

## INMUNOTERAPIA DEL CÁNCER

Rosalva Rangel Corona

### RESUMEN

Existen evidencias claras de que algunas formas de inmunoterapia pueden tener éxito para ciertos tipos de cáncer. Sin embargo, parece ser que las células cancerosas de origen diverso, son excepcionalmente expertas en desmontar la respuesta inmune. En consecuencia, es probable que la terapia más eficaz será aquella en la cual se activen múltiples mecanismos del sistema inmunológico.

**Palabras Claves:** *Inmunoterapia, cáncer, sistema inmunológico.*

### Cancer Immunotherapy

### ABSTRACT

There is clear evidence that certain forms of immunotherapy can be successful against certain cancers. However, it would appear that cancerous cells of various origin are exceptionally adept at subverting the immune response. Consequently, it is probable that the most efficacious therapy will be one in which multiple responses of the immune system are activated.

**Key Words:** *Immunotherapy, cancer, immune system.*

ARTÍCULO RECIBIDO EN MAYO DEL 2003 Y ACEPTADO EN JUNIO DEL 2003.

### INMUNOTERAPIA DEL CÁNCER

Es el uso del área de la ciencia que trata sobre el uso del sistema inmunológico para combatir el cáncer.

### RESPUESTA INMUNE A TUMORES

En el humano, el desarrollo de un tumor comienza con la transformación de una sola célula, a una masa de células malignas a través de múltiples procesos, que envuelve una serie de cambios genéticos en la progenie de la célula transformada a través de varios años, que culmina con la formación de un tumor caracterizado por un crecimiento descontrolado.<sup>1</sup>

A pesar de la inestabilidad y la variabilidad genética de los tumores estos sobreviven en presencia del sistema inmunológico. Lo cual indica que las células tumorales reconocidas son eliminadas en el momento de generarse y solo algunas de esas células pueden evadir la respuesta antitumoral y sobrevivir. De esta manera, el desarrollo de un tumor involucra una serie de procesos de control por parte del hospedero para reducir el crecimiento tumoral el cual, además de escapar a este proceso, se adapta al microambiente adquiriendo resistencia a las células inmunológicas efectoras.

Como un resultado de esta interacción llamada “vigilancia y

selección inmunológica” respectivamente, un tumor consiste de una mezcla de diversos clones individuales con resistencia variable a los mecanismos de defensa antitumoral del huésped.<sup>2</sup>

La idea de vigilancia inmunológica no es nueva, fue originada hace algunos años por F.M. Burnett, que introdujo el concepto de que los tumores no son ignorados por el sistema inmunológico del huésped, sin embargo, la interpretación moderna, no sólo enfatiza la habilidad del sistema inmunológico para detectar y destruir células tumorales, sino incorpora el concepto de que los tumores no son blancos pasivos para intervención inmunológica y son capaces tanto de escapar como de desamblar el sistema inmunológico. La teoría moderna de vigilancia inmunológica reconoce la complejidad de las interacciones entre el tumor y las células inmunológicas o sus productos y además, considera que estas interacciones pueden ser bi-direccionales influenciadas por el microambiente local y frecuentemente puede resultar no solo en la muerte del tumor sino de las células inmunológicas.

En este artículo se discuten los componentes de la respuesta inmune antitumoral incluyendo algunas razones por las cuales el sistema inmunológico falla en su función de contener el crecimiento tumoral y la metástasis. Además, de enfatizar que la existencia de múltiples caminos por los cuales las células tumorales desarmen el sistema inmunológico, pueden ser la causa de los pocos éxitos, obtenidos hasta ahora, en la inmunoterapia contra el cáncer.

## PROGRESIÓN TUMORAL Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO DEL HUÉSPED

La presencia de células efectoras en diversas etapas del desarrollo tumoral ha sido asociado con la mejora del paciente y mayor supervivencia.<sup>3</sup> Hasta el momento ha sido posible cultivar linfocitos citotóxicos específicos (CTL's) obtenidos de sangre periférica de pacientes y probar su función antitumoral. La reproducción de estos datos en varios laboratorios sugiere que los precursores de los CTL's existen en circulación y en el sitio del tumor y que pueden ser inducidos a proliferar cuando células dendríticas (CD) autólogas son usadas como células presentadoras de antígeno (CPA), llevando un epítipo tumoral relevante. Experimentos recientes usando tetrámeros y citometría de flujo han demostrado la presencia de células T específicas a péptidos tumorales en la circulación de pacientes con cáncer,<sup>4,5</sup> con una frecuencia mas alta que la encontrada en individuos sanos.<sup>6</sup> Finalmente, la tecnología basada en el uso de anticuerpos específicos a tumor presentes en el suero de pacientes con cáncer ha sido exitosamente usada para descubrir antígenos tumorales.<sup>7</sup> Esos descubrimientos así como la reciente identificación de numerosos antígenos asociados a tumor (AAT) capaces de inducir tanto respuesta humoral como celular *in vivo* e *in vitro*, soporta fuertemente la teoría de que el sistema inmunológico reconoce la presencia del tumor y responde a él generando una respuesta local.<sup>8</sup>

Si los tumores no son ignorados por el sistema inmunológico ¿por que progresan? Para intentar responder esta importante pregunta, es necesario tomar en cuenta el inter-papel que juegan el tumor y las células tumorales en el microambiente tumoral. En una situación extrema ante la presencia de un patógeno (bacteria o virus) en el organismo se despierta una fuerte respuesta celular y humoral donde el sistema inmunológico percibe la infección como una "señal de daño".<sup>9</sup> En contraste los AAT (que son antígenos propios alterados o sobre-expresados) son percibidos como antígenos "propios" y en ausencia de una "señal de daño" la respuesta inmune es débil.<sup>10</sup> Sólo unos cuantos AAT mutados son inmunogénicos los demás son poco inmunogénicos o simplemente tolerados. En este contexto el cáncer se podría ver como un fenómeno autoinmune en donde la tolerancia a lo propio evita una efectiva respuesta inmune hacia los AAT. La tolerancia a lo propio no es el único factor de la respuesta antitumoral, también se debe considerar la naturaleza del microambiente tumoral, caracterizado por la presencia de factores inmunosupresores y producción excesiva de antígenos relacionados con el crecimiento tumoral.<sup>11</sup>

## TIPOS DE RESPUESTA INMUNOLÓGICA A CÉLULAS MALIGNAS

La respuesta inmune antitumoral puede ser innata (natural) o adquirida (adoptiva). La inmunidad innata, es mediada por células o factores solubles que existen naturalmente en los tejidos o fluidos del cuerpo y pueden interferir con el crecimiento tumoral. Entre las células hematopoyéticas que tienen como blanco células tumorales se encuentran los macrófagos, granulocitos, células asesinas naturales (NK (CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), células

T no restringidas a complejo mayor de histocompatibilidad (CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) así como células T gamma/delta.<sup>12</sup>

La respuesta inmune adquirida a tumores es mediada por células T cuando ellas reconocen péptidos derivados de tumor unidos a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) expresadas sobre células presentadoras de antígeno (CPA). Las células tumorales, pueden servir como CPA aunque los bajos niveles de moléculas de CMH presentes tienen un proceso deficiente de péptidos.<sup>13</sup> El reconocimiento de péptidos se hace por medio del complejo TCR sobre células T (CD4<sup>+</sup> o CD8<sup>+</sup>), que se une a las moléculas del CMH-péptido a través del dominio variable del TCR, iniciando la señalización que conduce a la activación de las células T.<sup>14</sup>

Para que una respuesta adquirida ocurra debe existir una expresión correcta del complejo TCR, para ello se requiere de una adecuada sensibilización y expansión clonal de células T de memoria en respuesta a epítipo tumoral. La figura 1 muestra en forma general la respuesta inmune antitumoral y los tipos celulares que participan en ella.

## CÉLULAS INMUNOLÓGICAS EN EL MICROAMBIENTE TUMORAL

En la respuesta inmunológica local, participan los linfocitos infiltrantes del tumor (TIL), los cuales se acumulan en diversos tumores sólidos, las células que los conforman pueden ser aquellas que participan en la respuesta innata o adquirida, las cuales producen una variedad de factores solubles como las

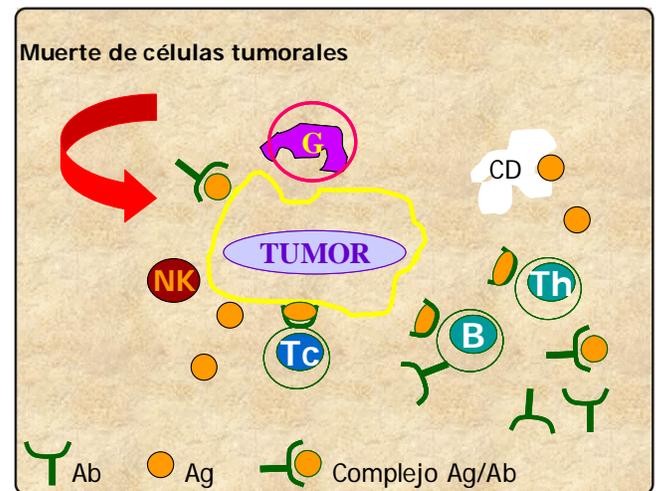


Figura 1. Se muestra a las células inmunes directamente responsables de la muerte tumoral, que incluye células efectoras como: células T citotóxicas (Tc); células asesinas naturales (NK); así como macrófagos y granulocitos. Las células B, auxiliadas por las células T ayudadoras (Th), producen anticuerpos específicos a antígenos tumorales que producen la lisis del tumor, mediante células citotóxicas dependientes de anticuerpos (CCDA) y por NK. Las células dendríticas facilitan el procesamiento y presentación de antígenos a las células Tc y Th. Esta compleja interacción de célula inmunes incluye la respuesta innata no específica y la antígeno-específica. La capacidad de muchos tumores para evadir la respuesta inmunológica conduce a la progresión del tumor.

citocinas y anticuerpos en respuesta a señales no específicas o tumor específicas del microambiente. En teoría, los efectos antitumorales de esos productos combinados con las interacciones directas de células efectoras, contenidas en el infiltrado, con el tumor pueden dar como resultado la muerte de las células tumorales. Sin embargo, en la mayoría de los casos el tumor crece progresivamente, a pesar de, la gran infiltración, esto debido a que la cantidad de las células T (CD3<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup>) que pueden diferenciarse a CTL's es muy baja en comparación a la encontrada en sangre periférica.<sup>3</sup> En la mayoría de los casos los TIL-T presentes son linfocitos no restringidos al CMH y existe una baja frecuencia de CTL's.

Estudios recientes de los TIL *in situ* han demostrado que la expresión de la cadena ζ, molécula de señalización asociada al complejo TCR, y el factor nuclear kappa B, factor transcripcional que regula la expresión de un cierto número de genes activados en la respuesta inmune e inflamatoria, pueden ser factores de predicción de sobrevida en pacientes con cáncer en estadios avanzados. Los pacientes con tumores infiltrados con células T con baja expresión o ausencia de cadena ζ tienen baja sobrevida (5 años) en comparación de aquellos que tiene un infiltrado de células T con expresión normal de cadena ζ.<sup>15</sup>

Otro grupo de células inmunológicas con actividad antitumoral, son las células NK (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>), que median la inmunidad innata y contiene perforinas así como gránulos de granzima que permiten la lisis de células tumorales. Sin embargo, muchos tumores son resistentes a la muerte mediada por las perforinas, además que las células NK son muy escasas en los infiltrados.<sup>16</sup> Datos, recientes, indican que la principal función de las células NK no es la de eliminar células tumorales sino facilitar la interacción de las células T con las células dendríticas que produce una respuesta dependiente de antígenos tumorales.<sup>17</sup> Es evidente que aún no es clara la participación de las células NK en la defensa antitumoral pero se sigue trabajando para esclarecerla.

Las células dendríticas (CD), definidas como Lin-CD8<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, son muy comunes en los tumores.<sup>18</sup> Estas células son responsables del procesamiento y presentación de AAT a células T inactivas o de memoria para generar células T efectoras específicas a tumor. La presencia de CD en los infiltrados se asocia con una prolongada sobrevida de los pacientes y una reducción de la metástasis. La escasez de CD en el tumor está significativamente relacionada con la pérdida de la cadena ζ asociada al TCR, y la presencia de un número adecuado de CD y de cadena ζ funcional están relacionadas con el aumento de sobrevida de los pacientes con cáncer.<sup>19</sup> La disminución de la expresión de la cadena ζ en células T, aumenta el número de células T en apoptosis que parece estar relacionada con altos niveles del ligando Fas sobre el tumor.<sup>20,21</sup>

Los macrófagos (CD14<sup>+</sup>) son frecuentemente encontrados en los tumores humanos, y son conocidos como macrófagos asociados a tumor (MAT), mientras que los macrófagos normales juegan un papel importante en la presentación de antígeno, los

MAT son reprogramados en el microambiente tumoral, para inhibir funciones de los linfocitos a través de citocinas específicas, prostaglandinas o metabolitos reactivos de oxígeno (MRO).<sup>22</sup> Se ha reportado que *in vitro* los MRO inhiben la proliferación de células T y NK.<sup>23</sup> Se reporta que la capacidad de invasión de los tumores está directamente relacionada con el aumento de MAT que producen estrés oxidativo, o citocinas inhibitorias como la IL-10 que hacen del microambiente un entorno particularmente desfavorable para las células inmunológicas.

## REGULACION DE CÉLULAS INMUNOLÓGICAS EN PACIENTES CON CÁNCER

Es conocido, que en la circulación de los pacientes con cáncer existen linfocitos capaces de des-regular las funciones de otras células inmunes. Actualmente se han caracterizado estos linfocitos como células T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, y se nombran como células T reguladoras,<sup>24</sup> ellas pueden ser aisladas a partir de células mononucleadas de sangre periférica; en ratones su eliminación produce el desarrollo de autoinmunidad. En pacientes con cáncer las poblaciones de linfocitos asociados a tumor están enriquecidas con células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, las cuales secretan TGF-β o IL-10 involucradas en esta des-regulación. Los mecanismos a través de los cuales estas células regulan la respuesta inmune antitumoral es intensamente investigada.<sup>25</sup> Evidencias preliminares sugieren que las células dendríticas juegan un papel importante en la regulación de células T en el microambiente tumoral.

## CITOCINAS EN EL MICROAMBIENTE TUMORAL

La presencia, tipo y estado de activación de células inmunológicas en el sitio del tumor, determinan el perfil de citocina que se encuentra en el. No sólo las células inmunológica producen citocinas, también el tumor lo hace, entre ellas se pueden mencionar las siguientes: la familia de ligandos de TNF; FasL; TGF-β; IL-10; ZIP (proteína inhibidora asociada a la cadena ζ), prostaglandina E<sub>2</sub>; epinefrina; MRO, gangliosidos asociados a tumor y algunos productos virales entre otros.<sup>11</sup> Las citocinas inmunoestimuladoras como IL-2, IL-12 e IFN-γ son raramente encontradas. En los pacientes con cáncer se pueden encontrar en circulación citocinas inflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF-γ que reflejan un estado de activación crónico probablemente inducido por la circulación de AAT o complejos antígeno-anticuerpo en sangre.

Durante muchos años la inmunología tumoral había considerado algunos conceptos que en la actualidad son inconsistentes con las evidencias. Así podemos decir que las células tumorales no son ignoradas por el sistema inmunológico, sin embargo, muchos de los antígenos asociados al tumor hasta ahora identificados son antígenos propios los cuales están sobre-expresados o presentan alteraciones post-transcripcionales.<sup>8</sup> Queda claro el papel de los linfocitos T tumor-específicos, en la regresión tumoral.<sup>26,27</sup> No obstante se debe recordar que el fenómeno de contra-ataque de las células tumorales contra el sistema inmune del huésped es real y probablemente contribuye a la disfunción de las células inmunológicas o su muerte,<sup>28,29</sup> A pasar de ello, el

mecanismo por el cual ocurre esta disfunción no ha sido aclarado. Es cierto que todos o algunos de los factores arriba mencionados participan en el escape tumoral, pero se desconoce como influyen en el pronóstico y sobrevida de los pacientes con cáncer.

## CONCLUSIONES

Existen evidencias que apoyan la teoría de la disfunción y muerte de células efectoras antitumorales en el tumor del huésped, introduciendo un nuevo paradigma para la inmunoterapia del cáncer. Inicialmente se había puesto énfasis en la activación de células inmunológicas y la des-regulación de sus funciones antitumorales, en la actualidad se consideran terapias que pueden proteger a las células inmunológicas de la des-regulación o de la muerte inducida por factores presentes en el microambiente tumoral. Estudios preliminares sugieren que las citocinas o vacunas basadas en el uso de células dendríticas (CD), pueden ser capaces de ofrecer tal protección a las células inmunológicas efectoras en contra de la apoptosis.

Otras estrategias terapéuticas promisorias son; **a)** inducir y sustentar la sobrevivencia de CTL's y células efectoras no específicas, **b)** optimizar las funciones de los linfocitos y CD en el microambiente tumoral; **c)** promover la eficiencia de las CD en presencia de epitopes tumorales provenientes de células tumorales vivas; **d)** prevenir la supresión inmunológica; **e)** utilizar pruebas de detección temprana de la enfermedad.

Dichas estrategias tienen ventaja sobre las técnicas clásicas de inmunoterapia por los progresos recientes en el entendimiento de las interacciones entre el tumor y el sistema inmunológico del huésped. Por lo que se espera que en un periodo relativamente corto, se conozcan los mecanismos moleculares por medio de los cuales los tumores anulan, desvían o desarmen el sistema inmunológico de los pacientes con cáncer. Esto hará posible el contar con más terapias racionales contra el cáncer.

Es claro que el uso de una estrategia, semejante a una vacuna de péptidos puede activar el sistema inmunológico, pero no es una terapia completa. En consecuencia, esperamos que en el futuro se pueda contar con una estrategia, que incluya varias terapias, que permita inducir múltiples respuestas del sistema inmunológico ya sea de forma secuencial o simultánea.

## REFERENCIAS

1. Zhang L, Zhou W, Velculescu VE, Kern SE, Hurban RH, Hamilton SR. Gene expression profiles in normal and cancer cells. *Science* 1997; 276: 1268-1272.
2. Whelan M, Whelan J, Russell N, and Dalglish A. Cancer immunotherapy: an embarrassment of riches? *DDT* 2003; 8: 253-261.
3. Von Kleist S, Berling J, Bohle W, Wittekind C. Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations infiltrating breast carcinomas and benign lesions. *Int J Cancer* 1987; 40: 18-23.
4. Lee PP, Yee C, Savage PA, Fong L, Brockstedt D, Weber JS. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat Med* 1999; 5: 677-685.

5. Pittet MJ, Speiser DE, Lienard D, Valmore D, Guillaume P, Dutoit V. Expansion and functional maturation of human tumor antigen-specific CD8+T cells after vaccination with antigenic peptide. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 796-803.
6. Hoffmann TK, Donnenberg AD, Finkelstein SD, Donnenberg VS, Fribe-Hoffman F, Myers EN. Frequencies of tetramer+ T cells specific for the wild-type sequence p<sup>53</sup><sub>264-272</sub> peptide in the circulation of patients with head and neck cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 3521-3529.
7. Sahin U, Tureci O, Pfreundschuh M. Serologic identification of human tumor antigens. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 709-716.
8. Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, Parmiani G. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001; 50: 3-15.
9. Matzinger P. An innate sense of danger. *Sem Immunol* 1998; 10: 399-415.
10. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
11. Whiteside TL, Rabinowich H. The role of Fas/FasL in immunosuppression induced by human tumors. *Cancer Immunol Immunother* 1998; 46: 175-184.
12. Fearon DT, Locksley RM. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 1996; 272: 50-54.
13. Seliger B, Cabrera T, Garrido F, Ferrone S. HLA class I antigen abnormalities and immune escape by malignant cells. *Sem. Cancer Biol* 2002; 12: 3-13.
14. Irving BA, Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell* 1991; 164: 891-901.
15. Reichert TE, Day E, Wagner EM, Whiteside TL. Absence of low expression of the z chain in T cells at the tumor site correlates with poor survival in patients with oral carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 534-5347.
16. Whiteside TL, Vujanovic NL, Herberman RB. Natural killer cells and tumor therapy. *Curr Topics Microbiol Immunol* 1998; 230: 221-244.
17. Kelly JM, Darcy PK, Markby JL, Godfrey DI, Takeda K, Yagita H. Induction of tumor-specific T cell memory NK cell-mediated tumor rejection. *Nat Immunol* 2002; 3: 83-90.
18. Reichert TE, Scheuer C, Day R, Wagner W, Whiteside TL. The number of intratumoral dendritic cells and z-chain expression in T cells as prognostic and survival biomarkers in patients with oral carcinoma. *Cancer* 2000; 9: 2136-2147.
19. Murphy GF, Radu A, Kaminer M, Berg D. Autologous melanoma vaccine induces inflammatory responses in melanoma metastases: relevance to immunologic regression and immunotherapy. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 335-341.
20. Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, Clark PE, Cathcart MK, Bloom T. Renal cell carcinoma-derived gangliosides suppress NFκB activation in T cells. *J Clin Invest* 1999; 104: 769-776.
21. Reichert TE, Strauss L, Wagner EM, Gooding W, Whiteside TL. Signaling abnormalities, apoptosis and reduced proliferation of circulating and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 103:654-662.

## VERTIENTES

22. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 4625-4629.
23. Kiessling R, Kono K, Petersson M, Wasserman K. Immunosuppression in human tumor-host interaction: role of cytokines and alterations in signal transducing molecules. *Springer Semin Immunopathol* 1996; 18: 227-242.
24. Emann J, Szanya V, Ford GS, Paragas V, Fathman CG, Lejon K. CD4+CD25\* T cells facilitate the induction of T cell anergy. *J Immunol* 2001; 167: 4271-4275.
25. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G. Regulatory CD4+CD25\* T cells in tumors from patients with early-stage non-small lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 4766-4772.
26. Msrchsnd M, van Baren N, Weynants P, Brichard V, Creno B, Tessier MH. Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA A-1. *Int J Cancer* 1999; 80: 219-230.
27. Yamshchikov GV, Barnd DL, Eastham S, Galavotti H, Patterson JW, Deacon DH. Evaluation of peptide vaccine immunogenicity in draining lymph nodes and peripheral blood of melanoma patients. *Int J Cancer* 2001; 92: 703-711.
28. Whiteside TL. Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences. *Semin Cancer Biol* 2001; 12: 43-50.
29. O'Connell J, O'Sullivan GD, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 184: 1075-1082.