

El sistema inmune, herramienta estratégica en la batalla contra el cáncer

Flavio Salazar O.¹

Resumen

Las células tumorales ven alterada la regulación de su ciclo celular y comienzan a proliferar en forma descontrolada debido a mutaciones en su material genético. Además de las alteraciones en la proliferación, se producen modificaciones genéticas que dan origen a cambios en la expresión de proteínas en la célula maligna, lo que se manifiesta en la sobreexpresión de algunos genes o en su activación en tejidos normales, en los que comúnmente no son expresados. Estos genes originan proteínas que pueden ser reconocidas como aberrantes por el sistema inmune, generando una respuesta antitumoral. Recientemente, estudios realizados en animales de experimentación y en pacientes han demostrado que la principal actividad antitumoral está dada por la respuesta inmune celular. En esta situación, son los linfocitos T los que juegan un papel preponderante, reconociendo, a través de su receptor, antígenos que han sido procesados y presentados en asociación con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). La gran mayoría de los antígenos asociados a tumor (AAT) y reconocidos por linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTL) son péptidos derivados de proteínas que se expresan en las células tumorales y además se encuentran en el tejido normal que les dio origen. Así, en melanoma humano por ejemplo, existen antígenos inmunodominantes derivados de proteínas involucradas en la síntesis de melanina y expresados tanto en el tumor como en los melanocitos normales. Existen otros antígenos restringidos por MHC que son comunes a varios tipos de tumores. Estos derivan de proteínas embrionarias y normalmente no se expresan en tejidos somáticos. La identificación de varios AAT ha permitido desarrollo de modernas vacunas antitumorales, las que se encuentran en etapa de experimentación. Estas vacunas, basadas en los antígenos descritos, pueden ser de tipo peptídico o de ADN y vendrían a reemplazar las terapias inmunológicas menos específicas, como el tratamiento con citoquinas o las terapias adoptivas. Investigaciones clínicas y preclínicas llevadas a cabo durante los últimos dos años indican que la forma de inmunizar resulta esencial para inducir una respuesta inmune efectiva y evitar la anergia o tolerancia. Aquí juegan un papel determinante las células dendríticas en su función de células presentadoras de antígenos profesionales y algunas citoquinas pro-

Abreviaciones más usadas:

MHC	: Complejo principal de histocompatibilidad	DC	: Células dendríticas
AAT	: Antígenos asociados a tumor	HPV	: Virus papiloma humano
CTL	: Linfocitos CD8 (+) citotóxicos	TAP	: Transportadoras asociadas al procesamiento antigénico
EBV	: Virus Epstein-Barr	PGE2	: Prostaglandina E2
IL-2	: Interleuquina-2	TGF-β	: Factor de crecimiento transformante-β
IFN-γ	: Interferón-gamma	IL-10	: Interleuquina-10
GM-CSF	: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos	NK	: Natural Killer
TNF-α	: Factor de necrosis tumoral-alfa	LAK	: Células asesinas activadas <i>in vitro</i> con linfoquinas
APC	: Células presentadoras de antígenos	TH2	: Linfocitos T helper 2
		TIL	: Linfocitos infiltrantes de tumor

1. Programa Disciplinario de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas Prof. Dr. Eduardo Cruz-Coke Lassabe, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

inflamatorias. La paradoja existente entre la presencia de células antitumorales en los pacientes con cáncer y la progresión sistemática de la enfermedad, sugieren la existencia de mecanismos mediados por el tumor para evadir la respuesta del sistema inmune. Estas estrategias van desde la secreción por parte del tumor de factores inmunoinhibidores hasta mutaciones de moléculas relacionadas con la presentación antigénica. La comprensión más acabada de los mecanismos inmunológicos involucrados en la respuesta antitumoral, permitirá el desarrollo de la inmunoterapia como tratamiento alternativo y/o complementario a los ya establecidos en la lucha contra el cáncer.

(**Palabras clave:** cáncer, sistema inmune, histocompatibilidad, linfocitos.)

The immune system-a strategic weapon in the battle against cancer

Tumor cells have an altered regulation of their cell cycle and commence to proliferate uncontrollably owing to mutations in their genetic material. Furthermore in addition to the altered proliferation there are genetic modifications which alter the expression of proteins in the malignant cell. This is manifested in the overexpression of some genes or activation which in normal tissue are not normally expressed. These genes encode for proteins which can be recognized as aberrant by the immune system thus generating an anti-tumor response. Recently in studies of animal models and in patients it has been shown that the principal anti-tumor effect is caused by the cellular immune response. In this situation it is the T lymphocyte which play a principal role, by way of their antigen receptors which have been processed and presented in association with the molecules of the major histocompatibility complex (MHC). The majority of tumor associated antigens and recognized by CD8+ cytotoxic T lymphocytes are peptides derived from proteins expressed by the tumor cells and furthermore are encountered in the normal tissue of origin. For example in human melanoma exist antigens derived from proteins involved in the synthesis of melanin and expressed both in the tumor and normal melanocytes. There are other MHC restricted antigens which are common to various tumor types. These are embryologically derived proteins and normally are not expressed in the somatic tissues. The identification of various TAA has permitted the production of modern anti-tumor vaccines which are in the experimental stage. These vaccines based on discrete antigens which could be of peptide or DNA origin and would come to replace immunological therapies of less specificity, such as cytokines or adaptive therapy. Pre-clinical and clinical studies in the last two years indicate that the form of immunization essential in order to produce an effective immune response and avoid anergia or tolerance. Here play an important role the dendrite cells in their function as presenting cells of antigens and some preinflammatory cytokines. The parody exists between the presence of anti-tumor cells in the patients with cancer and the systemic progression of the disease, this suggests the existence of mechanisms mediated by the tumor to evade the immune response. This strategies range from the secretion of factors immuno-inhibitory to mutations in the molecules related to the presenting antigen. An understanding of the immunological mechanisms involved in the anti-tumor response permits the development of immunotherapy as an alternative or complementary therapy to those already established in the fight against cancer.

(**Key words:** cancer, immune system, lymphocytes, histocompatibility.)

LA HIPÓTESIS DE VIGILANCIA INMUNOLÓGICA ANTITUMORAL

La inmunología antitumoral está basada en la premisa de que existen antígenos tumorales que pueden ser reconocidos por el sistema inmune y pueden generar una respuesta contra las células neoplásicas. Experimentos realizados en ratones singénicos, en la década del 40, demostraron que tumores inducidos químicamente y luego extirpados conferían resistencia contra una exposición al mismo tumor¹. Esta resistencia estaba mediada principalmente por linfocitos, ya que al ser estos trasplantados desde un ani-

mal inmunizado a uno no resistente, transmitían la inmunidad².

Estas y otras observaciones posteriores llevaron al científico australiano Sir Frank Macfarlane Burnet (1899-1985) a elaborar, en 1970, la hipótesis de vigilancia inmunológica antitumoral³. En ella se postula que una de las principales funciones del sistema inmune sería la de reconocer a las células neoplásicas y eliminarlas antes de que formen tumores. Esta afirmación implicaba que en ausencia del sistema inmune la incidencia de tumores hubiese sido enormemente mayor. Sin embargo, observaciones hechas en ratones inmunosuprimidos por alteracio-

nes genéticas o por manipulación experimental, no concuerdan plenamente con esta hipótesis, ya que la incidencia de tumores en estos animales no se ve significativamente alterada. En humanos, por otra parte, no existen suficientes evidencias de un aumento significativo en la incidencia de tumores por inmunosupresión que pudiesen avalar esta hipótesis. Sin embargo, existen evidencias que implicarían al sistema inmune en una protección contra ciertos tumores, especialmente los asociados a infecciones virales. Por ejemplo, se ha observado un aumento en la incidencia de ciertos tipos de tumores en pacientes trasplantados e inmunosuprimidos y en aquellos con tumores del sistema linforreticular, como el linfoma asociado al virus Epstein-Barr (EBV), y en el sarcoma de Kaposi, frecuente en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. De todas formas, los avances en la comprensión celular y molecular de los procesos de presentación y reconocimiento de antígenos asociados a las moléculas MHC y la manipulación terapéutica del sistema inmune en la lucha contra el cáncer, le ha conferido nuevamente una gran relevancia al concepto de escape de la inmunovigilancia antitumoral, aunque esta vez más relacionado a inmunoterapia antitumoral.

RECONOCIMIENTO MHC RESTRINGIDO

Sin duda, la actividad inmunológica antitumoral más importante está dada por la respuesta celular. Aunque existen ejemplos de antígenos de superficie reconocidos por anticuerpos, estos tienen una mayor importancia en la detección y tipificación de los tumores más que en el aspecto terapéutico. Durante las últimas tres décadas se ha experimentado un enorme avance en la comprensión del funcionamiento del sistema inmune, especialmente con relación al reconocimiento antigénico^{4, 5}. Esta acumulación de conocimientos, sumados al gran impulso de técnicas de biología molecular que facilitan el clonamiento de genes y la producción de proteínas recombinantes, han permitido la identificación de nuevos AAT y su posterior caracterización.

Experimentos pioneros demostraron que el crecimiento de tumores singénicos pudo ser prevenido en ratones preinmunizados con el mismo tumor, aunque irradiado para evitar su proliferación⁶. Se ha visto que los

linfocitos T humanos pueden ser capaces de lisar específicamente tumores autólogos *in vitro*⁷. Las células T también son capaces de secretar citoquinas como interleuquina-2 (IL-2), interferón-gamma (IFN- γ), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), y proliferar en respuesta a la estimulación con células tumorales autólogas⁸. Células T antitumorales pueden ser expandidas *in vitro* y transferidas adoptivamente para tratar incluso grandes cargas tumorales en pacientes^{8, 9}.

Todos estos resultados proveen evidencias innegables de que una respuesta mediada por linfocitos T puede ocurrir contra los tumores autólogos.

La inducción de una respuesta mediada por linfocitos T requiere de una presentación antigénica en un contexto celular especial dado por las células presentadoras de antígenos (APC)¹⁰. Estas son células especializadas que pueden gatillar una respuesta inmune primaria y entre ellas se incluyen a los macrófagos, a los linfocitos B y a las células dendríticas (DC). Estas últimas juegan un papel fundamental en la generación de una respuesta antitumoral mediada por linfocitos T, ya que poseen la capacidad de capturar antígenos tumorales y presentarlos asociados a las moléculas MHC^{11, 12}. Además expresan gran cantidad de moléculas coestimuladoras, las que proveen señales cruciales que garantizan la efectividad de la respuesta mediada por linfocitos T¹³. Las DC, también llamadas APC profesionales, se encuentran estratégicamente localizadas en los sitios de concentración antigénica. Ellas internalizan, procesan y presentan eficientemente antígenos solubles en el contexto de MHC clase I y II, siendo estas células las más eficientes en la inducción de una respuesta primaria de Linfocitos T¹¹⁻¹⁴. La función central en la inducción de una respuesta antitumoral que poseen las DC, junto con los avances en la manipulación de este subtipo celular *in vitro*, han transformado a estas células en una de las herramientas más utilizadas en inmunoterapia de última generación.

ANTÍGENOS ASOCIADOS A TUMORES

Los CTL tienen la capacidad de reconocer tumores a través de fragmentos peptídicos de 8-10 aminoácidos, derivados de pro-

teínas citoplasmáticas o nucleares, que estén asociados al MHC clase I^{4, 5}. Los CTL melanoma-específicos, transferidos adoptivamente o activados *in vivo* por epitopos de antígenos asociados a melanoma, poseen capacidad terapéutica, pudiendo inducir la regresión de tumores y sus micrometástasis¹⁵. Durante los últimos cinco años se han identificado varios antígenos melanoma-asociados reconocidos por CTL, y los epitopos peptídicos de estos antígenos han sido caracterizados utilizando métodos genéticos y bioquímicos.

Los AAT reconocidos por linfocitos T pueden ser clasificados de acuerdo al origen de las proteínas de las cuales derivan, de los niveles de su expresión y de su distribución en distintos tejidos. El primer grupo está conformado por los llamados *antígenos tumor-específicos*. Los genes de estos antígenos codifican proteínas de origen embrionario, silentes en células adultas y solamente expresados en el tejido tumoral. Terry Boon y colaboradores han identificado varios antígenos de este tipo, tales como MAGE-1, MAGE-3, BAGE y GAGE entre otros¹⁶⁻¹⁸. Una característica de estos AAT es que se pueden expresar en distintos tipos de tumores (tabla 1). Entre los llamados *antígenos de diferenciación tisular o tejido-específicos* se agrupan la mayoría de los antígenos reconocidos por los TIL de pacientes con cáncer. Estas proteínas se expresan no solo en el tumor sino que también en los tejidos normales de los cuales estos derivan. También pueden ser encontrados en otros tejidos normales, aunque en niveles de expresión mucho menores. En melanoma, uno de los tumores más caracterizados, existen varias proteínas asociadas a la síntesis y control de la melanina como MART-1/Melan-A^{19, 20}; gp100²¹, tirosinasa²², gp75²³ y MC1R²⁴ que son AAT (tabla 1). Un tercer grupo lo conforman los *antígenos derivados de oncogenes y Protooncogenes*. P53, p-Ras, y HER2/neu son genes que codifican proteínas relacionadas directamente con el control del ciclo celular. Ha sido demostrado que muchos tumores poseen mutaciones en estos genes o bien estos se encuentran sobreexpresados en las células cancerígenas. Además, es sabido que los péptidos derivados de estas proteínas, normales o mutadas, pueden ser reconocidos por CTL^{25, 26}. Por otra parte, existe una clara relación entre algunos tipos de cáncer e infecciones vi-

rales. El virus papiloma humano (HPV) ha sido asociado a ciertos tumores cervicales y el EBV a algunos linfomas tipo B. Las células tumorales infectadas con estos virus presentarían *antígenos virales* en el contexto de MHC, los que serían reconocidos por los CTL^{27, 28}.

A la luz de las investigaciones realizadas hasta ahora, resulta cada vez más clara la casi inexistencia de antígenos tumorales altamente específicos, excepto los de origen embrionario, que se expresen solamente en los tumores. El reconocimiento de AAT por parte del sistema inmune se debería principalmente a la sobreexpresión o a la expresión inadecuada de algunas proteínas en ciertos tejidos, lo que permite un quiebre de la tolerancia y relaciona a la respuesta inmune antitumoral con mecanismos de autoinmunidad. La tendencia a desarrollar vitiligo de ciertos pacientes de melanoma tratados con inmunoterapia sería un reflejo de este fenómeno²⁹.

MECANISMOS DE ESCAPE A LA INMUNOVIGILANCIA

Los tratamientos inmunoterapéuticos utilizados hasta hoy para combatir el cáncer no han sido del todo exitosos, produciendo una respuesta positiva solamente en una parte de los pacientes. Una explicación a este fenómeno estaría relacionada con la dificultad de activar en forma óptima al sistema inmune de los pacientes con cáncer. Otra de las razones, es que muchos de estos pacientes poseen una inmunosupresión debido al deterioro de su condición general y otras que estarían relacionadas con alteraciones del sistema inmune inducidas por el propio tumor. Los mecanismos de evasión tumoral han sido resumidos en la tabla 2 y algunos de ellos discutidos más abajo.

Disminución de la expresión de las moléculas MHC

La mayoría de los péptidos asociados al MHC clase I derivan de proteínas propias intracelulares o de microorganismos infecciosos. Estas proteínas son cortadas en segmentos polipeptídicos por los proteosomas³⁰ y transportadas hacia el retículo endoplasmático por las proteínas dependientes de ATP llamadas TAP (transportadoras asocia-

Tabla 1

Antígenos tumorales humanos reconocidos por células t MHC clase I restringidas

Tipo de antígeno tumoral	Neoplasias que presentan el péptido	Péptido	Molécula HLA presentadora
<i>Productos de oncogenes activados</i>			
Ras	10% de tumores humanos	CLLDILDTAGL VVVGAVGVG	A2 B35
Producto p210 del reordenamiento de bcr/abl	Leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda	SSKALQRPV ATGFKQSSK KQSSKALQR ATGFKQSSK GFKQSSKAL	A2 A3 A3 A11 B8
HER-2/neu/c-erb/p185	Carcinomas pancreático, mamario, ovárico, gástrico, colorectal y melanoma	KIFGSLAFL IISAVVGIL VMAGVGSPYV ELVSEFSRM QLFEDNYAL RLLQETELV ILHNGAYSL ALCRWGLLL VLRENTSPK	A2 A2 A2 A2 A2 A2 A2 A2 A3
<i>Productos de genes supresores de tumor</i>			
p53 mutada	50% de tumores humanos	LLPENNVLSPL GLAPPQHILRV RMPEAAPPV KTCVPQLWV	A2 A2 A2 A2
<i>Producto de genes embrionarios reactivados</i>			
MAGE-1	Melanomas, carcinomas, sarcomas y otros	EADPTGHSY	A1
MAGE-2		SAYGEPRKL	CW*1601
MAGE-3		KMVELVHFL	A2
		YLQLVFGIEF	A2
		EVDPIGHLY	A1
		FLWGPRLV	A2
		KVAELVHFL	A2
		MEVDPIGHLY	B44
BAGE		AARAVFLAL	CW*1606
GAGE		YRPRPRRY	CW6
RAGE		SPSSNRIRNT	B7
<i>Antígenos de diferenciación tejido-específicos</i>			
MART-1/Melan-A	Melanomas y otros	AAGIGILTV	A2
gp100/Pmel 17		ILTVILGVL	A2
		ITDQVPFSV	A2
		LLDGTATLRL	A2
		VLYRYGSFSV	A2
	KTWGQYWQV	A2	
Tirosinasa	YLEPGPVT A	A2	
	YMDGTMSQV	A2	
	MLLAVLYLL	A2	
	AFLPWHRLF	A24	
	SEIWRDIDF	B44	
MC1R	TILLGIFEL	A2	
	FLALIICNA	A2	
	AIIDPLIYA	A2	

Tabla 1 (continuación)

Tipo de antígeno tumoral	Neoplasias que presentan el péptido	Péptido	Molécula HLA presentadora
<i>Antígenos de diferenciación tejido-específicos</i>			
Antígeno específico prostático	Carcinomas prostáticos	KLQCV DHLV FLTPKKLCQV	A2 A2
Antígeno específico prostático de membrana		VISNDVCAQV LLHETDASV ALFDIESKV	A2 A2 A2
<i>Proteínas propias Ampliamente expresadas</i>			
Antígeno carcinoembrionario	Variados carcinomas mamaríos, ováricos y carcinomas pancreáticos	YLSGANLNL IMIGVLGV	A2 A2
MUC-1		STAPPAHGV	A11
<i>Productos de genes virales</i>			
Proteínas E6 y E7 del virus papiloma humano	Carcinoma cervical	FAFRDLCIV LLMGTLGIV YMLDLQPETT TLGIVCPI	A2 A2 A2 A2
Proteínas del virus Epstein-Barr	Enfermedad de Hodgkin, Linfoma de Burkitt y carcinomas	AVFDRKSVAK IVTDFSVIK CGLGLLTMV	A11 A11 A2
Proteínas del virus hepatitis B	nasofaríngeos, carcinoma hepatocelular	RLRAEAGVK FLPSDFFPSV	A3 A2
Proteínas del virus-1 de la leucemia de células T humana	Leucemia de células T	YVNVNMGK LLFGYPVYV VPYKRIEEL	A11 A2 B14
<i>Antígenos mutados</i>			
Mutada CDK4-R24C-1 b-catenina	Melanoma	EEKLIVVLF ACDPHSGHFV SYLDSGIHF	B-44 A2 A24

Tabla adaptada a partir de las siguientes referencias: Blankestein, 1999; Boon *et al*, 1997; Boon and van der Bruggen; Rickinson and Moss, 1997; Rosenberg *et al*, 1996; Salazar-Onfray *et al*, 1997; Timmerman and Levy, 1999; Velders *et al*, 1998; Yotnda *et al*, 1998.

das al procesamiento antigénico)³¹, hasta asociarse al MHC y ser presentadas en la superficie celular a los linfocitos T. Cualquier defecto en el funcionamiento de los componentes del procesamiento y presentación antigénica incide en la capacidad de los linfocitos T de reconocer a la célula presentadora, en este caso la célula tumoral^{32, 33}. La pérdida de uno o varios alelos de HLA es un evento común en varios tipos de tumores, especialmente en las metástasis^{34, 35}. Estos defectos han sido atribuidos a mutaciones puntuales en la proteína 2-microglobulina o en otros genes del complejo MHC. Recientemente, defectos en otras proteínas relacionadas con la presentación antigénica, como los proteasomas y las TAP, han sido también descritos en melanomas y otros carcinomas³⁶.

Factores inmunosupresores producidos por los tumores

Numerosos factores inmunosupresores producidos por las células tumorales han sido identificados y estudiados con relación al escape tumoral al reconocimiento por el sistema inmune. Un ejemplo clásico es la prostaglandina E2 (PGE2), la que ha sido relacionada en la patogénesis del cáncer actuando a través de la inmunorregulación³⁷. Hay evidencias indirectas que indican que el tratamiento profiláctico con aspirina, de conocido efecto inhibidor de la síntesis de PGE2, reduce la incidencia de cáncer colorrectal. Lo anterior respalda el papel de la PGE2 en la progresión de los tumores³⁸. El factor de crecimiento transfor-

Tabla 2

Mecanismos de escape a la vigilancia del sistema inmune utilizada por los tumores

- Pérdida de la expresión de MHC para evitar el reconocimiento por los T-linfocitos
- Disminución o pérdida en el tumor de la expresión de antígenos asociados al tumor
- Disminución o pérdida de la expresión de moléculas coestimuladoras, en el tumor o en las células dendríticas, requeridas para una eficiente interacción con los T-linfocitos
- Neutralización de la respuesta inmune a través de la inducción de anergia o debido a la eliminación clonal de los T-linfocitos específicos
- Activación, mediada por el tumor, de células supresoras o células del sistema inmune que secretan citoquinas inhibidoras
- Cambios, inducidos por el tumor, en las moléculas transductoras de señales en los T-linfocitos
- Utilización de factores estimulantes, que favorecen el crecimiento tumoral, producidos luego de la activación del sistema inmune (TGF- β)
- Secreción de factores inmunosupresivos por los tumores (prostaglandina E₂, e IL-10)

Tabla adaptada de Salazar-Onfray *et al.* Med Oncol 1999.

mante- β (TGF- β) y la interleuquina-10 (IL-10) son las citoquinas con mayor efecto inmunosupresor³⁹. Experimentos realizados en animales indican que la mayor actividad de la TGF- β *in vivo* es la promoción de la invasión y la metástasis⁴⁰. *In vitro*, el TGF- β inhibe la expansión de las CTL y de los linfocitos B, además inhibe la expresión de receptores de IL-2 de alta afinidad inactivando a las células T, *Natural Killer* (NK) y a las LAK^{40, 41}. En seres humanos, el TGF- β ha sido involucrado en el aumentado potencial metastásico de melanomas y otros carcinomas⁴². El otro factor importante en la inmunoinhibición es la IL-10, una citoquina del tipo TH2 (linfocitos T helper 2), la que favorece una respuesta de tipo humoral más que celular, siendo esta última la más efectiva contra los tumores. La IL-10 inhibe además la producción de citoquinas proinflamatorias en monocitos y macrófagos y reduce la expresión de MHC clase I y II en las células presentadoras de antígenos³⁹. Este efecto redundante directamente en la inhibición del crecimiento y activación de linfocitos T y células NK y, por lo tanto, en el escape de los tumores. La IL-10, que es producida por una gran gama de tumores, inhibe la expresión de MHC clase I y II en estos tejidos a través de la inhibición de componentes del procesamiento y presentación antigénica como las TAP y los proteasomas^{39, 43-45}.

TERAPIAS INMUNOLÓGICAS

La utilización del sistema inmune para combatir el cáncer es una antigua idea, ex-

tensamente investigada durante varias décadas. Algunos períodos de la historia de la inmunología antitumoral han estado marcados por un excepcional entusiasmo y optimismo respecto de los beneficios que estas terapias proporcionarían a los pacientes con cáncer. En cambio, otras etapas son acompañadas por la frustración y el escepticismo. De todas formas, ciertas terapias inmunológicas han dado resultados esperanzadores, lo que unido a una comprensión más profunda del funcionamiento del sistema inmune abre buenas perspectivas para el tratamiento generalizado de cierto tipo de tumores.

Utilización de citoquinas

Debido a una cierta inmunosupresión observada en pacientes con cáncer avanzado, es que se ha intentado estimular terapéuticamente una respuesta inmune empleando citoquinas proinflamatorias recombinantes^{46, 47}. Entre estas se destaca la IL-2, que *in vitro* ha demostrado potenciar la proliferación y la activación de los linfocitos T. Tanto IL-2 como IFN- γ cuyo efecto principal es inducir la presentación antigénica en las APC, incluyendo las células tumorales, son las citoquinas más utilizadas en la inmunoterapia del cáncer. Lamentablemente, estos tratamientos tienen un efecto parcial y varios efectos colaterales, tales como náuseas, fiebre y dolores musculares intensos, si se utilizan dosis altas⁴⁶. Su efecto, en todo caso, es lo suficientemente importante como para ser un tratamiento alternativo en algunos tipos de cáncer.

Terapia celular adoptiva

Una vez identificada la capacidad de los linfocitos activados *in vitro* de destruir células tumorales, se ha intentando expandir estas células en el laboratorio con la ayuda de citoquinas como la IL-2. Se han logrado obtener hasta 1×10^{10} células mediante este método, las que son luego reinyectadas en los pacientes. Estos linfocitos pueden derivar de sangre periférica de pacientes con cáncer estimulados con líneas tumorales autólogas o alogénicas. También pueden derivar de linfocitos infiltrantes de tumor (TIL), los que son obtenidos mediante remoción quirúrgica. Las llamadas células asesinas activadas *in vitro* con linfoquinas (LAK) son una población celular compuesta por células CTL superactivadas y células NK. Estas poseen una menor efectividad que las CTL específicas propiamente tal, las que son estimuladas específicamente con antígenos tumorales y que han dado mejores resultados en pacientes con melanoma y cáncer ovárico^{48, 49}.

Inmunización activa contra tumores

En contraste con las vacunas contra agentes infecciosos extracelulares, en las cuales la estrategia más importante es la activación del sistema inmune humoral y la generación de anticuerpos neutralizantes, el foco de las vacunas contra el cáncer está dirigido a la generación de la respuesta celular específica mediada por linfocitos T. Hasta ahora, las vacunas anticáncer no son preventivas, sino más bien terapéuticas. Estas intentan la activación del sistema inmune contra moléculas sobreexpresadas o mutadas, presentes en las células tumorales, con el fin de eliminar tumores preexistentes en el huésped.

Las células tumorales por lo general son poco inmunogénicas y capaces de inducir tolerancia en forma activa. Esto se debe principalmente a la carencia de moléculas coestimuladoras y a la secreción de factores inmunosupresores³⁹. La estrategia de las vacunas antitumorales es quebrar este estado de tolerancia, aumentando la densidad de los antígenos expresados en las moléculas MHC, acompañada de un incremento de las moléculas coestimuladoras.

La forma más simple de intentar inmunizar pacientes con cáncer, consiste en utili-

zar células tumorales autólogas o alogénicas irradiadas o tratadas químicamente para evitar su proliferación y luego reinyectadas en el paciente. Estas células tumorales pueden ser genéticamente modificadas con el fin de que expresen moléculas coestimuladoras y/o citoquinas proinflamatorias como IL-2, IL-4 o IFN- γ lo que eleva la inmunogenicidad de los tumores, generando una respuesta más eficiente contra las metástasis^{50, 51}. La identificación de epitopos de AAT ha permitido explorar la inmunización con péptidos recombinantes MHC restringidos, levemente modificados para aumentar su inmunogenicidad, siendo estos derivados de los antígenos gp100 y MART-1 en melanoma y Her2/Neu en cáncer ovárico. Estos intentos han dado resultado en varios de los pacientes tratados y han permitido mejorar los protocolos de inmunización^{52, 53}. Durante los últimos dos años ha adquirido una mayor relevancia el papel de las células presentadoras de antígeno profesionales como las células dendríticas, en la inducción de la respuesta inmune contra los tumores. Las DC, derivadas de monocitos de sangre periférica, pueden ser activadas *in vitro* utilizando IL-4 y GM-CSF y expandidas en cantidades suficientes para inmunizar. Previo a la inmunización, las DC son cargadas exógenamente con péptidos antigénicos o transfectadas con genes que codifican estos antígenos. Las respuestas a estos tratamientos son las más promisorias y pareciera que sería la estrategia a seguir en la vacunación contra ciertos tumores^{54, 55}. La combinación *in vitro* de DC con células tumorales apoptóticas o la modificación genética de las DC con genes codificantes de AAT y/o citoquinas proinflamatorias, permite la presentación de múltiples antígenos tumorales en una misma célula presentadora, en un contexto adecuado para la inducción de respuesta⁵⁶.

Una de las técnicas más modernas de inmunización consiste en la utilización de *DNA desnudo* conteniendo los genes codificadores de antígenos tumorales, generalmente asociado a genes que inducen la inflamación, a citoquinas, a proteínas bacterianas etc. Las *vacunas de ADN*, sorprendentemente eficientes, están siendo exploradas no solamente en el contexto de la inmunología antitumoral, sino que además como estrategia antiviral o en otro tipo de patógenos^{57, 58}.

A pesar de los grandes avances en la inmunología antitumoral, quedan grandes actores aún sin explorar. El papel de los linfocitos CD4, los llamados linfocitos ayudadores, adquiere cada vez mayor relevancia. Es sabido que muchas de las respuestas citotóxicas requieren de la participación de este subtipo celular. Las T ayudadoras reconocen antígenos en el contexto de MHC clase II y producen citoquinas que activan a las CTL. Además, poseen la capacidad de activar a las DC, lo que aumentaría la eficiencia en la presentación antigénica de estas⁵⁹. Por otra parte, las células NK están siendo intensamente estudiadas por el papel complementario que jugarían, respecto de las CTL, en el reconocimiento de los tumores. En efecto, las NK reconocen células blanco que presenten una deficiencia en la expresión de MHC, lo que es característico de las metástasis, por lo que no se descarta un rol de las NK en el control de estas⁶⁰.

En resumen, el desarrollo de la inmunología antitumoral, si bien aún no ha sido lo suficientemente exitosa desde el punto de vista terapéutico, ha permitido avanzar enormemente en la comprensión del sistema inmune y continúa abriendo perspectivas en la utilización de las defensas naturales de nuestro organismo en el combate contra el cáncer, uno de los enemigos más oncosos de la especie humana.

REFERENCIAS

- Gross L: Interdermal immunization of C3H mice against a sarcoma that originated in an animal of the same line. *Cancer Res* 1943; 3: 326.
- Prehn RT, and Main JM: Immunity to methylcholanthrene-induced sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst* 1957; 18: 769.
- Burnet, F.M.: Immunological surveillance. Oxford: Pergamon Press; Sydney: Pergamon (Australia) 1970.
- Zinkernagel RM, Doherty PC: Restriction of *in vitro* T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*. 1974; 248: 701.
- Townsend AR, Rothbard J, Gotch FM, Bahadur G, Wraith D, McMichael AJ: The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes can be defined with short synthetic peptides. *Cell* 1986; 44: 959.
- Klein G, and Klein E: Antigenic properties of other experimental tumors. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 196; 27: 463.
- Vanky F, Klein E: Specificity of auto-tumor cytotoxicity exerted by fresh, activated and propagated human T lymphocytes. *Int J Cancer* 1982; 29: 547.
- Barth RJ Jr, Mule JJ, Spiess PJ, Rosenberg SA: Interferon gamma and tumor necrosis factor have a role in tumor regressions mediated by murine CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1991; 173: 647.
- Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al: Use of tumor infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. (Preliminary report) *N Engl J Med* 1988; 319: 1676.
- Steinman RM, Witmer-Pack M, Inaba K: Dendritic cells: antigen presentation, accessory function and clinical relevance. *Adv Exp Med Biol* 1993; 329: 1.
- Albert ML, Sauter B, Bhardwaj N: Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature* 1998; 5; 392: 86-9.
- Sauter B, Albert ML, Francisco L, Larsson M, Somersan S, Bhardwaj N: Consequences of cell death: exposure to necrotic tumor cells, but not primary tissue cells or apoptotic cells, induces the maturation of immunostimulatory dendritic cells. *J Exp Med* 2000; 7; 191: 423-34.
- Banchereau J, Steinman RM: Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
- Inaba K, Turley S, Yamaide F, et al: Efficient presentation of phagocytosed cellular fragments on the major histocompatibility complex class II products of dendritic cells. *J Exp Med* 1998; 188: 2163-73.
- Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al: Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1988; 319: 1676.
- Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al: Transfection and expression of a gene coding for a human melanoma antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes. *Science* 1991; 254:1643.
- Traversari C, van der Bruggen P, Luescher IF, et al: A nonapeptide encoded by human gene MAGE-1 is recognized on HLA-A1 by cytolytic T lymphocytes directed against tumor antigen MZ2-E. *J Exp Med* 1992; 176: 1453.
- Boel P, Wildmann C, Sensi ML, et al: BAGE: a new gene encoding an antigen recognized on human melanomas by cytolytic T lymphocytes. *Immunity* 1995; 2: 167.
- Kawakami Y, Eliyahu S, Sakaguchi K, et al: Identification of the immunodominant peptides of the Mart-1 human melanoma antigen recognized by the majority of HLA-A2 restricted tumor infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1994; 180: 347.
- Coulie PG, Brichard V, Van Peal A, et al: A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J Exp Med* 1994; 180: 35.
- Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al: Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with *in vivo* tumor rejection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6458.
- Brichard V, Van Pel A, Wolfel T, et al: The tyrosinase gene coded for an antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 + melanoma. *J Exp Med* 1993; 178: 489.
- Wang RF, Parkhurst MR, Kawakami Y, Robbins PF, Rosenberg SA: Utilization of an alternative open reading frame of a normal gene in generating a novel human cancer antigen. *J Exp Med* 1996; 183: 1131.
- Salazar-Onfray F, Nakazawa T, Chhajlani V, et al: Synthetic peptides derived from the melanocyte stimulating

- hormone receptor MC1R can stimulate HLA-A2 restricted CTL that recognize naturally processed peptides on human melanoma cells. *Cancer Res* 1997; 57: 4348.
25. Van Elsas A, Nijman HW, Van der Minne CE, et al: Induction and characterization of cytotoxic T-lymphocytes recognizing a mutated p21ras peptide presented by HLA-A*0201. *Int J Cancer* 1995; 61: 389.
 26. Rongcun Y, Salazar-Onfray F, Charo J, et al: Identification of new Her-2/neu derived peptide epitopes which can elicit CTL cytotoxic for autologous and allogeneic carcinomas and melanomas. *Journal of Immunology*. 1999; 163: 1037-44.
 27. Gavioli R, De Campos-Lima PO, Kurilla MG, Kieff E, Klein G, Masucci MG: Recognition of the Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigens EBNA-4 and EBNA-6 by HLA-A11-restricted cytotoxic T lymphocytes: implications for down-regulation of HLA-A11 in Burkitt lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 5862.
 28. Kast WM, Brandt RM, Sidney J, et al: Role of HLA motifs in identification of potential CTL epitopes in human papillomavirus type 16 E6 and E7 proteins. *J Immunol* 1994; 152: 3904.
 29. Becker JC, Guldberg P, Zeuthen J, Brocker EB, Straten PT: Accumulation of identical T cells in melanoma and vitiligo-like leukoderma. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 1033-8.
 30. Goldberg AL, Rock KL: Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. [Review]. *Nature* 1992; 357: 375.
 31. Neefjes JJ, Momburg F, and Hämmerling GJ: Selective and ATP-dependent translocation of peptides by the MHC-encoded transporter. *Science* 1993; 261: 769.
 32. Cromme FV, Airey J, Heemels MT, Ploegh HL, and Walboomers JMM: Loss of transporter protein, encoded by the TAP-2 gene, is highly correlated with loss of HLA expression in cervical carcinomas. *J Exp Med* 1994; 179: 335.
 33. Seliger B, Höhne A, Kuth A, et al: Analysis of the mayor histocompatibility complex class I antigen presentation machinery in normal and malignant renal cells: Evidence for deficiencies associated with transformation and progression. *Cancer Res* 1996; 56: 1756.
 34. Cabrera T, Angustias Fernández M, Sierra A, et al: High frequency of altered HLA class I phenotypes in invasive breast carcinomas. *Hum Immunol* 1996; 50: 127.
 35. Garrido F, Cabrera T, Concha A, Glew S, Ruiz-Cabello F, and Stern PL: Natural history of HLA expression during tumour development. *Immunology Today* 1993; 14: 491.
 36. Seliger B, Dunn T, Schwenzer A, Casper J, Huber C, Schmoll HJ: Analysis of the MHC class I antigen presentation machinery in human embryonal carcinomas: evidence for deficiencies in TAP, LMP and MHC class I expression and their upregulation by IFN-gamma. *Scand J Immunol* 1997; 46: 625.
 37. Mnich SJ, Veenhuizen AW, Monahan JB, et al: Characterization of a monoclonal antibody that neutralizes the activity of prostaglandin E2. *J Immunol* 1995; 155: 4437.
 38. Marnett LJ: Aspirin and related nonsteroidal anti-inflammatory drugs as chemopreventive agents against colon cancer. (Review). *Prev Med* 1995; 24: 103.
 39. Salazar-Onfray F: Interleukin-10: a strategy used by tumors to escape from the immune system (Review). *Med Oncol* 1999; 16: 86.
 40. Arteaga CL, Hurd SD, Winnier AR, Johnson MD, Fendly BM, Forbes JT: Anti-transforming growth factor (TGF)-beta antibodies inhibit breast cancer cell tumorigenicity and increase mouse spleen natural killer cell activity. Implications for a possible role of tumor cell/host TGF-beta interactions in human breast cancer progression. *J Clin Invest* 1993; 92: 2569.
 41. Wright JA, Turley EA, Greenberg AH: Transforming growth factor beta and fibroblast growth factor as promoters of tumor progression to malignancy. (Review). *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 473.
 42. Friedman E, Gold LI, Klimstra D, Zeng ZS, Winawer S, Cohen A: High levels of transforming growth factor beta 1 correlate with disease progression in human colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomark & Prev* 1995; 4: 549.
 43. Matsuda M, Salazar F, Petersson M, et al: Interleukin-10 pre-treatment protects target cells from tumor- and allo-specific cytotoxic T cells and down-regulates HLA class I expression. *J Exp Med* 1994; 180: 2371.
 44. Salazar-Onfray F, Petersson M, Frankson L, et al: Conversion of RMA lymphoma to a CTL resistant, NK sensitive phenotype with low MHC-I expression as a result of IL-10 transfection. *J Immunol* 1995; 154: 6291.
 45. Salazar-Onfray F, Charo J, Petersson M, et al: Down-regulation of the expression and function of TAP in murine tumor cell lines expressing Interleukin-10. *J Immunol* 1997; 159: 3195.
 46. Rosenberg SA, Lotze MT, Yang JC, et al: Experience with the use of high-dose interleukin-2 in the treatment of 652 cancer patients. *Ann Surg* 1989; 210: 474.
 47. Sreevalsan T: Biologic therapy with interferon-alpha and beta: preclinical studies. In: DeVita VT, Hellman SH, Rosenberg SA, eds. *Biologic therapy of cancer*, ed 2. Philadelphia: Lippincott-Raven 1995: 347.
 48. Mule JJ, Shu S, Schwartz SL, Rosenberg SA: Adoptive immunotherapy of established pulmonary metastases with LAK cells and recombinant interleukin-2. *Science* 1984; 225: 1487.
 49. Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al: Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma: special report. *N Engl J Med* 1988; 319: 1676.
 50. Rosenberg SA, Aebersold P, Cornetta K, et al: Gene transfer into humans. Immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction. *N Engl J Med* 1990; 323: 570.
 51. Schreiber S, Kampgen E, Wagner E, et al: Immunotherapy of metastatic malignant melanoma by a vaccine consisting of autologous interleukin 2-transfected cancer cells: outcome of a phase I study. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 983-93.
 52. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, et al: Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nature Med* 1998; 4: 321.
 53. Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M, et al: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1998; 4: 328.
 54. Morse MA, and Lysterly HK: Immunotherapy of cancer using dendritic cells. *Cyt Cel Mol Ther* 1998; 4: 35-44.
 55. Mackensen A, Herbst B, Chen JL, et al: Phase I study in melanoma patients of a vaccine with peptide-pulsed dendritic cells generated *in vitro* from CD34(+) he-

- matopoietic progenitor cells. *Int J Cancer* 2000; 86: 385-92.
56. Brinckerhoff LH, Thompson LW, Slingluff CL Jr: Melanoma vaccines. *Curr Opin Oncol* 2000; 12: 163-73.
57. Cho HJ, Takabayashi K, Cheng PM, et al: Immunostimulatory DNA-based vaccines induce cytotoxic lymphocyte activity by a T-helper cell-independent mechanism. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 509-14.
58. Stevenson FK: DNA vaccines against cancer: from genes to therapy. *Ann Oncol* 1999; 10: 1413-8.
59. Ridge JP, Di Rosa F, Matzinger P: A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4+ T-helper and a T-killer cell. *Nature* 1998; 393: 474-8.
60. Takeda K, Hayakawa Y, Atsuta M, et al: Relative contribution of NK and NKT cells to the antimetastatic activities of IL-12. *Int Immunol* 2000; 12: 909-14.

AVISO A LOS AUTORES

Se recuerda a los autores que los trabajos enviados para poder ser considerados deben cumplir con el *Reglamento de Publicaciones* y con las *Instrucciones a los Autores* que se editan en cada número de la Revista.