

MiRNA per il trattamento e per la diagnosi in vitro dei tumori farmacoresistenti.

Priorità

n. 102018000004384 del 11.04.2018

Tipologia Deposito

Brevetto per invenzione.

Co-Titolarietà

Sapienza Università di Roma 33%, Istituti Fisioterapici Ospitalieri 34%, Istituto Nazionale Tumori I.R.C.C.S. "Fondazione G. Pascale" 33%.

Inventori

Gennaro Ciliberto, Paolo Antonio Ascierto, Luigi Fattore, Gerardo Botti, Rita Mancini.

Settore industriale & commerciale di riferimento

L'oggetto divulgato nelle rivendicazioni sembra essere applicabile a livello industriale nelle biotecnologie.

Stato di sviluppo

L'invenzione è stata sperimentata su cellule umane in vitro e confermata in campioni provenienti da pazienti che hanno sviluppato resistenza ai farmaci.

Disponibile

Cessione, Licenza, Ricerca, Sviluppo, Sperimentazione e Collaborazione.

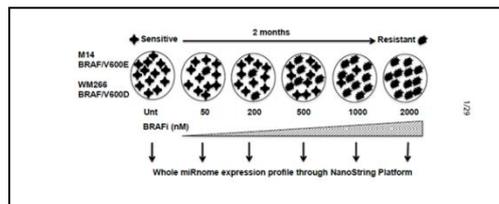


Fig. 1 Rappresentazione schematica della selezione in vitro di due linee cellulari di melanoma mutate in BRAF (M14 e WM266) fino allo sviluppo della resistenza a un inibitore di BRAF ottenuta aumentando le dosi del farmaco per circa due mesi. Ad ogni fase di aumento del farmaco sono stati estratti gli RNA totali per eseguire l'analisi dei miRNA tramite la piattaforma Nanostring.

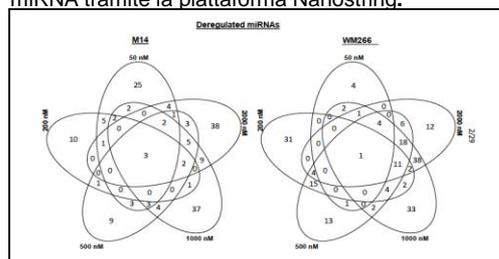


Fig. 2 I diagrammi di Venn mostrano che ogni passaggio di selezione è caratterizzato da una serie distinta di cambiamenti nell'espressione dei miRNA.

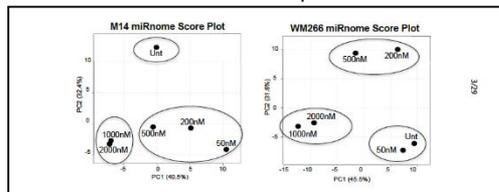


Fig. 3 L'analisi delle componenti principali (PCA) dei dati di Nanostring mostra che i cambiamenti dell'intera espressione del miRNome (n = 800 miRNA, punti neri) sono in grado di distinguere diversi stati di sensibilità al farmaco.

Abstract

La presente invenzione riguarda l'utilizzo dei miRNA per la diagnosi della resistenza in vitro nei tumori ai farmaci che inibiscono la via BRAF/MEK. Questo fenomeno può infatti stimolare o inibire l'espressione di specifici miRNA. Quindi i tumori interessati sono caratterizzati da mutazione nella chinasi BRAF come: melanoma, carcinoma del colon-retto, carcinoma papillare della tiroide, carcinoma polmonare non a piccole cellule, tumori cerebrali, linfoma non Hodgkin. Stando alla presente invenzione, il metodo può comprendere la misurazione dell'espressione delle seguenti combinazioni di miRNA: miR-199b-5p e miR-4488; miR-199b-5p e miR-4443; miR-4488 e miR-4443; miR-199b-5p, miR-4443 e miR-4488; miR-199b-5p e miR-204-5p.

Pubblicazioni

- ❖ Fattore L, et al. "MicroRNAs in melanoma development and resistance to target therapy", *Oncotarget*. 2017 Mar 28; 8(13): 22262-22278, doi:10.18632/oncotarget.14763;
- ❖ Fattore L, et al. "miR-579-3p controls melanoma progression and resistance to target therapy". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Aug 23;113(34):E5005-13. doi: 10.1073/pnas.1607753113. Epub 2016 Aug 8.

KEYWORDS

- ❑ microRNA
- ❑ TERAPIA
- ❑ DIAGNOSTICO
- ❑ RESISTENZA
- ❑ MELANOMA

AREA

- ❑ CHIMICA E BIOTECNOLOGIE

CONTATTI

- TELEFONI
+39.06.49910888
+39.06.49910855
- EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

ASuRTT _ UFFICIO VALORIZZAZIONE E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO
SETTORE BREVETTI E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>

MiRNA per il trattamento e per la diagnosi in vitro dei tumori farmacoresistenti.

Descrizione Tecnica

La presente invenzione riguarda l'uso di microRNA come biomarcatori per la diagnosi in vitro della resistenza dei tumori alla via MAPK. Secondo la realizzazione della presente invenzione, il metodo può comprendere la misurazione di differenti combinazioni di miRNA in campioni biologici liquidi come sangue, siero, plasma, urina. Un ulteriore scopo della presente invenzione si basa sull'uso di antagonisti di miRNA oncogenici e/o di analoghi di miRNA oncosoppressori per il trattamento di tumori resistenti ai farmaci che colpiscono la via delle MAPK. Queste molecole, preferibilmente gli analoghi di miRNA, secondo la presente invenzione possono essere veicolate da nanoparticelle lipidiche poiché l'uso di molecole a base di RNA nudo in terapia è ostacolato dalla loro rapida degradazione enzimatica nei fluidi biologici.

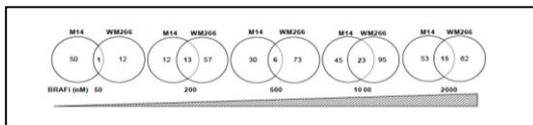


Fig. 4 I diagrammi di Venn mostrano i miRNA deregolati in comune tra le cellule di melanoma M14 e WM266 nei diversi passaggi della selezione con l'inibitore di BRAF (da 50nM a 2000nM).

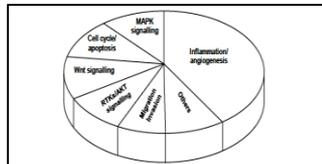


Fig. 5 Il grafico a torta mostra i principali pathway molecolari colpiti dai miRNA alterati nelle nostre analisi.

Tecnologia & Vantaggi

Una grande sfida nella lotta contro il cancro è la generazione di potenti strumenti diagnostici in grado di prevedere la risposta dei pazienti alle terapie e di concepire terapie combinate in grado di bloccare lo sviluppo della resistenza ai farmaci. Pertanto, è evidente la necessità di fornire metodi per la diagnosi in vitro di tumori resistenti alla via BRAF / MEK e di trattare i pazienti resistenti con nuovi strumenti terapeutici. Gli esperimenti qui riportati mostrano che i miRNA sono affidabili marcatori predittivi di resistenza ai farmaci che inibiscono la via delle MAPK con alta sensibilità, specificità e accuratezza. Inoltre, l'inibizione dell'espressione dei miRNA up-regolati o la stimolazione dell'espressione dei miRNA down-regolati è efficace nel ridurre la resistenza ai farmaci. Questi risultati possono avere profonde implicazioni cliniche al fine di evitare terapie inutili per i pazienti e per ridurre i costi delle terapie.

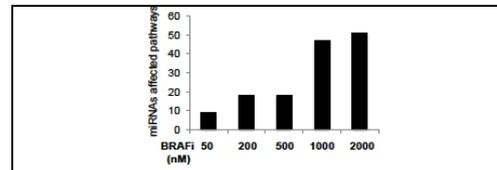


Fig. 6 L'istogramma mostra che gli ultimi due passaggi della selezione con l'inibitore di BRAF (ovvero 1uM e 2uM BRAFi) sono caratterizzati dal numero più elevato di pathway molecolari alterati.

Applicazioni

La presente invenzione sfrutta le caratteristiche uniche dei miRNA per due diverse applicazioni: diagnostica e terapeutica. Partendo dalla prima, queste molecole sono facilmente estratte e tracciate nei fluidi biologici umani, come il sangue, e possono rappresentare futuri strumenti non invasivi per prevedere l'evoluzione della malattia e la resistenza ai farmaci. Per quanto riguarda le applicazioni terapeutiche, la capacità dei miRNA di influenzare molteplici pathway oncogenici può essere sfruttata per concepire nuovi approcci per potenziare le moderne terapie mirate al fine di ritardare l'emergere della resistenza ai farmaci.

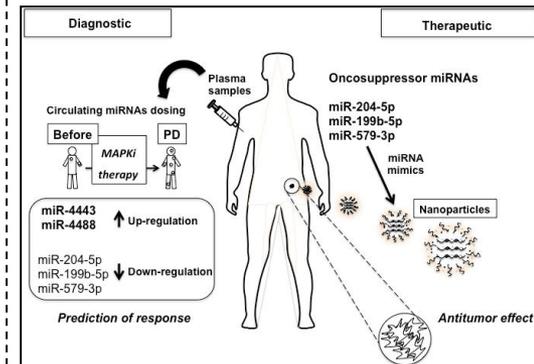


Fig. 7 Rappresentazione schematica del potenziale terapeutico e diagnostico dei miRNA identificati nel nostro studio oggetto del brevetto

CONTATTI

TELEFONI
+39.06.49910888
+39.06.49910855

EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

ASuRTT _ UFFICIO VALORIZZAZIONE E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO
SETTORE BREVETTI E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>

MirRNAs for treatment and in vitro diagnosis of drug resistant tumors.

Priority Number

n. 102018000004384_11.04.2018.

Patent Type

Patent for invention.

Co-Ownership

Sapienza Università di Roma 33%, Istituti Fisioterapici Ospitalieri 34%, Istituto Nazionale Tumori I.R.C.C.S. "Fondazione G. Pascale" 33%.

Inventors

Gennaro Ciliberto, Paolo Antonio Ascierio, Luigi Fattore, Gerardo Botti, Rita Mancini.

Industrial & Commercial Reference

The subject matter disclosed in the claims appears to be industrially applicable in biotechnologies.

Time to Market

The invention has been tested in human melanoma cells in vitro and confirmed in samples derived from patients who developed resistance to therapy.

Availability

Cession, Licensing, Research, Development, Experimentation and Collaboration.

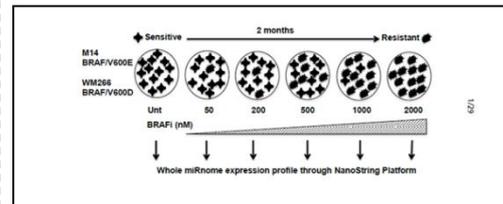


Fig. 1 Schematic representation of the in vitro selection of two BRAF-mutated melanoma cell lines (i.e. M14 and WM266) until the development of resistance to a BRAFi by treating cells to increasing doses of the drug for about two months. At each step of drug increase total RNAs were extracted to perform Nanostring Platform analysis.

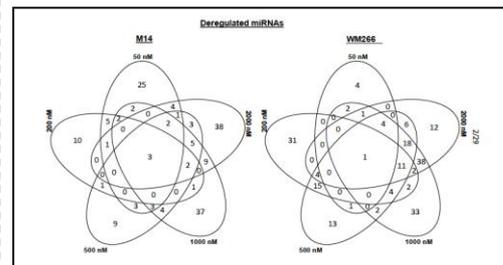


Fig. 2 Venn Diagrams show that each selection step is characterized by a distinct set of miRNAs expression changes.

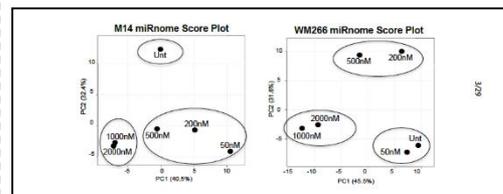


Fig. 3 Principal Component Analysis (PCA) of Nanostring data show that changes of the entire miRNome expression (n=800 miRNAs, black dots) are able to distinguish different drug sensitivity states.

Abstract

The present invention concerns miRNAs for in vitro diagnosis of resistance of tumors to BRAF/MEK pathway inhibiting drugs by stimulating or inhibiting the expression of down-regulated or up-regulated miRNAs, respectively. Hence the interested tumors are characterized by BRAF mutation like: melanoma, colorectal cancer, papillary thyroid carcinoma, non small cell lung cancer, brain tumors, non-Hodgkin lymphoma. According to an embodiment of the present invention, the method can comprise measuring the expression of the following combinations of miRNAs listed from the most preferred: miR-199b-5p and miR-4488; miR-199b-5p and miR-4443; miR-4488 and miR-4443; miR-199b-5p, miR-4443 and miR-4488; miR-199b-5p and miR-204-5p.

Pubblicazioni

- ❖ Fattore L, et al. "MicroRNAs in melanoma development and resistance to target therapy", *Oncotarget*. 2017 Mar 28; 8(13): 22262-22278, doi:10.18632/oncotarget.14763;
- ❖ Fattore L, et al. "miR-579-3p controls melanoma progression and resistance to target therapy". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Aug 23;113(34):E5005-13. doi: 10.1073/pnas.1607753113. Epub 2016 Aug 8.

KEYWORDS

- microRNAs
- THERAPY
- DIAGNOSTIC
- RESISTANCE
- MELANOMA

AREA

- CHEMISTRY & BIOTECHNOLOGY

CONTACTS

➤ PHONE NUMBERS
+39.06.49910888
+39.06.49910855

➤ EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

ASuRTT _ UFFICIO VALORIZZAZIONE E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO
SETTORE BREVETTI E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>

MirRNAs for treatment and in vitro diagnosis of drug resistant tumors.

Technical Description

The present invention concerns the use of microRNAs as biomarkers for the in vitro diagnosis of the resistance of tumors to MAPK pathway. According to an embodiment of the present invention, the method can comprise measuring the expression of different combinations of miRNAs in liquid biological samples such as blood, serum, plasma, urine. A further object of the present invention relies on the use of oncogenic miRNA antagonists and/or a miRNA mimic for oncosuppressive ones to treat tumors which are resistant to MAPK pathway (BRAF/MEK pathway) inhibiting drugs, Antagonists and miRNA mimics, preferably miRNA mimics, according to the present invention can be delivered by lipid nanoparticles since the use of naked RNA-based molecules in therapy is hampered by their rapid enzymatic degradation in biological fluids.

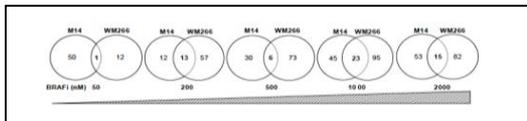


Fig. 4 Venn Diagrams show the common deregulated miRNAs between M14 and WM266 melanoma cells among the different steps of BRAFi selection (from 50nM to 2000nM).

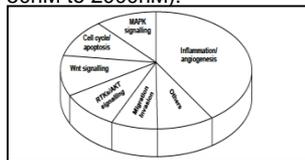


Fig. 5 Cake Graph shows the main molecular pathways affected by the deregulated miRNAs.

Technologies & Advantages

A challenging issue is in the fight against cancer, to generate powerful diagnostics capable to predict patients' response to therapies and to conceive combination therapies capable to block or revert development of drug resistance. Therefore, it is apparent the need to provide methods for in vitro diagnosis of tumors which are resistant to BRAF/MEK pathway and to treat resistant patients with novel therapeutic tools. The experiments reported here show that miRNAs are suitable as markers of resistance to BRAF/MEK pathway inhibiting drugs with high sensitivity, specificity and accuracy. In addition, the inhibition of the expression of the up-regulated miRNAs or the stimulation of the expression of the down-regulated miRNAs is effective in reducing drug resistance. These findings may have profound clinical implications in order to reduce the pain for patients as well as the costs for the therapies.

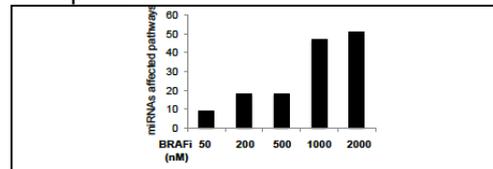


Fig. 6 Histogram shows that the last two steps of BRAFi selection (i.e. 1uM and 2uM BRAFi) are characterized by the highest number of pathways affected by commonly deregulated miRNAs.

Applications

The present invention relies on the unique characteristics of miRNAs that can be exploited for two different applications: diagnostic and therapeutic. As for the first one, these molecules can be easily extracted and tracked in human biological fluids, such as blood, and may represent future non invasive tools to predict disease evolution and drug resistance.

As for the therapeutic applications the capability of miRNAs to affect multiple oncogenic pathways can be exploited to conceive novel approaches to potentiate the modern targeted therapies in order to delay the emergence of drug resistance.

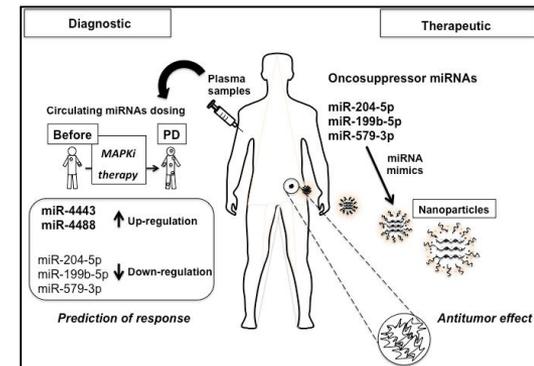


Fig. 7 Schematic representation of the therapeutic and diagnostic potential of miRNA identified in our study object of our invention

CONTACTS

➤ PHONE NUMBERS
+39.06.49910888
+39.06.49910855

➤ EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

ASuRTT _ UFFICIO VALORIZZAZIONE E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO
SETTORE BREVETTI E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>