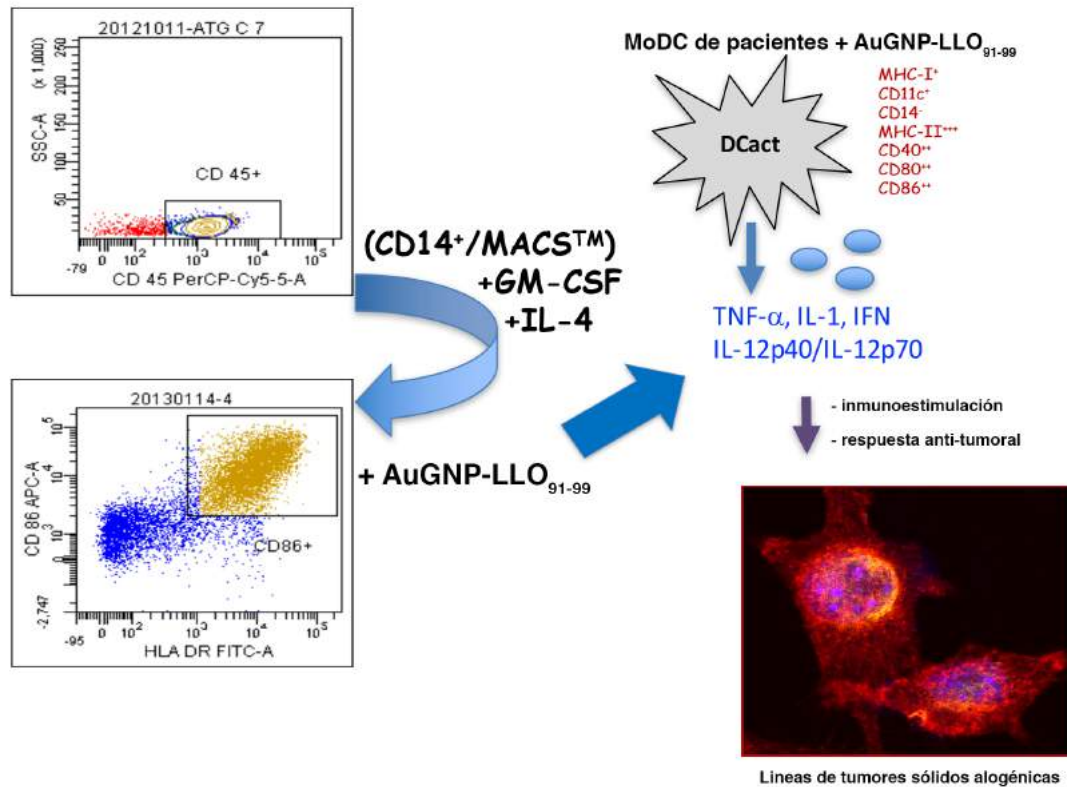


Figura 2.- Metodología para análisis de la inmunoterapia con nanovacunas basadas en *Listeria* en pacientes con tumores sólidos.

d) ¿Por qué colaborar con el proyecto?

Nuestro proyecto supone una nueva inmunoterapia segura y totalmente sintética de bajo coste que podría tener un efecto potenciador de la respuesta inmune en pacientes con tumores sólidos (melanoma, pulmón, cáncer colorrectal u otros) en estadios tempranos que podría prevenir la metastatización de estos tumores. Por otro lado, también puede actuar como molécula efectora que expande la respuesta citotóxica anti-tumoral y que tiene efecto anti-neoplásico directo como nanofármaco que induce necrosis de tumores avanzados y muerte programada de tumores en estadios más primarios. Es un nanofármaco seguro, sin toxicidad que de poder validar con este proyecto tanto su eficacia como fármaco de monoterapia como su capacidad de combinarse con fármacos de puntos de control inmunológico como anticuerpos anti-PD-1 o anti-PD-L1, tendría gran versatilidad. Además, al dirigirse a las células dendríticas su posible estudio en el futuro en fases de ensayos clínicos en pacientes, sería fácil e inocuo, ya que se podría evaluar en vacunaciones subcutáneas que rápidamente se comprobarían su reacción adecuada o adversa con poca o nula toxicidad para los pacientes.

e) ¿Por qué nosotros? ¿Cuál es nuestra experiencia previa?

Nuestro grupo multidisciplinar que cuenta con químicos que preparan el nanofármaco y sus controles de calidad, biólogos-bioquímicos-inmunólogos que realizan los ensayos pre-clínicos de vacunación en modelos de ratones y con células sanguíneas de pacientes y clínicos de tres áreas: dermatología, oncología médica y anatomía patológica, es adecuado para poder desarrollar y validar este nanofármaco en pacientes. Llevamos más de 6 años trabajando en nanovacunas tanto en el área de enfermedades infecciosas preparando vacunas para pacientes oncológicos y otros pacientes de riesgo a listeriosis, como nanovacunas como terapias anti-tumorales, en adyuvancia y como inmunostimuladores anti-neoplásicos. Este nanofármaco como terapia contra tumores sólidos está en fase de patentabilidad actualmente y este proyecto

impulsará que tengamos éxito en que pase las fases de patentabilidad necesarias para que esté disponible en el mercado. Los siguientes trabajos en conjunto del grupo avalan este proyecto.

Bibliografía del grupo en que se fundamenta este proyecto:

- 1.- Rodriguez-Del Rio E et al., 2015. A gold-glyconanoparticle carrying a listeriolysin O peptide and formulated with Advax™ delta inulin adjuvant induces robust T-cell protection against *Listeria* infection. *Vaccine* 33(12):1465-1473 (Primera descripción de las propiedades del vector GNP-LLO91-99 como vacuna profiláctica)
- 2.- Bronchalo-Vicente L et al., 2015. A novel therapy for melanoma developed in mice: transformation of melanoma into dendritic cells with *Listeria monocytogenes*. *PLoS One* 10(3):e0117923 (Descripción de la capacidad de *Listeria monocytogenes* de dirigirse al melanoma y provocar su regresión tumoral, inhibir su diseminación y la metastatización pulmonar).
- 3.- Calderon-Gonzalez R et al., 2016. Exceptional anti-neoplastic activity of a dendritic-cell-targeted vaccine loaded with a *Listeria* peptide proposed against metastatic melanoma. *Oncotarget* 7(13):16855-16865 (Estudio que describe las propiedades excepcionales del péptido LLO₉₁₋₉₉ incluido en una vacuna con células dendríticas para inhibir la adhesión del melanoma metastásico, su diseminación y mestatización, además de ampliar el repertorio citotóxico anti-melanoma y específico de antígeno).
- 4.- Calderon-Gonzalez E et al., 2016. Biomarker tools to design clinical vaccines determined from a study of annual listeriosis incidence in northern Spain. *Front. Immunol* 7:541. doi: 10.3389/fimmu.2016.00541. (Estudio de los biomarcadores inmunes de prognosis a listeriosis donde describimos que la alta incidencia al patógeno reside en el aumento de casos de pacientes oncológicos en quimioterapia y con niveles bajos de IL-17A y altos de IL-10 que no desarrollan buena respuesta anti-*Listeria* y presentan bajos títulos de anticuerpos anti-GAPDH₁₋₂₂).
- 5.- Calderon-Gonzalez R, Teran-Navarro H, Freire J, Marradi M, Garcia I, Frande-Cabanes E, Salcines-Cuevas D, Garcia-Castaño I, Martinez-Callejo V, Penades S, Tobes R, Pareja E, Gomez-Roman J, Yañez-Diaz S, Rivera F, Alvarez-Dominguez C*. 2017. Gold nanoparticles coupled to listeriolysin O peptide 91-99 as an alternative to dendritic-based vaccines for malignant melanoma. *ACS Nano* (nn-2017-01689u) (Estudio en el que se basa este proyecto donde se utilizan nanopartículas de oro, GNP-LLO₉₁₋₉₉ como vacuna terapéutica frente al melanoma y se describe que como monoterapia presenta capacidad de adyuvancia activando y reclutando células dendríticas al microambiente tumoral y también capacidad inmunoestimuladora para inducir respuestas citotóxicas anti-melanoma y antígeno específicas. Además, como inmunoterapia en combinación con anticuerpos anti-PD-1 logran una remisión total del melanoma en un tiempo más corto y un aumento de la supervivencia global.).
- 6.- Calderon-Gonzalez R, Teran-Navarro H, Garcia I, Marradi M, Salcines-Cuevas D, Yañez-Diaz S, Solis-Angulo A, Frande-Cabanes E, M.C Fariñas, Garcia-Castaño A, Penades S, Gomez-Roman J, Rivera F, Freire J, Alvarez-Dominguez C. 2017 (Nanoscale-sometido) (Estudio de apoyo de este proyecto en el que se describe el papel de las GNP-LLO₉₁₋₉₉ como terapia de prevención de melanoma donde se observa su capacidad de adyuvante y su papel de inducir apoptosis inmunogénica que disminuye el crecimiento tumoral. Utilizando MoDC de pacientes con melanomas primarios, hemos probado la capacidad de adyuvancia de las GNP-LLO₉₁₋₉₉, induciendo su maduración pero sobre todo su activación y secretando a altos niveles citocinas anti-neoplásicas TNF- α e IL-12 y disminuyendo las citocinas Th2, como IL-6 e IL-10; mientras que en los pacientes con melanomas avanzados también son eficaces induciendo la maduración de las MoDC y su activación pero los niveles de citocinas anti-neoplásicas son más bajos, aunque significativamente más altos que en los controles sin GNP-LLO₉₁₋₉₉).
- 7.- Alvarez-Dominguez C, lderon-Gonzalez R, Teran-Navarro H, Salcines-Cuevas D, Garcia-Castaño A, Freire J, Gomez-Roman J, Rivera F. Dendritic cell therapy in melanoma. *Annals Transl Med*. 2017 (en prensa). Revisión actual de las terapias utilizando células dendríticas frente al melanoma.
- 8.- Patente: - Autores-IDIVAL: C. Alvarez-Dominguez, R. Gonzalez-Calderon, S. Yañez-Diaz, E. Frande-Cabanes, E. Ferrandez-Fernandez, Autores-CIC-biomaGUNE: I. Garcia, M. Marradi y S. Penades.

Título: El uso de gliconanopartículas de oro conjugadas al péptido 91-99 de la listeriolisina O sirven de terapia contra tumores. Número de registro: P201600160. Fecha de solicitud: 24/02/2016. Entidad Titular: Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla.

f) Cantidad a financiar solicitada: 30.000 € (Fundamentalmente para la contratación de personal con dedicación exclusiva a este proyecto).

g) Compromisos adquiridos:

- El IP se compromete a emitir un informe de 500 palabras y 1-2 imágenes sobre los resultados obtenidos al finalizar el periodo de dos años. Este informe se publicará en la web y en la revista de la SEI. Además, el IP presentará sus resultados en el siguiente congreso de la SEI a la finalización del proyecto.
- Se mencionará en Funding o acknowledgements section en los manuscritos como "funding from the Spanish Society for Immunology".
- El IP tendrá premiará a los donantes, según el importe de la donación. Estos premios se indicarán en el momento de colgar el proyecto en la web con una visita guiada al centro de trabajo y una invitación a una conferencia.